

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Desenvolvimento do produto de conveniência: tilápia (*Oreochromis niloticus*)  
refrigerada minimamente processada embalada a vácuo – padronização para  
a rastreabilidade**

**Luciana Kimie Savay-da-Silva**

**Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em  
Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de  
Alimentos**

**Piracicaba  
2009**

Luciana Kimie Savay-da-Silva  
Bacharel em Ciências dos Alimentos

**Desenvolvimento do produto de conveniência: tilápia (*Oreochromis niloticus*) refrigerada minimamente processada embalada a vácuo – padronização para a rastreabilidade**

Orientadora:  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> **MARÍLIA OETTERER**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba  
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Savay-da-Silva, Luciana Kimie

Desenvolvimento do produto de conveniência: tilápia (*Oreochromis niloticus*) refrigerada minimamente processada embalada a vácuo - padronização para a rastreabilidade / Luciana Kimie Savay-da-Silva. - - Piracicaba, 2009.  
322 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.  
Bibliografia.

1. Controle de qualidade 2. Embalagens de alimentos 3. Processamento de alimentos  
4. Refrigeração 5. Tilápia I. Título

CDD 664.9453  
S266d

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**



Dedico este trabalho aos meus pais Wilson Serafim Gonçalves da Silva e Helena Kioko Savay da Silva por tudo que eles renunciaram para que eu alcançasse mais essa conquista.



## OFEREÇO

À Profª Drª **Marília Oetterer**

Pela orientação neste trabalho e em todos os outros;  
Por acreditar na minha capacidade;  
Por sempre me incentivar ao crescimento profissional e, principalmente, pessoal;  
Por ser exemplo de profissionalismo e dedicação ao trabalho;  
Pela amizade compartilhada.

À amiga e colega de trabalho **Juliana Antunes Galvão**

Por ter sido a primeira pessoa a acreditar na minha competência profissional;  
Por ter me incentivado a chegar até aqui, e a continuar crescendo cada vez mais;  
Pela troca de experiências;  
Pela ajuda constante e incasável na realização deste trabalho.  
E, principalmente, pela amizade.

Ao **GETEP**

Por toda ajuda técnica ao longo deste trabalho, sem a qual o mesmo não teria se concretizado.

Ao **Thiago Marques de Brito**

Por estar sempre ao meu lado nos melhores momentos de minha vida;  
Por estar sempre ao meu lado nos piores momentos de minha vida;  
Pelas madrugadas acordado ao meu lado durante a elaboração deste trabalho;  
Por nunca me deixar desistir;  
Pelo carinho, cuidado e orgulho;  
E pela amizade incondicional.





## AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, trabalho, família e amigos – que de uma forma ou outra contribuíram para que eu finalizasse esse trabalho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, na pessoa de seus docentes, pela minha formação acadêmica.

À FINEP pelo auxílio financeiro a esse projeto.

Ao Sr. Francisco Leão, por ceder a sua propriedade para realização das coletas.

Aos funcionários da Fazenda Palmares – Sr. Cláudio e Claudemir, por nos auxiliarem durante as coletas e pelo fornecimento das informações requeridas.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Cláudio Rosa Gallo, pelo uso de seu laboratório para as análises microbiológicas e pelas orientações e sugestões.

Às técnicas Cecília Helena Nogueira, Cleomar Maria de Carvalho, e Rosalina de Fátima Ocange pelo auxílio técnico nas análises microbiológicas e pela amizade.

À técnica Silvana Albertini, pelas sugestões, correções e orientações nas análises físico-químicas e pela amizade.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Josefina Contreras Castillo pelas pertinentes sugestões realizadas neste trabalho.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gilma Lucazechi Sturion pelo auxílio com as bibliográficas e relevantes sugestões realizadas neste trabalho.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Thais Maria Ferreira de Souza Vieira pelas sugestões desde a elaboração do projeto inicial.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Solange Guidolin Canniatti Brazaca, pela ajuda e orientação nas análises bromatológicas.

Ao Marcelo Corrêa Alves, pelas sugestões e realização das análises estatísticas.

À bibliotecária Eliana Maria Garcia, pelas correções das referências bibliográficas, pelo profissionalismo e pela disposição em me atender.

À Regina C. Della Modesta pelas preciosas sugestões na elaboração, execução e interpretação dos testes de análise sensorial realizados.

Aos funcionários: Márcia R. S. Bertarelli, Regina Célia Cardoso Marafon, Gislaine Maria Martins Nóbilo, Maria Amábile S. Vendemiatti, Wladimir Rodrigues Camargo e Fábio Benedito Rodrigues pelos serviços burocráticos prestados.

À Equipe de Apoio: Jefferson Zambon, Eduardo Giovani Arthuso (Gil) e Wilson Januário, pelos serviços necessários de manutenção e reparo do laboratório durante a realização dos experimentos.

Aos estagiários: Adriana Figueiredo da Silva, Priscila Eloi Martins, Letícia Julião, Alessandra Vanessa Gallani, Amanda Santin Gobbo, Juliana dos Santos Minetto, Luiz Gustavo Franzini Travagin, Renata Bezuti Negri, Talita Aparecida Dias Bombarde, Tamires Zanin Celestino, Thais Massotti Menegazzo, Thiago Tofoli, pelo auxílio fundamental nas análises laboratoriais, coletas, elaboração dos Procedimentos Operacionais Padronizados (POPs) e, principalmente, pelos momentos de descontração e pela amizade.

Aos estagiários da Equipe de Resíduos: Rodrigo de Campos Gullo, Diana L. dos Santos, Maria Anna Colucci Hill e Gilmar Antônio Montanari de Oliveira, pelo auxílio na separação, organização, rotulagem e descarte dos resíduos químicos gerados durante as análises laboratoriais.

Ao Douglas Souza Pereira pelo apoio e auxílio nas atividades do laboratório nos momentos finais da elaboração dessa dissertação, e pela amizade.

À amiga Lia Ferraz de Arruda Suczas pelo auxílio nas coletas e pela valiosa amizade.

À amiga Érika da Silva Maciel, por me ajudar na elaboração do protótipo da embalagem sugerida, na preparação da análise sensorial de aceitação, pelo carinho e pela amizade.

Ao Jefferson Cristiano Christofolletti, pela elaboração do *desing* da embalagem e preparo cuidadoso da mesma.

Às amigas Bruna Nicolosi Franzini Silva Travagin, Bárbara Belodi dos Santos e Maria Fernanda Calil Angelini e, pelo apoio nos momentos difíceis desse trabalho, por terem ouvido minhas reclamações, meus lamentos, terem ficado felizes comigo quando as análises ocorreram corretamente, por me distraírem para aliviar a tensão e pela amizade sincera e fiel. E à última, ainda, por sempre estar disposta a me ajudar nas atividades do laboratório, sendo imprescindível para finalização deste trabalho.

Às amigas da República SIMBORA (Bu-q, Roxê, Sãba-í, P-lót, Saiba +, Carlitcha, Diplóide), e às amigas Amanda Daniela Moré (Amãdita), Luciane Isabel Berno (Bolshói), Vanessa Cristina Nogueira (Padedéu), Vanessa Alves (Massa) e Claudiene Carvalho de Brito (Xã-d-le) pelo apoio e incentivo, de perto ou à distância, carinho e amizade.

Às amigas de turma do mestrado: Carla Homem de Mello Trujillos Ceballos, Carla Romero Matsuoka, Milla Gabriela dos Santos, Paula Araújo de Souza e Adna Prado, pela companhia, pela ajuda e pela amizade.

Aos meus amados pais – Vilson Serafim Gonçalves da Silva e Helena Kioko Savay da Silva, por toda dedicação, amor, carinho e renúncia aos desejos pessoais feitos para que eu chegasse até aqui.

Aos meus avôs - Inésio Golçalves da Silva e Ana Paulella da Silva, pelo exemplo de dedicação à família e ao trabalho, honestidade, simplicidade e dignidade com que conduzem suas vidas; por terem me dado os primórdios da educação e por serem responsáveis pelo que sou.

Às minhas queridas irmãs Josiane Katsue Savay da Silva e Patricia Yassue Savay da Silva por sempre estarem ao meu lado, por serem meus bens mais preciosos e por sempre acreditarem em mim e me apoiarem em todas as decisões.

Aos futuros cunhados Marcelo Campos e João Guilherme Silveira Limiro e pela amizade e apoio a tudo que realizo.

Aos meus tios – Vilma Aparecida Gonçalves da Silva, Wagner Gonçalves da Silva e Luciana Perpétua da Silva por sempre acreditarem na minha capacidade.

Aos meus primos queridos: Karen Thauana Gonçalves da Silva e Matheus Henrique Gonçalves da Silva por me alegrarem nos finais de semana.

Aos queridos Isael Francisco de Brito e Geni Marques de Brito, pelas orações e carinho.

Aos amigos queridos e verdadeiros que sempre torceram e acreditaram em mim.



*Eu vejo a vida melhor no futuro  
Eu vejo isso por cima de um muro  
De hipocrisia  
Que insiste em nos rodear  
Eu vejo a vida mais clara e farta  
Repleta de toda satisfação  
Que se tem direito  
Do firmamento ao chão  
Eu quero crer no amor numa boa  
Que isto valha pra qualquer pessoa  
Que realizar  
A força que tem uma paixão  
Eu vejo um novo começo de era  
De gente fina, elegante e sincera  
Com habilidade  
Pra dizer mais sim do que não  
Hoje o tempo voa amor  
Escorre pelas mãos  
Mesmo sem se sentir  
E não há tempo que volte, amor  
Vamos viver tudo que há pra viver  
Vamos nos permitir...  
(Lulu Santos)*



## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	17
<b>ABSTRACT</b> .....	19
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	21
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	25
<b>1 DESENVOLVIMENTO DO PRODUTO DE CONVENIÊNCIA: TILÁPIA (<i>Oreochromis niloticus</i>) REFRIGERADA MINIMAMENTE PROCESSADA EMBALADA A VÁCUO – PADRONIZAÇÃO PARA A RASTREABILIDADE</b> .....	27
<b>1.1 Introdução</b> .....	27
<b>1.2 Revisão Bibliográfica</b> .....	29
1.2.1 Produção mundial e nacional do pescado .....	29
1.2.2 Consumo de pescado e sua importância na dieta humana.....	30
1.2.3 A tilápia como matéria-prima.....	34
1.2.4 A influência do off-flavor na aquicultura e seu impacto econômico .....	38
1.2.5 Depuração como medida de prevenção e controle do off-flavor.....	40
1.2.6 Indicadores de qualidade do pescado .....	42
1.2.7 Microrganismos contaminantes em pescado .....	48
1.2.8 Alimentos minimamente processados .....	51
1.2.9 Embalagens para produtos alimentícios .....	53
1.2.10 Rastreabilidade .....	57
1.2.10.1 Definição e conceitos de rastreabilidade .....	57
1.2.10.2 Requisitos para rastreabilidade.....	59
<b>Referências</b> .....	62
<b>2 DEPURAÇÃO COMO MÉTODO DE CONTROLE DE OFF-FLAVOR EM FILÉS DE TILÁPIA DO NILO (<i>Oreochromis niloticus</i>) MINIMAMENTE PROCESSADOS</b> .....	71
<b>Resumo</b> .....	71
<b>Abstract</b> .....	72
<b>2.1 Introdução</b> .....	72
<b>2.2 Material e Métodos</b> .....	74
2.2.1 Obtenção da matéria-prima .....	74
2.2.2 Procedimento de depuração.....	76
2.2.3 Procedimento pós despesca .....	77
2.2.3.1 Aferição de temperatura (°C).....	77
2.2.3.2 Determinação da perda de peso .....	78
2.2.3.3 Abate e transporte.....	79
2.2.3.4 Biometria e rendimento dos filés.....	80
2.2.3.5 Processamento mínimo das tilápias.....	80
2.2.4 Análises laboratoriais .....	83
2.2.4.1 Análises físico-químicas dos filés .....	83
2.2.4.2 Análises microbiológicas dos filés .....	85
2.2.4.3 Análise sensorial.....	87
2.2.5 Análise estatística .....	88
<b>2.3 Resultados e Discussão</b> .....	89

2.3.1	Determinação da perda de peso .....	89
2.3.2	Aferição da temperatura.....	90
2.3.3	Processamento mínimo das tilápias .....	93
2.3.4	Análises laboratoriais.....	95
2.3.4.1	Análises físico-químicas dos filés.....	95
2.3.4.2	Análises microbiológicas dos filés.....	101
2.3.4.3	Análise sensorial .....	108
<b>2.4</b>	<b>Conclusões.....</b>	<b>110</b>
	<b>Referências.....</b>	<b>111</b>
<b>3</b>	<b>TRATAMENTO COM ÁCIDO ACÉTICO EM FILÉS DE TILÁPIA DO NILO (Oreochromis niloticus) MINIMAMENTE PROCESSADOS EM DIFERENTES EMBALAGENS SOB VÁCUO E ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO .....</b>	<b>116</b>
	<b>Resumo .....</b>	<b>116</b>
	<b>Abstract.....</b>	<b>117</b>
<b>3.1</b>	<b>Introdução.....</b>	<b>117</b>
<b>3.2</b>	<b>Material e Métodos .....</b>	<b>119</b>
3.2.1	Obtenção da matéria-prima.....	119
3.2.2	Procedimento de depuração .....	119
3.2.3	Procedimento pós despesca.....	120
3.2.3.1	Aferição de temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%).....	120
3.2.3.2	Determinação da perda de peso .....	120
3.2.3.3	Abate e transporte .....	120
3.2.3.4	Processamento mínimo das tilápias .....	120
3.2.4	Análises laboratoriais.....	127
3.2.4.1	Análises físico-químicas dos filés.....	128
3.2.4.2	Análises microbiológicas dos filés.....	129
3.2.4.3	Análise sensorial .....	130
3.2.5	Análise estatística.....	130
<b>3.3</b>	<b>Resultados e Discussão.....</b>	<b>131</b>
3.3.1	Determinação da perda de peso .....	131
3.3.2	Aferição de temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%) no local de coleta.....	132
3.3.3	Aferição de temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%) na área de processamento mínimo .....	134
3.3.4	Análises laboratoriais.....	138
3.3.4.1	Análises físico-químicas dos filés.....	138
3.3.4.2	Análises microbiológicas dos filés.....	148
3.3.4.3	Análise sensorial .....	163
<b>3.4</b>	<b>Conclusões.....</b>	<b>174</b>
	<b>Referências.....</b>	<b>175</b>
<b>4</b>	<b>PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE TILÁPIA DO NILO (Oreochromis niloticus) MINIMAMENTE PROCESSADA COMO REQUISITO PARA IMPLANTAÇÃO DE UM SISTEMA DE RASTREABILIDADE .....</b>	<b>180</b>



<b>Resumo</b> .....	180
<b>Abstract</b> .....	181
<b>4.1 Introdução</b> .....	181
<b>4.2 Material e Métodos</b> .....	184
4.2.1 Obtenção da matéria-prima .....	184
4.2.2 Procedimento de depuração .....	184
4.2.3 Procedimento pós despesca .....	184
4.2.3.1 Aferição de temperatura (T °C) e umidade relativa do ambiente (%) .....	184
4.2.3.2 Determinação da perda de peso .....	184
4.2.3.3 Abate e transporte .....	184
4.2.3.4. Processamento mínimo das tilápias .....	185
4.2.4 Análises laboratoriais .....	188
4.2.4.1 Análises físico-químicas dos filés .....	188
4.2.4.2 Análises microbiológicas dos filés. ....	189
4.2.4.3 Análise sensorial .....	190
4.2.5 Implantação da rastreabilidade .....	194
4.2.5.1 Eleição dos melhores parâmetros e descrição do produto .....	194
4.2.5.2 Ferramentas para a garantia da qualidade .....	195
4.2.6 Análise estatística .....	195
<b>4.3 Resultados e Discussão</b> .....	196
4.3.1 Determinação da perda de peso .....	196
4.3.2 Aferição de temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%) .....	196
4.3.3 Processamento mínimo das tilápias .....	197
4.3.4 Análises laboratoriais .....	199
4.3.4.1 Análises físico-químicas dos filés .....	199
4.3.4.2 Análises microbiológicas dos filés. ....	207
4.3.4.3. Análise sensorial .....	218
4.3.5 Implantação da rastreabilidade .....	229
4.3.5.1 Eleição dos melhores parâmetros e descrição do produto .....	229
4.3.5.2 Ferramentas para garantia da qualidade .....	242
4.3.5.2.1 Descrição do fluxograma operacional da produção de filés de tilápia minimamente processados .....	249
4.3.5.2.2 Elaboração do plano APPCC .....	253
<b>4.4 Conclusões</b> .....	257
<b>Referências</b> .....	258
<b>ANEXOS</b> .....	267



## RESUMO

### **Desenvolvimento do produto de conveniência: tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) refrigerada minimamente processada embalada a vácuo – padronização para a rastreabilidade**

Atualmente, o consumidor está cada vez mais exigente. Além de procurar por produtos que tenham qualidade e conveniência, quer alimentos que sejam seguros do ponto de vista microbiológico e sanitário. Uma alternativa são produtos minimamente processados, que têm valor agregado, são atrativos ao consumidor, e por consequência, aumentam o lucro do produtor (e/ou intermediários), além de satisfazerem os desejos do consumidor de adquirir um produto de fácil e rápido preparo e que também apresente inocuidade, sendo que esta última poderia ser garantida por um certificado de rastreabilidade de toda cadeia produtiva do produto. Um sistema informatizado de rastreabilidade para um produto do pescado brasileiro, além de ser uma ferramenta de extrema necessidade, é uma inovação tecnológica, visto que poucos países no mundo avançam nesta direção. A rastreabilidade dos alimentos se apresenta de forma essencial e inevitável, como consequência de uma série de incidentes relacionados a segurança alimentar, ocorridas pelo mundo todo, durante os quais, os sistemas de informação disponíveis mostraram-se inadequados, ausentes, demorados ou incapazes de assegurar aos consumidores a inocuidade dos produtos. Fica evidente, portanto, que o esforço conjunto dos setores produtivos e do governo para implementar e viabilizar o processo de rastreabilidade é um passo fundamental para garantir ao Brasil uma posição de destaque no cenário internacional do agronegócio. Dessa forma, a presente pesquisa teve como objetivo oferecer subsídios para tornar viável o desenvolvimento de um sistema informatizado de rastreabilidade aplicado à cadeia de produção de tilápia minimamente processada. Sendo assim, pretendeu-se padronizar o produto e o processo de obtenção de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) minimamente processados refrigerados e embalados a vácuo. Para tal, fez-se necessário: determinar as etapas de produção, através do aferimento de todas as etapas envolvidas na cadeia produtiva; e protocolar um padrão de identidade e qualidade para este produto advindo da piscicultura. Esses dados poderão fornecer os parâmetros para possibilitar, em pesquisas futuras, a rastreabilidade do produto, partindo da qualidade da matéria-prima até o alimento embalado para consumo. Este trabalho integra um conjunto de 5 (cinco) subprojetos que compõem o projeto: “Rastreabilidade da cadeia produtiva de pescado cultivado – tilápia (*Oreochromis niloticus*)”, financiado pela FINEP/FUSP, sob o edital Aqüicultura – Ação transversal 12/2005.

Palavras-chave: Rastreabilidade; Tilápia; Minimamente-processado; Padronização; Controle de qualidade



## ABSTRACT

### **Product development for convenience: Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) refrigerated minimally processed shrink-wrap – standardization for traceability**

Currently, the consumer is increasingly demanding. In addition to searching for products with quality and convenience, they search products with standards of hygiene and microbiology. An alternative in the segment of convenient foods is fish minimally processed, which have value added, are attractive to consumers, and consequently, increase the profit of the producer (and/or intermediaries), in addition to meeting the desires of the consumer to purchase a product for easy and fast preparation and also provide safety, and that it could be guaranteed by a certificate of traceability throughout the production chain of the product. A system of traceability for a product of Brazilian fish, besides being a tool of extreme need, is a technological innovation, since few countries in the world are moving towards this direction. The traceability of food is so essential and inevitable, as a result of a series of food safety incidents that occurred throughout the world during which, the information systems available have proved inadequate, absent, or unable to provide lengthy to the safety of consumer products. Therefore, it is evident that mutual efforts from both the government and producers to implement and make a traceability process viable are a critical step forward to grant Brazil a position of reference in the agribusiness international scenario. Thus, the present research aimed to offer basis to provide viability for the development of a computerized traceability process applied to the production chain of tilapia minimally processed. This way, it is aimed to standardize the product and the process to obtain the tilapia (*Oreochromis niloticus*) minimally processed. To do so, it is needed to: determine the phases of production, through the improvement of all steps involved in the production chain and establish quality and identification standards for the product deriving from fish farming. These data may provide the parameters to allow, in future research, the traceability of the product, starting from the raw material to the end wrapped product, including product labeling and also the possible ways to locate its paths along the distribution chain. This plan is part of 5(five) sub-projects which comprise the whole project: “Traceability of production chain of farmed fish – tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, sponsored by FINEP/MCT/SEAP – edital aquaculture – Ação Transversal 12/2005.

Keywords: Traceability; Tilapia; Minimally-processed; Standardization; Quality control



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produção global por captura de <i>Oreochromis niloticus</i> .....	36
Figura 2 – Produção global por aquacultura de <i>Oreochromis niloticus</i> .....	36
Figura 3 – Eventos que ocorrem durante a análise de BVT .....	47
Figura 4 – Tanque-rede .....	75
Figura 5 – Tanques-rede instalados na Fazenda Palmares .....	75
Figura 6 – Tanque de depuração .....	76
Figura 7 – Medição da temperatura .....	78
Figura 8 – Coleta dos peixes do tanque de depuração .....	78
Figura 9 – Pesagem dos lotes .....	79
Figura 10 – Caixa isotérmica para transporte .....	79
Figura 11 – Biometria dos peixes .....	80
Figura 12 – Pesagem dos peixes inteiros .....	80
Figura 13 – Processamento mínimo .....	80
Figura 14 – Fluxograma do processamento mínimo das tilápias .....	81
Figura 15 – Descabeçamento .....	82
Figura 16 – Despeliculamento .....	82
Figura 17 – Filetagem .....	82
Figura 18 – Incubação em caldo Verde Brilhante (VB) .....	86
Figura 19 – Correlação entre a temperatura do tanque de depuração e a perda de peso dos peixes (%) .....	92
Figura 20 – Bases Nitrogenadas Voláteis Totais em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias) .....	97
Figura 21 – Correlação entre os valores médios de pH e Bases Nitrogenadas Voláteis Totais ....	98
Figura 22 – Correlação entre os valores de pH e as contagens para microrganismos psicrotróficos.....	102
Figura 23 – Contagem de microrganismos <i>S. aureus</i> coagulase positivo (log UFC/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias) .....	105
Figura 24 – Contagem de microrganismos Clostrídios sulfito redutores (log UFC/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias) .....	106
Figura 25 – Notas dos provadores para o teste de análise sensorial (médias) .....	110

Figura 26 – Filés de tilápia minimamente processados em bandejas de isopor cobertas com filme plástico .....	122
Figura 27 – Preparo da solução de ácido acético 1 % .....	123
Figura 28 – Filés imersos em solução de ácido acético 1 % .....	123
Figura 29 – Drenagem dos filés para perda do excesso de umidade .....	124
Figura 30 – Embalamento dos filés .....	124
Figura 31 – Fluxograma de obtenção de filés de tilápia minimamente processados .....	126
Figura 32 – Armazenamento refrigerado e monitorado das amostras .....	127
Figura 33 – Homogeneização das amostras para análise .....	128
Figura 34 – Correlação entre Temp. do tanque de depuração e perda de peso (%) dos peixes....	133
Figura 35 – Rendimento em filés com relação ao peso do peixe inteiro .....	137
Figura 36 – Valores para pH nos diferentes tratamentos (médias) .....	138
Figura 37 – Valores de pH nos dias de armazenamento (médias) .....	139
Figura 38 – Regressão linear para os dados de pH nos dias de armazenamento.....	140
Figura 39 – Valores de pH para os diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento .....	141
Figura 40 – Valores obtidos para BNVT nos diferentes tratamentos realizados (médias).....	142
Figura 41 – Valores obtidos para BNVT nos dias de armazenamento (médias) .....	142
Figura 42 – Correlação entre os valores médios obtidos para pH e Bases Voláteis Totais.....	145
Figura 43 – Contagem de microrganismos mesófilos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos (médias) .....	149
Figura 44 – Contagem de microrganismos mesófilos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos ao longo de 21 dias de armazenamento (médias) .....	151
Figura 45 – Regressão linear simples para microrganismos mesófilos e tempo de armazenamento .....	152
Figura 46 – Contagem de microrganismos psicotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos (médias) .....	154
Figura 47 – Contagem de microrganismos psicotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos ao longo do tempo de armazenamento (médias) .....	155



Figura 48 – Contagem de microrganismos psicrotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento (médias).....	155
Figura 49 – Regressão linear simples para microrganismos psicrotróficos e tempo de armazenamento .....	157
Figura 50 – Correlação entre BNVT e contagem de microrganismos psicrotróficos .....	157
Figura 51 – Notas dos provadores para diferentes atributos avaliados em amostras de filés minimamente processados submetidos a diferentes tratamentos (média) .....	164
Figura 52 – Notas dos provadores para diferentes atributos avaliados em amostras de filés minimamente processados ao longo do período de armazenamento (médias) .....	164
Figura 53 – Filés avaliados no tempo de 1 dia de armazenamento .....	165
Figura 54 – Filés avaliados no tempo de 21 dias de armazenamento .....	166
Figura 55 – Fluxograma de obtenção de filés de tilápia minimamente processados .....	187
Figura 56 – Protótipo da embalagem para filés de tilápia minimamente processados .....	191
Figura 57 – Embalamento dos filés para o teste de aceitabilidade do produto .....	191
Figura 58 – Produto final – filés de tilápia minimamente processados, embalados a vácuo e refrigerados .....	192
Figura 59 – Consumidores sendo entrevistados .....	192
Figura 60 – Armazenamento do produto submetido à avaliação sensorial .....	193
Figura 61 – Proveedor realizando a análise sensorial de vida útil .....	194
Figura 62 – Apresentação das amostras para avaliação sensorial de vida útil .....	194
Figura 63 – Valores encontrados para pH nos diferentes tratamentos ao longo do período de armazenamento (médias) .....	200
Figura 64 – Valores obtidos para BNVT nos diferentes tratamentos realizados (média).....	202
Figura 65 – Valores obtidos para BNVT nos diferentes tratamentos realizados ao longo do período de armazenamento .....	203
Figura 66 – Contagem de microrganismos mesófilos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos ao longo de 28 dias de armazenamento (médias).....	208
Figura 67 – Correlação entre os valores obtidos para BNVT e a contagem de microrganismos mesófilos (log UFC/g) .....	209

Figura 68 – Contagem de microrganismos psicrotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos ao armazenamento (médias) .....	210
Figura 69 – Contagem de microrganismos psicrotróficos (log UFC/g) em amostras do tratamento MP e CN, ao longo do período de armazenamento .....	211
Figura 70 – Correlação entre BNVT e microrganismos psicrotróficos (log UFC/g) .....	213
Figura 71 – Porcentagem estratificada da opinião dos consumidores sobre a embalagem, com relação à aparência geral .....	218
Figura 72 – Porcentagem estratificada dos consumidores para opinião sobre a embalagem, com relação à quantidade de produto a ser comercializado .....	219
Figura 73 – Porcentagem estratificada dos consumidores quanto a cor do produto .....	220
Figura 74 – Porcentagem estratificada da opinião dos consumidores quanto à disponibilidade de compra do produto .....	222
Figura 75 – Porcentagem estratificada dos consumidores quanto a disponibilidade de compra caso o produto fosse mais caro que os semelhantes .....	222
Figura 76 – Variação da cor característica de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento .....	226
Figura 77 – Variação do líquido exudado de de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento .....	227
Figura 78 – Variação da impressão global da aparência de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento .....	228
Figura 79 – Variação do aroma característico de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento .....	229
Figura 80 – Diagrama operacional da produção de filés de tilápia minimamente processados com seus respectivos PC's (pontos de contaminação) e PCC's (pontos críticos de controle).....	248
Figura 81 – Quadro do Plano APPCC – Filés de tilápia minimamente processados, embalados à vácuo e armazenados sob refrigeração .....	254

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Teores de aminoácidos (calculados em 100g de proteína) .....	32
Tabela 2 – Produtores mundiais de tilápias em 2006 .....	34
Tabela 3 – Produção brasileira de tilápias por Estado em 2004 .....	35
Tabela 4 – Perda de peso (desvio padrão) dos peixes nos tratamentos de depuração .....	89
Tabela 5 – Temperaturas (°C) ( $\pm$ desvio padrão) medidas nos dias de coleta .....	91
Tabela 6 – Temperaturas ( $\pm$ desvio padrão) durante o transporte das amostras .....	92
Tabela 7 – Medidas (cm) biométricas realizadas durante o processamento (médias) .....	93
Tabela 8 – Peso (g) dos peixes e filés (médias) .....	94
Tabela 9 – Valores de pH ( $\pm$ desvio padrão) obtidos nas amostras dos diferentes tratamentos (médias) .....	96
Tabela 10 – Composição centesimal em g/100g ( $\pm$ desvio padrão) e valor calórico dos filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos de depuração (médias) .....	99
Tabela 11 – Contagem de microrganismos psicotróficos (UFC/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração .....	101
Tabela 12 – Contagem de coliformes totais (NMP/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias) .....	103
Tabela 13 – Contagem de <i>E.coli</i> (NMP/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias) .....	104
Tabela 14 – Notas dos provadores ( $\pm$ desvio padrão) para o teste de análise sensorial em função dos tempos de depuração (médias) .....	108
Tabela 15 – Temperaturas (°C) e umidade relativa do ambiente (%) obtidas nas coletas .....	132
Tabela 16 – Medições ( $\pm$ desvio padrão) biométricas realizadas durante o processamento .....	136
Tabela 17 – Composição centesimal ( $\pm$ desvio padrão) e valor calórico dos filés de tilápias submetidas a diferentes tratamentos (médias) .....	146
Tabela 18 – Composição centesimal (média em g/100 g) dos filés de tilápias submetidas a diferentes tratamentos ao longo do período de armazenamento .....	147
Tabela 19 – Contagem de microrganismos mesófilos (UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos .....	148

Tabela 20 – Contagem de microrganismos mesófilos (UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos .....	153
Tabela 21 – Contagem de coliformes totais (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento .....	158
Tabela 22 – Contagem de <i>E.coli</i> (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento .....	159
Tabela 23 – Respostas (%) quanto à decisão de compra dos provadores .....	169
Tabela 24 – Respostas (%) quanto a decisão de compra dos provadores, com relação ao preço do produto .....	171
Tabela 25 – Termos mais freqüentes nas respostas dos provadores com relação a decisão de compra do produto .....	172
Tabela 26 – Termos mais freqüentes nas respostas dos provadores com relação a decisão de compra do produto influenciada pelo preço .....	173
Tabela 27 – Composição centesimal média (em g/100g) dos filés de tilápias submetidas a diferentes tratamentos .....	206
Tabela 28 – Contagem de coliformes totais (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento .....	214
Tabela 29 – Contagem de <i>E.coli</i> (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento.....	215
Tabela 30 – Termos mais citados pelos consumidores entrevistados .....	220
Tabela 31 – Atributos sensoriais <sup>§</sup> de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) durante o armazenamento .....	223
Tabela 32 – Valores médios dos atributos sensoriais <sup>§</sup> de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) durante o armazenamento .....	224
Tabela 33 – Conteúdo máximo de metais transição .....	238
Tabela 34 – Plano de amostragem do Codex .....	242
Tabela 35 – Identificação dos principais perigos e suas naturezas .....	247

# **1 DESENVOLVIMENTO DO PRODUTO DE CONVENIÊNCIA: TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) REFRIGERADA MINIMAMENTE PROCESSADA EMBALADA A VÁCUO – PADRONIZAÇÃO PARA A RASTREABILIDADE**

## **1.1 Introdução**

Com seus 8 mil quilômetros de litoral e abrigando um quinto da água doce do planeta em seu território, o Brasil é, sem dúvida, absolutamente privilegiado em recursos hídricos. Esse potencial, aliado às suas diversificadas condições climáticas, torna o país ideal para a pesca e gera um importante comércio internacional de lagostas, camarões e peixes (MORENO, 2004).

A pesca extrativa, entretanto, tem se tornado cada vez mais escassa, devido ao extrativismo descontrolado de épocas passadas e a poluição das águas, que acabaram diminuindo o potencial de produção dos mares e rios para diversas espécies. Cada vez mais, esse tipo de pesca só tem tido grande êxito em águas mais profundas, com embarcações modernas que podem ficar dias em alto mar, oriundas de grandes indústrias pesqueiras (pesca industrial). Para os pequenos pescadores (pesca artesanal) resta contentar-se com a baixa produtividade de suas atividades pesqueiras de águas rasas ou partir para opção do pescado cultivado (MATHIA; BAEZ, 2003).

Segundo Oetterer (2002), o Brasil tem potencial para se tornar um dos maiores produtores de pescado cultivado do mundo, isso devido à existência de água disponível para o cultivo, disponibilidade de grãos como a soja e o milho para produção de rações, o clima tropical, o crescente aumento da população de consumidores em relação à diminuição da disponibilidade do recurso e o fato do Brasil ter uma das maiores e mais diversificadas fauna de água doce do mundo.

O consumo de pescado tem aumentado, o que é importante não apenas em termos de mudança de hábitos alimentares, mas também pelo valor nutricional desse alimento, rico em proteína, fonte de aminoácidos essenciais, de ácidos graxos polinsaturados, além de vitaminas e minerais. No entanto, sua estrutura muscular tenra o torna muito perecível, podendo sofrer alterações de natureza física, química e microbiológica, refletindo em sua cor, consistência, odor e sabor. Essas alterações levam o consumidor a rejeitar o produto. Uma manipulação adequada e higiênica, desde o cultivo e a despesca até o consumo, pode evitar a deterioração e garantir a qualidade. Segundo Oetterer e Galvão (2005), é crescente no comércio mundial de alimentos a

demanda por atributos além da segurança e qualidade sensorial, tais como, produção com responsabilidade social, respeito ao meio-ambiente e bem-estar animal.

Nota-se uma maior busca por produtos de conveniência, de fácil preparo motivada pelo novo estilo de vida e ainda, a invasão das prateleiras de supermercados por produtos importados de alta qualidade e diversificação. Assim, o consumidor passa a se utilizar cada vez mais dos produtos que preenchem características de conveniência ou fácil preparo, higienicamente corretos e ainda de alto valor nutricional (OETTERER, 2002).

O pescado minimamente processado é uma nova opção, desde os anos noventa, que tem surgido no mercado de alimentos de conveniência. Ele é vendido no Estado de São Paulo nas formas *in natura* ou no estado de fresco, eviscerado, processados na forma de filés e mantidos no gelo e em câmaras frigoríficas. O pescado também pode ser disponível ao consumidor, processado na forma de filés congelados ou postas em embalagens plásticas e/ou caixas de papelão parafinado, mantidos em câmaras para estocagem congelada. Em menor escala, há produtos defumados e “polpa” congelada (OETTERER, 2002).

Os produtos com diferenciais de qualidade devem, necessariamente, assegurar a confiança do consumidor, por meio de sistemas formais, como certificação, identificação de origem e rastreabilidade. Isso quer dizer que a discussão deste tema é de importância estratégica para todos os elos da cadeia do agronegócio, inclusive para os elos de distribuição e varejo (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005).

A rastreabilidade se tornou expressão corrente, como consequência de uma série de incidentes de segurança dos alimentos, durante os quais, os sistemas de informação disponíveis mostraram-se inadequados, ausentes, demorados ou incapazes de assegurar aos consumidores a inocuidade dos produtos (CONFERÊNCIA..., 2004).

Preservando a identidade de atributos favoráveis ao longo da cadeia alimentícia, produtores de pescado podem prover garantia de qualidade que contribuem positivamente à reputação do seu empreendimento. A rastreabilidade também pode fornecer informações aos consumidores sobre a sustentabilidade do recurso, uma vez que este tipo de preocupação, não relacionada à segurança do alimento, está ganhando importância nas cadeias de produtos agropecuários. A segurança dos alimentos tornou-se então, um dos temas mais críticos e prioritários na cadeia de abastecimento do pescado. Contudo, um sistema de rastreabilidade eficiente com custos aceitáveis deve identificar, com precisão, qualquer problema de segurança

alimentar relativo a uma origem geográfica específica, a uma unidade de abate ou de processamento, até em nível de um navio ou de um lote de pescado (EAN BRASIL, 2003).

Fica evidente, portanto, que o esforço conjunto dos setores produtivos, da pesquisa (universidades) e do governo para implementar e viabilizar o processo de rastreabilidade é um passo fundamental para garantir ao Brasil uma posição de destaque no cenário internacional do agronegócio.

## **1.2 Revisão Bibliográfica**

### **1.2.1 Produção mundial e nacional do pescado**

A produção mundial de pescado (peixes, crustáceos, moluscos entre outros, exceto plantas aquáticas) em 2006 foi de 143.647.650 t, sendo que deste total, 51.653.329 t foram provenientes da aquicultura e 91.994.321 t da pesca de captura (extrativismo). Do total da produção de captura, 10.063.683 t foram provenientes de águas continentais e 81.930.638 t de águas marinhas. Nesse mesmo ano, o Brasil apresentou uma produção total de 1.050.809 t, sendo 779.113 t proveniente da captura e 271.696 t da aquicultura (SOFIA, 2009; FAO, 2008).

Do total mundial produzido no ano de 2006, 76,8 % foi utilizado para consumo humano (37,3 % na forma de produtos frescos, 19,9 % de congelados, 8,3% de curados e 11,3 % em conservas) e 23,2 % para outros fins (FAO, 2008).

O mercado mundial de pescado proveniente da aquicultura movimentou em 2006 o equivalente a US\$ 78.758.387,00 dentre os quais, a participação brasileira foi de apenas US\$ 468.685,00, equivalente a uma produção de 271.696 t. Produção esta, muito distante das 34.429.122 t da China, principal produtor (aquicultura) de pescado de nossa atualidade, que movimentou, nesse ano, cerca de US\$ 38.422.593,00. Entretanto, esse valor da produção de pescado proveniente da aquicultura brasileira em 2006 foi mais do que o dobro da apresentada em 1997, que era de 87.674 t, e que movimentou cerca de US\$ 137.884,00 (SOFIA, 2009; FAO, 2008).

A atividade pesqueira no Brasil, no ano de 2002, reunia cerca de 237,869 mil pescadores registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). De acordo com o Registro Geral da Pesca (RGP), a maior parte está no Pará, com 36,712 mil pescadores, seguido da Bahia, com 25,722 mil, e São Paulo, com 25,295 mil (MATHIAS; BAEZ, 2003).

O Brasil possui cerca de três mil espécies, de peixes de água doce catalogadas, sendo que quase a metade se encontra nas águas do rio Amazonas e seus afluentes. Com sabor e textura especiais, alguns desses peixes são muito consumidos internamente e no exterior - como é o caso da tilápia (*Oreochromis* spp.), do pirarucu (*Arapaima gigas*), do dourado (*Salminus brasiliensis*), do surubim (*Pseudoplatystoma* spp.) e do tambaqui (*Colossoma macropomum*) (MORENO, 2004).

As técnicas de cultivo das principais espécies já estão bem assimiladas, há recursos e insumos suficientes para atingir escalas ainda maiores de produção. No entanto, para que isso aconteça o setor tem que consolidar sua competência para ampliar os mercados, ofertando produtos de alta qualidade, saudáveis e seguros. É fundamental que os empreendedores (produtores, processadores e comerciantes) reconheçam a percepção da qualidade dos produtos de pescado demandada por cada nicho de mercado, de forma a serem capazes de atender e, mesmo, superar as expectativas do consumidor final, (KUBITZA, 1999).

### **1.2.2 Consumo de pescado e sua importância na dieta humana**

Segundo os dados do *Yearbook - Fishery and Aquaculture Statistics* da FAO de 2008, referente ao ano de 2006, a produção média mundial de pescado e produtos de pesca entre os anos de 2003 a 2005 foi de 138.453.895 t (em peso vivo). Sendo que deste total, 33.981.448 t foram destinadas a usos não alimentares e 105.419.744 t foram disponibilizados para usos alimentares. Levando-se em consideração a média da população mundial existente entre esses anos, teve-se um consumo *per capita* de 16,4 kg de pescado por ano. Entretanto, observou-se uma diferença significativa entre os valores *per capita* consumidos quando algumas classificações foram analisadas, como por exemplo, verificou-se um consumo 23,9 Kg de pescado/pessoa/ano em países ou áreas desenvolvidas; 27,3 Kg em países industrializados; 11,9 Kg em países com economias em transição; 14,4 Kg em países ou áreas em desenvolvimento; e 13,8 Kg em países de baixa renda com falta de alimentos. A América do Sul se enquadrou em um consumo de 8,5 Kg *per capita* e o Brasil com apenas 6 Kg (FAO, 2008). Valor este muito menor do que os 36,5 quilos de carne bovina consumidos por ano pelos brasileiros (EMBRAPA, 2003).

Segundo Oetterer (1991), o baixo consumo ou o hábito do brasileiro em consumir pouco pescado, está ligado à comercialização mal feita, que já vem sendo praticada há anos. O produtor não tem incentivo para colocar no mercado um produto de melhor qualidade que será mais



oneroso, e que precisará de propaganda para sua divulgação. O consumidor, por sua vez, não se empenha em exigir melhores condições de um produto já desacreditado no mercado.

Entretanto, o pescado é consumido principalmente como fonte de proteína, tanto em alimentação humana como na alimentação animal. O músculo de pescado é composto de proteínas de elevado valor nutritivo por conter alta proporção de aminoácidos essenciais, particularmente aqueles aminoácidos essenciais que são limitantes em proteínas de origem vegetal (SGARBIERI, 1996).

A percentagem comestível do pescado oscila entre 47 a 60 % variando segunda a espécie. Seu espectro de aminoácidos é completo. A digestibilidade das proteínas é muito alta, cerca de 90-95%, superando a carne bovina, que atinge valores ao redor de 90% (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; RUITER, 1995; MORETTO et al., 2002; OETTERER, 2006).

Segundo Crawford (1985) e Oetterer (2006), com relação à quantidade e à qualidade das proteínas do pescado, pode-se dizer que essa carne é excelente fonte protéica; considerando uma variação entre as espécies, o teor é sempre alto, de ordem de 15 % a 25 %. O pescado apresenta todos os aminoácidos essenciais, tem alto teor de lisina, aminoácido *starter* do processo digestivo e necessário na dieta brasileira à base de arroz. O valor biológico é próximo de 100, determinado pela alta absorção dos aminoácidos essenciais.

A porcentagem coberta de aminoácidos na dieta quando consumimos 200 g de filé de peixe é maior do que 100 % para cinco dos aminoácidos essenciais. Um peixe leva mais ou menos 2 horas para ser digerido. A carne de pescado estimula mais a secreção gástrica do que a carne bovina. Tem baixo teor de tecido conectivo o que facilita a mastigação. A digestibilidade média é de 96 %, sendo para aves 90 % e para bovinos 87 %. Os aminoácidos isoleucina e lisina iniciam a digestão. Em dietas pobres nestes aminoácidos os peixes exercem especial significância. Se a digestibilidade é alta, conseqüentemente o valor biológico da proteína é alto. O valor biológico da proteína de peixes varia de 88 a 100 (OETTERER, 1985).

Em um estudo realizado por Terroine, em 1933, constatou-se que o valor biológico, mensurado no homem, de peixes *haddock* é de 103; bacalhau, 88; carne bovina, 104; leite, 99; e caseína, 66 (BORGSTROM, 1962).

De acordo com Crawford (1985), é recomendado que cerca de um terço de todas as proteínas consumidas por dia seja de origem animal, a fim de se assegurar o fornecimento de todas as substâncias necessárias à formação e construção dos tecidos do corpo humano. Sendo

assim, uma porção de 100 gramas de peixe meio-gordo é suficiente para fornecer a quota diária de proteína animal.

Na Tabela 1, segundo Borgstrom (1962), observa-se uma comparação dos teores de aminoácidos de vários alimentos incluindo os teores em pescado.

Tabela 1 – Teores de aminoácidos (calculados em 100 g de proteína)

<b>Aminoácidos</b>	<b>Amendoim</b>	<b>Arroz</b>	<b>Pescado</b>	<b>Leite</b>	<b>Ovos</b>
Arginina	9,95	4,7	8,27	3,5	6,4
Cistina	1,6	1,25	-	0,7	2,4
Histidina	2,1	2,10	2,63	2,4	2,1
Isoleucina	3,0	4,30	6,0	6,6	8,0
Leucina	7,0	17,4	9,72	11,8	9,2
Lisina	3,0	2,6	9,72	8,1	7,2
Metionina	1,15	2,6	2,63	2,2	4,1
Fenilalanina	5,2	4,9	4,45	4,6	6,3
Treonina	1,95	4,9	5,19	4,8	4,9
Triptofano	0,95	2,3	0,81	1,4	1,5
Tirosina	4,4	2,0	2,54	6,2	4,5
Valina	8,0	5,65	6,54	-	7,3

Fonte: Borgstrom (1962)

O músculo do pescado pode conter de 60 a 85 % de umidade, 1 a 2 % de cinza, 0,3 a 1 % de carboidrato e 0,6 a 36 % de lipídeos, sendo que este último componente apresenta essa variação em vista do tipo de músculo corporal analisado e espécie de peixe, sexo, idade, época do ano, *habitat* e dieta fornecida aos mesmos (DEAN, 1990; OGAWA; MAIA, 1999).

A carne de pescado é recomendada como fonte de proteínas de alto valor biológico e o pescado inteiro em forma de farinha como fonte de cálcio e fósforo. Há também recomendação de ingestão devido ao baixo colesterol e alto teor de ácidos graxos insaturados para dietas de pacientes que sofrem das doenças coronárias. Indiscutivelmente o primeiro ponto a considerar em termos de valor nutritivo do pescado é o referente à proteína (OETTERER, 1985).

As vantagens do pescado com relação à carne bovina são principalmente o baixo teor e a qualidade da gordura. Os peixes, principalmente aqueles que vivem em águas frias, são ricos em gorduras insaturadas e poliinsaturadas e contêm pouquíssimo colesterol. Sabe-se que o consumo dessas gorduras é extremamente importante para prevenção de doenças cardiovasculares devido a grande quantidade de Ômega 3 (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Os ácidos graxos poliinsaturados, destacando as séries ômega 3 e 6, são encontrados em peixes de água fria (salmão – *Salmo sala*, atum – *Thunnus spp.*, sardinha – *Sardinella*

*brasiliensis*, bacalhau – *Cod gadus morhua*). Os principais ácidos graxos da família ômega 3 são o alfa-linolênico, o eicosapentanóico-EPA e o docosa-hexanóico-DHA. Os ácidos graxos da família ômega 6 mais importantes são o linoléico e o araquidônico (PIMENTEL; FRANCKI; GOLLÜCKE, 2005).

O valor biológico das gorduras é importante na prevenção do ateroma (FERRETTI et al, 1994; OSSA 1995), devido à presença de grande número de ácidos graxos poliinsaturados, além dos ácidos palmitoléico, linoléico, linolênico e araquidônico.

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a ingestão de pescado regularmente na dieta tem efeito favorável sobre os níveis de triglicérides, pressão sanguínea, mecanismo de coagulação e ritmo cardíaco, na prevenção do câncer (mama, próstata e cólon) e redução da incidência de arteriosclerose (SOUZA; SOUZA NETO; MAIA, 2003).

Além dessas vantagens com relação ao perfil lipídico, a carne de pescado tem uma grande quantidade de proteínas, e muitas vitaminas, principalmente do complexo B, vitamina A e D. Os minerais também estão presentes como sódio, ferro, potássio, magnésio, cobre, enxofre, fósforo e iodo (PIBER NETO, 2007).

O peixe na alimentação auxilia na perda de peso e controle dos níveis de colesterol no sangue. A questão dos peixes, principalmente os de águas frias, serem ricos em ômega-3, é um aspecto nutricional importante quando são considerados os hábitos da população contemporânea como sedentarismo, consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas e açúcares. Tais hábitos estão relacionados à obesidade, hipertensão, e doenças cardiovasculares. (YOKOYAMA, 2007)

Outros benefícios foram pesquisados como redução de risco de depressão pós-parto e mudanças de humor. O DHA favorece o desenvolvimento do sistema nervoso central em crianças. O leite materno é rico em Omega 3, EPA e DHA (desde que a mãe ingira alimentos fontes de Omega 3), que são usados para reduzir os sintomas da dislexia, desordens de hiperatividade e outras desordens de aprendizagem das crianças. Além disso, os benefícios para adultos incluem, redução dos riscos de depressão, de agressão esquizofrênica, da hipertensão arterial, doenças inflamatórias, artrite reumatóide, doença inflamatória intestinal e asma. (DENARDI, 2007).

### 1.2.3 A tilápia como matéria-prima

O cultivo de tilápias em cativeiro remonta à Idade Antiga. Há registros históricos de cultivo destes peixes em tanques para posterior consumo pelos egípcios dois mil anos antes de Cristo. No entanto, o crescimento da atividade intensificou-se somente no século XX. A China, que possui tradição milenar em aquicultura, é atualmente o maior produtor de tilápia cultivada do mundo (Tabela 2), tendo incrementado a exploração desta atividade a partir da década de 1970 (FIGUEIREDO JÚNIOR; VALENTE JÚNIOR, 2008).

Tabela 2 – Produtores mundiais de tilápias em 2006

<b>País</b>	<b>Produção (t)</b>
China	897.276
Egito	199.078
Filipinas	145.869
Indonésia	139.651
Tailândia	97.653
Taiwan	89.275
Brasil	69.078

Fonte: Figueiredo Júnior e Valente Júnior (2008)

A tilapicultura firmou-se como atividade empresarial a partir da década de 1980, quando surgiram os empreendimentos pioneiros. Estes foram inicialmente limitados por vários tipos de restrições, como falta de pesquisas, conhecimento incipiente das técnicas de cultivo, inexistência de rações adequadas e baixa qualidade dos alevinos, entre outras. O Paraná foi o primeiro estado brasileiro a organizar de forma racional a atividade, inclusive com a implantação de frigoríficos especializados em beneficiamento de tilápia, com destaque para os municípios de Toledo e Assis Chateaubriand (FIGUEIREDO JÚNIOR; VALENTE JÚNIOR, 2008).

Na década de 1990 surgiram as primeiras pesquisas de manejo e as rações experimentaram sensível evolução, atendendo às especificidades da espécie. Neste período, outros estados, além do Paraná, passaram a adotar o cultivo de tilápias, como foi o caso de Santa Catarina, São Paulo, Bahia, Alagoas e Sergipe. Alguns destes passaram a se interessar pela tilápia atraídos pela popularização da atividade de “pesquepague”, praticada em estabelecimentos onde o cliente pode combinar a pesca em tanques com a preparação e consumo do peixe em restaurantes instalados no local. Em 2004 o Ceará consolidou a sua liderança como produtor de tilápia, aumentando para 18.000 t sua produção, distanciando-se ainda mais do segundo produtor,

ao produzir 6.000 t a mais que o Paraná (que no ano citado produziu apenas 11.922 t), como mostra a Tabela 3 (FIGUEIREDO JÚNIOR; VALENTE JÚNIOR, 2008).

Tabela 3 – Produção brasileira de tilápias por Estado em 2004

<b>Estado</b>	<b>Produção (t)</b>	<b>%</b>
Ceará	18.000	26,1
Paraná	11.922	17,3
São Paulo	9.758	14,1
Bahia	7.137	10,3
Santa Catarina	7.121	10,3
Goiás	3.928	5,7
Rio Grande do Sul	2.094	3,0
Minas Gerais	2.093	3,0
Alagoas	1.944	2,8
Mato Grosso do Sul	1.925	2,8
Outros	3.156	4,6
<b>Total</b>	<b>69.078</b>	<b>100,0</b>

Fonte: Figueiredo Júnior e Valente Júnior (2008)

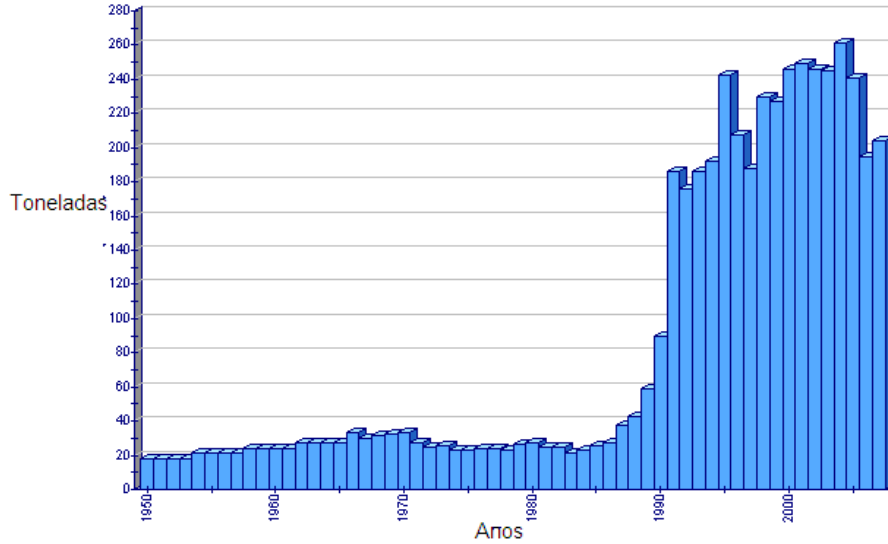
De acordo com Fitzsimmons (2000), o cultivo de tilápias se encontra amplamente distribuído no mundo, podendo atingir uma produção mundial de 1.500.000 t em 2010. Por ser considerada de grande importância para a aquicultura mundial, vêm sendo bastante indicada para o cultivo intensivo.

Essa estimativa, entretanto, já foi superada em 2006, quando foi constatado uma produção mundial de tilápias (*Oreochromis niloticus*) de 1.988.726 t, movimentando cerca de US\$ 2.220.314,00 no mercado mundial (FAO, 2008).

Atualmente, são reconhecidas mais de 70 espécies de tilápias, sendo a grande maioria originária da África. No entanto, apenas quatro conquistaram destaque na aquicultura mundial, todas elas do gênero *Oreochromis*: a tilápia do Nilo – *Oreochromis niloticus*; a tilápia de Moçambique – *Oreochromis mossambicus*; a tilápia azul ou áurea – *Oreochromis aureus*; e a tilápia de Zanzibar – *Oreochromis urolepis hornorum* (KUBITZA, 2000).

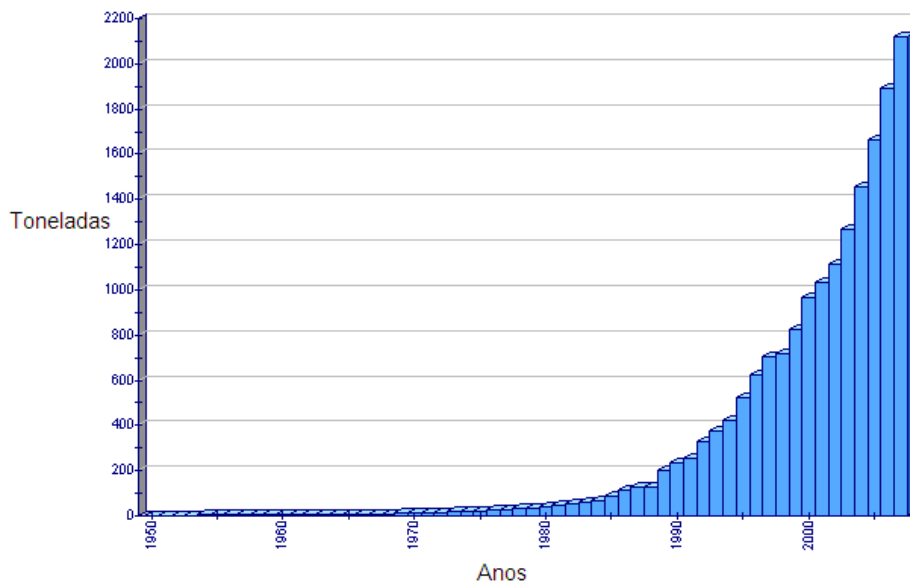
Segundo dados da FAO, para espécie *Oreochromis niloticus* há uma diferença de estabilidade do total de produção proveniente da captura e da aquicultura nos últimos anos. Na Figura 1, percebe-se que no total global de produção de captura para essa espécie há uma instabilidade variando de 18.000 t no ano de 1950 a 203.836 t no ano de 2007, com um aumento expressivo nos anos de 1995 (242.173 t) e de 2000 a 2005 (cerca de 240.000 t). Já para a

produção proveniente da aquicultura, observa-se que há um aumento contínuo do total global produzido, ou seja, 1.590 t em 1995 e 2.121.009 t no ano de 2007 (Figura 2) (FAO, 2009).



Fonte: FAO (2009)

Figura 1 – Produção global por captura de *Oreochromis niloticus*



Fonte: FAO (2009)

Figura 2 – Produção global por aquicultura de *Oreochromis niloticus*

Estima-se que no período de 1996 a 2005, a produção de tilápias no Brasil cresceu em média 23% ao ano. A produção brasileira de 2005 ultrapassou a produção conjunta dos principais países exportadores de filé fresco de tilápia para o mercado americano (Equador, Honduras, Costa Rica e Colômbia). O que mais chama a atenção é que tamanho nível de produção – que foi quase todo absorvido pelo mercado interno – foi comercializado praticamente sem esforço de marketing que divulgasse o peixe e seus produtos (FIGUEIREDO JÚNIOR; VALENTE JÚNIOR, 2008).

Segundo Freitas e Gurgel (1984) e Oetterer (2002), a tilápia é uma espécie resistente ao manuseio e transporte, de arraçoamento fácil e econômico, crescimento rápido e resistente a baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água, além de apresentar carne de sabor apreciado e com poucas “espinhas”.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com aproximadamente 37 % de porção comestível, é atualmente a espécie de maior volume de produção da piscicultura, com produção estável e aceitação por parte do consumidor. Vem sendo comercializada nos Estados Unidos na forma de filés resfriados e congelados com preço de mercado competitivo. É um peixe de águas paradas, rústico, apresenta alta taxa de prolificidade, é tipicamente herbívoro e sua carne é de sabor agradável. Apresenta pouca susceptibilidade a doenças parasitárias, alto teor de domesticidade e grande precocidade. Sua introdução na aquicultura nacional é promissora, além de ser a espécie mais difundida e recomendada para a criação intensiva em tanques e açudes (BARD, 1980; CASTAGNOLLI, 1992; VAZ; PARREIRA, [1999-].

A tolerância da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) ao frio é intermediária ao observado para a tilápia azul (*Oreochromis aureus*) (mais tolerante de todas) e a tilápia de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*). As temperaturas mínimas letais variam de 8 a 13°C dependendo da adaptação. Com relação à temperatura máxima letal para a tilápia do Nilo, esta pode variar de 38 a 44 °C, quando aclimatadas em temperaturas de 15 a 35°C, respectivamente. Quanto mais próxima for à temperatura de aclimação dos peixes das temperaturas extremas, maior será a tolerância dos peixes ao frio e ao calor (KUBITZA, 2000).

Segundo Gurgel e Freitas (1972), a utilização de tilápias é uma boa opção, pois são peixes resistentes a doenças e apresentam tolerância às variações de temperatura e às condições de

baixas concentrações de oxigênio na água; possuem um crescimento rápido, se reproduzem muito bem em condições de cultivo e têm boa aceitação como alimentos preparados.

Segundo Vannuccini (1999), a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tem sido considerada “o novo pescado branco”. Os requisitos típicos dos peixes preferidos pelo mercado consumidor, tais como carne branca de textura firme e sabor delicado, de fácil filetagem, ausência de espinhas em “Y”, além das características produtivas, colocam a tilápia entre as principais espécies cultivadas comercialmente (JORY; ALCESTE; CABRERA, 2000).

#### **1.2.4 A influência do *off-flavor* na aquicultura e seu impacto econômico**

Sabe-se que os peixes, tanto de água salgada como os de água doce, são muito suscetíveis à absorção de substâncias químicas presentes em seu ambiente. Porém, nota-se que essa absorção é mais acentuada em pescado de água doce, porque a água contendo as substâncias odoríferas passa diretamente através de suas guelras, enquanto em pescado de água salgada a transmissão de odores é muito mais lenta, devido à menor permeabilidade das mesmas (REINECCIUS, 1979).

O *off-flavor* caracteriza-se pela presença de diferentes aromas nos peixes designados popularmente como o de “algas” (por associação), “barro”, “gerânio”, “violeta”, “inseticida”, “remédio”, “formol”, “mofo”, “esgoto” e outros. Embora não tendo efeitos negativos em termos de saúde pública, essas alterações no pescado diminuem a aceitação do mesmo para o consumo (PÁDUA, 1994).

A eutrofização das águas cultivadas traz problemas sócio-econômicos cada vez mais preocupantes e evidentes, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde em geral não existe uma legislação específica e os próprios aquicultores não estão sensibilizados pelos problemas gerados nesta esfera da atividade aquícola. Especificamente, o problema crescente da ocorrência de *off-flavor* em peixes cultivados pode ser mais um fator limitante para o desenvolvimento da aquicultura mundial (BIATO, 2005). Segundo Boyd (1998) todo o empreendimento aquícola pode ser inviabilizado em função da baixa qualidade da água para o abastecimento do cultivo e a ocorrência de determinados tipos de *off-flavor* relacionados à eutrofização.

No Brasil, até há pouco tempo, os piscicultores não se preocupavam com a qualidade do peixe produzido. A produção era voltada quase que exclusivamente para atender à demanda de pescueiros, que apenas faziam exigências quanto à entrega do peixe vivo, em boas condições, e visualmente isentos de doenças e parasitos. Com o atual declínio econômico da pesca recreativa e



a necessidade crescente da industrialização, espera-se que se estabeleçam novos parâmetros que contemplem as exigências do mercado varejista e dos consumidores quanto à qualidade dos produtos de pescado, em especial o frescor e a padronização quanto ao sabor, textura, e coloração da matéria-prima. (KUBITZA, 2000). Os produtores que não se adequarem a essa nova condição, sofrerão com a perda de competitividade e espaço.

O sabor indesejável em peixes associado ao uso de rações comerciais é raramente observado. A maioria dos grãos, farelos e farinhas de origem animal e vegetal usados nas rações não alteram o sabor e odor dos filés de peixes de maneira detectável pelos consumidores, embora possam causar diferenças na pigmentação (coloração) e textura da carne, dependendo do tipo de ingrediente utilizado e do seu nível de inclusão nas rações. A ocorrência de *off-flavor* é mais freqüente em peixes cultivados intensivamente em viveiros, onde os altos níveis de arraçoamento, e conseqüente acúmulo de nutrientes favorece a intensa proliferação de cianobactérias (*Oscillatoria spp*, *Anabaena spp* e *Simploca spp*). Estes organismos são responsáveis pela produção de geosmina (GEO), associadas ao sabor ou odor de terra ou barro, e 2-metil-isoborneol (MIB), responsável pelo sabor ou odor de mofo em peixes de piscicultura. Peixes cultivados em “*raceways*” ou tanques-rede também podem apresentar *off-flavor*, dependendo da qualidade da água neste sistema de produção. O *off-flavor* causado pela absorção de GEO e MIB é o predominante em piscicultura intensiva (KUBTIZA 2000).

A GEO é um óleo neutro que reage com o ácido hidrolórico e é transformada em argosmina, uma substância que possui propriedades semelhantes, embora não idênticas, pois não possui odor. Certos tipos de cianobactérias produzem um odor que é causado por um composto orgânico que é ligeiramente solúvel em água, volátil em vapor, solúvel em éter e parcialmente solúvel em álcool (PLOEG; BOYD, 1992).

As cianofíceas, cianobactérias ou algas azuis como são popularmente conhecidas, são fundamentalmente organismos fotossintéticos que compõem o fitoplâncton de águas doces, salgadas ou salobras, podendo também ser encontradas no solo e em rochas. Pertencem a classe taxonômica *Cyanophyceas*, ocorrendo, preferencialmente, em ambientes aquáticos muito eutrofizados e com pouca ou nenhuma movimentação de correntes (lagoas, reservatórios de água ou viveiros de aqüicultura). Podem ainda se desenvolver em águas correntes desde que haja condições favoráveis para o seu desenvolvimento (BRANCO, 1986).

Algumas espécies produzem toxinas, que ao serem liberadas na água podem provocar intoxicações em seres humanos, peixes e outros animais domésticos. Os peixes cultivados em viveiros onde há o predomínio de cianobactérias, quando não depurados antes do abate, podem apresentar alterações sensoriais significativas e determinantes para a sua rejeição por parte dos consumidores, causando graves prejuízos econômicos ao aqüicultor (BRANCO, 1986).

Segundo Grimm Lloyd e Zimba (2004) 80 % dos peixes, com problemas sensoriais, são rejeitados devido ao seu sabor e odor de “barro”. Essa característica ocorre devido à presença de MIB ou GEO.

O cultivo de tilápias em tanques-rede ou gaiolas vem crescendo consideravelmente no Brasil e em diversos países onde existem grandes reservatórios. Entre muitas outras vantagens, em relação ao cultivo em tanques-terra, o cultivo de tilápias em tanques-rede geralmente reduz a incidência de problemas com *off-flavor* (KUBTIZA, 2000).

### **1.2.5 Depuração como medida de prevenção e controle do *off-flavor***

Pillay (1974) enumerou os fatores que podem melhorar a qualidade dos peixes criados, como a seleção genética, a melhoria da alimentação, o controle do meio ambiente e a utilização de técnicas especiais. Dentre estas, estaria a utilização dos tanques-rede para peixes de fundo, que permaneceriam em jejum ou com alimentação especial sob fluxo de água limpa. Na Inglaterra, esta técnica é empregada em trutas, solha e linguado.

Segundo Kubtiza (2000) ainda não foram identificadas estratégias eficazes para evitar a ocorrência de GEO e MIB nos peixes. No entanto, os produtores de *catfish* nos Estados Unidos adotaram as seguintes práticas:

- sistema de produção com múltiplas colheitas e estocagem, possibilitando várias opções de viveiros para colheita seletiva em um mesmo momento;
- avaliação sensorial (degustação) de amostras de peixes dos viveiros em condições de colheita. A autorização final para despesca depende do aval dos degustadores;
- colheita imediata dos viveiros com peixes sem *off flavor*. Devido à característica transitória do *off-flavor* em peixes, a despesca em viveiros com peixes com sabor indesejável é adiada até o restabelecimento do sabor adequado nos peixes.

A prática de depuração é comumente empregada para moluscos em várias regiões do mundo, com o objetivo de diminuir a carga microbiana destes alimentos, em tratamento da água

por raios ultravioleta, durante 48 h. A prática é recomendada devido a prováveis problemas de poluição e contaminação das áreas de cultivo. O processo é mais eficiente se houver água corrente que é recirculada por meio de filtros, e quando emprega tratamento com cloro, luz ultravioleta ou ozônio. Há casos de manutenção do pescado vivo até a comercialização para espécies de crustáceos devido à rápida deterioração, porém o tempo é limitado, havendo necessidade de oxigenação da água para evitar o aparecimento de espécimes moribundas (CONNELL, 1975; MARTIN, 1988).

Segundo Oetterer (2002), as espécies cultivadas podem ou não apresentar características adquiridas de sabor na carne devido ao tipo de alimentação recebida, ou ainda, devido à presença de altas concentrações de algumas cianobactérias na água do tanque de cultivo, responsáveis pelo odor e sabor de barro (*off-flavor*) nos peixes. De qualquer forma recomenda-se, no Brasil, a depuração dos peixes, mantendo-os pelo menos 24 h sem alimentação antes do abate.

No caso do pescado cultivado de água doce a prática de depuração é recomendada, particularmente se o pescado foi criado em sistemas semi-intensivos e em tanques-rede, para eliminar o *off-flavor* adquirido devido a ingestão de certos tipos de algas, como as cianobactérias. A depuração de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas pela CESP-Companhia Energética de São Paulo, na represa de Ibitinga, no Rio Tietê, SP, foi testada em vários períodos (1, 2, 3, 4, 9 e, 15 dias), mas só após nove dias, os peixes apresentaram qualidade sensorial para consumo, porém com perda de peso (TORLONI et al., 1983).

Ayrosa (1995) orienta a despesca de peixes cultivados com depuração que pode ser feita no próprio viveiro de cultivo, através do corte do fornecimento de qualquer tipo de alimentação, por três a cinco dias antes da despesca, ou através de depuração em tanques de alvenaria; neste caso realiza-se a despesca total do viveiro, colocando-se todos os peixes no tanque de alvenaria construído para esta finalidade, com constante renovação de água, durante 48 h.

Lovshin (1997) relata que a tilápia absorve *off-flavor* produzido por cianobactérias, assim, para assegurar a qualidade do peixe, a tilápia deve ser mantida em água limpa por três a cinco dias para depurar o *off flavor*.

Segundo Kubtiza (2000) peixes expostos a MIB e GEO adquirem *off-flavor* em poucas horas. No entanto, a eliminação destes compostos pode levar vários dias ou mesmo semanas. Peixes com *off-flavor* podem ser depurados em tanques recebendo fluxo contínuo de água limpa. O uso de tanques de depuração geralmente é restrito aos frigoríficos de pequeno porte devido à

necessidade de um considerável volume de água para depuração de grandes quantidades de peixes. A degustação prévia dos peixes prontos para a despesca pode poupar a necessidade de depuração caso as amostras apresentem adequado sabor. O tempo necessário para a depuração de peixes com *off-flavor* depende de diversos fatores, como a temperatura da água nos tanques de depuração, o teor de gordura dos peixes e a intensidade inicial do *off-flavor*.

Embora o baixo teor de gordura no filé das tilápias possa favorecer a rápida eliminação de compostos associados ao *off-flavor*, o metabolismo reduzido sob baixas temperaturas pode exigir períodos de depuração de uma semana, ou mais, para o estabelecimento do sabor adequado (KUBTIZA, 2000).

A depuração deve ser feita em tanques de alvenaria, concreto, fibra de vidro ou revestidos com lona plástica, com água corrente de boa qualidade ou pode, em partes, ser feita no tanque de engorda, pelo manejo da água (baixar dois terços do volume da água do tanque e tornar a encher, restringindo a alimentação) (KUBTIZA, 2000).

O ato de depurar provoca perda de peso dos peixes, cada espécie terá uma perda específica, deve-se avaliar a mudança de peso na entrada da depuração e na saída para ser feita à compensação no preço de comercialização (SAMPAIO, 2005).

A deterioração microbiana pode ser melhor controlada em peixes cultivados do que em peixes capturados no mar, pois os primeiros, se mantidos sem alimentação por alguns dias irão apresentar o trato gastrointestinal limpo. A depuração do pescado em água tratada adequadamente reduz a contaminação bacteriana superficial, e poderá conseqüentemente, colaborar para a estabilidade do armazenamento refrigerado (SOCCOL, 2002).

### **1.2.6 Indicadores de qualidade do pescado**

Qualidade como um todo envolve a soma dos atributos físicos, sensoriais, químicos e microbiológicos dos alimentos e, no pescado, a qualidade está estreitamente ligada com o estado de frescor (CONTRERAS-GUZMÁN, 1988).

A palavra qualidade é amplamente usada e com muitos significados. Na indústria pesqueira o termo “qualidade do pescado” relaciona-se muitas vezes com espécies onerosas e com o tamanho do pescado. Um pescado considerado de qualidade inferior por um processador pode ser muito pequeno ou estar em más condições para certos processos, o que resultará em baixos rendimentos e benefícios. Muitas vezes, contudo, a qualidade é sinônimo de aparência e

frescor, e se refere ao grau de deterioração existente no pescado. Por último, para as autoridades governamentais, que estão principalmente interessadas em possíveis perigos para a saúde, boa qualidade significa ausência de agentes nocivos tais como parasitas, compostos químicos e organismos patogênicos (HUSS, 1988).

A qualificação do frescor envolve considerações relacionadas com o tempo e qualidade. A esta última contribuem muitos fatores, sendo, portanto, difícil encontrar um só ensaio que determine estes aspectos (MORGA, 1975).

O frescor do pescado pode ser avaliado por métodos sensoriais, microbiológicos ou físico-químicos, no entanto, devido à subjetividade dos métodos sensoriais e à demora e custo elevado para execução de testes microbiológicos, métodos químicos que quantifiquem os produtos derivados da atividade enzimática endógena e bacteriana têm sido desenvolvidos na avaliação do frescor do pescado. Muitos índices químicos para controle de qualidade de peixes, moluscos e crustáceos estão baseados nas alterações quantitativas ou qualitativas de compostos da fração nitrogenada não protéica do músculo. A atividade enzimática pode causar uma alteração na concentração destes compostos ou originar outros diferentes. A detecção de alterações progressivas destas substâncias no músculo do pescado durante o armazenamento é o primeiro requisito para considerar tais substâncias como potenciais índices de frescor (LAPAGUIMARÃES, 2005).

A perda de qualidade inicial do pescado é causada principalmente por mudanças autolíticas e não relacionadas com atividade microbiológica (GRAM; HUSS, 1996). De fato, Ehira e Uchiyama (1987) relatam que os fenômenos que se desencadeiam no músculo do pescado após a captura podem ser divididos em duas etapas, denominadas frescor bioquímico e frescor microbiológico. Segundo Contrera-Guzmán (2002), os compostos formados na primeira etapa, entre a captura e o fim do *rigor-mortis*, são de origem autolítica e sua produção não pode ser evitada, mas apenas regulada; enquanto que os compostos da segunda etapa, que compreende as mudanças de qualidade no pós-rigor, são produtos de atividade microbiana cuja formação pode ser controlada até certo limite pelo emprego de processos tecnológicos.

Devido à presença de proteínas de alto valor biológico, associadas à alta atividade de água, o músculo do pescado está propício ao desenvolvimento microbiano, assim como a existência de substâncias nitrogenadas livres que favorecem a deterioração (OETTERER, 1991).

Além do fator sabor/odor muito relevantes para os consumidores, também existem outros indicadores da qualidade e frescor da carne do pescado, como: pH, Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT), Nitrogênio Não Protéico (NNP), entre outros.

O pH do alimento é um fator muito importante na conservação. O pescado apresenta pH próximo da neutralidade, o que propicia o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patógenos e requer cuidados especiais quanto a conservação (OGAWA; MAIA, 1999). O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1952) estabelece limites máximos de pH de 6,5 na parte interna do pescado fresco.

A queda de pH em pescado é ligeira, pois as reservas de glicogênio são pequenas e depende, entre outras coisas, das condições de pesca e da resistência que os peixes opõem à captura (KAI; MORAIS, 1988). Com o avanço da deterioração bacteriana o aumento no pH é observado sendo o principal fator relacionado com a textura do músculo cozido.

Segundo Ogawa e Maia (1999) o pH é um índice pouco confiável para avaliar o estado de frescor ou início de deterioração em pescado, este índice é muito variável entre as diferentes amostras e apresenta ciclos de flutuação durante a estocagem refrigerada.

Os valores encontrados para o pH variam conforme a espécie de pescado e o tipo de processamento. Observa-se que os valores de pH variam pouco entre amostras de um mesmo tipo de peixe. O aumento do pH pode ser afetado pela espécie do peixe, tipo e carga microbiana, métodos de captura, manuseio e armazenamento. Altos valores de pH podem estar associados a particularidades de algumas espécies, como os cações, ricos em uréia, que podem apresentar um pH elevado pela ação de microrganismos uréase positivos. (SOARES et al., 1998).

Para Sikorski, Kolakowsha e Burt (1994) e Ogawa e Maia (1999), dentro da denominação genérica de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT) encontram-se substâncias como amônia, trimetilamina, etilamina, monometilamina, putrescina, cadaverina e espermidina. O principal componente deste grupo é a amônia, responsável pelas maiores alterações químicas, quando se trata de peixes de água doce.

Para Morga (1975), as BNVT ocorrem no músculo dos peixes, devido ao desdobramento das proteínas por ação enzimática e bacteriana, dando como produtos finais aminas, situando-se entre estas, substâncias voláteis simples. Estas aminas aumentam progressivamente com a deterioração, sendo determinadas no tecido muscular sob a forma de base volátil total.

As substâncias nitrogenadas voláteis originam-se do OTMA (Óxido de Trimetilamina) e dos aminoácidos livres por mecanismos diferentes, portanto, as BNVT representam o efeito concorrente de várias transformações. Esta inespecificidade é um dos méritos da determinação, pois a amônia e as aminas voláteis são metabólicos ubíquos da decomposição de peixes, crustáceos e moluscos (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

De acordo com Contreras-Guzmán (1994), o aumento de amônia pode se originar da ação das aminoidrolases sobre os nucleotídeos, desenvolvimento microbiano e hidrólise de uréia. A amônia derivada de nucleotídeos é produzida logo após a captura e em alguns casos, no esforço anterior à captura, e não deve ser considerada um reflexo da deterioração, representando apenas uma decomposição autolítica que não pode ser evitada. Ao longo da estocagem em gelo, o conteúdo das BNVT aumenta progressivamente em função dos processos enzimáticos e microbianos sendo, assim, útil na avaliação do frescor e da deterioração do pescado (SHEWAN, 1962).

O teor de bases nitrogenadas voláteis (amônia, trimetilamina e dimetilamina), e o teor de trimetilamina têm sido empregados como índices de frescor para pescado (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001). Entretanto, existem controvérsias sobre a efetividade destes parâmetros, uma vez que em algumas espécies de pescado, alterações significativas nos teores destes compostos somente ocorrem quando os sinais de deterioração já são perceptíveis sensorialmente (LAPA-GUIMARÃES, 2005).

As BNVT são um método relativamente simples e é comumente usado para avaliar a qualidade de frescor de pescado. No entanto, diferentes métodos são usados para determiná-las. Por exemplo, nove diferentes laboratórios na Europa usam seis diferentes metodologias para determinar BNVT. Contudo, cada metodologia, provavelmente, apresenta suas próprias particularidades quanto à detecção da deterioração. Na verdade, quando um único método foi usado nos nove diferentes laboratórios na Europa, diferenças significativas entre os laboratórios foram observadas. Acredita-se que a causa dessas diferenças significativas deve-se a pequenas diferenças no tipo de aparelho usado e pequenas diferenças no método de operação (SHAHIDI; BOTTA, 1994).

Antonacopoulous e Vyncke, em 1989, segundo Botta (1994), conduziram um estudo detalhado da metodologia de BNVT e concluíram que: a) a metodologia de BNVT é um método de rotina que somente deve ser usado para determinar se o pescado está apropriado ou

inapropriado para o consumo humano; b) a identificação dos primeiros estágios de frescor não é possível com o BNVT; c) a determinação do BNVT por destilação direta em peixes é conveniente como um método de determinação da comercialização desse produto por ser simples, rápido e econômico.

Tem sido questionado que o teste de BNVT só representa aumentos consistentes quando o pescado está próximo da rejeição, de modo que não seria indicado para prognosticar a vida útil a partir de dados intermediários; porém, teria utilidade como indicador do período máximo de comercialização (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

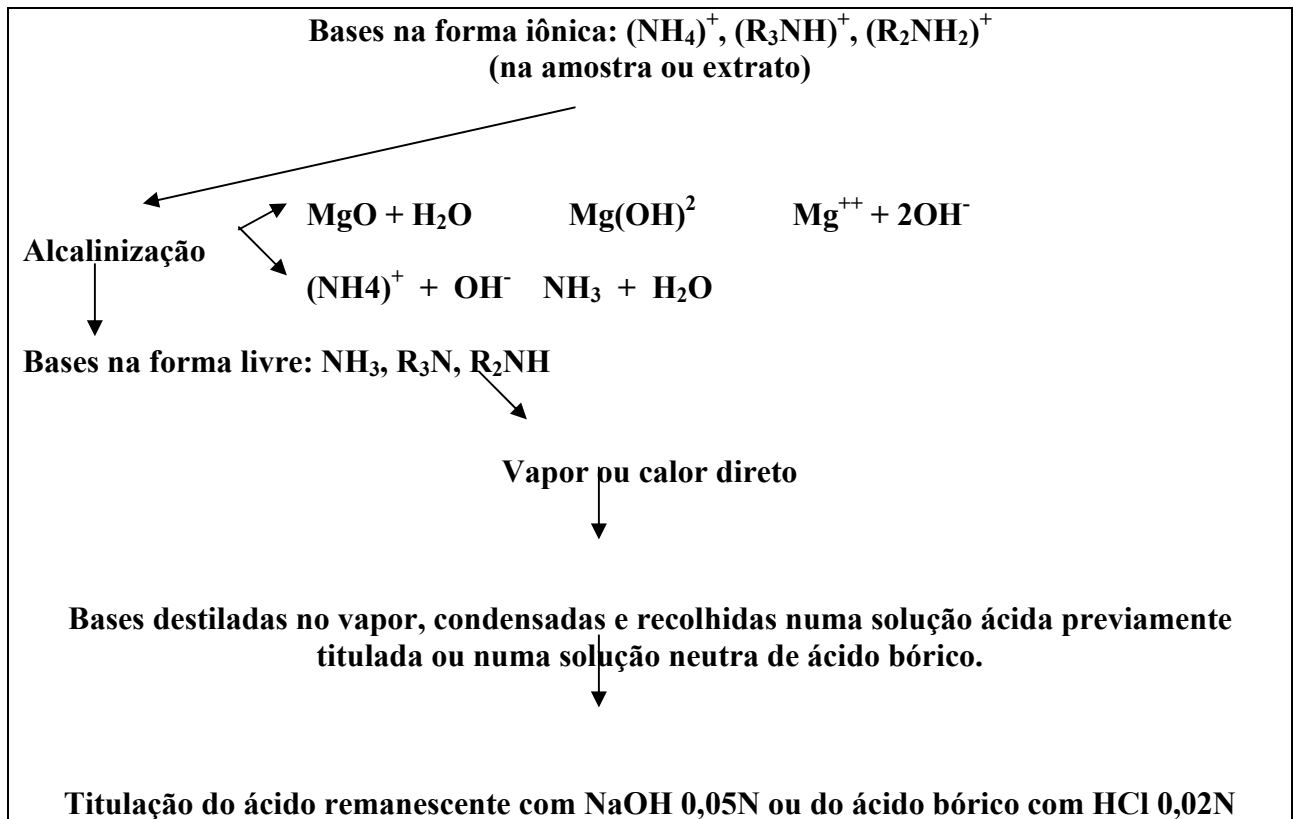
O valor das BNVT, que deveria ser adotado como limite para comércio de pescado, foi, e ainda é, motivo de controvérsias. Foram feitas sugestões desde 20 até 60 mg de N/100 g de pescado. O valor de 20 mg foi proposto em trabalhos mais antigos. Um valor máximo de 30 mg tem mostrado ser compatível com os limites de aceitação sensorial e contagem de microrganismos de muitas espécies, levando alguns países a adotarem oficialmente este valor como máximo para a comercialização (Japão, Austrália, Argentina, Brasil e Alemanha) (KUAYE, 1982).

No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece o valor de 30 mg de N/100 g como limite máximo de BNVT para pescado fresco, exceto para elasmobrânquios (BRASIL, 1997).

De acordo com Ogawa e Maia (1999), para peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNVT atinge 5 a 10 mg de N/100 g de músculo; peixes com frescor satisfatório podem atingir até 15 a 25 mg de N/100 g. No início da deterioração, este teor pode ir até 30 a 40 mg de N/100 g e, quando bastante deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50 mg de N/100 g.

Durante a análise de BNVT ocorrem os eventos apresentados na Figura 3 (CONTRERAS-GUZMÁN, 1988).





Fonte: Contreras- Guzmán (1988)

Figura 3 – Eventos que ocorrem durante a análise de BNVN

Já nos peixes de água doce, as BNVN variam pouco, não atingindo o valor de 30 mg, quando já foram rejeitados sensorialmente, isso pode ser explicado em função do tipo de carga microbiana mesófila ou psicrófila presente nessas espécies, e não psicrófila como a dos peixes marinhos. Outros fatores têm relação com os métodos de captura que, no caso dos marinhos, são mais estressantes e causam um maltrato maior na acomodação a bordo. Dessa forma, com este comportamento, recomenda-se não usar este teste para avaliação do frescor de peixes de água doce (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Os estudos de Morga (1975), constataram que os resultados referentes a concentração do BNVN no músculo da pescada fogueira, conservada em gelo durante 12 dias de estocagem, variaram numa faixa de 11,90 a 32,20 mg de N/100 g de músculo. Estes dados quando relacionados com a soma total das características sensoriais, mostraram para faixa de aceitabilidade uma variação de 11,90 a 18,07 mg de N/100 g de músculo, enquanto para a faixa de inaceitabilidade estes dados variaram entre 13,47 a 32,24 mg de N/100 g de músculo.

Siqueira (2001) avaliando os valores de BNVT na tilápia irradiada e não irradiada armazenada sob refrigeração, encontrou diferença entre os peixes irradiados para os não irradiados, sendo que os teores encontrados na tilápia não irradiada foram de 27,40; 98,23; 258,56 mg de N/100 g de músculo, para os períodos de 1, 20 e 30 dias, respectivamente, armazenados sob refrigeração. Já as amostras irradiadas apresentaram teores de 27,66; 30,7; 86,83 mg de N/100 g de músculo, para as amostras irradiadas a 1,0 kGy, e 24,80; 43,0; 44,73 mg de N/100 g para as amostras irradiadas a 2,2 kGy, nos períodos 1, 20 e 30 dias. Entretanto, houve grande diferença dos valores de BNVT encontrados para as amostras irradiadas a 5,0 kGy, variando entre 16,20; 11,57; 10,17 mg de N/100 g de músculo, nos mesmo períodos.

### 1.2.7 Microrganismos contaminantes em pescado

Por ser considerado um alimento altamente perecível, o pescado exige muitos cuidados em relação a seu manuseio, tanto durante o processo de captura quanto durante a estocagem. De modo semelhante a outros tipos de carne, qualquer produto alimentício procedente do pescado pode alterar-se por autólise, atividade microbiana e/ou oxidação. A diferença básica consiste no fato de que o músculo do pescado é mais susceptível à deterioração do que a carne dos mamíferos, tendo em vista que o processo autolítico no pescado é mais rápido e sua reação menos ácida favorece o crescimento microbiano. Logo após a morte dos peixes, os complexos sistemas que controlam seus processos vitais deixam de funcionar e as enzimas continuam a agir, possibilitando acesso dos microrganismos ao músculo estéril do pescado. Os microrganismos, neste ambiente altamente nutritivo, têm rápido desenvolvimento, resultando em um acelerado processo de deterioração (VIEIRA, 2003).

Germano, Germano e Oliveira (1998) alertam para os problemas do consumo de pescado quanto ao fato deste alimento poder ser um veículo de microrganismos patogênicos para os seres humanos, a maior parte deles, fruto da contaminação ambiental, a destacar, o gênero *Vibrio*, causador de gastroenterite aguda caracterizada por quadro disentérico, principalmente, após o consumo de peixes, camarões e ostras *in natura*. Os mesmos autores também citam a relevância da contaminação por *V. cholerae*, *Sallmonela typhi*, *Sallmonela paratyphi*, *Shiguella* spp., *Streptococcus* sp., *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*. No pescado manipulado sob condições higiênicas adequadas observa-se a ausência de bactérias indicadoras de contaminação fecal, bem como de enteropatógenos como *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* (KAI; MORAIS,

1988).

Os microrganismos podem ser divididos tanto em patógenos como em deteriorantes. Os deteriorantes são aqueles capazes de provocar a deterioração do pescado pela sua capacidade proteolítica, pectinolítica, lipolítica e outras. Alguns destes microrganismos crescem à temperatura ambiente, outros, podem se desenvolver sob refrigeração. Os patógenos são aqueles, geralmente associados a condições de higiene deficientes e que podem causar problemas de saúde, estando representados basicamente pela *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*. Estes microrganismos geralmente não se desenvolvem em temperatura de refrigeração, entretanto, suas células podem permanecer viáveis, assim como suas toxinas (VIEIRA, 2003).

O fator principal de controle microbiano no pescado *in natura* é a temperatura. A refrigeração exerce uma ação seletiva na população bacteriana da superfície do pescado. As bactérias mesófilas não se multiplicam e algumas morrem com o transcorrer do tempo, porém, as cepas de psicotróficos se desenvolvem devido a sua resistência. No pescado proveniente de regiões temperadas, as bactérias se mantêm, a 0 °C, na fase de latência, por 1 a 5 dias, o crescimento logarítmico ocorre entre o 6° e 14° dia seguida da fase estacionária. Sob condições comerciais, a vida útil determinada, sensorialmente, é de 12 dias. A carga bacteriana do pescado tropical, a 0 °C, mantêm-se na fase de latência por um período mais longo e com uma velocidade de multiplicação menor, o que se traduz numa vida útil de cerca de 30 dias. Fato este que, provavelmente, ocorre devido à baixa concentração de bactérias capazes de crescer a baixas temperaturas e a uma menor velocidade de crescimento das espécies psicotróficas presentes nesse pescado. Por este motivo, a refrigeração do pescado deve ser realizada o mais rápido possível, já que a microbiota mesofílica multiplica-se rapidamente a temperatura ambiente (ICMSF, 1998).

As bactérias que compõem a microbiota do pescado tropical tendem a um comportamento mesofílico. A microbiota mesofílica é pouco adaptada à multiplicação em temperatura de refrigeração e tem uma menor produção de compostos de degradação, bem como uma atividade metabólica diferente daquela psicofílica. A deterioração, especialmente em pescado conservado a baixas temperaturas é causada, principalmente, por bactérias psicrófilas. Os processos de deterioração não ocorrerão até que os microrganismos psicrófilos tenham se multiplicado em níveis capazes de produzir maus odores. O frescor do pescado estocado em gelo se correlaciona bem com as análises sensoriais, juntamente com a contagem de bactérias em placas de bactérias a

20 °C (VIEIRA, 2003).

A resolução RDC nº 12, de 12 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), não apresenta padrão para coliformes, para pescado *in natura* resfriado ou congelado. A mesma resolução também apresenta para esse tipo de produto padrão para *Staphylococcus aureus* coagulase positivo de, no máximo,  $10^3$  UFC/g e para *Salmonella*, ausência em 25g. O que pode ser visto nessa resolução para contagem de coliformes é para coliformes termotolerantes a 45° C, onde o limite estabelecido é de, no máximo de  $10^3$  NMP/g para produtos à base de pescado refrigerados ou congelados (hamburguês e similares) ou de, no máximo  $10^2$  NMP/g para pescado pré-cozido, empanado ou não, refrigerado ou congelado.

O grupo de coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbias ou anaeróbias facultativas, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 28 h, a 35 °C. O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo. Por essa razão, sua enumeração em água e alimentos é menos representativa como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração de coliformes ou *Escherichia coli* (FRANCO; LANDGRAF, 1996; SILVA et al., 2000).

Para coliformes fecais a definição é a mesma de coliformes totais, porém, restringindo-se aos microrganismos capazes de fermentar a lactose, com produção de gás em 24 h, e temperatura entre 44,5 – 45,5 °C. O grupo dos coliformes fecais inclui os gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, dos quais dois (*Enterobacter* e *Klebsiella*) incluem cepas de origem não fecal. Por esse motivo, a presença de coliformes fecais em alimentos é menos representativa, como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração direta de *E. Coli*, muito mais significativa do que a presença de coliformes totais (Silva et al., 2000).

De acordo com Martin, Gray e Pierson (1978) como *S. aureus* tem seu principal habitat na pele, mucosas nasais e trato respiratório humano, a sua presença indica o manuseio inadequado do alimento, equipamentos mal higienizados, contaminação após o processamento de fontes humanas ou de animais.

Tilápias (*Oreochromis niloticus*) recém capturadas foram analisadas, quanto a presença de *S. aureus*, por Vieira et al. (2000). Todas as amostras apresentaram valores que variaram de  $< 10$  a  $10,6 \times 10^2$  UFC/g. O *S. aureus* é uma bactéria aeróbia ou anaeróbia facultativa, mas prefere

metabolismos aeróbios (HINTLIAN; HOTCHKISS, 1986). Sua presença em pescado tem sido associada a águas contaminantes (LISTON, 1963).

As bactérias psicotróficas utilizam para seu desenvolvimento os compostos não protéicos; seu crescimento é incrementado na presença de substâncias nitrogenadas não protéicas e em condições de pH alto (>6,0) (GRAM; HUSS, 1996; LISTON, 1982).

A *Salmonella* spp é uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*, bastonete, móvel por flagelos peritríquios, fermentadora, não esporulada, Gram negativa, anaeróbia facultativa, com maior crescimento sob condições aeróbias. Apresentam temperaturas de crescimento na faixa de 5 °C a 47 °C, com ótimo de crescimento entre 35 e 37 °C. Não toleram pH maior que 9 e menor que 4, sendo ótimo um pH 7. O controle desta bactéria é feito através da higiene dos manipuladores, durante o processamento do pescado. Embora não seja isolada normalmente de pescado capturado em mar aberto, pode ser isolada em produtos marinhos capturados em águas contaminadas. Em produtos *in natura* que serão posteriormente submetidos à cocção, a *Salmonella* spp não apresenta perigo direto à saúde, uma vez que o calor a destrói. Por outro lado, existe sempre a preocupação com produtos consumidos *in natura* e com produtos prontos para o consumo que não tenham passado por processamento térmico. Pode ser ainda, transmitida para outros alimentos através de contaminação cruzada. Seu habitat natural é o trato intestinal do homem e de animais, portanto, sua presença indica contaminação fecal direta ou indireta (SAMPAIO; COUTO, 2005).

Clostrídios sulfito redutores, como diz o nome, são clostrídios que reduzem o sulfito a sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) a 46 °C. Sua aplicação na análise de alimentos é oferecer uma indicação simples e rápida da potencial presença de *C. perfringens*, que também é sulfito redutor. Como *C. perfringens* cresce bem a 46 °C, essa temperatura é utilizada para dar uma indicação mais precisa de *C. perfringens*, reduzindo o número de espécies que podem crescer. Ainda assim, um número significativo de espécies sulfito redutoras crescem a 46 °C, incluindo *C. botulinum* e *C. sporogenes* (SILVA et al., 2007).

### **1.2.8 Alimentos minimamente processados**

A atenção dos consumidores está voltada aos alimentos de conveniência (inclusive embalagem e distribuição), aos atributos nutricionais, à extensão da vida útil e à segurança

(BLISKA, 1997). Como em outras áreas produtivas, novos materiais e tecnologias surgem para propiciar o progresso tecnológico agroindustrial.

Com a globalização, houve a conscientização do consumidor para a escolha de alimentos seguros, nutritivos e com aparência mais próxima aos naturais, ou seja, submetidos a tecnologias que minimizem os efeitos indesejáveis de alterações físico-químicas ou microbiológicas nos alimentos e que garantam a segurança dos mesmos. É necessário, portanto, a utilização de processos menos severos, de tal forma, que se exponha o mínimo possível o produto a condições adversas, como é o caso dos produtos minimamente processados (VITALI, 1997).

A demanda dos consumidores por alimentos de alta qualidade com características “frescas” ou “naturais” e que necessitam de uma preparação mínima, levou ao desenvolvimento de alimentos de conveniência prontos para consumo e que são conservados por tecnologias mais brandas. A principal técnica de conservação é a refrigeração, porém, devido à dificuldade de manter as temperaturas baixas ao longo de toda a cadeia de produção, distribuição e estocagem, são necessários obstáculos que controlam o crescimento de microrganismos deteriorantes ou patogênicos. O conceito de combinar diversos fatores para conservar o alimento foi desenvolvido por Leistner em 1995 e se caracteriza no efeito de barreiras, ou seja, cada fator é uma barreira que o microrganismo deve ultrapassar, e, quanto mais fatores combinados, maior será a dificuldade para os microrganismos se desenvolverem (FELLOWS, 2006).

No ano de 1995, mais da metade dos dólares gastos em lojas de conveniências com compra de alimentos foram despendidos na aquisição de itens de produtos de conveniência, dentre esses os alimentos minimamente processados (DOMINGUES, 2009).

Vários fatores contribuíram para o aumento de demanda por produtos minimamente processados. A maior participação da mulher no mercado de trabalho também é um ponto significativo relacionado com o aumento do consumo de minimamente processados. A percentagem da participação feminina na população economicamente ativa do país cresceu de 23 % em 1971 para 40 % em 1998. Isso quer dizer que cada vez mais a mulher tem menos tempo para se dedicar às tarefas domésticas, necessitando de alimentos semi-prontos. O aparecimento de novos produtos como o microondas e o freezer doméstico também contribuíram para que, em 60 anos, o tempo de preparo de uma refeição diminuísse de 150 para 15 minutos. Outros fatores, como o aumento do número de pessoas morando sozinhas e a preferência por comida pronta por

quase 50 % dos membros das classes sociais A e B, também tem contribuído de maneira decisiva para o aumento de consumo por produtos minimamente processados (MORETTI, 2001).

No Brasil, a utilização de produtos minimamente processados foi introduzida nos anos 90 por empresas atraídas pelas novas tendências do mercado, atingindo, principalmente, fornecedores de alimentos prontos para preparo e/ou consumo como hotéis, restaurantes, lanchonetes e redes de supermercado (CHITARRA, 1998).

Segundo Oetterer (2002), para que um produto beneficiado de pescado seja aceito pelo consumidor, deve se tentar corrigir os erros já feitos nestes anos todos com o pescado marinho. O pescado deve ser posto à venda na forma de minimamente processado, eviscerado, descamado e descabeçado; filetado ou ainda em postas, embalado e armazenado em câmara fria apresentando garantia de qualidade higiênica – conforme padrões estabelecidos pelos órgãos de inspeção.

Nos últimos anos o consumo mundial de pescado, *per capita*, aumentou principalmente em virtude da mudança de hábitos alimentares ocorrida nas últimas décadas. A população mundial prefere fontes de proteína mais saudáveis, com menor teor de gordura saturada, o que tem levado a um aumento consistente na demanda de carne de peixe (FIGUEIREDO JÚNIOR; VALENTE JÚNIOR, 2008).

Para um incremento significativo no consumo de peixes faz-se necessário romper limites de logística e de estocagem, de forma a atingir mercados distantes das unidades produtivas. A maior parte da tilápia hoje produzida é comercializada nas propriedades diretamente com o consumidor final. O processamento, quando feito, é realizado em escala reduzida, em frigoríficos de pequeno porte, apesar de já ser perceptível nos últimos anos a tendência de crescimento do número de frigoríficos que processam o peixe. Além do filé, podem ser comercializados outros produtos de tilápia como hambúrgueres, *nuggets*, empanados, espetinhos, petiscos, *sashimi*, farinha e produtos de couro (FIGUEIREDO JÚNIOR; VALENTE JÚNIOR, 2008).

### **1.2.9 Embalagens para produtos alimentícios**

A embalagem é uma parte importante das operações de processamento de alimentos e, em algumas, ela é a operação propriamente dita. Têm ocorrido desenvolvimentos significativos tanto dos materiais quanto dos sistemas de embalagem, nos últimos, que auxiliaram tanto a redução dos custos da embalagem quanto no desenvolvimento de alimentos novos e minimamente processados (FELLOWS, 2006).

A principal função de qualquer material de embalagem é proteger o seu conteúdo, sem ser atacado por ele próprio. Isto significa preservar o produto por um período de tempo desejado, sem afetá-lo ou ser afetado por ele (MADI; CABRAL; SOLAR, 1975).

A embalagem deve ser esteticamente agradável, ter tamanho e formas funcionais, reter o alimento de modo conveniente para o consumidor, sem vazamentos, possivelmente servir como recipiente que abre com facilidade, e fecha com segurança, além de propiciar descarte, reciclagem ou reutilização fácil. O *desing* da embalagem deve atender as exigências legais com relação à rotulagem dos alimentos. Fellows (2006), ainda acrescenta que as principais funções das embalagens são:

- ✓ **Contenção:** para conter os produtos e mantê-los seguros até serem consumidos;
- ✓ **Proteção:** contra riscos mecânicos e ambientais encontrados durante a distribuição e o uso;
- ✓ **Comunicação:** para identificar os conteúdos e auxiliar na venda do produto. Os contêineres de transporte também devem informar o transportador sobre o destino e sobre quaisquer instruções especiais a respeito do manuseio e da estocagem. Algumas embalagens fornecem informações ao usuário sobre o modo de abertura e/ou uso dos conteúdos;
- ✓ **Maquinabilidade:** para alcançar um bom desempenho em linhas de produção de alta velocidade de enchimento, fechamento e verificação (mil pacotes por minuto ou mais), sem muitas paradas de processo;
- ✓ **Conveniência:** ao longo de todo o sistema de produção, estocagem e distribuição, incluindo a abertura fácil, o descarte e/ou pós-uso dos recipientes no varejo e/ou pelos consumidores.

De acordo com Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001), os principais fatores ambientais que devem ser controlados para prolongar a vida útil de um alimento são: temperatura, umidade e oxigênio. O ambiente natural ao redor do produto e no interior da própria embalagem pode ser deletério, considerando-se longos períodos de estocagem. Assim, a embalagem tem que agir como uma barreira entre o ambiente externo e o alimento sem afetá-lo.

Para proporcionar uma barreira entre o alimento e o ambiente, a embalagem controla a transmissão da luz, a taxa de transferência de calor, de umidade e de gases e o movimento dos microrganismos ou insetos. Além disso, a embalagem não deve influenciar o produto – por



exemplo, pela migração de compostos tóxicos, pelas reações entre o material da embalagem e o alimento ou pela seleção de microrganismos prejudiciais ao alimento embalado, como, seleção de anaeróbios patogênicos em produtos com atmosfera modificada. Outros requerimentos da embalagem se referem à operação sem problemas – eficiente e econômica na linha de produção – resistência a danos – como rompimentos, rasgões ou amassamentos causados pelos equipamentos de enchimento ou fechamento, carregamento ou transporte – e, não menos importante, ao custo total mínimo (FELLOWS, 2006).

A qualidade da embalagem é de suma importância. Um filme de excessiva permeabilidade fracassará em manter a atmosfera requerida. A vida útil é diretamente proporcional à impermeabilidade do filme e ao espaço livre superior. Similarmente, a vida útil estará diretamente relacionada à área de contato entre o produto e a atmosfera que determina a eluição dos gases (FINNE, 1982; LANNELONGUE et al., 1982).

A embalagem com atmosferas modificadas (EAM) pode ser definida como “a inclusão de produtos alimentícios dentro de materiais com barreira a gases, onde o meio gasoso foi modificado”, para inibir os agentes de deterioração e também para manter a melhor qualidade num alimento perecível durante sua vida *in natura* ou, mais apropriadamente, para aumentar sua vida útil. A modificação do meio gasoso da embalagem pode-se dar pela retirada (vácuo) ou acréscimo (tipo e quantidade controlada) de gases (BRETCH, 1980).

O acondicionamento em embalagem com atmosfera modificada a vácuo é um processo tecnológico de preservação de alimentos, que em essência consiste da exposição dos alimentos à ausência de ar, controlando o desenvolvimento de microrganismos, a ação enzimática e a oxidação, principais mecanismos de deterioração de alimentos. Aliada ao processamento mínimo esta tecnologia permite um incremento significativo na oferta de pescado, com qualidade e baixo custo, criando uma nova alternativa de renda para produtores e indústrias (SAINZ; COSTA; FONSECA, 1999).

Segundo Sarantópoulos, Oliveira e Canavesi (2001), quando uma carne é embalada a vácuo em uma embalagem que é barreira a gás, altera-se radicalmente a atmosfera gasosa ao redor da superfície do produto. A pequena quantidade de oxigênio remanescente no interior da embalagem é consumida pela atividade metabólica da carne e das bactérias. Cria-se, assim, um microssistema anaeróbio/microaeróbio dentro da embalagem, que, auxiliado pelo efeito inibidor do CO<sub>2</sub> liberado na respiração de microrganismos, retarda o crescimento de bactérias

deterioradoras, como as *Pseudomonas*, permitindo a predominância de bactérias do ácido láctico, que têm menor potencial de deterioração e crescimento limitado a baixas temperaturas. O resultado é uma vida útil mais longa do que a carne fresca exposta ao ar, principalmente se a estocagem for feita na faixa de 0 a 3 °C.

A embalagem a vácuo considera colocar o produto em um filme de baixa permeabilidade ao oxigênio, a remoção de ar da embalagem e a aplicação de uma selagem hermética. Muitas reivindicações têm sido feitas observando a EAM, especificamente em comparação com a embalagem ao ar, pois oferece aumentar sua vida útil mas poderia-se incrementar também o risco microbiológico (CHURCH; PARSONS, 1995).

A explicação reside em que os dois maiores agentes deteriorantes, especificamente as bactérias aeróbicas e as reações oxidativas, requerem oxigênio. Sua indisponibilidade inibirá a deterioração e aumentará a qualidade e/ou o tempo de armazenamento. Algumas deteriorações, porém, poderão ocorrer devido à presença de organismos anaérobios/microaerófilos e a reações não oxidativas. Isto pode ser minimizado pelo armazenamento resfriado, e não congelado. Assim, o pescado *in natura* poderia ser preservado utilizando o método de embalagem a vácuo em conjunto com o armazenamento sob temperatura de refrigeração (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; CHURCH; PARSONS, 1995).

A permeabilidade ao tipo de gás ou vapor está relacionada tipo de filme e não é simplesmente uma propriedade do filme. Por exemplo, a permeabilidade de celulose, nylon e álcool polivinil muda com as variações na umidade (tanto interna como externa) devido à interação desta com o filme (FELLOWS, 2006).

A perda ou absorção de umidade é um dos fatores mais importantes para o controle da vida útil dos alimentos. Existe um microclima dentro da embalagem, determinado pela pressão de vapor do alimento na temperatura de estocagem e pela permeabilidade da embalagem. O controle da troca de umidade é necessário para evitar a deterioração microbiológica ou enzimática, a desidratação ou amolecimento do alimento, a condensação no interior das embalagens e o conseqüente crescimento de fungos ou para evitar a queima pelo frio nos alimentos congelados. Os alimentos que têm uma baixa umidade relativa de equilíbrio, como os alimentos desidratados, biscoitos e salgadinhos, requerem uma embalagem que tenha baixa permeabilidade à umidade ou eles irão absorver umidade a partir do ambiente e perderão sua crocância. Se a atividade de água se eleva acima de um nível que permita o crescimento microbiano, eles irão deteriorar-se. De

modo semelhante, os alimentos que contêm quantidades apreciáveis de lipídeos ou de outros componentes sensíveis ao oxigênio sofrerão deterioração se a embalagem não se constituir em barreira adequada ao oxigênio. Ao contrário, os alimentos frescos que estão respirando e possuem alta umidade relativa de equilíbrio necessitam de um alto grau de permeabilidade para permitir a troca de oxigênio e dióxido de carbono com a atmosfera, sem perda excessiva de umidade, que poderia causar perda de peso e murchamento (FELLOWS, 2006).

## **1.2.10 Rastreabilidade**

### **1.2.10.1 Definição e conceitos de rastreabilidade**

A rastreabilidade é definida pela União Européia, como a capacidade de detectar a origem e de seguir o rastro de um gênero alimentício, de um alimento para animais, de um animal produtor de gênero alimentício ou de uma substância destinada a ser incorporada em gêneros alimentícios ou alimentos para animais, ou com probabilidade de o ser ao longo de todas as fases da produção, transformação e distribuição (CEN, 2002). Segundo as informações que compõem a ISO 8402:1994, rastreabilidade é a capacidade de traçar uma história, aplicação ou localização de uma entidade por meio de informação registrada (FSA, 2002).

O conceito não inclui somente o principal requisito de ser capaz de localizar e identificar fisicamente o produto através da cadeia de distribuição, mas também ser capaz de prover informação sobre o que foi feito e o que aconteceu com os produtos. Estes são importantes aspectos relacionados à segurança do alimento, qualidade e rotulagem (CEN, 2002). O conceito de produto rastreado desde sua origem até o consumidor não é uma idéia contemporânea. Muitas indústrias têm seus produtos rastreados em suas operações internas, como por exemplo, a indústria de carros e eletrônicos, que são marcados com um número seriado único. Entretanto, a introdução de rastreabilidade no setor de produtos alimentícios é uma concepção relativamente nova, com grande impulso, particularmente na comunidade européia.

Então, a rastreabilidade é um sistema de registro que objetiva identificar e localizar, rapidamente, produtos para o consumo humano ou animal desde sua origem até qualquer ponto dentro de uma cadeia alimentícia. Os termos “produto rastreado” (“*product tracking*”) e “produto localizado” (“*product tracing*”) têm significados diferentes. “*Product tracking*” refere-se ao registro de informação sobre os procedimentos através da cadeia alimentícia, e a habilidade para

identificar em tempo real onde o produto está e quais processos sofreu. “*Product tracing*” recorre à habilidade de seguir os processos de um produto acabado retornando à sua origem. Rastreabilidade aparenta ser um conceito relativamente simples, entretanto, o processo para criar um sistema de informação articulado entre a origem, processos e distribuição pode ser extremamente complicado, especialmente dado a quantidade de produtos alimentícios que existem na feira global (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005).

Vinholis e Azevedo (2000) definem: “um sistema de rastreabilidade, seja ele informatizado ou não, permite seguir, rastrear informações de diferentes tipos (referente ao processo, produto, pessoal e ou serviço) a jusante e/ou montante de um elo de cadeia ou de um departamento interno de uma empresa. A rastreabilidade possibilita ter um histórico do produto, sendo que a complexidade do conteúdo deste histórico dependerá do objetivo a que se pretende alcançar. Este objetivo pode ser influenciado pelas estratégias adotadas e pelo ambiente externo em que a empresa está inserida”.

A importância da rastreabilidade para os segmentos de distribuição, varejo e da indústria de alimentos pode ser aferida da seguinte forma: é diferencial de competitividade, fortalece a imagem institucional da empresa, auxilia no posicionamento da marca no mercado, estimula a concorrência através da diferenciação da qualidade, estreita relação com os fornecedores, contribui para a construção de estratégias competitivas da empresa e, conseqüentemente, pode passar a definir a estrutura de coordenação vertical (MACHADO, 2002; MISSAGLIA, 2007).

Um sistema de rastreabilidade já foi desenvolvido para o pescado fresco dinamarquês. Para isso, foi realizada uma pesquisa que focalizou todos os aspectos da cadeia do pescado fresco e usou código de barras e códigos seriados no contêiner de remessa para identificar cada unidade de recurso e localizar cada entrega. A pesquisa teve êxito em mostrar que a rastreabilidade pode ser alcançada e reconheceu o fato de que o custo do sistema para embarcações e empresas pequenas precisa ser avaliado e devem ser desenvolvidas interfaces aos usuários para promover a eficiência. Além desta, existem tentativas de implantação de sistemas de rastreabilidade no Japão e na Escócia. Nas Ilhas de Shetland, promove-se a rastreabilidade na cadeia do pescado instalando sistemas em 10 embarcações como parte do Projeto Pescado da Escócia (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005).

Padrões voluntários criados por estes sistemas formaram a base para as exigências obrigatórias de rastreabilidade na Europa, a partir de 2005, e já foram adotados pelo Comitê

européu para Padronização (CEN, 2002). Apesar do desenvolvimento destes padrões, um sistema completo para a coleção e transmissão de dados de rastreabilidade, inclusive *software* para satisfazer estes padrões ainda não foi criado (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005).

#### **1.2.10.2 Requisitos para rastreabilidade**

A rastreabilidade funciona como um complemento no gerenciamento da qualidade e quando aplicado isoladamente não traduz segurança do produto, nem do processo. Deve estar agregada a outros sistemas de garantia da qualidade, como o APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) e seus pré-requisitos, tais como BPF – Boas Práticas de Fabricação e PPHO – Procedimentos Padrão de Higiene Operacional. O APPCC é um processo científico que enfatiza e previne os riscos de contaminação alimentar através de medidas de controle e corretivas na indústria de alimentos. Esse sistema é parte integrante da norma Código Internacional de Práticas Recomendadas para Princípios Gerais de Higiene Alimentar, do *Codex Alimentarius*, como forma de garantir a inocuidade alimentar (IBA et al., 2003).

O sistema APPCC brasileiro trabalha com três perigos importantes: inocuidade do alimento – que não pode deixar o consumidor enfermo e deve salvaguardar a saúde pública; perda de qualidade – o produto pode não provocar enfermidade, mas, tecnicamente, perdeu qualidade (exemplo: um camarão com melanose não provoca doença, mas está em não conformidade); e fraude econômica – pode ser a identificação incorreta na rotulagem de espécies e peso. O consumidor tem de ser protegido em relação à fraude econômica, procurando ações de caráter preventivo. A filosofia do APPCC é justamente essa: agir com prevenção. Assim, evita-se perda de matéria-prima, de produto, e a indústria ganha mais porque vai perder menos (TORRES, 2004).

A análise de perigos é a “identificação de ingredientes, condições de armazenagem, embalagem, pontos críticos do processo e fatores humanos relevantes que possam ser potencialmente perigosos e afetar a qualidade do produto”. O sistema de APPCC permite a identificação, a avaliação e o controle ou a eliminação de perigos potenciais em um processo. Ele estabelece tolerâncias para os perigos e define medidas de controle apropriadas, a frequência de suas aplicações, procedimentos de amostragem, testes específicos a serem utilizados e os critérios para aceitação do produto. O sistema é baseado na monitoração de pontos críticos de controle e na ação a ser tomada quando os resultados da monitoração estão fora dos limites

preestabelecidos. O sistema APPCC é utilizado ao longo de cada etapa do processo e inclui matérias-primas, processamento, armazenagem e distribuição. Ele pode ser utilizado para todos os perigos potenciais, incluindo qualidade inadequada ou segurança, e pode identificar áreas de controle onde falhas ainda não ocorreram, tornando-o útil para novas operações (FELLOWS, 2006).

Não é novidade que alguns procedimentos obrigatórios auxiliam na rejeição ou recolhimento de produtos com problemas de segurança. Procedimentos como, boas práticas de fabricação (BPF), gerência de qualidade a partir da norma ISO 9000, e análise dos perigos e pontos críticos de controle (APPCC), são amplamente utilizados e carregam informações que auxiliam a rastreabilidade (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005). Sistema de dados e inspeção contemplados no sistema APPCC, obrigatório para pescado, são designados para controlar os perigos biológicos, químicos e físicos durante o processamento (HERNANDEZ, 2001).

Desde 1991, o DIPOA (Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal), órgão do MAPA (Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento), por meio da DIPES (Divisão de Inspeção de Pescados e Derivados), exige a implantação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) nas indústrias da pesca, sendo esta atividade pioneira no Brasil (RUIVO, 1998).

O APPCC, entretanto, não é um sistema de rastreabilidade porque a maioria dos dados coletados não é comunicada aos outros membros da cadeia (HERNANDEZ, 2001). A *Food Standards Agency* (FSA) da União Européia reconhece dois níveis de rastreabilidade dentro da indústria de alimentos. O primeiro nível, chamado de “rastreabilidade interna”, é restrito a um elo da cadeia, localiza produtos em operações internas e a informação que segue para o próximo elo, é pequena ou nula. A dificuldade é projetar e implementar um sistema de rastreabilidade que englobe a complexidade de todos os elos, chamado de rastreabilidade da cadeia (FSA, 2002).

A rastreabilidade da cadeia não pode ser alcançada sem a integração vertical do conhecimento e pode requerer a participação de todas as partes envolvidas na indústria de pescado, inclusive pescadores, processadores, atacadistas, transportadores, e varejistas. Os 3 tópicos cruciais ao sucesso de qualquer sistema de rastreabilidade são: (1) compatibilidade, (2) padronização de dados, e (3) a definição de uma unidade de recurso rastreado (TRU – *traceable resource unit*). Uma unidade de recurso rastreado (TRU) é definida como uma unidade de

comércio, como um peixe inteiro ou um lote de pescado. Esta unidade, invariavelmente, mudará durante o processamento e novas TRUs devem ser nomeadas em cada passo de transformação e adição de ingredientes, sendo que a TRU inicial deve seguir cada peixe ou lote, por todos os passos do processamento, distribuição e varejo. Este processo pode ficar muito complicado, especialmente durante o processamento, quando o produto pode incluir mistura de peixes ou lotes, ingredientes adicionais e processos diferenciados (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005).

A compatibilidade é o primeiro componente no sucesso de um sistema de rastreabilidade e refere-se à capacidade do sistema em rastrear uma TRU de um elo a outro. Isto requer que todos os elos da cadeia sejam capazes de comunicar e transmitir dados eficientemente. A habilidade de transmitir e receber dados, não garante por si só, a segurança da rastreabilidade, é somente um meio para obtê-la. Os avanços rápidos na tecnologia de informação e o aumento da compatibilidade dos sistemas operacionais disponíveis oferecem as ferramentas necessárias para aumentar a integração da informação vertical. Protocolos unificados de transmissão de dados e novas aplicações computacionais estão disponíveis com a capacidade para carregar e baixar dados entre diferentes sistemas operacionais e bancos de dados (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005).

Uma vez que a compatibilidade foi estabelecida, devem ser identificados os dados exigidos e implementados os padrões. A padronização de dados requer identificação de quais parâmetros durante a manipulação, processamento, e armazenamento são importantes na preservação da identidade do produto e de seus atributos de qualidade. O grau desejado de detalhamento de informação, invariavelmente, mudará de acordo com o propósito e entidade, algumas empresas podem requerer mais informação que outras (THOMPSON; SYLVIA; MORISSEY, 2005).

Para essa padronização é inevitável que se realize o controle do processo de produção de um produto. Segundo Fellows (2006), o objetivo do controle do processo é reduzir a variabilidade dos produtos acabados de tal modo que as exigências legais e as expectativas dos consumidores em relação a qualidade e a segurança sejam atendidos. Tal controle também objetiva reduzir o desperdício e os custos de produção pela melhoria da eficiência do processamento. Métodos simples de controle como, por exemplo, a leitura de termômetro, observação de nível de líquido em tanques, ajustes de válvulas para controle de taxa de

aquecimento ou enchimento, têm sido usados, e se desenvolveram em sofisticação à medida que a escala e a complexidade do processamento aumentaram. Com a crescente mecanização, mais válvulas necessitam ser abertas e mais motores iniciados ou parados. O controle do tempo e a seqüência dessas atividades se tornaram mais críticos, e qualquer erro por parte dos operadores leva a perdas de qualidade e conseqüências financeiras muito sérias. Isso tem causado um movimento de distanciamento dos controles baseados na experiência e no julgamento dos operadores e em direção aos sistemas de controle baseados em tecnologia.

Para alguns produtos, novas leis exigem monitoração, registros e rastreabilidade de todos os lotes produzidos, o que levou à necessidade de controle do processo mais sofisticado. Essas exigências fizeram com que os fabricantes buscassem uma melhoria da efetividade de seus controles de processos e sistemas de gerenciamento. Avanços em microeletrônica e desenvolvimentos de tecnologia de softwares para computadores, junto com a redução do custo da computação, levaram ao desenvolvimento de uma capacidade de processamento de dados bastante grande. Isso, por sua vez, disponibilizou aos fabricantes sistemas de controle do processo eficientes, sofisticados e interligados (FELLOWS, 2006).

## Referências

AYROSA, L.M.S., Manejo e tratamento pós-colheita de peixes de água doce destinados à salga e defumação. In: SEMINÁRIO SOBRE TECNOLOGIA DE SALGA E DEFUMAÇÃO DE PESCADO, 1995, Guarujá. **Anais...** Campinas: ITAL, 1995. p. 25-50.

BARD, J. Piscicultura intensiva de tilápias. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 6, n. 67, p. 24-29, 1980.

BIATO, D.O. **Detecção e controle do *off flavor* em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por meio de depuração e defumação.** 2005. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BLISKA, F.M.M. **Importância do desenvolvimento tecnológico para sobrevivência da agroindústria.** Campinas: ITAL, Centro de Tecnologia de Carnes (CTC), 1997. p. 46-47.

BORGSTROM, G. **Fish as food.** New York: Academic Press, 1962. v. 2, 777 p.

BOTTA, J.R. Freshness quality of seafoods: a review. In.: SHAHIDI, F.; BOTTA, J.R. **Seafoods: chemistry, processing technology and quality.** London: Blackie, 1994. p. 140-167.



BOYD, C.E. Pond water aeration systems. **Aquacultural Engineering**, London, v. 18, p. 9-40, 1998.

BRANCO, S.M. **Hidrologia aplicada à engenharia sanitária**. 3. ed. São Paulo: CETESB; ASCETESB, 1986. 395 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA)**. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=14013>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

\_\_\_\_\_. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado)**. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Brasília, 1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2453>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001**: Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Brasília, 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov/legis/resol./1201redc.html>>. Acesso em: 07 jan. 2009.

BRETCH, P.E. Use of controlled atmospheres to retard deterioration of produce. **Food Technology**, Champaign, v. 34, n. 3, p. 45-50, Mar. 1980.

CASTAGNOLLI, N. **Criação de peixes de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.

CHITARRA, M.I.F. **Processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Viçosa: Centro de Produções Técnicas, 1998. 87 p.

CHURCH, I.J.; PARSONS, A.L. Modified atmosphere packaging technology: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 67, p. 143-152, 1995.

CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE RASTREABILIDADE DE ALIMENTOS, 2004, São Paulo. **Coordenação de Joaquim Naka: anais...** São Paulo: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Piracicaba: FEALQ, 2004. 270 p.

CONNELL, J.J. **Control of fish quality**. Surrey: Fishing News, 1975. 179 p.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. Métodos químicos para análise de pescado. In: \_\_\_\_\_. **Controle de qualidade na indústria de pescados**: seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado. Santos: Loyola, 1988. p. 196-209.

\_\_\_\_\_. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409 p.

\_\_\_\_\_. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. Santiago de Chile: Centro de Estudios em Ciência y Tecnología de Alimentos, 2002. 309 p.

CRAWFORD, A.M.C.D. **Seleção e preparo de alimentos**. Rio de Janeiro: Record, 1985. 383 p.

DEAN, L.M. Nutrition and preparation. In.: MARTIN, R.E.; FLICK, G. J. **The seafood industry**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1990. chap. 16, p. 255-267.

DENARDI, D.C.F. **Efeito da dieta, estatina e ácidos graxos ômega 3 sobre a pressão arterial e a lipidemia em humanos**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007. Disponível em <[http // www.teses.usp.br](http://www.teses.usp.br)>. Acesso em 24 jun.2008.

DOMINGUES, M.A.F. **Controle de qualidade em frutas e hortaliças minimamente processadas**. Disponível em: <<http://br.monografias.com/trabalhos2/alimentos-processados/alimentos-processados.shtml>>. Acesso em: 15 jun. 2009.

EAN BRASIL. Automação no dia-a-dia do consumidor. **Revista Automação**, n. 98, set./out. 2003. Disponível em: <<http://www.eanbrasil.org.br/servlet/ServletContent?requestId=24&id:article=366&id:revista=301>>. Acesso em: 12 maio 2009.

EHIRA, S.; UCHIYAMA, H. Determination of fish freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. In: KRAMER, D.E.; LISTON, J. (Ed.). **Seafood quality determination**. Amsterdam: Elsevier Science, 1987. p. 185-207.

EMBRAPA. Embrapa Pecuária Sudeste. **Criação de bovinos de corte na região sudeste: importância econômica**. 2003. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/BovinoCorte/BovinoCorteRegiaoSudeste/importancia.htm>>. Acesso em: 04 jan. 2009.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. **Traceability of fishery products: specifications of the information to be recorded in captured fish distribution chains**. Brussels: CEN Workshop Agreement. 2002. Disponível em: <[http://193.156.107.66/ff/po/EUTrace/WGCaptured/WGC\\_StandardFinal.doc](http://193.156.107.66/ff/po/EUTrace/WGCaptured/WGC_StandardFinal.doc)> Acesso em: 13 maio 2009.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípio e prática**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FERRETTI, R.; DUARTE, R.A.; TERRA, N.L.; MORIGUCHI, Y. Aterosclerose e ácidos graxos “mega-3. **Acta Médica**, Porto Alegre, v. 15, p. 557-574, 1994.

FIGUEIREDO JÚNIOR, C.A.; VALENTE JÚNIOR, A.S. Cultivo de tilápia no Brasil: origens e cenário atual. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 44., Rio Branco, 2008. **Anais...** Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/178.pdf>>. Acesso em: 23 maio 2009.

FINNE, G. Modified and controlled-atmosphere storage of muscle foods. **Food Technology**, Champaign, v. 36, n. 2, p. 128-133, Feb. 1982.

FITZSIMMONS, K. Tilapia: the most important aquaculture species of the 21<sup>st</sup> century. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON TILAPIA AQUACULTURE, 2000, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: ISTA, 2000. p. 3-8.

FAO. **Fishery and aquaculture statistics**: 2006. Rome, 2008. 57 p.

\_\_\_\_\_. **The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA)**: 2008. Rome, 2009. 196 p.

\_\_\_\_\_. Fisheries and Aquaculture Department. **Species fact sheet: *Oreochromis niloticus***. Disponível em: < <http://www.fao.org/fishery/species/3217/en>> Acesso em: 01 jan. 2009.

FOOD STANDARDS AGENCY. **Traceability in the food chain**: a preliminary study. London: FSA, Food Chain Strategy Division, 2002. Disponível em: <<http://www.foodstandards.gov.uk/multimedia/pdfs/traceabilityinthefoodchain.pdf>> Acesso em: 13 maio 2009.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182 p.

FREITAS, J.V.F.; GURGEL, J.J.S. Estudos experimentais sobre a conservação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (L., 1766) Trewavas, armazenadas no gelo. **Boletim Técnico do DNOCS**, Recife, v. 42; n. 2; p.153-178, jul./dez.1984.

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

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 33, p.121-137, 1996.

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. 1/4, p. 309-319, 2004.

GURGEL, J.J.S.; FREITAS, J.V.F. Sobre a composição química de doze espécies de peixes de valor comercial dos açudes do Nordeste brasileiro. **Boletim Técnico do DNOCS**, Recife, v. 30, n. 1, p. 45-57, 1972.

HERNANDEZ, M.R.P. **Study of the quality management system and product traceability in a fish processing company**: final project. Reykjavik: United Nations University, Fisheries Training Programme, 2001. Disponível em: <<http://www.unuftp.is/proj01/MariaRitaPRF.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2009.

HINTLIAN; C.B.; HOTCHKISS, J.H. The safety of modified atmosphere packaging: a review. **Journal of Food Technology**, Oxford, v. 40, n. 12, p. 70-76, 1986.

HUSS, H.H. **El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad**. Roma: FAO, 1988. 131 p.

IBA, S.K.; BRABET, C.; OLIVEIRA, I.O.; PALLET, D. **Um panorama da rastreabilidade dos produtos agropecuários do Brasil destinados à exportação - carnes, soja e frutas** – ESALQ Projeto ProsPER1. São Paulo: Centro Franco Brasileiro de Documentação Técnica e Científica (CENDOTEC), 2003. 68 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. Pescados y productos derivado. In: \_\_\_\_\_. **Microorganismos de los alimentos: ecología microbiana de los productos alimentarios**. Zaragoza: Acribia, 1998. p. 121-166.

JORY, D.E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T.R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica. **Panorama Acuícola**, México, v. 5, n. 5, p. 50-53, 2000.

KAI, M.; MORAIS, C. Vias de deterioração do pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U.E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 13-20.

KUAYE, A.Y. **Comparação de métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescado: parâmetros críticos e modificações**. 1982. 98 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Campinas, 1982.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. São Paulo: Degaspari, 2000. 289 p.

KUBITZA, F; ONO, E. Percepções sobre a qualidade dos produtos de pescado. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 87, p. 17-22, 2005.

LANNELONGUE, M.; HANNA, M.; FINNE, G.; NICKELSON, R. II; VANDERZANT, C. Storage characteristics of finfish fillets (*Archosargus probatocephalus*) packaged in modified gas atmospheres containing carbon dioxide. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 45, n. 5, p. 440-444, 1982.

LAPA-GUIMARÃES, J. **Aminas biogênicas, aminas voláteis, triptofano livre e uréia como índices químicos de qualidade e frescor do pescado**. 2005. 125 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

LISTON, J. Recent advances in the chemistry of iced fish spoilage. In.: MARTIN, R.E. **Chemistry and biochemistry of marine food products**. Westport: AVI, 1982. p. 27-37.

LISTON, J.; STANSBY, M.E.; OLCOTT, H.J. Bacteriological and chemical basis for deteriorative changes. In: STANSBY, M.E. **Industrial fishery technology: a survey of methods for domestic harvesting, preservation, and processing of fish used for food and for industrial products**. New York: Reinhold, 1963. p. 350-361.

LOVSHIN, LL. Tilapia farming: a growing worldwide aquaculture industry. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1997, Piracicaba. **Anais...** Campinas: CBNA, 1997. p. 137-164.

MACHADO, E.L. **O papel da reputação na coordenação vertical da cadeia de frutas, legumes e verduras frescas.** 2002. 182 p. Tese (Doutorado em Economia) – Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

MADI, L.F.C.; CABRAL, A.C.; SOLAR, R.M. **Embalagens para alimentos.** Piracicaba: [s.n.], 1975. 32 p.

MARTIN, R.E. Seafood products- technology and research in the U.S. **Food Technology**, Champaign, v. 42, n. 3, p. 58-62, 1988.

MARTIN, R.E.; GRAY, R.J.H.; PIERSON, M.O. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. **Food Technology**, Champaign, v. 32, n. 5, p. 188-198, 1978.

MATHIAS, J.; BAEZ, J. R. **Análise setorial: a indústria do pescado.** São Paulo: Gazeta Mercantil, Panorama Setorial, 2003. 2 v. Legislação e estatísticas.

MISSAGLIA, A. Sistema de rastreabilidade. In: MILAN, M.; ZEN, S. de; MIRANDA, S.H.G.; COSTA, E.J.; PINAZZA, L.A. (Ed.) **Sistema de qualidade nas cadeias agroindustriais.** São Paulo: [s.n.], 2007. p. 107- 118.

MORENO, S. **Semana do peixe aumenta vendas de pescado até 50%.** Agência Brasil. 2004. Disponível em: <<http://brazil-brasil.com/index.php?option=content&task=view&id=36>>. Acesso em: 20 maio 2009.

MORETTI, C.L. Processamento mínimo. **Cultivar: HF**, Pelotas, v. 1, n. 5, p. 32-33, dez./jan. 2000/2001. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/public/textos/texto7.html>>. Acesso em: 15 jun. 2009.

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L.V.; KUSKOSKI, E.M. **Introdução à ciência de alimentos.** Florianópolis: UFSC, 2002. 255 p.

MORGA, A. **Avaliação do índice de frescor da Pescada Foguete, *Macrodon ancylodon*, conservada em gelo.** 1975. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1975.

PIBER NETO, E. **Enriquecimento do ovo utilização de óleos de peixes e alga marinha como fontes de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 em rações de galinhas.** 2007. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007. Disponível em <[http //www.teses.usp.br](http://www.teses.usp.br)>. Acesso em 11 maio 2009.

OETTERER, M. **Pescado como alimento.** Piracicaba: ESALQ, 1985. 30 p.

- \_\_\_\_\_. **Matéria-prima alimentar**: pescado. São Caetano do Sul: Centro de Pesquisa do Instituto Mauá de Tecnologia, 1991. 29 p.
- \_\_\_\_\_. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 200 p.
- \_\_\_\_\_. Proteínas do pescado: processamentos com intervenção na fração protéica. In.: OETTERER, M.; REGITANO-d'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. cap. 3, p. 99-134.
- OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de pesca**: ciência e tecnologia do pescado. São Paulo: Varela, 1999. v. 1, 430 p.
- OSSA, P. Enfermedad coronaria y dieta de pescado. **Boletín Médico del Hospital Infantil de México**, San Juan de Dios, v. 32, n. 5, p. 34-44, 1995.
- PÁDUA, H.B. Sabores e odores em sistemas aquáticos. São Paulo: **UNIB**, v. 2, p. 84-86, 1994.
- PILLAY, T.V.R. Aquaculture and fishery products development. **Fishery Products**, Oxford, v. 3, n. 9, p. 250-253, 1974.
- PIMENTEL, B.M.V.; FRANCKI, M.; GOLLÜCKE, B.P. **Alimentos funcionais**: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela, 2005. 95p.
- PLOEG, M.V.D.; BOYD, C.E. Geosmin production by cyanobacteria (blue-green algae) in fish ponds at Auburn, Alabama. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 22, p. 207-216, 1992.
- REINECCIUS, G.A. Off flavors in meat and fish-a review. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 44, p. 12-24, 1979.
- RUITER, A. **Fish and fishery products**: composition, nutritive properties and stability. Wallingford: CAB International, 1995. 387 p.
- RUIVO, U.E. O plano HACCP na indústria pesqueira brasileira. **Engenharia de Alimentos**, São Paulo, v. 4; n. 19, p. 28-30, 1998.
- RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius*, L) stored in ice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n. 7, p. 1030-1032, 2001.
- SAINZ, R.L.; COSTA, A.C.; FONSECA, R. Frutas e hortaliças minimamente processadas, um novo mercado para a indústria da alimentação. In: 12º ENCONTRO DE PROFESSORES DE ESCOLAS AGRÍCOLAS E AGROTÉCNICAS FEDERAIS DA REGIÃO SUL (EPEAAF), 1999, Rio do Sul. **Anais...** Rio Grande do Sul: Editora, 1999. 1 CD-ROM.

SAMPAIO, J.A.O. **Aproveitamento de pescado**. Porto Alegre: EMATER/RS; ASCAR, 2005. 39 p.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; CANAVESI, E. **Requisitos de conservação de alimentos em embalagens flexíveis**. Campinas: ITAL, CETEA, 2001. 215 p.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517 p.

SHEWAN, J.M. The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In.: HAWTHORN, J.; MUIL LEITCH, J. **Recent advances in food science**. London: Pergamon Press, 1962. p.167-193.

SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A.; BURT, J.R. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura. In: SIKORSKI, Z.E. **Tecnología de los productos del mar: recursos, composition y conservation**. Zaragoza: Acribia, 1994. cap. 4, p. 73-101.

SILVA, N. da; CANTUSIO NETO, R.; JUNQUEIRA, V.C.A. **Manual de métodos de análises microbiológicas da água**. Campinas: ITAL, 2000. 99 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007. 552 p.

SIQUEIRA, A.A.Z.C. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2001. 137 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SOARES, V.F.M.; VALE, S.R.; JUNQUEIRA, R.G.; GLÓRIA, B.A. Teores de histamina e qualidade físico-química e sensorial de filé de peixe congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, out./dez.1998. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611998000400020&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611998000400020&script=sci_arttext&tlng=pt)>. Acesso em: 01 jun. 2009.

SOCOL, M.C.H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. 2002. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SOUZA, P.H.M.; SOUZA NETO, M.H.; MAIA, G.A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 37, n. 2, p. 127-135, 2003.

THOMPSON, M.; SYLVIA, G.; MORISSEY, M.T. Seafood traceability in the United States: current trends, system design, and potential applications. **Food Science and Food Safety**, Oregon, v. 1, p. 1-7, 2005.

TORLONI, C.E.C.; BRAGA, J.T.; REIS, M.A.G.; ANDRADE, M. O. Eliminação do sabor e do odor desagradáveis em tilápias do nilo (*Sarotherodon niloticus*) pelo processo de depuração. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 34, n. 5, p.657-663, 1983.

TORRES, R. Inspeção do pescado: reflexo da busca pela qualidade. **Aqüicultura & Pesca**, São Paulo, ano 1, n. 4, p. 6-12, Out. 2004.

VANNUCCINI, S. El enfoque del nuevo mercado de tilapia; en el mundo Occidental. **Panorama Acuicola**, México, v. 4, n. 3, p. 22-25, 1999.

VAZ, J.O.; PARREIRA, W.B. **A tilápia**. São Paulo: Departamento de Produção Animal, [1999-]. 12 p.

VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**: teoria e prática. São Paulo: Varela, 2003. 380 p.

VINHOLIS, M.B.; AZEVEDO, P.F. Efeito da rastreabilidade no sistema agroindustrial da carne bovina brasileira. In: WORLD CONGRESS OF RURAL SOCIOLOGY, 10., 2000, Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: World Congress of Rural Sociology, 2000, v. 1, p. 1-14.

VITALI, A.A. Novas tendências em processamento de alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 15-16, 1997.

YOKOYAMA, V.A. **Qualidade do camarão da espécie *Xyphopenaeus kroyeri* mediante ação de antimelanócitos**. 2007. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.



## 2 DEPURAÇÃO COMO MÉTODO DE CONTROLE DE OFF-FLAVOR EM FILÉS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) MINIMAMENTE PROCESSADOS

### Resumo

Problemas sensoriais relacionados ao *off-flavor* são comuns em peixes de cultivo, principalmente quando não há um controle efetivo da quantidade de matéria orgânica acumulada nos criatórios, resultando em condições propícias para a floração de cianobactérias, produtoras de compostos como a geosmina (GEO) e 2-metil-isoborneol (MIB) classificados como os responsáveis pelo sabor e odor indesejáveis (*off-flavor*) na carne dos peixes. A depuração é uma ferramenta para minimizar os efeitos da presença do *off-flavor*, uma vez que os peixes ficam, determinado tempo, sem alimentação em um tanque com circulação de água e aeração constante, eliminando dessa forma, esses compostos pelas fezes. Três lotes de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de aproximadamente 12 Kg cada (21 a 26 indivíduos) foram submetidos a diferentes tratamentos de depuração: controle (sem depuração), 1 e 5 dias, em uma fazenda experimental no município de Igaratá (23°10'56,8"S – 46°11'03,0"O), interior do Estado de São Paulo. Foram realizadas 8 coletas para determinação da efetividade dos tempos de depuração. Foi realizado o monitoramento da temperatura em todas as etapas do processo de cultivo e transporte dos peixes até o local de processamento. Bem como o monitoramento do peso individual, comprimento, largura e tamanho da cabeça dos peixes, averiguando uniformidade do tamanho dos peixes em cada lote. Não foi observada diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ), para condições como perda de peso nos tempos de depuração (4,44 % e 5,57 % para tratamentos de 1 e 5 dias de depuração, respectivamente). Para as análises de frescor, somente a amostra de pH do tratamento de 1 dia de depuração diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) da amostra controle (sem depuração), mas os valores das amostras de todos os tratamentos, assim como os encontrados para BNVT estavam dentro do limite de frescor tolerado pela legislação vigente. A composição centesimal realizada não apresentou diferença estatística significativa entre as amostras dos diferentes tratamentos e confirmou os dados apresentados pela literatura de que a carne de pescado é uma fonte importante de proteína, com baixo teor calórico. Para as análises microbiológicas, não foi identificada diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os resultados apresentados nas amostras dos diferentes tratamentos, e todos os resultados estavam abaixo do valor limite tolerado pela legislação vigente. Analisando-se os resultados da análise sensorial, verificou-se que nenhuma das amostras apresentou “sabor ou aroma de barro (*off-flavor*)” significativos, e a “cor” e “aparência global” das amostras agradaram aos provadores. Entretanto, as amostras de filés de tilápia submetidas ao tratamento de 1 dia de depuração apresentaram pequena vantagem com relação ao tratamento de 5 dias, no que diz respeito à preferência do consumidor. Sendo assim, indica-se a utilização de apenas 1 dia de depuração dos peixes antes do seu abate, nas condições deste experimento, para controle da contagem microbiológica e garantia da ausência de *off-flavor* nos filés minimamente processados.

Palavras-chave: Tilápia do Nilo; *Off-flavor*; Depuração; Análise sensorial

## Abstract

Organoleptic problems related to *off-flavor* in fish farming are common, especially when there isn't a effective control of the quantity of organic matter, accumulated in the farms, resulting in conditions favorable for the flowering of cyanobacteria, producing compounds such as geosmina (GEO) and 2-methyl-isoborneol (MIB) classified as those responsible for the undesirable taste and flavor (*off-flavor*) in the flesh of fish. The depuration is a tool to minimize the effects of the presence of *off-flavor*, since the fishes are, given time, without food in a tank with water circulation and aeration constant, thus removing these compounds by fecal. Three lots of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), approximately 12 kg each (21 to 26 individuals) were subjected to different depuration treatments: control (no depuration), 1 and 5 days in an experimental farm in the municipality of Igaratá (23°10'56, 8 "S - 46°11'03, 0" Ho), state of São Paulo. It were performed 8 Collections to determine the effectiveness of time for depuration. The temperature was monitored at all stages of the cultivation process and transport of the fishes until the processing place. And it was also monitored of individual weight, length, width and size of the head of the fishes, check uniform size of fishes in each lot. There wasn't statistically significant difference ( $p > 0.05$ ), for conditions such as loss of weight at the time of depuration (4.44% and 5.57% for treatments 1 and 5 days, respectively). For the analysis of fresh, only the sample of pH treatment of 1 day of depuration differed statistically ( $p < 0.05$ ) of control sample (without depuration), but the values of samples from all treatments, also the values found to TVBN, were within the freshness limits tolerated by the law. The proximate composition, by the samples, was confirmed the data presented in the literature that the meat of fish is an important source of protein with low calorie. For microbiological analysis, no statistical difference was identified ( $p > 0.05$ ) between the results presented in the samples of the different treatments, and all results were below the tolerated limit by the law. Analyzing the results of sensory analysis, we found that none of the samples showed "taste or smell of mud (*off-flavor*)" significant, and "color" and "overall appearance" of samples like the tasters. However, the samples of tilapia fillets subjected to the treatment of 1 day of depuration showed small advantage relative to other treatments made, with respect to consumer's preference. So, it is stated to use only 1 day of depuration for the fishes before their slaughter, to control the microbiological count and guarantee the absence of *off-flavor* in minimally processed fillets.

Keywords: Nile tilapia; *Off-flavor*; Depuration; Sensory analysis

## 2.1 Introdução

O sabor característico e desejável do pescado pode ser alterado antes ou após a despesca. Problemas de alteração do sabor que se desenvolvem durante o cultivo podem estar relacionados à dieta ou, mais comumente, a desequilíbrios ambientais do cultivo (TUCKER; PLOEG, 1999). Peixes cujo sabor é rejeitado pelos consumidores são portadores de problemas de *off-flavor* (BIATO, 2005). Geralmente, problemas de sabor que ocorrem após a despesca são resultantes da

oxidação de gorduras ou ação de microrganismos específicos que ocorrem em função da estocagem inadequada ou prolongada do pescado.

As espécies cultivadas podem ou não apresentar características adquiridas de sabor na carne devido ao tipo de alimentação recebida, ou ainda, devido à presença de altas concentrações de algas, como as cianobactérias, na água do tanque de cultivo, responsáveis pelo odor e sabor de barro nos peixes. No Brasil, recomenda-se a depuração dos peixes, mantendo-os pelo menos 24 h sem alimentação antes do abate (OETTERER, 2002).

A eutrofização da água traz problemas sócio-econômicos preocupantes cada vez mais evidentes, sobretudo nos países em desenvolvimento, onde em geral não existe uma legislação específica e os próprios aqüicultores não estão sensibilizados quanto aos problemas gerados nesta esfera da atividade aqüícola. Especificamente, o problema crescente da ocorrência de *off-flavor* em peixes cultivados pode ser mais um fator limitante para o desenvolvimento da aqüicultura mundial (BIATO, 2005). Segundo Boyd (1998) todo o empreendimento aqüícola pode ser inviabilizado em função da baixa qualidade da água que abastece o cultivo com conseqüente *off-flavor* relacionado à eutrofização.

O *off-flavor* caracteriza-se pela presença de diferentes aromas nos peixes designados popularmente como o de “algas” (por associação), “barro”, “gerânio”, “violeta”, “inseticida BHC”, “remédio”, “formol”, “mofo”, “esgoto” e outros. Embora não apresentando, necessariamente, efeitos negativos em termos de saúde pública, essas alterações no pescado diminuem a aceitação do mesmo para o consumo (PÁDUA, 1994).

A depuração é um processo que leva à diminuição da população microbiana e eliminação de substâncias deletérias. A eficiência desse processo depende do tipo de tanque empregado e tempo de depuração; da temperatura, turbidez, oxigenação, densidade dos peixes e salinidade da água; da espécie e condição fisiológica desta; do nível de contaminação inicial e tipo de microrganismo a ser eliminado. Um outro fator importante é a circulação da água do tanque que evita a deposição de produtos fecais eliminados que poderiam recontaminar os peixes, além de resultar na queda dos níveis de oxigênio dissolvido na água (SOCCOL, 2002).

No Brasil, até há pouco tempo, os piscicultores não se preocupavam com a qualidade do peixe produzido. A produção era voltada quase que exclusivamente para atender à demanda de pesqueiros, que apenas faziam exigências quanto à entrega do peixe vivo, em boas condições, e visualmente isentos de doenças e parasitos. Com o atual declínio econômico da pesca recreativa e

a necessidade crescente da industrialização, espera-se que se estabeleçam novos parâmetros que contemplem as exigências do mercado varejista e dos consumidores, quanto à qualidade do pescado, em especial o frescor e a padronização quanto ao sabor, textura, e cor da matéria-prima (KUBITZA, 2000).

Os produtores que não se adequarem a essa nova condição, sofrerão com a perda de competitividade e espaço, visto que, cada vez mais os consumidores estão exigindo produtos de qualidade, conveniência e características sensoriais atrativas, além de seguros do ponto de vista microbiológico.

Sendo assim, pretendeu-se com esta pesquisa avaliar a eficácia de dois tempos de depuração (1 e 5 dias), comparando-se com o controle (sem depuração), em relação ao controle do *off-flavor* em amostras de filés de tilápia minimamente processados, através de análise sensorial. Foram também avaliados os efeitos da depuração em relação à perda de peso, diminuição da contagem microbiana e frescor do produto em questão.

## **2.2 Material e Métodos**

### **2.2.1 Obtenção da matéria-prima**

Para esta pesquisa, foram utilizados peixes da espécie tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes de criatório da região de Igaratá, interior do Estado de São Paulo (23°10'56,8"S – 46°11'03,0"Ho). Os peixes foram criados em tanques-rede de aproximadamente 2 x 2 x 1,5 m com uma área submersa de 4,5 m<sup>3</sup> (Figura 4), no Ribeirão das Palmeiras, pertencente à bacia do Rio do Peixe. No local de cultivo, há um total de 145 tanques-rede (Figura 5), que produzem cerca de 100 t de peixes por ano.



Figura 4 – Tanque-rede



Figura 5 – Tanques-rede instalados na Fazenda Palmares

Essa fazenda foi eleita por ser parceira do projeto temático “Rastreabilidade da cadeia produtiva de pescado cultivado – tilápia (*Oreochromis niloticus*)” (OETTERER; GALVÃO, 2005<sup>1</sup>), financiado pela FINEP/MCT/SEAP – edital Aqüicultura – Ação transversal 12/2005, ao qual esta pesquisa é um projeto componente.

### 2.2.2 Procedimento de depuração

Após atingirem cerca de 500 g, 3 lotes de peixes, de aproximadamente 12 kg (21 a 26 indivíduos) cada, foram separados aleatoriamente dos tanques-rede da fazenda. Os indivíduos selecionados foram separados em: lote 1 – controle (sem depuração), lote 2 – 1 dia de depuração (OETTERER, 2002) e lote 3 – 5 dias de depuração (BIATO, 2005). Os lotes depurados foram colocados em tanques de alvenaria (Figura 6), sem alimentação, com água corrente, durante os períodos pré-estabelecidos.



Figura 6 – Tanque de depuração

---

<sup>1</sup> OETTERER, M.; GALVÃO, J.A. **Rastreabilidade da cadeia produtiva de pescado cultivado – tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Chamada pública MCT/FINEP, Aqüicultura – Ação transversal 12/2005. 22 p.

O tanque de depuração localizava-se na mesma fazenda onde foram feitas as coletas, logo à margem do espelho d'água onde estavam os tanques-rede, sendo assim, o transporte dos peixes dos tanques-rede para os tanques de depuração efetuou-se rapidamente, sem prejuízo para qualidade dos mesmos. O tanque de depuração tinha uma medida de 5 x 2 m e 1 m de profundidade, e era dividido em dois compartimentos, com capacidade para 5000 L cada, nos quais em um era colocado o lote de peixe a ser depurado por 5 dias e no outro, o lote de 1 dia.

O tanque de depuração possuía um sistema contínuo de circulação de água e aeração, evitando o acúmulo de dejetos excretados pelos peixes. A água de depuração foi proveniente de uma nascente, localizada na própria fazenda, que foi canalizada até o local do tanque de depuração.

O procedimento de coleta dos peixes foi realizado durante 8 vezes (consideradas como blocos – repetições, na estatística) ao longo de um ano (ago/07, set/2007, out/2007, dez/2007, fev/2008, mai/2008, jul/2008, ago/2008), pois pretendeu-se obter uma amostragem que representasse todas as estações do ano, para que as mudanças climáticas (principalmente temperatura e chuvas) não interferissem nos resultados desta pesquisa. Tentou-se realizar os procedimentos das coletas da forma mais semelhante possível, e para o tratamento estatístico foram utilizadas as médias dos resultados das análises obtidas nas 8 coletas.

### **2.2.3 Procedimento pós despesca**

#### **2.2.3.1 Aferição de temperatura (°C)**

Em cada uma das coletas, após o período de depuração, foram medidas as temperaturas (com termômetro da marca INCOTERM) da água do tanque de depuração (de cada um dos compartimentos individualmente (Figura 7)); do tanque-rede onde estava o lote controle; e do ambiente.



Figura 7 – Medição da temperatura

### 2.2.3.2 Determinação da perda de peso

Para determinação da perda de peso, os tanques de depuração foram esvaziados e os peixes colocados em caixas plásticas para pesagem (Figura 8).



Figura 8 – Coleta dos peixes do tanque de depuração

Os peixes foram pesados em balança comercial da marca LIDER, modelo B-520 (Figura 9), antes e depois da depuração para verificação da perda de peso no período experimental, sendo os resultados expressos em porcentagem (BIATO, 2005).





Figura 9 – Pesagem dos lotes

### 2.2.3.3 Abate e transporte

Após a pesagem, os peixes foram colocados ainda vivos em caixas térmicas plásticas em camadas intercaladas com gelo preparado com água potável, onde sofreram choque térmico (BIATO, 2005). A relação peixe:gelo foi de 1:1, como pode ser observado na Figura 10. Os peixes, em situação de hipotermia, foram transportados ao Setor de Processamento de Alimentos do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ – USP, Campus de Piracicaba, com monitoramento da temperatura durante o transporte.



Figura 10 – Caixa isotérmica para transporte

#### 2.2.3.4 Biometria e rendimento dos filés

Antes do processamento propriamente dito, foram feitas as determinações biométricas de comprimento (cm), largura (cm) e tamanho da cabeça (cm) dos peixes de cada lote (média de aproximadamente 21 a 26 indivíduos cada lote) (Figura 11), utilizando-se uma régua de plástico de 30 cm, a fim de se ter uma padronização dessas medidas. Além disso, foi realizada a pesagem dos peixes inteiros (Figura 12) e dos seus respectivos filés, a fim de se obter o rendimento do processo de filetagem.



Figura 11 – Biometria dos peixes



Figura 12 – Pesagem dos peixes inteiros

#### 2.2.3.5 Processamento mínimo das tilápias

Na Planta de Processamento do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (ESALQ/USP), procedeu-se ao processamento mínimo dos peixes (Figura 13), visando reproduzir condições industriais.



Figura 13 – Processamento mínimo

Durante o processamento mínimo, foram realizadas as operações descritas na Figura 14.

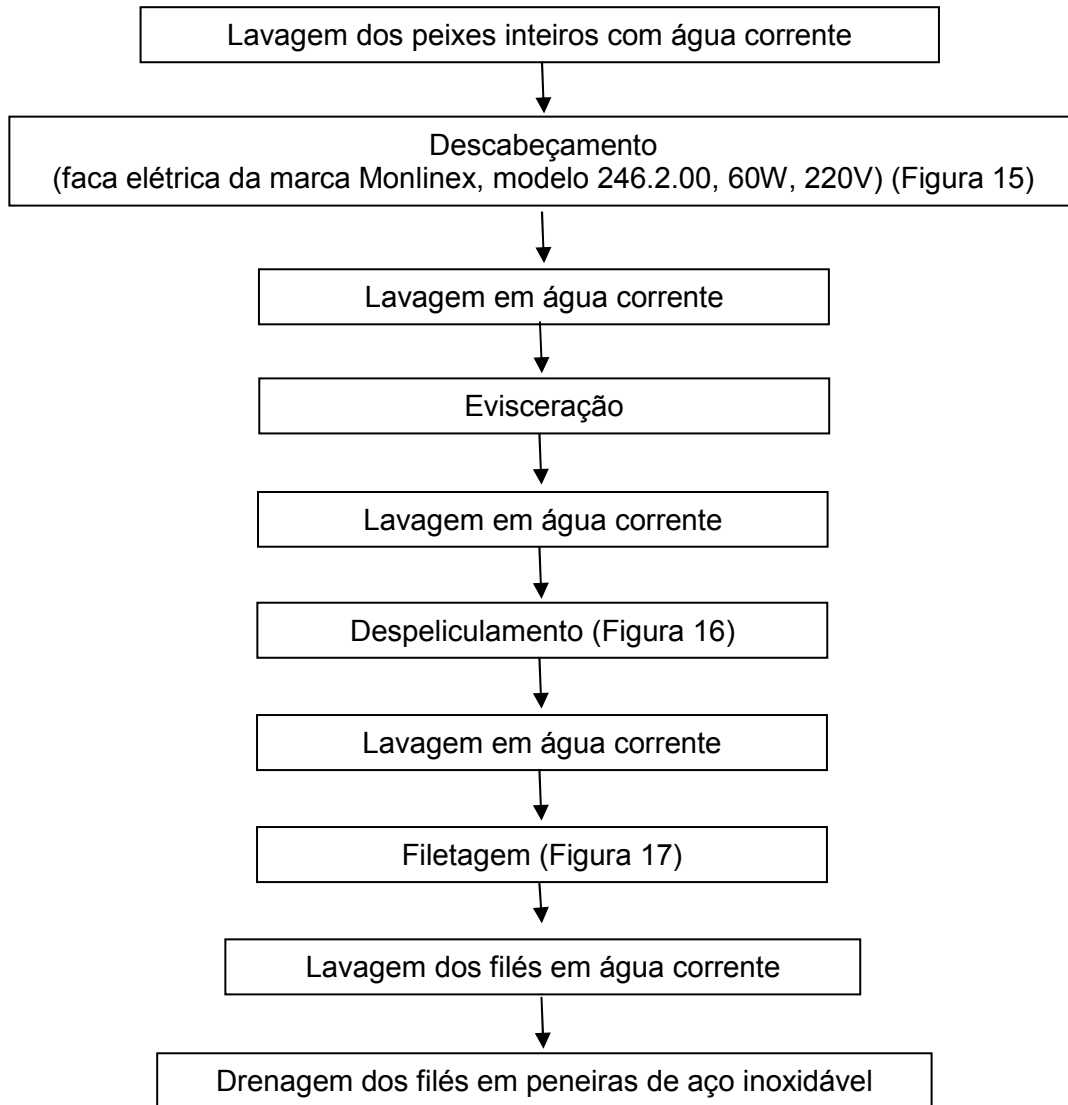


Figura 14 – Fluxograma do processamento mínimo das tilápias

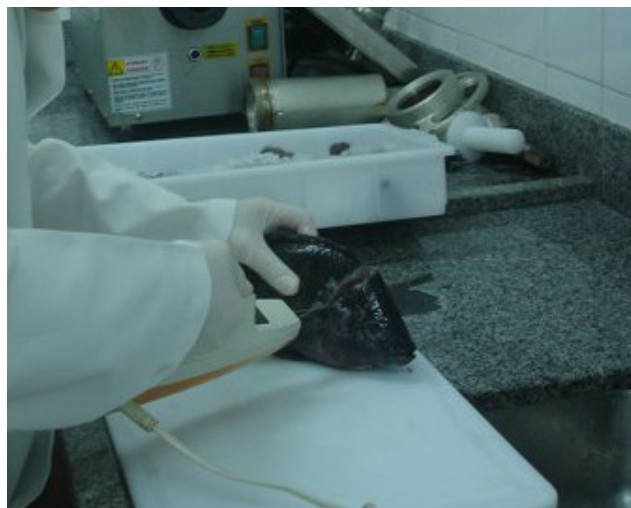


Figura 15 – Descabeçamento



Figura 16 – Despeliculamento



Figura 17 – Filetagem

O processamento dos lotes foi realizado individualmente de forma a se evitar possível contaminação cruzada. Antes do início do processamento e entre o processamento de cada lote, os utensílios e bancadas foram higienizados com água clorada, sabão e álcool a 70 %.

Ao final do processamento, os filés de cada lote foram porcionados e destinados às análises laboratoriais (microbiológicas, físico-químicas e sensoriais) para caracterização da matéria-prima.

#### **2.2.4 Análises laboratoriais**

Previamente à realização das análises laboratoriais, foram testadas algumas metodologias para as análises de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT), pH, umidade e análises microbiológicas, previstas neste trabalho. Em seguida, foram eleitas as metodologias que apresentaram os melhores desempenhos, com relação à repetibilidade. Com isso, foi possível elaborar um documento de Procedimentos Operacionais Padronizados (POP's), referente às Análises Físico-químicas (POP-Físico-química) e às análises Microbiológicas (POP-Micro). As metodologias utilizadas nesta pesquisa foram adotadas para realização de todas as análises de rotina do laboratório de Tecnologia do Pescado, da ESALQ/USP.

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e as microbiológicas em duplicata.

Os resíduos gerados nas análises físico-químicas foram destinados à Equipe de Gerenciamento de Resíduos do Grupo de Estudos e Extensão em Inovação Tecnológica e Qualidade do Pescado (GETEP), formado por alunos estagiários do Laboratório de Tecnologia do Pescado, da ESALQ/USP. Os resíduos foram separados, catalogados, armazenados e, posteriormente, destinados ao entreposto de Resíduos Químicos da ESALQ/USP.

##### **2.2.4.1 Análises físico-químicas dos filés**

No laboratório de Tecnologia do Pescado, da ESALQ/USP, foram realizadas as seguintes análises:

#### **2.2.4.1.1 Mensuração de pH**

A mensuração foi realizada através do potenciômetro digital TECNAL, modelo TEC3-MP, seguindo as instruções do manual de uso do equipamento (TECNAL..., [1999-]. O preparo da amostra foi realizado segundo Pregnoatto e Pregnoatto (1985), descrito no Procedimento Operacional Padronizado de Análises Físico-químicas (POP-Físico-química) de nº 05 (Anexo E).

#### **2.2.4.1.2 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)**

Para realização dessa análise foi efetuada uma adaptação, segundo Savay da Silva et al. (2008), a partir do método por destilação descrito em “Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura”, da normativa nº 20 de 21 de julho de 1999 (BRASIL, 1999). Esta adaptação está descrita no POP-Físico-química de nº 07 observado no Anexo F, onde foram homogeneizados 50 g de amostra com 150 mL de ácido tricloroacético, para precipitação do nitrogênio protéico; o filtrado, contendo o nitrogênio volátil, foi alcalinizado a vapor, recebido em solução de ácido bórico e titulado com solução de ácido sulfúrico 0,01 N, padronizado em presença de indicador adequado.

#### **2.2.4.1.3 Composição centesimal e valor calórico**

As análises realizadas para determinação da composição centesimal foram: Umidade (POP-Físico-química de nº 01 – Anexo A), determinada por perda de peso da amostra em estufa a 105 °C, até peso constante (PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985); Proteína bruta (POP-Físico-química de nº 02 – Anexo B) através da determinação do nitrogênio total, pelo método de Microkjeldahl, e conversão em proteína, multiplicando o valor obtido pelo fator 6,25 (JOHNSON; ULRICH, 1974); Cinza (POP-Físico-química de nº 03 – Anexo C) foi determinada por calcinação da matéria orgânica em forno mufla a 550 °C (PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985; WINTERS; TENNYSON, 2005) e a quantidade de amostra utilizada seguiu o recomendado por Winters e Tennyson (2005); Lipídeos totais (POP-Físico-química de nº 04 – Anexo D) foram determinados através do método de Soxhlet, utilizando hexano como solvente extrator (PREGNOLATTO; PREGNOLATTO, 1985); E o teor de carboidratos foi obtido por cálculo de diferença (BRASIL, 2001a). Os cálculos dos resultados foram expressos em base úmida.

O valor calórico foi obtido multiplicando-se o teor de lipídeos por 9 e o teor de proteínas e carboidrato por 4 (BRASIL, 2001a).

#### **2.2.4.2 Análises microbiológicas dos filés**

Foram realizadas as análises microbiológicas previstas pela ANVISA para pescado resfriado não consumido cru, através da RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo e presença de *Salmonella* spp.) (BRASIL, 2001b). Além disso, foram também realizadas as contagens para coliformes totais e *E.coli*, psicrotróficos e clostrídios sulfito redutores.

A água peptonada e as diluições decimais para cada análise foram preparadas conforme descrito no POP-Micro de nº 01, Anexo G (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

##### **2.2.4.2.1 Microrganismos psicrotróficos**

A realização desta análise seguiu os procedimentos descritos no POP-Micro de nº 03 (Anexo I). Alíquotas de 1 mL das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  foram inoculadas, em duplicata, em placas de Petri e em seguida, foi adicionado o *Plate Count Agar* (PCA). Após a homogeneização e completa solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas invertidas em BOD a 20 °C por 72 h para contagem dos microrganismos psicrotróficos. Os resultados foram expressos em UFC/g, e, quando necessários, transformados em log UFC/g (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

##### **2.2.4.2.2 Coliformes totais e *E. coli***

O procedimento desta análise está descrito no POP-Micro de nº 04 (Anexo J). A determinação de coliformes totais foi realizada através da inoculação em série de 3 tubos da amostra em Caldo Lauril Sulfato Triptose suplementado com 4-metilumbeliferil-b-D-glicuronídeo (LST-MUG), onde alíquotas de 1 mL das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  foram transferidas para tubo com este meio de cultura e incubados a 35 °C por 48 h. Para confirmação de coliformes totais, os tubos que apresentaram formação de gás e turvação do meio tiveram alíquotas passadas para tubos de Caldo Verde Brilhante (VB) através de uma alça microbiológica (Figura 18) e foram incubados a 35 °C por 24 h. Os tubos do Caldo VB que apresentarem turvação e formação

de gás nos tubos de Duhran são considerados positivos para coliformes totais. E os tubos do Caldo LST-MUG que apresentarem turvação e formação de gás nos tubos de Duhran, além da fluorescência quando submetidos à luz ultra violeta (UV), são considerados positivos para *E.coli*. Os resultados foram obtidos através da tabela de Número Mais Provável – NMP e expressos em NMP/g (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

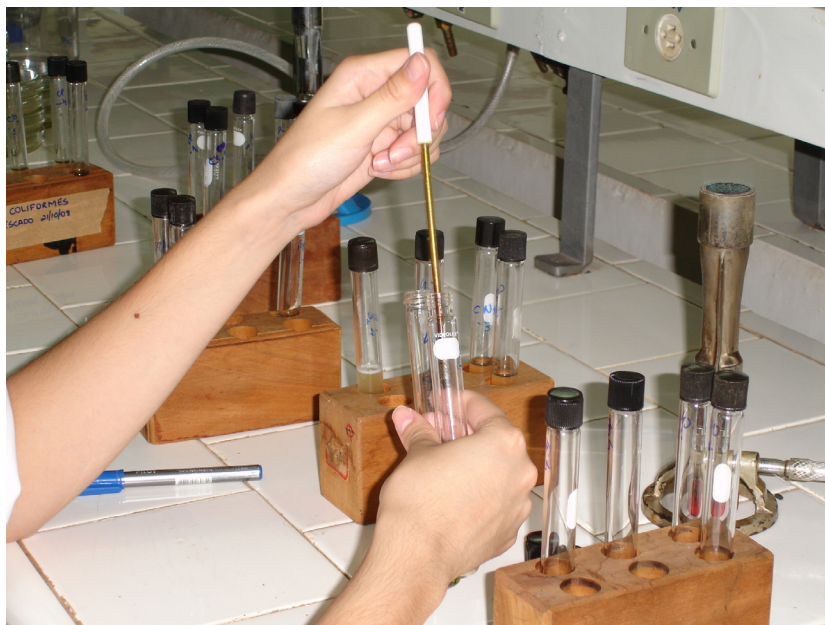


Figura 18 – Incubação em caldo Verde Brillante (VB)

#### 2.2.4.2.3 *Staphylococcus aureus* coagulase positivo

Realizada segundo Silva, Junqueira e Silveira (1997), a metodologia desta análise está descrita integralmente no POP-Micro de nº 05 que pode ser observado no Anexo K. Placas contendo Ágar Baird-Parker (BPA) foram preparadas 48 h antes da realização da análise. Foram inoculadas, em superfície, alíquotas de 0,1; 0,3; 0,3 e 0,3 mL, totalizando 1 mL da diluição  $10^{-1}$  e alíquotas de 0,1 mL, em duplicata, das diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ . O espalhamento do inóculo foi realizado com alça de Drigalski. Após a inoculação, as placas foram incubadas invertidas em estufa a 37 °C por 48 h. As colônias típicas foram isoladas, para fazer os testes de Gram, catalase e coagulase (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997). O resultado foi expresso em UFC/g, e, quando necessário, transformados em log UFC/g.



#### 2.2.4.2.4 Clostrídios sulfitos redutores

A realização desta análise seguiu os procedimentos descritos no POP-Micro de nº 06 (Anexo L). Aliquotas de 1 mL das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  foram inoculadas, em duplicata, em placas de Petri e em seguida, foi adicionado uma fina camada do meio TSC (Trypticase Sulfito Cicloserina), acrescido do antibiótico D-cicloserina 4 %, para o teste presuntivo. Após a homogeneização e completa solidificação do meio de cultura, foi colocado mais uma camada do mesmo meio nas placas para se garantir a anaerobiose do meio. Após completa solidificação dessa sobrecamada, as placas foram incubadas invertidas em jarras de anaerobiose contendo sachê de anaerobiose da marca Aerobac hidratado com 10 mL de água destilada. As jarras foram colocadas em estufa a 46 °C ( $\pm 2$  °C) por 48 h. As colônias características foram submetidas aos testes confirmativos com crescimento em Caldo *Brain Heart Infusion* (BHI – Infusão cérebro coração) desaerado, seguido de teste de catalase. Os resultados foram expressos em UFC/g em função do número de colônias típicas, diluição inoculada e porcentagem de colônias confirmadas, e, quando necessário, transformado em log UFC/g (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997).

#### 2.2.4.2.5 *Salmonella* spp.

Para essa análise optou-se por utilizar o kit rápido 1-2 Test Salmonella, aprovado pela AOAC (WALLACE; HAMMACK, 2005). Foram pesados 25 g de amostra (conforme descrito no POP-Micro de nº 08 - Anexo M), os quais foram homogeneizados em 225 mL de Caldo Lactosado e incubados a 37 °C por 24 h. A seguir, 1 mL do caldo foi transferido para 9 mL de Caldo Tetrionato/Iodo Iodeto e colocado em banho-maria a 45 °C de 6 a 8 h. Passado este tempo, 1,5 mL da cultura foi transferido para o kit 1-2 Test Salmonella da Biocontrol System INC (cod. 10107), o qual foi incubado a 35 °C por 24 h. A manipulação do kit seguiu as instruções previstas no seu próprio manual de instruções (BIOCONTROL..., 2008). O resultado foi expresso em ausência ou presença em 25 g.

#### 2.2.4.3 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada segundo modelo de ficha adaptado de Biato (2005), com no mínimo 40 provadores não treinados. Para medida da intensidade dos atributos “sabor de barro (*off-flavor*)” e “aroma de barro (*off-flavor*)”, foi utilizada uma escala numérica estruturada

variando de “nada” (nota 1) a “muito” (nota 9). E para medida da intensidade dos atributos “cor” e “aparência global”, foi utilizada uma escala numérica estruturada variando de “desagradável” (nota 1) a “agradável” (nota 9). As amostras foram apresentadas aos provadores em pratos de cerâmica, codificados com números de três dígitos, selecionados aleatoriamente. Para a avaliação do atributo de “sabor de barro (*off-flavor*)” os filés de tilápia de cada um dos tratamentos foram cortados em pedaços de 4 cm<sup>2</sup>, embrulhados em papel manteiga, submetidos à cocção em microondas de marca Samsung (modelo MW 2500U), por 40 segundos, em potência máxima, e servidos aos provadores. Para as análises de “aroma de barro (*off-flavor*)”, “cor” e “aparência global” foi apresentado aos provadores um filé *in natura* de cada um dos tratamentos. O modelo da ficha sensorial pode ser observado no Anexo N.

A realização desta análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), segundo protocolo de número 21, divulgado na circular COET/046.

### **2.2.5 Análise estatística**

Para análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância de acordo com modelo apropriado para experimentos casualizados em blocos com 1 fator (tratamento) e, posteriormente, ao teste para comparações múltiplas de médias de Tukey com nível de significância previamente estabelecido em 5 % ( $p < 0,05$ ).

Preliminarmente à análise de variância foi aplicado um estudo de suposições que buscou identificar problemas relacionados à presença de valores discrepantes, valores excessivamente influentes, homogeneidade de variância, na escala da variável de resposta e no delineamento. Em função deste estudo definiu-se a aplicação de funções para transformação de dados da variável lipídeo que foram submetidas à função inversa. Também se definiu que seria apropriada a exclusão do valor de carboidrato da observação 3 uma vez que o mesmo mostrou indícios de ser um dado discrepante.

As análises foram executadas através do sistema SAS (SAS, 2002).

## 2.3 Resultados e Discussão

### 2.3.1 Determinação da perda de peso

A perda de peso é um dos principais fatores limitantes para realização do procedimento de depuração, visto que, para esse procedimento, se faz necessário uma maior disponibilidade de tempo para a despesca, gasto com mão-de-obra de funcionários, necessidade de um local para depuração e conseqüente diminuição do peso dos peixes, acarretando em possíveis perdas econômicas.

Por outro lado, esta simples prática pode resultar em produtos com melhor qualidade sensorial por evitar o aparecimento de *off-flavor* no produto final.

Na Tabela 4, entretanto, verifica-se que nem sempre a perda de peso existente nessa prática tem resultados significativos, como pode ser observado nos valores percentuais obtidos nos diferentes tempos de depuração aos quais os peixes foram submetidos, nas coletas realizadas.

Tabela 4 – Perda de peso (desvio padrão) dos peixes nos tratamentos de depuração

Coletas	Perda de peso (%) nos dias de depuração	
	1	5
1 (ago/2007)	11,25	6,67
2 (set/2007)	3,33	5,00
3 (out/2007)	3,33	5,00
4 (dez/2007)	8,46	6,67
5 (fev/2008)	0	0
6 (mai/2008)	3,69	4,36
7 (jul/2008)	0	11,29
8 (ago/2008)	5,44	5,57
Médias	4,44 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,16)	5,57 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,18)

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Observa-se que não houve diferença estatística significativa ( $p= 0,5077$ ) para as médias obtidas em cada tratamento de depuração. O maior valor de perda de peso observado no tratamento de 5 dias de depuração (5,57 %) pode ser explicado pela maior quantidade de dias em que os peixes ficaram sem alimentação, quando comparado com o tratamento de 1 dia (24 h).

Biato (2005), encontrou um valor percentual ainda maior para perda de peso em tilápias submetidas à depuração de 5 dias, cerca de 8,56 %. Em seu experimento, também foram testados

os tempos de 3 e 7 dias de depuração, os quais resultaram em uma perda de peso de 6,72 % e 8,68 %, respectivamente.

Em um estudo realizado por Lovell (1974), foi registrado uma perda de peso de 5 % em peixes submetidos a 3 dias de depuração e de 7 % em peixes submetidos a 6 dias de depuração.

Examinando esses dados, nota-se que as maiores perdas de peso (%) ocorreram nos primeiros dias, pois, depois de algum tempo sob o tratamento de depuração, o próprio peixe reduz seu metabolismo como forma de adaptação a essa sua nova condição de escassez de alimento.

### **2.3.2 Aferição da temperatura**

A idéia de se monitorar a temperatura em todas as etapas do processo de obtenção da matéria-prima partiu do pressuposto que aumentos significativos dessa temperatura poderiam causar algum dano ao produto final.

A exigência em temperatura depende da espécie que será cultivada e da fase de desenvolvimento em que este se encontra (ovo, larva, pós-larva ou juvenil). As espécies de peixes tropicais normalmente apresentam ótimo crescimento a temperatura de 26 a 30 °C, o consumo de alimento, o crescimento e a tolerância ao manuseio e as doenças são afetados pelo aumento ou diminuição da temperatura (KUBITZA, 2003).

Os valores das temperaturas constatadas nas coletas podem ser observadas na Tabela 5. Verifica-se que não houve altas variações de temperatura nos diferentes ambientes pelos quais os peixes estiveram, a variação foi cerca de 1,4 °C (20,2 a 21,6 °C).

Tabela 5 – Temperaturas (°C) ( $\pm$  desvio padrão) medidas nos dias de coleta

Coletas	Temperaturas (°C)				
	Água de cultivo	Água da gaiola de cultivo	Água do Tanque 1 dia	Água do Tanque 5 dia	Ambiente
1 (ago/2007)	20,0	19,3	19,5	19,3	23,5
2 (set/2007)	21,9	21,7	19,3	19,9	19,0
3 (out/2007)	23,7	23,2	22,6	23,0	24,3
4 (dez/2007)	26,4	26,2	25,9	26,1	27,5
5 (fev/2008)	26,5	26,5	23,1	23,2	26,1
6 (mai/2008)	18,5	19,1	17,6	18,6	17,0
7 (jul/2008)	17,1	17,1	15,4	15,4	13,6
8 (ago/2008)	19,0	19,0	18,3	17,9	20,7
Médias	21,6 ( $\pm$ 3,60)	21,5( $\pm$ 3,50)	20,2( $\pm$ 3,42)	20,4( $\pm$ 3,44)	21,5( $\pm$ 4,76)

Para Kubitzka (2000), a tolerância da tilápia do Nilo ao frio é intermediária ao observado para a tilápia azul (mais tolerante de todas) e a tilápia de Moçambique. As temperaturas mínimas letais variam de 8 a 13 °C dependendo da adaptação. Com relação à temperatura máxima letal para a tilápia do Nilo, esta pode variar de 38 a 44 °C, quando aclimatadas em temperaturas de 15 a 35°C, respectivamente. Quanto mais próxima for à temperatura de aclimação dos peixes das temperaturas extremas, maior será a tolerância dos peixes ao frio e ao calor.

De acordo com Kubitzka (2000), o manuseio e transporte destes peixes nos meses de inverno e início da primavera, resultam em grande mortalidade devido a infecções bacterianas e fúngicas.

Este fato não foi constatado durante as coletas, pois mesmo nos meses onde as temperaturas eram mais frias (maio e julho – Tabela 5), não foi observado problemas com mortalidade dos peixes. E isso pode ter sido resultado da boa alimentação (ração de qualidade e frequência adequada de fornecimento de ração) que os peixes dessa fazenda tinham antes do período de depuração. O próprio Kubitzka (2000) afirma que tilápias bem nutridas e que não sofreram estresse por má qualidade da água, toleram melhor o manuseio sob baixas temperaturas.

Ao se correlacionar as variáveis temperatura e perda de peso (%), verifica-se, na Figura 19, que, para os peixes sob o período de depuração de 1 dia, houve uma tendência ao aumento da perda de peso a medida que a temperatura do tanque de depuração também aumentou. Todavia, para os peixes submetidos ao período de 5 dias de depuração observou-se o inverso, havendo uma diminuição da porcentagem de perda de peso dos peixes a medida que ocorreu o aumento da

temperatura da água do tanque de depuração. De acordo com Pezzato et al. (2004), em peixes, as exigências nutricionais estão diretamente relacionadas a fatores como: temperatura da água, espécie, fase de desenvolvimento, sexo, estágio de maturação sexual, sistema e regime de produção, frequência de arraçoamento e qualidade da dieta.

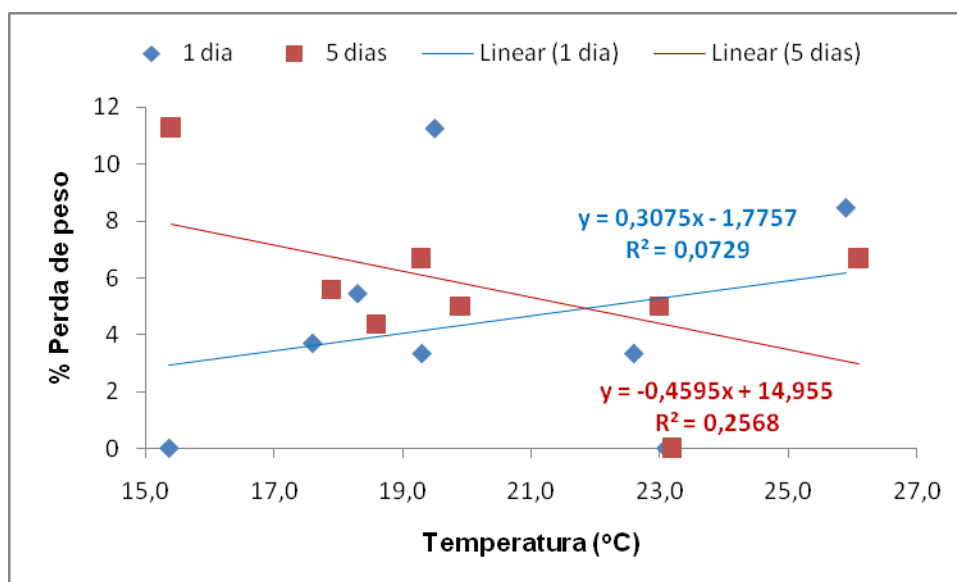


Figura 19 – Correlação entre a temperatura do tanque de depuração e a perda de peso dos peixes (%)

Na Tabela 6, verifica-se as temperaturas, constatadas nas coletas, durante o transporte, nas caixas onde se encontravam os lotes dos peixes controle, os que sofreram 1 e 5 dias de depuração, até a planta de processamento da ESALQ/USP.

Tabela 6 – Temperaturas ( $\pm$  desvio padrão) durante o transporte das amostras

Coletas	Temperaturas (°C)		
	Controle	1 dia	5 dias
1 (ago/2007)	0,0	0,0	0,0
2 (set/2007)	5,0	1,0	1,0
3 (out/2007)	10,0	7,0	7,0
4 (dez/2007)	11,0	7,0	7,0
5 (fev/2008)	0,5	1,5	0,7
6 (mai/2008)	0,4	0,5	0,4
7 (jul/2008)	0,4	0,3	0,5
8 (ago/2008)	0,4	0,4	0,6
Médias	3,5 ( $\pm$ 4,64)	2,2 ( $\pm$ 2,99)	2,2 ( $\pm$ 3,01)

Observa-se que nenhuma das médias de temperatura monitoradas equivalem a temperatura ideal recomendada para transporte dos peixes em hipotermia até o local de processamento, que seria a uma temperatura de 0 °C (BIATO, 2005). Entretanto, os valores ficam dentro do esperado para transporte de peixe fresco (3 a 5 °C) (VIGILÂNCIA..., 2009).

De acordo com Galvão et al. (2006), quanto menor a temperatura utilizada durante o transporte, maior será o frescor do pescado. Além disso, a redução da temperatura abaixo da mínima necessária para o crescimento microbiano estende o tempo de geração de microrganismos, evitando ou retardando a sua reprodução. O resfriamento é a operação unitária na qual a temperatura do alimento é reduzida para -1 °C a 8 °C. É usado para controlar as variações biológicas e, assim, prolongar a vida útil de alimentos frescos e processados. O resfriamento causa alterações mínimas nas características sensoriais e nas propriedades nutricionais dos alimentos e, como resultado, os alimentos resfriados são percebidos pelos consumidores como convenientes, fáceis de preparar, de alta qualidade, “saudáveis”, “naturais” e “frescos” (FELLOWS, 2006).

### 2.3.3 Processamento mínimo das tilápias

#### 2.3.3.1 Biometria e rendimento dos filés

Durante a etapa de processamento mínimo das tilápias de cada tratamento (controle, 1 e 5 dias de depuração), foram verificados os valores médios das determinações biométricas observados na Tabela 7.

Tabela 7 – Medidas (cm) biométricas realizadas durante o processamento (médias)

Coletas	Comprimento			Largura			Cabeça		
	C	1	5	C	1	5	C	1	5
1 (ago/2007)	27,3	27,2	27,0	10,9	11,1	10,9	7,1	6,9	6,9
2 (set/2007)	27,5	27,6	26,5	11,2	11,3	10,1	6,6	6,6	6,6
3 (out/2007)	28,9	28,7	27,4	10,9	10,8	10,2	7,4	7,2	7,3
4 (dez/2007)	28,6	29,1	29,8	12,4	12,5	11,6	7,3	8,0	7,9
5 (fev/2008)	30,6	29,3	30,6	12,2	11,8	11,4	7,9	7,7	7,9
6 (mai/2008)	30,8	30,8	30,1	11,4	11,1	11,7	7,9	7,6	8,0
7 (jul/2008)	27,0	26,8	26,9	10,5	10,1	11,1	6,9	6,7	7,0
8 (ago/2008)	27,7	28,6	27,9	11,0	11,6	11,2	6,9	7,1	7,0
Médias	28,5	28,5	28,3	11,3	11,3	11,0	7,2	7,2	7,3
Desvio Padrão	± 1,47	± 1,29	± 1,63	± 0,65	± 0,69	± 0,59	± 0,46	± 0,48	± 0,53

C = controle; 1 = 1 dia de depuração; 5 = 5 dias de depuração;

As medidas do comprimento e largura dos peixes, assim como do tamanho das cabeças, foram tomadas a fim de se estabelecer um padrão de tamanho para as tilápias que devem ser destinadas a esse tipo de processamento mínimo. Observa-se que a variação entre as médias resultantes em cada tratamento para cada variável foi relativamente pequena, a saber: comprimento do peixe inteiro variou de 28,3 a 28,5 cm; largura do peixe variou de 11 a 11,3 cm; e tamanho da cabeça variou de 7,2 a 7,3 cm (Tabela 7). Dessa forma, pode-se dizer que os lotes dos tratamentos apresentaram homogeneidade quanto ao tamanho dos peixes

Na Tabela 8, encontram-se os valores médios das pesagens individuais dos peixes, e de seus respectivos filés, de cada tratamento realizado, ao longo das coletas.

Tabela 8 – Peso (g) dos peixes e filés (médias)

Coletas	Peixe inteiro (g)			Filés (g)		
	Controle	1	5	Controle	1	5
1 (ago/2007)	405,45	412,63	478,00	89,62	145,81	146,03
2 (set/2007)	483,85	485,11	521,85	131,92	149,87	146,86
3 (out/2007)	606,71	658,55	562,77	202,62	207,07	178,45
4 (dez/2007)	576,46	552,27	570,27	169,86	178,08	180,99
5 (fev/2008)	769,61	697,87	655,05	232,47	230,09	174,17
6 (mai/2008)	590,64	711,73	688,95	147,12	217,64	221,03
7 (jul/2008)	513,04	471,94	580,75	161,25	139,91	206,11
8 (ago/2008)	601,95	637,27	647,70	173,77	196,22	186,20
Médias	568,46 <sup>a</sup>	578,42 <sup>a</sup>	588,17 <sup>a</sup>	163,58	183,08	179,98
Desvio Padrão	± 107,17	± 113,48	± 71,44	± 43,36	± 34,91	± 25,89

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem; n = 6 indivíduos em cada coleta.

Observou-se homogeneidade quanto ao tamanho dos peixes destinados aos diferentes tempos de depuração, visto que as médias dos pesos dos mesmos não apresentaram diferença estatística significativa ( $p = 0,6996$ ) entre si. Os valores médios dos pesos dos peixes variaram de 568,46 g (controle) a 588,17 g (5 dias de depuração).

A partir dos valores médios dos pesos dos filés minimamente processados (Tabela 5) de cada tratamento, foi possível obter o rendimento médio em filés apresentado pela operação de filetagem, sendo 28,78 % para o tratamento controle, 31,65 % para 1 dia de depuração e 30,60 % para 5 dias de depuração, estando estes valores dentro do apresentado na literatura.

Na literatura, encontram-se valores de rendimento de filetagem que variam em média de 25,4 % a valores superiores a 42 %, dependendo da espécie do peixe (CLEMENT; LOVELL,



1994). Macedo-Viegas et al. (1997) e Boscolo et al. (2001) encontraram para tilápia (*Oreochromis niloticus*) rendimento em filé de 33,37 %.

Há outras espécies de peixes que apresentam maior rendimento como foi encontrado por Souza et al. (1997) em um de seus experimentos com corimbatá (*P. lineatus*), no qual foi observado um rendimento em filé de 50,2 %. Reidel et al. (2004), encontraram para corimbatás (*P. lineatus*) machos rendimento em filé de 44,33 % e para fêmeas de 46,15 %. Já para piavuçu (*L. macrocephalus*), os autores encontraram rendimento de 44,30 % para machos e 40,48 % para fêmeas.

O rendimento em filés encontrado nesse trabalho pode ser considerado alto, visto que Simões et al. (2007) obtiveram um rendimento de 17,38 % nos filés sem pele de tilápia tailandesa e 21,63 % em filés com pele, em experimento executado por pessoas não treinadas.

Sendo assim, pode-se dizer que o rendimento em filé dependerá da espécie do peixe utilizada e da habilidade dos manipuladores, obviamente quanto melhor treinados, maior será o rendimento (%) em filé.

### **2.3.4 Análises laboratoriais**

#### **2.3.4.1 Análises físico-químicas dos filés**

##### **2.3.4.1.1 Mensuração de pH**

A qualidade do pescado é, em grande parte, determinada pelo grau de frescor, cuja apreciação é feita com base em critérios subjetivos mediante análise sensorial, que é o método utilizado pelos consumidores e o mais usado pelos inspetores sanitários (BAIXAS-NOGUERAS et al., 2001 apud FONTES et al., 2007), mas também pode ser determinado por medidas físico-químicas, entre elas, a verificação e quantificação do pH.

A determinação do pH muscular é usada com ressalvas por alguns autores, sendo, no entanto, uma metodologia de fácil e rápida execução (MARTIN, 1978).

O pH do alimento é um fator muito importante na conservação. O pescado apresenta pH próximo da neutralidade, o que propicia o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos e requer cuidados especiais quanto a conservação (OGAWA; MAIA, 1999). O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA

(BRASIL, 1952) estabelece limites inferiores ou iguais a 6,8 na carne externa e inferior ou igual a 6,5 na parte interna do pescado fresco.

Os valores médios de pH apresentados pelas amostras nos diferentes tratamentos encontram-se dentro dos limites tolerados pela legislação brasileira (Tabela 9). Observou-se diferença estatística significativa ( $p= 0,0066$ ) entre os valores médios de pH apresentado pelas amostras do tratamento controle (6,20) e as do tratamento de 1 dia de depuração (6,34). Entretanto, o valor médio apresentado pelas amostras do tratamento 5 dias de depuração (6,24) não diferiu estatisticamente de nenhum dos tratamentos.

Tabela 9 – Valores de pH ( $\pm$  desvio padrão) obtidos nas amostras dos diferentes tratamentos (médias)

Dias de depuração	pH
Controle	6,20 <sup>b</sup> ( $\pm 2,80$ )
1	6,34 <sup>a</sup> ( $\pm 3,28$ )
5	6,24 <sup>ab</sup> ( $\pm 3,08$ )

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Biato (2005) encontrou valores de pH em torno de 6,57 para peixes que não sofreram depuração, 6,56; 6,55 e 6,53 para tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a 3, 5 e 7 dias de depuração, respectivamente. Sendo que esses valores não apresentaram diferença estatística entre si ( $p>0,05$ ).

Segundo Soares et al. (1998), os valores encontrados para o pH variam conforme a espécie de pescado e o manejo. Estudos demonstram que os valores de pH variaram pouco entre amostras de um mesmo tipo de peixe. O aumento do pH é afetado pela espécie do peixe, tipo e carga microbiana, métodos de captura, manuseio e armazenamento. Valores de pH mais elevados podem estar associados a particularidades de algumas espécies, como os cações, ricos em uréia, que podem apresentar um pH elevado pela ação de microrganismos uréase positivos.

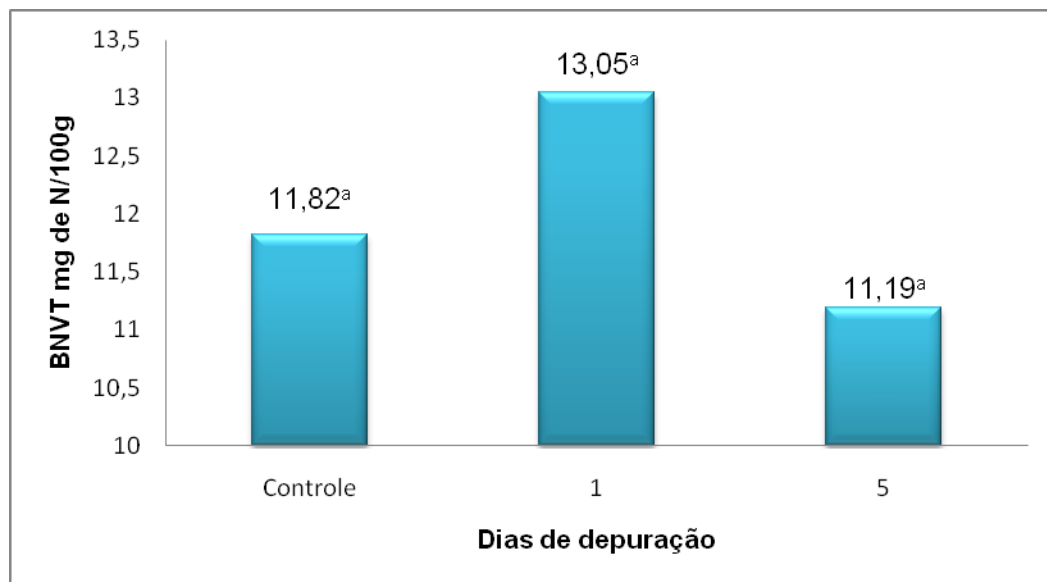
#### 2.3.4.1.2 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)

Para Sikorski et al. (1994), dentro da denominação genérica de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT) encontram-se substâncias como amônia, trimetilamina, etilamina,

monometilamina, putrescina, cadaverina e espermidina. O principal componente deste grupo é a amônia, responsável pelas maiores alterações químicas, quando se trata de peixes de água doce.

No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento em sua Portaria de número 185 de 13 de maio de 1997, estabelece o valor de 30 mg de N/100g como limite máximo de BNVT para pescado fresco, exceto para elasmobrânquios (BRASIL, 1997).

Verificou-se na Figura 20 que os valores médios apresentados para análise de BNVT, nos diferentes tratamentos de depuração realizados, estavam abaixo do valor limite tolerado pela legislação brasileira para pescado fresco.



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 20 – Bases Nitrogenadas Voláteis Totais em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias)

Esses valores, todavia, apresentaram-se dentro da faixa determinada por Ogawa e Maia (1999) de frescor satisfatório. Para eles, nos peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNVT atinge 5 a 10 mg de N/100g de carne; peixes com frescor satisfatório podem atingir até 15 a 25 mg de N/100g de carne. No início da deterioração, este teor pode ir até 30 a 40 mg de N/100g e, quando bastante deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50 mg de N/100g.

Além disso, observou-se que não houve diferença estatística ( $p= 0,3360$ ) dos resultados médios apresentados em cada tratamento, podendo-se dizer que os diferentes tipos de tratamentos não interferiram nos valores desse tipo de avaliação de frescor.

Da mesma forma, embora tenha obtido valores menores para BNVT, Biato (2005) também não observou diferença significativa ( $p>0,05$ ) dos valores de BNVT entre a tilápia depurada, para a não depurada, encontrando valores médios de 9,88 mg de N/100g para a sua amostra controle (sem depuração), 8,40 mg de N/100g para as amostras de tilápias submetidas a 3 dias de depuração, 8,64 mg de N/100g para as amostras de tilápias submetidas a 5 dias de depuração e 8,01mg de N/100g para 7 dias, sugerindo, portanto, que este tipo de tratamento não interfere nos teores de BNVT no músculo do pescado.

Ao se correlacionar os valores obtidos para pH e BNVT, nas amostras analisadas, observou-se que houve uma correlação diretamente proporcional entre essas duas variáveis, ou seja, a medida que se obteve um aumento para os valores médios de BNVT, o mesmo ocorreu para os valores médios de pH (Figura 21). Confirmando o citado por Hall (1992), que diz que o aumento dos valores de pH, é decorrente do aumento das bases voláteis oriundas da decomposição protéica do pescado.

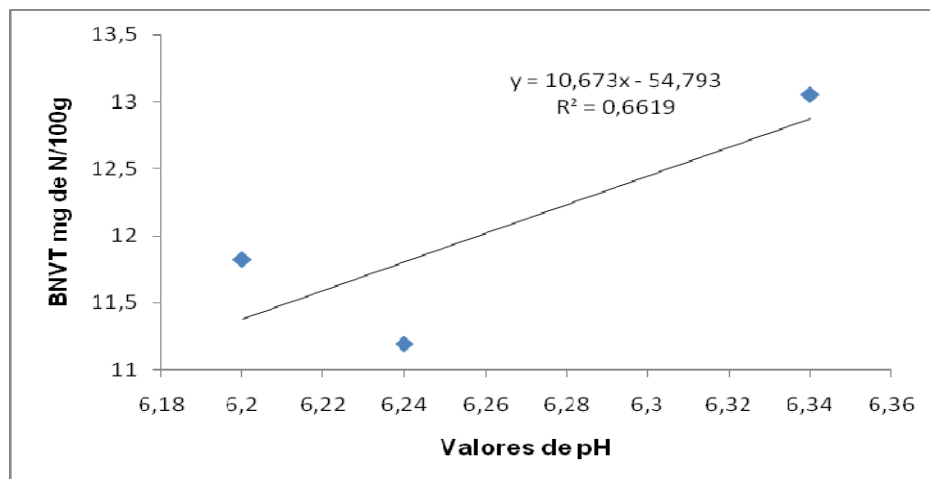


Figura 21 – Correlação entre os valores médios de pH e Bases Nitrogenadas Voláteis Totais

### 2.3.4.1.3 Composição centesimal e valor calórico

Os valores médios para composição centesimal das amostras, referentes aos diferentes tempos de depuração testados, não apresentaram diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) (Tabela 10).

Tabela 10 – Composição centesimal em g/100g ( $\pm$  desvio padrão) e valor calórico dos filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos de depuração (médias)

Componente g/100g	Dias de depuração		
	Controle	1 dia	5 dias
Umidade	76,23 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,65)	76,78 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,40)	75,95 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,00)
Proteína Bruta	18,07 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,17)	17,40 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,90)	17,89 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,71)
Lipídeos	3,47 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,28)	3,15 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,94)	3,67 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,31)
Cinza	0,96 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,06)	0,91 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,07)	0,94 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,09)
Valor calórico (Kcal)	108,67	104,95	110,19

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Umidade:  $p=0,3825$ ; Proteína:  $p=0,3386$ ; Lipídeos:  $p=0,4871$ ; Cinza:  $p=0,0644$ ; Carboidratos:  $p=0,4342$ .

Com relação ao conteúdo de umidade, os valores apresentados na Tabela 10 (76,23 g/100 g; 76,78 g/100 g e 75,95 g/100 g, referentes aos tratamentos: controle, 1 e 5 dias de depuração, respectivamente) encontram-se dentro dos valores apresentados na literatura. Biato (2005) encontrou valores médios de 77,95 g/100 g para tilápias do Nilo depuradas por 5 dias. Sikorski (1990), afirma que um pescado magro apresenta uma alta quantidade de umidade, podendo atingir teores de até 83 g/100 g, ao contrário do pescado gordo, que pode apresentar no mínimo 58 g/100 g de umidade. Simões et. al. (2007) encontraram teores de umidade de 77,13 g/100 g em filés de tilápia tailandesa.

Os valores médios de proteína apresentados pelos tratamentos (18,07; 17,40 e 17,89 g/100 g, respectivos aos tempos de depuração) estão de acordo com os valores descritos por Crawford (1985), o qual afirma que a carne de pescado contém cerca de 18 g/100 g de proteína, compondo-se esta de todos os aminoácidos essenciais. Os nutricionistas recomendam que cerca de um terço das proteínas consumidas por dia seja de origem animal, a fim de se assegurar o fornecimento de todas as substâncias necessárias à formação e construção dos tecidos do corpo humano. Sendo assim, uma porção de 100 gramas de peixe meio-gordo é suficiente para fornecer a quota diária de proteína animal.

Além disso, Oetterer (2006) afirma que com relação à quantidade e à qualidade das proteínas do pescado, pode-se dizer que essa carne é excelente fonte protéica; considerando uma variação entre as espécies, o teor é sempre alto, de ordem de 15 a 25 g/100 g. A qualidade pode ser representada pelo teor elevado de lisina em relação aos outros alimentos de origem animal.

Biato (2005), por sua vez, também encontrou em filés de tilápias variações de teores de proteína, em g/100g, não significativos estatisticamente ( $p>0,05$ ) para diferentes tempos de depuração: 16,87; 17,11; 18,51 e 17,72 para controle, 3, 5 e 7 dias de depuração, respectivamente.

De acordo com Lederle (1991), o valor calórico dos peixes como alimento depende do teor de gordura; assim, tem-se: Peixes magros, com menos de 1 g/100g de gordura: bacalhau (0,14 g/100 g), carpa (0,5 g/100 g), pescada (0,6 g/100 g), truta (0,7 g/100 g), linguado (0,8 g/100 g) e outros, peixes meio gordos, com 7 g/100 g a 8 g/100 g de gordura: salmão, arenque, cavala, congrio e outros; e, peixes gordos, com mais de 15 g/100 g de gordura: atum, enguia e outros.

No que diz respeito aos teores de lipídeos, os valores médios encontrados variaram de 3,15 a 3,67 g/100 g, sendo estes valores superiores aos encontrados por Simões et al. (2007) em filés de tilápias tailandesas, que foi em média de 2,6 g/100 g. Essas variações podem ocorrer devido à idade, sexo, maturidade sexual, regime alimentar e estação do ano em que os peixes foram capturados. Estes valores também se encontram acima dos encontrados em filés de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*) por Biato (2005), nos quais os teores de lipídeos variaram de 1,53 a 1,84 g/100 g, dependendo da quantidade de dias utilizados para depuração. Para 5 dias de depuração foi observado um valor médio de 1,66 g/100 g de lipídeos nas amostras analisadas.

Os valores médios de cinza ficaram em torno de 0,91 a 0,96 g/100 g, estando abaixo do valor médio encontrado por Simões et. al. (2007), que foi de 1,09 g/100 g. Soccol (2002), estudando em filés de tilápias minimamente processados encontrou valores de cinza de 0,86 a 1,01 g/100 g, concordando com os dados deste trabalho. Biato (2005) em seu teste com diferentes dias de depuração de tilápias também encontrou valores médios para teores de cinza entre 0,93 a 1,06 g/100 g, sendo encontrado para o tempo de 5 dias de depuração o valor médio de 1,11 g/100 g.

Os resultados apresentados na Tabela 10, também estão próximos aos encontrados por Sales e Sales (1990) que obtiveram para a tilápias valores de umidade 75 g/100 g, 18,5 g/100 g de

proteína, 3,60 g/100 g de lipídeos, exceto para os valores de cinza, os quais foram encontrados médias de 2,4 g/100 g.

Almeida et al. (2006) reportam a composição centesimal de carne de frango de 77,49 g/100g de umidade, 18,83 g/100 g de proteína, 4,08 g/100 g de lipídeos e para carne bovina de 72,48 g/100 g de umidade, 20,97 g/100 g de proteína e 8,75 g/100 g de lipídeos.

Comparando esses valores de composição centesimal com os valores médios apresentados na Tabela 10, pode-se afirmar que a carne de tilápia é, tanto quanto a carne de frango e a carne bovina, uma fonte protéica, porém ela apresenta menor conteúdo lipídico e, conseqüentemente, calórico que esses outros tipos de carnes.

### 2.3.4.2 Análises microbiológicas dos filés

#### 2.3.4.2.1 Microrganismos psicrotróficos

Os psicrotróficos ou psicrofílos são os microrganismos que crescem em alimentos sob refrigeração (0-7 °C), apresentando temperatura ótima acima de 20 °C. São definidos como microrganismos capazes de produzir crescimento visível a  $7\pm 1$  °C no prazo de 7 a 10 dias, independente de sua temperatura ótima (SILVA et al., 2007).

O pescado recém capturado apresenta uma microbiota natural composta principalmente de bactérias psicrofílas e psicrotróficas que vivem a temperaturas menores de 20 °C, no entanto, os processos de deterioração não ocorrem até que estes microrganismos tenham se multiplicado em níveis capazes de produzir maus odores (VIEIRA, 2003).

Na Tabela 11 estão representados os resultados em UFC/g obtidos para análise de microrganismos psicrotróficos nas coletas realizadas.

Tabela 11 – Contagem de microrganismos psicrotróficos (UFC/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração

Tempo	Coletas							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Controle	$5,5 \times 10^1$ <sup>a</sup>	$5,7 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$8,8 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$4,9 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$4,6 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$5,7 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$1,4 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$1,5 \times 10^3$ <sup>a</sup>
1	$1,3 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$8,1 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$9,3 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$3,5 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$7,0 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$1,0 \times 10^a$	$1,5 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$1,4 \times 10^2$ <sup>a</sup>
5	$1,5 \times 10^1$ <sup>a</sup>	$2,2 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$5,2 \times 10^2$ <sup>a</sup>	$1,9 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$4,3 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$1,0 \times 10^a$	$1,1 \times 10^3$ <sup>a</sup>	$2,6 \times 10^3$ <sup>a</sup>

Considerando-se os valores apresentados pelos tratamentos nas coletas, observou-se, que não houve diferença estatística significativa ( $p= 0,5680$ ) entre as contagens apresentadas nos diferentes tratamentos de depuração aos quais os peixes foram submetidos.

Embora a legislação brasileira não estabeleça limites para microrganismos mesófilos e psicrótrópicos, populações elevadas podem reduzir a vida útil do pescado (KIRSCHINK; VIEGAS, 2004). A *International Commission on Microbiological Specification for Foods* – ICMSF estabelece o limite de 7 log UFC/g para contagem padrão em placas de microrganismos aeróbicos (ICMSF, 1998). Sendo assim, os valores encontrados para as amostras de todos os tratamentos ficaram dentro do limite citado na literatura.

Ao se realizar uma correlação entre os valores obtidos para pH e as contagens de microrganismos psicrótrópicos, de todos os tratamentos realizados, verifica-se que houve uma tendência ao aumento dos valores obtidos para pH, juntamente com o aumento das contagens desses microrganismos (Figura 22). Essa correlação é explicada por Leitão (1988) como sendo o efeito da deterioração (via microrganismos, por exemplo) do pescado, com a qual o pH aumenta para níveis mais elevados devido à decomposição de aminoácidos e da uréia e à desaminação oxidativa da creatina.

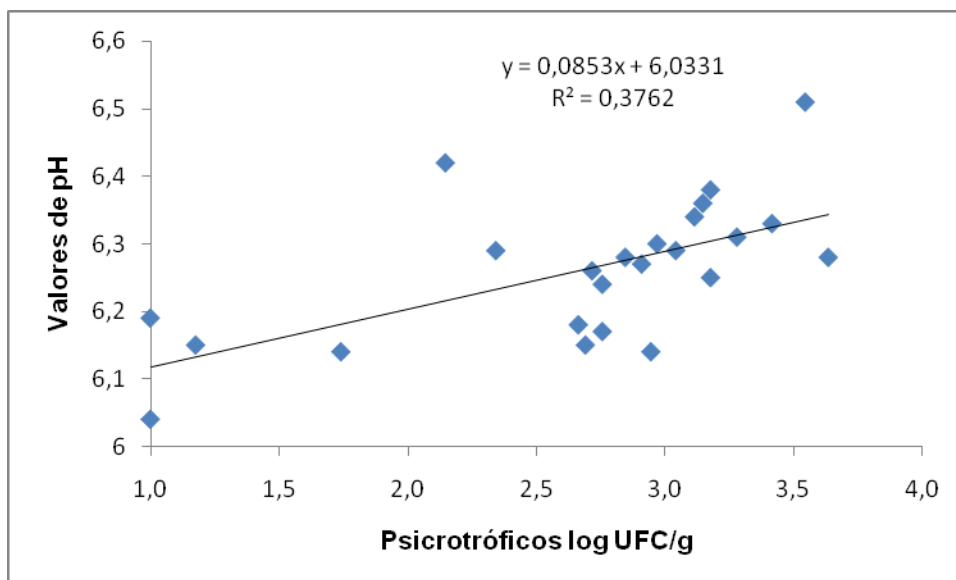


Figura 22 – Correlação entre os valores de pH e as contagens para microrganismos psicrótrópicos



### 2.3.4.2.2 Coliformes totais e *E. coli*

O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família *Enterobacteriaceae* que inclui 44 gêneros e 176 espécies. No grupo dos coliformes totais estão apenas as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 h a 35 °C. Mais de 20 espécies se encaixam nessa definição, dentre as quais se encontram bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente (*Escherichia coli*), como também bactérias não entéricas (espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras) (SILVA et. al., 2007).

Observou-se (Tabela 12) que, levando em consideração os diferentes tratamentos (dias de depuração) aos quais os peixes foram submetidos, não houve diferença estatística significativa ( $p=0,7194$ ) entre as contagens de coliformes totais apresentadas por cada tratamento.

Tabela 12 – Contagem de coliformes totais (NMP/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias)

<b>Dias de depuração</b>	<b>Coliformes Totais</b>
Controle	7,29 <sup>a</sup>
1	5,21 <sup>a</sup>
5	8,87 <sup>a</sup>

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Na legislação brasileira atual não há limites de tolerância para coliformes totais em peixes *in natura* não consumidos crus. Mas observa-se que na RDC de número 12, de 02 de janeiro de 2001, o limite considerado crítico é  $10^2$  UFC/g para coliformes termotolerantes, a 45 °C, em produtos a base e derivados de pescado (surimi e similares), refrigerados ou congelados, ou ainda, pescado pré-cozido, empanado ou não, refrigerado ou congelado (BRASIL, 2001), sendo esse valor um indicativo de problemas de contaminação. Todos os valores encontrados nas amostras analisadas ficaram abaixo do considerado crítico. Além disso, observou-se que as contagens obtidas para os peixes submetidos ao tratamento de 1 dia de depuração foram menores que as obtidas para os demais tratamentos.

Para contagem de coliformes totais, Biato (2005) constatou para suas amostras controle (sem depuração), 3 e 7 dias de depuração, respectivamente, 1,1 NMP/g; 4,7 NMP/g e  $1,7 \times 10^1$  NMP/g, sendo estes valores menores dos que os obtidos nesse trabalho (Tabela 12).

Considerando uma média de todos os valores encontrados nas coletas, obtiveram-se os valores apresentados na Tabela 13 para contagem de *E.coli*. Foi observado que, levando-se em consideração os diferentes tratamentos (dias de depuração) aos quais os peixes foram submetidos, não houve diferença estatística significativa ( $p= 0,3424$ ) entre as contagens de *E. coli* apresentadas por cada tratamento.

Tabela 13 – Contagem de *E.coli* (NMP/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias)

<b>Dias de depuração</b>	<b><i>E.coli</i></b>
Controle	7,29 <sup>a</sup>
1	3,16 <sup>a</sup>
5	8,87 <sup>a</sup>

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5% pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Na RDC de número 12 de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001b), atual regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos, não há nenhuma especificação de limite de tolerância para *E. coli*. Entretanto, na Portaria de número 451, de 19 de setembro de 1997, a qual a RDC de número 12 revogou, havia fixado um padrão microbiológico para pescado *in natura*, fresco e resfriado de no máximo  $10^2$  UFC/g para coliformes fecais.

Verificou-se, na Tabela 13, que os valores apresentados para contagens de *E. coli* ficaram abaixo de  $10^2$  UFC/g, considerado como indicador de problemas higiênico-sanitários e, ainda, que o tempo de 1 dia de depuração foi o mais eficaz, apresentando menores contagens para esse tipo de microrganismo.

Para contagem de coliformes fecais, Biato (2005) observou valores ainda menores para suas amostras. Os valores obtidos pelo autor para suas amostras controle (sem depuração), 3 e 7 dias de depuração, foram, respectivamente, 0,7 NMP/g; 1,1 NMP/g e 1,4 NMP/g.

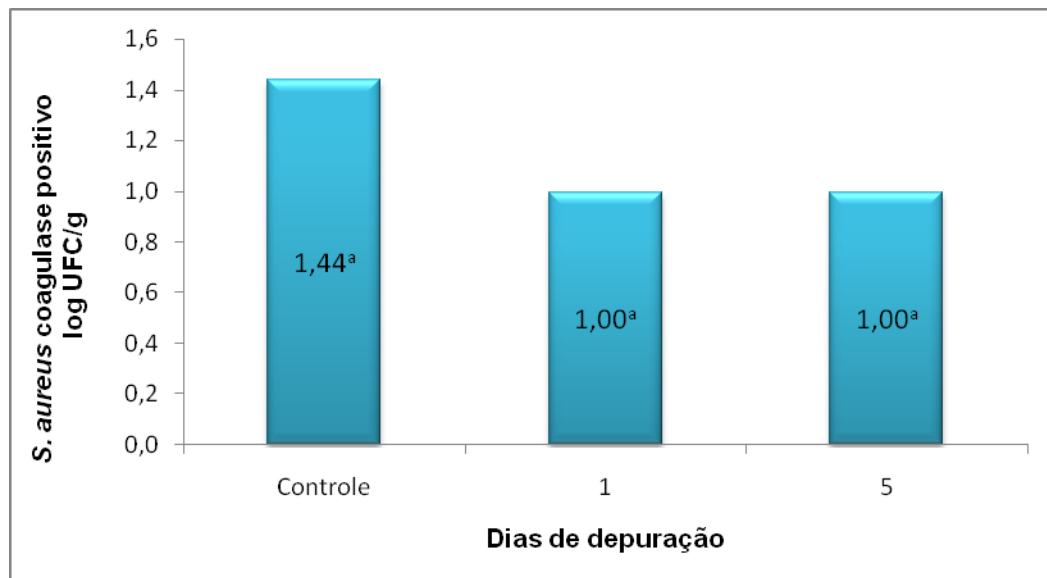
Da mesma forma, tilápias (*Oreochromis niloticus*) recém capturadas foram analisadas, quanto à presença de coliformes totais e *E. coli*, por Vieira et. al. (2000) e todas as amostras apresentaram valores mínimos de 3 NMP/g, para todas as bactérias.

### 2.3.4.2.3 *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

O reservatório de *S. aureus* são os seres humanos e os animais, ocorrendo nas vias nasais, garganta, pele e cabelo de 50 % dos indivíduos humanos saudáveis. Os manipuladores de alimentos são a fonte mais freqüente de contaminação, embora os equipamentos e as superfícies do ambiente também possam contaminar os alimentos (SILVA et.al., 2007).

O gênero *Staphylococcus* é o agente responsável por aproximadamente 45 % das toxinfecções do mundo. O *Staphylococcus aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsável por surtos de origem alimentar, sendo normalmente transmitido aos alimentos por manipuladores (CUNHA NETO; MAIA DA SILVA; STAMFORD, 2002).

Realizando-se uma média de todos os valores encontrados nos diferentes tratamentos utilizados, encontraram-se os valores apresentados na Figura 23 para contagem de *S. aureus* coagulase positivo (log UFC/g). Observa-se que, levando em consideração os diferentes tratamentos (dias de depuração) aos quais os peixes foram submetidos, não houve diferença estatística significativa ( $p= 0,3927$ ) entre as contagens de *S. aureus* coagulase positivo apresentadas por cada tratamento, mas pode se observar diminuição decrescente na incidência desses microrganismos.



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 23 – Contagem de microrganismos *S. aureus* coagulase positivo (log UFC/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias)

Os resultados expressos na Figura 23 estão abaixo dos limites máximos tolerados pela legislação que é de 3 log UFC/g (BRASIL, 2001b). As menores contagens para microrganismos *S. aureus* coagulase positivo foram observadas nas amostras submetidas aos tratamento de depuração.

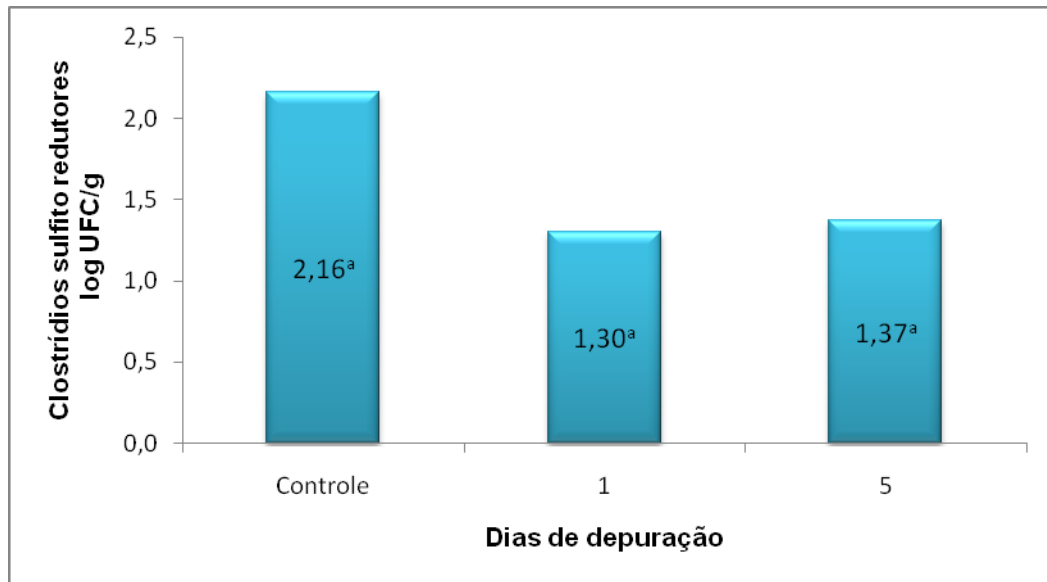
Em um estudo realizado por Biato (2005) foi observado valores ainda menores do que os obtidos neste trabalho. O autor encontrou valores  $< 10^2$  UFC/g para contagem de *S. aureus* em todas as amostras de tilápias submetidas ao tratamento de depuração (controle, 3 e 7 dias).

Estudos comprovam que este tipo de microrganismo patogênico é encontrado quando existe deficiência de manipulação, como alta temperatura e falta de higiene (CUNHA NETO; MAIA DA SILVA; STAMFORD, 2002; MENDES et al., 2002), fato não constatado neste trabalho.

#### **2.3.4.2.4 Clostrídios sulfitos redutores**

Os clostrídios sulfito redutores são clostrídios que reduzem o sulfito a sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) a 46 °C. Sua aplicação na análise de alimentos é oferecer uma indicação simples e rápida da potencial presença de *C. perfringens*, que também é sulfito redutor (SILVA et al., 2007).

Levando-se em consideração a média obtida em todas as coletas para os tratamentos testados, verificou-se, na Figura 24, que para o fator tratamento, não houve diferença estatística significativa ( $p= 0,3975$ ) entre os tempos de depuração testados.



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 24 – Contagem de microrganismos Clostrídios sulfito redutores (log UFC/g) em tilápias submetidas a diferentes tempos de depuração (médias)

Não há especificações na legislação brasileira quanto ao limite de tolerância para esse microrganismo, com relação ao produto avaliado. No entanto, Machado (2002) estabelece como sendo crítico, para pescado, os valores iguais ou superiores a  $10^4$  UFC/g. Sendo assim, as contagens obtidas em todos os tratamentos de depuração ficaram abaixo desse valor considerado crítico. O tempo de 1 dia de depuração se mostrou o mais eficaz dos tratamentos testados, visto que a média das contagens obtidas para as amostras deste tratamento foram as menores (1,3 log UFC/g).

#### 2.3.4.2.5 *Salmonella* spp.

O habitat da *Salmonella* é o trato intestinal e sua presença indica provável contaminação fecal de fontes humanas ou animais. Peixes capturados em águas não poluídas estão isentas de *Salmonella* pelo fato desta não fazer parte da microbiota natural do pescado. Sua presença neste alimento é oriunda normalmente do manuseio ou contato com superfícies higienizadas inadequadamente. A presença de *Salmonella* é razão suficiente para que a amostra seja condenada (LEITÃO, 1977).

Em todas as amostras analisadas encontrou-se ausência em 25 g para o microrganismo *Salmonella* spp. Estando este resultado de acordo com a RDC de número 12 da legislação vigente (BRASIL, 2001b), que preconiza ausência desse microrganismo em 25 g da amostra.

### 2.3.4.3 Análise sensorial

Com o processo de deterioração as propriedades sensoriais características do pescado fresco vão se perdendo, dessa forma, a qualidade do mesmo é facilmente avaliada com a realização de uma análise sensorial.

Segundo Pedrosa-Menabrito e Regenstein (1990) a avaliação sensorial é considerada satisfatória na avaliação da qualidade de peixes, apresentando vantagens adicionais como rapidez, baixo custo, não é destrutiva e está relacionada aos critérios de aceitação adotados pelo consumidor.

Na Tabela 14 é possível observar as médias das coletas, referente às notas dadas pelos provadores às amostras analisadas no teste de análise sensorial.

Tabela 14 – Notas dos provadores ( $\pm$  desvio padrão) para o teste de análise sensorial em função dos tempos de depuração (médias)

Dias	Sabor	Cor	Aroma	Ap.Glob.
Controle	3,8 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,54)	5,9 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,77)	3,5 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,28)	6,1 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,59)
1	3,4 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,34)	6,1 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,20)	3,6 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,32)	6,5 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,22)
5	3,5 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,59)	6,1 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,51)	3,4 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,37)	6,4 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,48)

Sabor = sabor de barro (*off-flavor*); Aroma = aroma de barro (*off-flavor*); Ap.Glob. = Aparência Global  
Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Sabor:  $p=0,2719$ ; Cor:  $p=0,6700$ ; Aroma:  $p=0,5338$ ; Ap.Glob.:  $p=0,2320$ .

Verifica-se que para nenhum dos atributos avaliados houve diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) entre as notas apresentadas pelos provadores às amostras nos diferentes tratamentos.

Para o atributo “sabor de barro (*off-flavor*)” as amostras dos tratamentos de 1 e 5 dias de depuração receberam notas médias (3,4 e 3,5, respectivamente), indicando pouco *off-flavor* nessas amostras, assim como as amostras controle (3,8).

As amostras receberam notas maiores (5,9; 6,1; 6,1, para os tempos controle, 1 e 5 dias de depuração, respectivamente) para o atributo “cor”, indicando que as mesmas apresentaram uma cor que agradou os provadores.

Para o atributo “aroma de barro (*off-flavor*)”, a amostra referente ao tratamento de 5 dias de depuração recebeu a melhor nota (3,4), indicando baixa incidência de *off-flavor*. Entretanto, as amostras controle (3,5) e as que foram submetidas a 1 dia de depuração (3,6) também receberam notas satisfatórias.

Quanto a avaliação para o atributo “aparência global” dos filés, a amostra referente a 1 dia de depuração apresentou maior média das notas (6,5), comparada com as demais, representando uma aparência global de maior aceitação pelos consumidores.

Biato (2005) encontrou diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempos de depuração estudados no que diz respeito aos atributos de aroma e sabor de *off-flavor*. Em sua pesquisa, inicialmente, os peixes que correspondiam ao tratamento controle (sem depuração) apresentaram maior intensidade de aroma e sabor (*off-flavor*) quando comparado aos demais. O tratamento de 3 dias de depuração, para o atributo aroma foi igual, estatisticamente, ao tratamento 5 dias e diferente do tratamento 7 dias, já o tratamento de 5 dias foi semelhante, estatisticamente, ao tratamento de 7 dias. Para o atributo sabor, os tratamentos 3, 5 e 7 dias de depuração não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

Esses resultados comprovam a afirmação de Lovshin e Cyrino (1998), que relatam que a tilápia (*Oreochromis sp.*) adquire *off-flavor* existente nas algas cianobactérias, portanto, para assegurar a qualidade, a tilápia deve ser mantida em água limpa por 3 a 5 dias como medida para depurar o *off-flavor*.

Avaliando-se a Figura 25, nota-se que todas as amostras analisadas apresentaram índices satisfatórios para os atributos avaliados, ou seja, baixas notas para os atributos “sabor e aroma de barro” o que traduziria uma baixa presença ou ausência de *off-flavor*; e altas notas para os atributos “cor” e “aparência global”, relatando que as amostras agradaram os provadores.

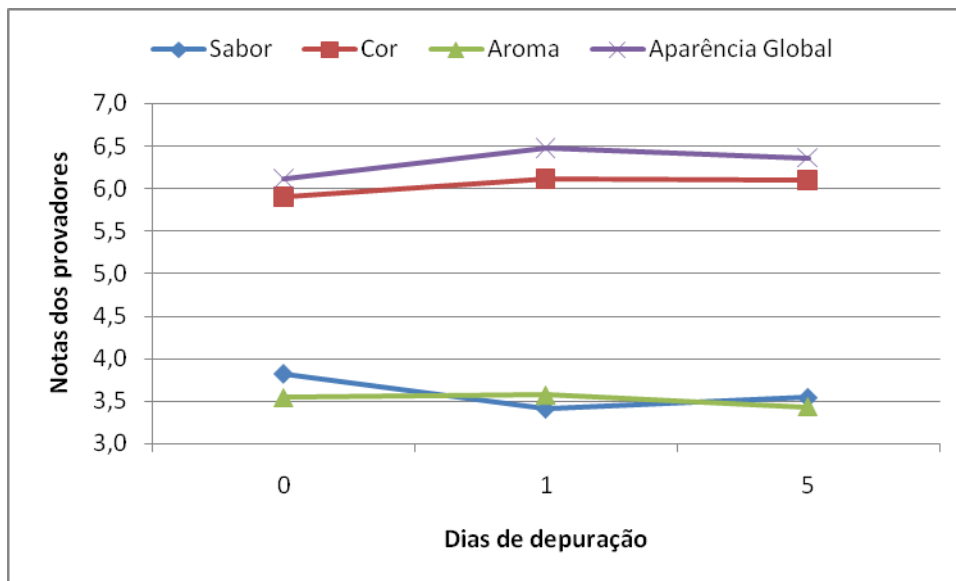


Figura 25 – Notas dos provadores para o teste de análise sensorial (médias)

Com relação a todos os atributos avaliados, verificou-se que mesmo não havendo diferença estatística significativa entre as amostras, as amostras de filés de tilápias submetidas ao tempo de 1 dia de depuração apresentaram vantagem com relação aos demais tratamentos testados, ou seja, apresentaram maior preferência do consumidor em relação aos atributos avaliados, exceto para o atributo “aroma de barro (*off-flavor*)”.

## 2.4 Conclusões

Conclui-se que os diferentes tempos de depuração aplicados aos peixes desta fazenda experimental, antes do processamento mínimo de seus filés, não apresentaram interferências estatisticamente significativas na qualidade sensorial do produto final, e nem na sua qualidade de frescor, composição centesimal e na perda de peso.

Sendo assim, em condições semelhantes às apresentadas nessa fazenda experimental, indica-se a utilização de apenas 1 dia de depuração dos peixes antes do seu abate, para controle da contagem microbiológica e garantia da ausência de *off-flavor* nos filés minimamente processados. Mediante estes resultados, pode-se aferir que a água desta fazenda é de ótima qualidade, tanto a usada nos tanques de cultivo quanto nos tanques de depuração.



## Referências

ALMEIDA, J.C.; PERASSOLO, M.S.; CAMARGO, J.L.; BRAGAGNOLO, N.; GROSS, J.L. Fatty acid composition and cholesterol content of beef and chicken meat in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 109-117, jan./mar. 2006.

BIATO, D.O. **Deteção de off flavor em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por meio de depuração e defumação**. 2005. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BIOCONTROL SYSTEM. **Manual Biocontrol para utilização do kit 1-2 Test Salmonella**. Disponível em: <[http://courses.ag.uidaho.edu/fst/fstmmmb417/1-2\\_Directions-English.pdf](http://courses.ag.uidaho.edu/fst/fstmmmb417/1-2_Directions-English.pdf)>. Acesso em: 28 abr. 2009.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M.; FURUYA, W.M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases iniciais e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1391-1396, 2001.

BOYD, C.E. Pond water aeration systems. **Aquacultural Engineering**, London, v. 18, p.9-40, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA)**. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=14013>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

\_\_\_\_\_. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado)**. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Brasília, 1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2453>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

\_\_\_\_\_. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução **Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2855>>. Acesso em: 01 jan. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 40, de 21 de março de 2001a**: regulamento técnico para rotulagem nutricional obrigatória de alimentos e bebidas embaladas. Brasília, 2001. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/40\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/40_01rdc.htm)>. Acesso em: 01 jan. 2009.

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001b**: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Brasília, 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov/legis/resol./1201redc.html>>. Acesso em: 07 jan. 2009.

CLEMENT, S.; LOVELL, R.T. Comparison of culture Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 119, n. 2/3, p. 299-310, 1994.

CRAWFORD, A.M.C.D. **Seleção e preparo de alimentos**. Rio de Janeiro: Record, 1985. 383 p.

CUNHA NETO, A.; MAIA DA SILVA, C.G.; STAMFORD, T.L.M. Staphylococcus enterotoxigênicos em alimentos *in natura* e processados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 263-271, set./dez. 2002.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos**: princípio e prática. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FONTES, M.C.; ESTEVES, A.; CALDEIRA, F.; SARAIVA, C.; VIEIRA-PINTO, M.; MARTINS, C. Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, p. 1308-1315, 2007.

GALVÃO, J.A.; FURLAN, E.F.; SAVAY DA SILVA, L.K. ; SALAN, E.O.; OETTERER, M. Transporte de mexilhões para abastecer a indústria processadora: qualidade da matéria-prima. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20, 2006, Curitiba. **Alimentos e agroindústrias brasileiras no contexto internacional**. Curitiba: SBCTA, 2006. 1 CD-ROM.

HALL, G.M. **Fish processing technology**. New York: VCH Publ., 1992. p. 248-274.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. Pescados y productos derivados. In: \_\_\_\_\_. **Microorganismos de los alimentos**: ecología microbiana de los productos alimentarios. Zaragoza: Acribia, 1998. p. 121-166.

JOHNSON, C.M.; ULRICH, A. Analytical methods. In: SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Química. Setor Nutrição Mineral de Plantas, 1974. p. 04-10.

KIRSCHNIK, P.G.; VIEGAS, E.M.M. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 407-412, jul./set. 2004.

KUBITZA, F. **Tilápia**: tecnologia e planejamento na produção comercial. São Paulo: Degaspari, 2000. 289 p.

\_\_\_\_\_. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. Jundiaí: Degaspari. 2003. 229 p.

LEDERLER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar**. São Paulo: Manole Dois, 1991. 121 p.

- LEITÃO, M. F. de F. Microbiologia do pescado e controle sanitário no processamento. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 14, n. 50, p. 1-35, 1977.
- LEITÃO, M.F.F. Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. In: KAI, M.; RUIVO, U.E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 40-58.
- LOVELL, R.T. **Processing farm-raised catfish**. Rome: [s.n.], 1974. 80 p. (Southern Cooperative Series).
- LOVSHIN, L.L.; CYRINO, P.E.P. Status of commercial fresh water fish culture in Brazil. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 1998, Piracicaba. **Anais...** Campinas: CBNA, 1998. p. 1-20.
- MACEDO-VIEGAS, E.M.; SOUZA, M.L.R.; KRONKA, S.N. Estudo da carcaça de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em quatro categorias de peso. **Revista Unimar**, Marília, v. 19, n. 3, p. 863-870, 1997.
- MACHADO, M.I.R. **Elaboração e implantação de um programa de análises de perigos e pontos críticos de controle numa indústria pesqueira da região Sul do Brasil**. 2002. 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2002.
- MENDES, E.S.; MENDES, P.D.P.; COELHO, M.I.D.S.; SOUZA, J.C.R.; CRUZ, M.C.S.; ASSIS, A.S.D.; ALVES, A.B. Aspectos microbiológicos do camarão *Litopenaeus vannamei* defumado e sua vida de prateleira. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 99, p. 75-80, 2002.
- OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 200 p.
- \_\_\_\_\_. Proteínas do pescado: processamentos com intervenção na fração protéica. In.: OETTERER, M.; REGITANO-d'ARCE, M.A.B.; SPOTO, M.H.F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006. cap. 3, p. 99-134.
- OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. v. 1, 430 p.
- PÁDUA, H.B. Sabores e odores em sistemas aquáticos. São Paulo: **UNIB**, v. 2, p. 84-86, 1994.
- PEDROSA-MENABRITO, A.; REGENSTEIN, J.M. Shelf-life extension of fresh fish – a review. Part III – fish quality and methods of assessment. **Journal of Food Quality**, Westport, v. 13, p. 209-223, 1990.
- PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de peixes. In.: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva** São Paulo: Tecart, 2004. p.75-169.

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N.P. (Coord.). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. 533 p.

REIDEL, A.; OLIVEIRA, G.O, PIANA, P.A.; LEMAINSKI, D.; BOMBARDELLI, R.A.; BOSCOLO, W.R. Avaliação de rendimento e características morfométricas do curimatá *Prochilodus lineatus* (VALENCIENNES, 1836), e do piavuçu *Leporinus macrocephalus* (GARAVELLO; BRITSKI, 1988) machos e fêmeas. **Revista Varia Scientia**, Cascavel, v. 4, n. 8, p. 71-78, dez. 2004.

SALES, R.O., SALES, A.M. Estudo da composição química e rendimento de dez espécies de água doce de interesse comercial nos açúcares do nordeste brasileiro. **Revista de Ciências Agrônômicas**, Lourenço Marques, v. 1/2, n. 21, p. 27-30, 1990.

SAS INSTITUTE. **The SAS System release 9.1.3** – SP 2. Cary, 2002.

SAVAY DA SILVA, L.K.; RIGGO, R.; MARTINS, P.E.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food and Technology**, Campinas, VII BMCFB. Preprint Series, n. 20, p. 138-144, dez 2008. Disponível em: [http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial\\_2009\\_2/v12ne\\_t0288.pdf](http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial_2009_2/v12ne_t0288.pdf)>. Acesso em: 01 maio 2009.

SIKORSKI, Z.E. Composición nutritiva de los principais grupos de organismos alimentícios marinos. **Tecnología de los productos del mar**: recursos. Zaragoza: Acribia, 1990. p. 41-72.

SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A.; BURT, J.R. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura. In: SIKORSKI, Z.E. **Tecnología de los productos del mar**: recursos, composition y conservation. Zaragoza: Acribia, 1994. cap. 4, p. 73-101.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007. 552 p.

SIMÕES, M.R; RIBEIRO, C.F.A.; RIBEIRO, S.C.; 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, jul./set. 2007.

SOARES, V.F.M.; VALE, S.R.; JUNQUEIRA, R.G.; GLÓRIA, B.A. Teores de histamina e qualidade físico-química e sensorial de filé de peixe congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, out./dez.1998. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611998000400020&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611998000400020&script=sci_arttext&tlng=pt)>. Acesso em: 01 jun. 2009.

SOCCOL, M.C.H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração.** 2002. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SOUZA, M.L.R.; LIMA, S.; VARGAS, L. **Industrialização, comercialização e perspectivas.** Curso de atualização em piscicultura de água doce por tutoria à distância. Maringá: UEM, AZOPA, 1997. 72 p.

TECNAL EQUIPAMENTOS PARA LABORATÓRIO. **Manual do medidor de pH TEC3-MP.** Piracicaba, [1999-]. 6 p.

TUCKER, C.S.; PLOEG, M.V.D. **Managing off-flavor problems in pond-raised catfish.** Auburn: Southern Regional Aquaculture Center, 1999. 7 p. 192-197.

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 filés congelados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 74, p. 37-40, 2000.

VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática.** São Paulo: Varela, 2003. 380 p.

VIGILÂNCIA sanitária de vila velha inspeciona peixarias. Disponível em: <[http://www.vilavelha.es.gov.br/index.php?view=article&id=6984%3AVigilancia-Sanitaria-de-Vila-Velha-inspeciona-peixarias&option=com\\_content&Itemid=228](http://www.vilavelha.es.gov.br/index.php?view=article&id=6984%3AVigilancia-Sanitaria-de-Vila-Velha-inspeciona-peixarias&option=com_content&Itemid=228)>. Acesso em: 01 jun. 2009.

WALLACE, H.A.; HAMMACK, T.S. Microbiological methods. In: HORWITZ, W. (Ed.). **Official methods of analysis of AOAC International.** 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005. chap. 17, p. 153-155.  
WINTERS, S.; TENNYSON, J. Fish and other marine products – aish of seafood. In: HORWITZ, W. (Ed.). **Official methods of analysis of AOAC International.** 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005. chap. 35, p. 8.

### 3 TRATAMENTO COM ÁCIDO ACÉTICO EM FILÉS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) MINIMAMENTE PROCESSADOS EM DIFERENTES EMBALAGENS SOB VÁCUO E ARMAZENADOS SOB REFRIGERAÇÃO

#### Resumo

Com o intuito de se estabelecer a padronização do processamento mínimo de filés de tilápia refrigerados e embalados a vácuo, testou-se a efetividade de barreiras como o ácido acético e diferentes embalagens na tentativa de se prolongar a vida útil desse produto. Para isso, 100 tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de aproximadamente 550 g cada, foram submetidas a 1 dia de depuração. Após o abate as tilápias seguiram para o processamento mínimo, onde os peixes foram divididos em: MP – filés embalados em bandejas de isopor cobertos com filme plástico; AN: filés submetidos ao tratamento de acidificação (imersão em solução de ácido acético 1 %, durante 2 min.) embalados a vácuo em embalagens de nylon poli; AP: filés submetidos ao mesmo tratamento e embalagens de polietileno; CN: filés não acidificados embalados a vácuo em embalagens de nylon poli; e CP: filés não acidificados em embalagens de polietileno à vácuo. O monitoramento das amostras ocorreu aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. Foi realizado monitoramento da temperatura da água dos tanques de depuração, das caixas de transporte dos peixes, sala de processamento mínimo, assim como do peso individual, comprimento, largura e tamanho da cabeça dos peixes. Com o procedimento de depuração os peixes perderam 2,29 % de seu peso. Para a análise de pH, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) tanto para o fator tratamento (5,87 a 6,24) como para o armazenamento (6,20 a 6,07). Já para a análise de BNVT, não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos (8,16 a 9,83 mg de N/100g ) e nem ao longo do período de armazenamento (7,43 a 10,98 mg de N/100g). A composição centesimal realizada confirmou os dados da literatura de que a carne de peixe é uma fonte importante de proteínas, com baixo teor calórico. Nas análises microbiológicas, foi indentificado diferenças estatísticas entre os resultados apresentados para o fator tempo de armazenamento, estando todos os valores dentro dos limites tolerados para consumo, exceto para psicrotróficos no tempo 21 dias. As contagens para psicrotróficos apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos, sendo o CP o que apresentou a maior média de contagem (7,29 log UFC/g). Quanto a análise sensorial, o tratamento com ácido acético inviabilizou a aceitação das amostras AN e AP devido ao forte aroma ácido e a descoloração dos filés. O tratamento MP ao longo do armazenamento não foi a escolha de preferência dos consumidores. As amostras dos tratamentos CN e CP foram as preferidas em quase todos os atributos avaliados, sendo que o tratamento CN obteve maiores notas, principalmente quanto a decisão de compra revelada pelos provadores, mesmo havendo a possibilidade de aumento do seu preço. Portanto, indica-se a elaboração de filés de tilápia minimamente processados segundo o tratamento CN. A vida útil desse produto dependerá da contagem microbiana inicial da matéria-prima, sendo indicados 21 dias de armazenamento somente para os lotes com contagens iniciais baixas e rigoroso controle de temperatura durante o processamento e armazenamento. Caso contrário, o recomendado é o armazenamento refrigerado por 14 dias.

Palavras-chave: Tilápia; Minimamente processado; Ácido acético; Embalagens; Vida útil; Análise sensorial

## Abstract

In order to establish the standards of the minimally processing of Nile tilapia fillets vacuum packed and chilled, it was tested the effectiveness of barriers such as acetic acid and different packages in an attempt to prolong the shelflife of the product. For this, 100 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), approximately 550 grams each, were subjected to 1 day of depuration. After slaughter the tilapia were sent to the minimally processing where the fish were divided into: MP - fillets packaged in polystyrene trays covered with plastic film; AN: fillets were subjected to the treatment of acidification (immersion in acetic acid solution 1 %, for 2 min.) and packed in vacuum with nylon poly bag; AP: fillets were subjected to the same treatment and packaging in polyethylene; CN: not acidified fillets packed in vacuum with poly nylon bag, and PC: fillets not acidified in the vacuum packaging of polyethylene. The monitoring of the samples occurred in the days 1, 7, 14 and 21 days of storage. Was carried out monitoring of water temperature of the depuration tanks, transporting boxes, the processing place, as well as the individual weight, length, width and size of the head of the fish. It was noted weight loss in 2,29% of the fishes' weight after depuration. And for analysis of pH, there was significant difference ( $p < 0.05$ ) for both the treatment factor (5.87 to 6.24) and for the storage (6.20 to 6.07). For the analysis of TVBN, there was no statistically significant difference ( $p > 0.05$ ) between different treatments (8.16 to 9.83 mg N/100g) as during storage (7.43 to 10, 98 mg N/100g). The proximate composition confirmed performed the literature that the meat of fish is an important source of protein, with low calorie. For microbiological analysis, statistical differences were identified between the results presented for the factor time of storage, all the values within the limits permitted for consumption, except for psychrotrophic in 21 days time. The counts for psychrotrophic showed a statistically significant difference between treatments, and the CP which had the highest mean counts (7.29 log CFU / g). For sensory analysis, it appears that treatment with acetic acid prevented the acceptance of samples AN and AP due to the strong acid flavor and discoloration of the fillets. The MP treatment during the storage was not the preferred choice of consumers. Samples of CN and CP treatments were preferred in almost all the attributes evaluated, and the CN treatment obtained higher grades, especially as the decision to purchase shown by tasters, even with the possibility of increasing its price. Therefore, it indicates the development of tilapia fillets minimally processed according to the CN treatment. The shelflife of the product will depend on the initial microbial count of raw material, being given only 21 days of storage for lots with low initial counts and strict control of temperature during processing and storage. Otherwise, the cold storage is recommended for 14 days.

Keywords: Tilapia; Minimally processed; Acetic acid; Packaging; Shelflife; Sensory analysis

### 3.1 Introdução

Segundo Oetterer (2002), para que um produto beneficiado de pescado seja aceito pelo consumidor, deve-se tentar corrigir os erros já feitos nestes anos todos com o pescado marinho. O pescado deve ser posto à venda na forma de minimamente processado, eviscerado, descamado e

descabeçado; filetado ou ainda em postas, embalado e armazenado em câmara fria apresentando garantia de qualidade higiênica – conforme padrões estabelecidos pelos órgãos de inspeção.

Para um incremento significativo no consumo de peixes faz-se necessário romper limites de logística e de estocagem, de forma a atingir mercados distantes das unidades produtivas. A maior parte da tilápia hoje produzida é comercializada nas propriedades diretamente com o consumidor final. O processamento, quando feito, é realizado em escala reduzida, em frigoríficos de pequeno porte, apesar de já ser perceptível nos últimos anos a tendência de crescimento do número de frigoríficos que processam o peixe. Além do filé, podem ser comercializados outros produtos de tilápia como hambúrgueres, *nuggets*, empanados, espetinhos, petiscos, *sashimi*, farinha e produtos de couro (FIGUEIREDO JÚNIOR; VALENTE JÚNIOR, 2008).

A demanda dos consumidores por alimentos de alta qualidade com características “frescas” ou “naturais” e que necessitam de uma preparação mínima, levou ao desenvolvimento de alimentos de conveniência prontos para consumo e que são conservados por tecnologias mais brandas. A principal técnica de conservação é a refrigeração, porém, devido à dificuldade de manter as temperaturas baixas ao longo de toda a cadeia de produção, distribuição e estocagem, são necessários obstáculos que controlam o crescimento de microrganismos deteriorantes ou patogênicos. O conceito de combinar diversos fatores para conservar o alimento foi desenvolvido por Leistner em 1995 e se caracteriza no efeito de barreiras, ou seja, cada fator é uma barreira que o microrganismo deve ultrapassar, e, quanto mais fatores combinados, maior será a dificuldade para os microrganismos se desenvolverem (FELLOWS, 2006).

A embalagem proporciona uma barreira entre o alimento e o ambiente. Ela controla a transmissão da luz, a taxa de transferência de calor, de umidade e de gases e o movimento dos microrganismos ou insetos. Além disso, a embalagem não deve influenciar o produto, por exemplo, pela migração de compostos tóxicos, pelas reações entre o material da embalagem e o alimento ou pela seleção de microrganismos prejudiciais ao alimento embalado, como, seleção de anaeróbios patogênicos em produtos com atmosfera modificada. Outros requerimentos da embalagem se referem à operação sem problemas – eficiente e econômica na linha de produção – resistência a danos – como rompimentos, rasgões ou amassamentos causados pelos equipamentos de enchimento ou fechamento, carregamento ou transporte – e, não menos importante, ao custo total mínimo (FELLOWS, 2006).



Um tipo de barreira que pode ser associada às embalagens são os tratamentos de acidificação do produto. Segundo Adams e Hall (1998), os ácidos acético e láctico, são conhecidos pelos seus efeitos bactericidas e bacteriostáticos, e o consenso de que esses ácidos têm baixa toxicidade ao organismo humano incentiva o seu uso como agente da redução da carga microbiológica.

Tendo em vista a necessidade de se desenvolver novos produtos que atendam às exigências do consumidor atual, com garantia da qualidade nutricional, microbiológica e sensorial, objetivou-se com essa pesquisa testar a eficiência do tratamento com ácido acético e diferentes tipos de embalagens, como barreiras a microrganismos e prolongadores de frescor, na elaboração de filés de tilápia minimamente processados, embalados a vácuo e armazenados sob refrigeração controlada. A submissão das amostras, em relação aos diferentes tratamentos testados, a uma análise sensorial foi determinante para escolha do melhor tratamento, combinando a eleição destes através dos melhores parâmetros nutricionais, microbiológicos, físico-químicos e a preferência do consumidor.

## **3.2 Material e Métodos**

### **3.2.1 Obtenção da matéria-prima**

O local e as condições de cultivo dos peixes utilizados nesse experimento estão descritos no item 2.2.1.

Para esta fase do projeto foram realizadas duas coletas (blocos) em condições padronizadas, uma no mês de outubro e outra no mês de novembro do ano de 2008, para determinação da efetividade dos tratamentos propostos. Para a elaboração do planejamento estatístico foram utilizadas as médias dos resultados das análises obtidas nessas duas coletas.

### **3.2.2 Procedimento de depuração**

Após atingirem cerca de 500 g, 100 peixes foram separados aleatoriamente dos tanques-rede da fazenda e levados para o tanque de depuração, como descrito no item 2.2.2, onde permaneceram 1 dia (24 h) sem alimentação, em água corrente. Sendo este o melhor tempo de depuração observado no capítulo 2 desta pesquisa.

### **3.2.3 Procedimento pós despesca**

#### **3.2.3.1 Aferição de temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%)**

Em cada uma das coletas realizadas, foram monitoradas as medidas de temperatura (°C) da água do tanque de depuração (termômetro de marca INCOTERM), e do ambiente, assim como as medidas de umidade relativa do ambiente (%) (através de termohigrômetro digital da marca Microzelle, modelo LR03\_MN2400).

#### **3.2.3.2 Determinação da perda de peso**

O procedimento utilizado para determinação da perda de peso seguiu o descrito no item 2.2.3.2.

#### **3.2.3.3 Abate e transporte**

Em seguida, os procedimentos para o abate e transporte seguiram o preconizado no item 2.2.3.3.

#### **3.2.3.4 Processamento mínimo das tilápias**

##### **3.2.3.4.1 Separação dos peixes para realização dos tratamentos**

Na Planta de Processamento do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (ESALQ/USP), previamente a realização do processamento mínimo dos peixes procedeu-se a separação aleatória dos mesmos, destinando-os aos diferentes tratamentos, a saber:

- ❖ **MP:** Matéria-prima (filés controle, sem tratamento com ácido acético embalados em bandejas de isopor (poliestireno expandido), cobertos com filme PVC - cloreto de polivinila ou cloreto de vinil);
- ❖ **AN:** Filés tratados com ácido acético e embalados a vácuo em embalagens plásticas de nylon poli;
- ❖ **AP:** Filés tratados com ácido acético e embalados a vácuo em embalagens de polietileno;

- ❖ **CN:** Filés não tratados com ácido acético e embalados a vácuo em embalagens de nylon poli;
- ❖ **CP:** Filés não tratados com ácido acético e embalados a vácuo em embalagens plásticas de polietileno.

#### 3.2.3.4.2 Escolha das embalagens

Após pesquisa na literatura e consulta a diversas indústrias produtoras de embalagens, optou-se por utilizar três tipos distintos de embalagens, as quais seguem abaixo com suas respectivas informações sobre a composição de seus materiais:

❖ **Bandeja de isopor:** espuma de poliestileno a partir de resina de poliestileno virgem ou poliestileno de estileno; medida (largura x comprimento x espessura): 23,5 x 18,0 x 3,5 cm; cobertas com filme plástico PVC (policloreto de vinila);

❖ **Saco de Polietileno monocamada liso, solda fundo:** baixa permeabilidade ao vapor d'água; alta permeabilidade a gases; permeável a óleos e gorduras; boa ótica; baixo ponto de fusão; bom equilíbrio (tração/impacto/rasgamento); boa termossoldabilidade (selante); medida (largura x comprimento x espessura): 18 x 24 x 14 cm;

❖ **Saco de nylon poli coextrusado liso, solda *pouch* laterais:** alta permeabilidade ao vapor d'água; boa barreira a gases e aromas; resistência a óleos e gorduras; excelente resistência química; resistente a altas e baixas temperaturas; selagem sobre contaminantes (sangue, gordura, óleos); excelente resistência a tração, impacto e rasgamento; medida (largura x comprimento x espessura): 18 x 24 x 14 cm.

Para a escolha das embalagens também foi levado em consideração a viabilidade econômica de aquisição das mesmas (quantidade e preço), logística e tempo de entrega.

#### 3.2.3.4.3 Biometria e rendimento dos filés

Durante o processamento mínimo, foram feitas as determinações biométricas, através de uma régua de plástico de 30, sendo efetuadas medidas quanto ao comprimento (cm), largura (cm) e tamanho da cabeça (cm) de uma sub-amostragem de 25 peixes (25 % da amostragem total) sem distinção dos tratamentos, escolhidos aleatoriamente. Também nessa sub-amostragem foi

realizada a pesagem dos peixes inteiros e de seus respectivos filés, a fim de se obter o rendimento do processo de filetagem.

#### 3.2.3.4.4 Realização dos tratamentos

Após a separação dos peixes, foi realizado o processamento mínimo de cada lote de forma individual. Os utensílios e bancadas foram higienizados com água clorada, sabão e álcool a 70 % no intervalo de elaboração de cada tratamento, visando evitar possíveis contaminações cruzadas.

A temperatura e a umidade relativa do ambiente foram monitoradas durante todas as etapas do processamento mínimo, com o intuito de se verificar possíveis problemas no produto final causados pelo aumento ou diminuição excessiva dessas medidas. Para isso, foi utilizado um termohigrômetro digital da marca Microzelle, modelo LR03\_MN2400.

Em todos os tratamentos procederam-se as etapas de processamento mínimo conforme descrito no item 2.2.3.5.

Para o tratamento MP, após essa etapa, os filés foram colocados dois a dois em bandejas de isopor e cobertos com papel filme PVC (Figura 26) com o auxílio de uma embaladora ML Packaging, Hand Overwrapping System HOS 500E2 (220V).



Figura 26 – Filés de tilápia minimamente processados em bandejas de isopor cobertas com filme plástico

Para os tratamentos AN e AP, após a etapa de drenagem dos filés, os mesmos foram imersos em solução de ácido acético 1 % (na proporção de 1,2:1, ou seja, 1,2 Kg de peixe para 1 L de solução preparada com água potável), a temperatura ambiente, por 2 minutos (SOCCOL, 2002; SOCCOL et al., 2005) (Figuras 27 e 28). Cada tratamento foi realizado individualmente.



Figura 27 – Preparo da solução de ácido acético 1 %



Figura 28 – Filés imersos em solução de ácido acético 1 %

Em seguida, os filés foram drenados em peneiras de aço inoxidável até perda do excesso de umidade (Figura 29) e acondicionados dois a dois em suas respectivas embalagens de plástico (nylon poli e polietileno) (Figura 30), que foram, logo depois, direcionadas para o fechamento a vácuo em seladora automática da marca comercial SELOVAC, modelo 300B gás com uma barra de selagem, e bomba de vácuo de 76M3/H BUSCH, conforme adaptado de Soccol (2002). Na seladora, foi fixado um tempo para promoção do vácuo de 15 segundos, solda de 1,0 segundo, retardo de solda de 0,2 segundos e tempo de resfriamento de 0,3 segundos.



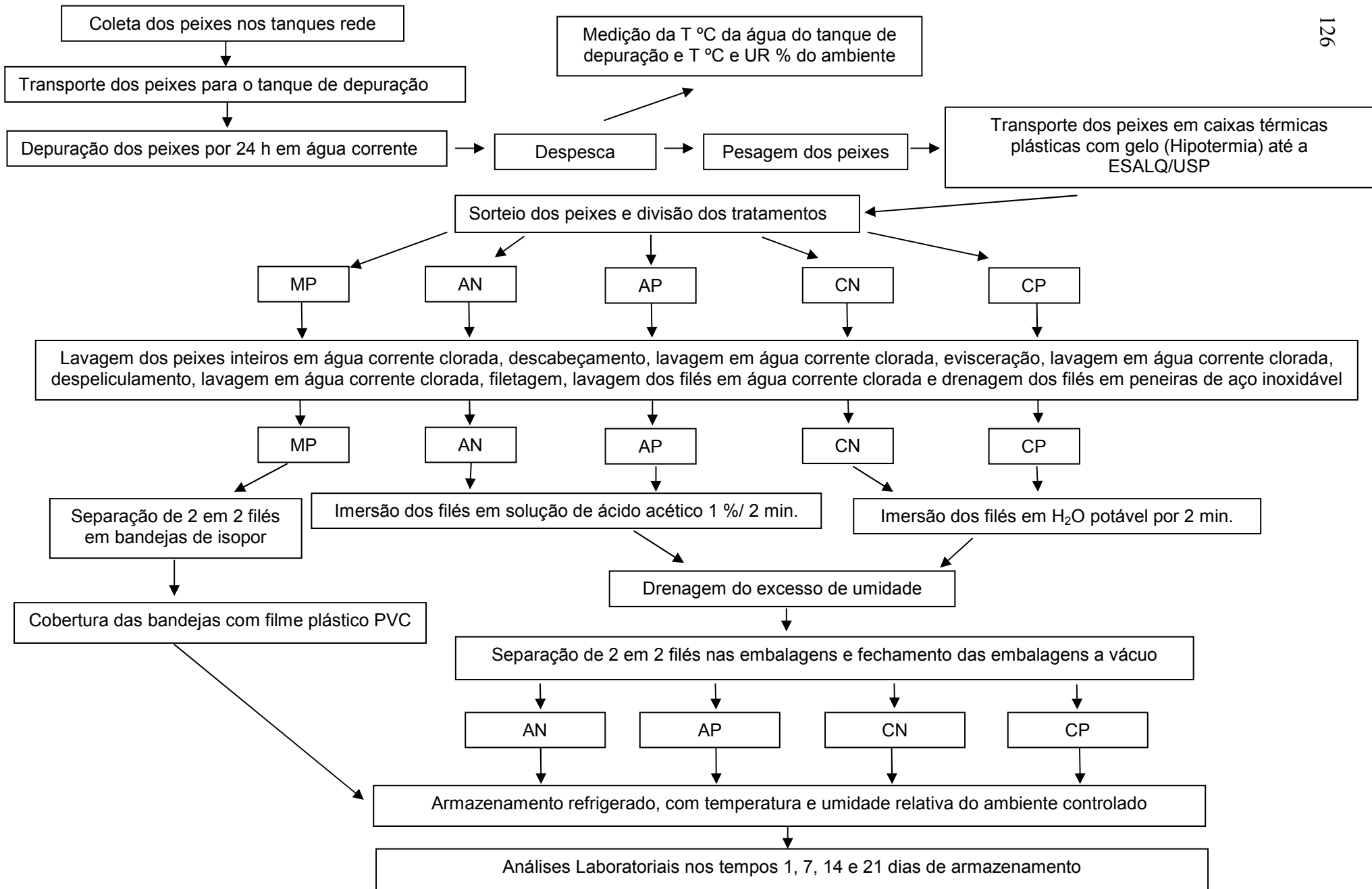
Figura 29 – Drenagem dos filés para perda do excesso de umidade



Figura 30 – Embalamento dos filés

Nos tratamentos CN e CP, após a primeira etapa de drenagem dos filés, os mesmo foram imersos em água potável na mesma proporção (peixe: água) descrita para o tratamento com ácido acético, ou seja, 1,2:1 (1,2 Kg de peixe para cada 1 L de água potável) (SOCCOL, 2002). O procedimento se deu a temperatura ambiente por 2 minutos. Logo após, os filés foram colocados novamente em peneiras de aço inox para drenagem do excesso de umidade. Neste caso, os dois tratamentos também foram realizados em momentos independentes. O procedimento de embalagem procedeu-se da mesma forma descrita para os tratamentos AN e AP.

Na Figura 31, pode-se observar de forma geral, o processamento mínimo dos tratamentos.



Sendo MP= filês controle em embalagem de isopor coberta com filme PVC; AN= filês acidificados em embalagens de nylon poli sob vácuo; AP= filês acidificados em embalagens de polietileno sob vácuo; CN= filês não acidificados em embalagens de nylon poli sob vácuo; e CP= filês não acidificados em embalagens de polietileno sob vácuo.

Figura 31 – Fluxograma de obtenção de filês de tilápia minimamente processados



Obteve-se 20 embalagens de cada um dos tratamentos (total 100 embalagens), sendo estas divididas e enumeradas para cada dia de análise.

Além disso, realizou-se o monitoramento da temperatura (°C) e umidade relativa (%) da sala de processamento, a fim de se determinar variações significativas.

#### 3.2.3.4.5 Refrigeração e armazenamento refrigerado

As amostras embaladas foram submetidas à refrigeração de  $1\pm 1$  °C, e armazenadas durante 21 dias (SOCCOL, 2002; SOCCOL et al., 2005) em estufa incubadora do tipo para Demanda Bioquímica do Oxigênio (B.O.D.) da marca Tecnal, modelo TE-391, com monitoramento da temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%) (Figura 32).



Figura 32 – Armazenamento refrigerado e monitorado das amostras

#### 3.2.4 Análises laboratoriais

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e as microbiológicas em duplicata. Os procedimentos realizados com os resíduos gerados nas análises físico-químicas seguiram o descrito no item 2.2.4.

As análises laboratoriais foram realizadas nos tempos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. Para cada dia de análise foram utilizadas 5 embalagens de cada tratamento, contendo 2 filés cada.

Antes de se iniciar as análises de cada tratamento, uma embalagem foi separada aleatoriamente para a análise sensorial e as outras 4 foram abertas e seus filés foram picados e homogeneizados antes da realização das análises (Figura 33).



Figura 33 – Homogeneização das amostras para análise

### **3.2.4.1 Análises físico-químicas dos filés**

No laboratório de Tecnologia do Pescado, do departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (ESALQ/USP), foram realizadas para todos os tratamentos, em cada tempo de armazenamento, as seguintes análises:

#### **3.2.4.1.1 Mensuração de pH**

Realizado segundo descrito no item 2.2.4.1.1.

#### **3.2.4.1.2 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)**

Realizado segundo descrito no item 2.2.4.1.2.

#### **3.2.4.1.3 Composição centesimal e valor calórico**

Realizado segundo descrito no item 2.2.4.1.3.

#### **3.2.4.2 Análises microbiológicas dos filés**

Foram realizadas as análises microbiológicas previstas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para pescado resfriado não consumido cru, através da RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo e presença de *Salmonella* spp.) (BRASIL, 2001). Além disso, foram também realizadas as contagens para de coliformes totais e *E.coli*, mesófilos, psicrotróficos e clostrídios sulfito redutores.

A água peptonada e as diluições decimais para cada análise foram preparadas conforme descrito no item 2.2.4.2.

##### **3.2.4.2.1 Microrganismos mesófilos**

A realização desta análise seguiu os procedimentos descritos no POP-Micro de nº 02 (Anexo H). Aliquotas de 1 mL das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  foram inoculadas, em duplicata, em placas de Petri e em seguida, foi adicionado o *Plate Count Agar* (PCA). Após a homogeneização e completa solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas invertidas em estufa a 35 °C por 48 h para contagem dos microrganismos mesófilos (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 1997). Os resultados foram expressos em UFC/g, e transformados em log UFC/g quando necessário.

##### **3.2.4.2.2 Microrganismos psicrotróficos**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.1.

##### **3.2.4.2.3 Coliformes totais e *E. coli***

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.2.

##### **3.2.4.2.4 *Staphylococcus aureus* coagulase positivo**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.3.

#### **3.2.4.2.5 Clostrídios sulfitos redutores**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.4.

#### **3.2.4.2.6 *Salmonella* spp.**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.5.

#### **3.2.4.3 Análise sensorial**

A análise sensorial seguiu um modelo adaptado de Soccol (2002) e Soccol (2005), com 8 provadores treinados. Foram avaliados, individualmente, os cinco tratamentos realizados com os filés de tilápia minimamente processados e armazenados sob refrigeração nos dias 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

Os atributos avaliados foram “cor”, “aroma”, “tamanho da embalagem” (com relação à quantidade: 2 filés por embalagem) e “aparência geral do produto”. Para esses atributos usou-se uma escala numérica estruturada variando de “gostei extremamente” (nota 9) e “desgostei extremamente” (nota 1).

Além disso, foi avaliada a intenção de compra dos provadores, buscando averiguar se esses comprariam o referido produto no caso deles serem mais caros que outros semelhantes. Para esses atributos utilizou-se uma escala estruturada variando de “sim, com certeza” (nota 1) a “não, com certeza” (nota 5). Também foi questionado o porquê da resposta escolhida.

E por fim, foi questionado aos provadores o que eles “mais gostaram” e o que eles “mais desgostaram” nas amostras de cada tratamento. O modelo da ficha sensorial utilizado para este teste pode ser observado no Anexo O.

A realização desta análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ/USP), segundo protocolo de número 21, divulgado na circular COET/046.

#### **3.2.5 Análise estatística**

Para análise dos dados deste trabalho foram adotadas técnicas estatísticas diversas em função de peculiaridades dos dados. Os dados da Análise Sensorial (atributos de “cor”, “tamanho

da embalagem”, “aroma” e “aparência geral”) foram observados em um único bloco. Sendo assim, foi necessária a adoção de um modelo para experimentos com dois fatores e sem interação. Isso é necessário porque a interação é usada como resíduo na análise.

Um segundo grupo de variáveis, formado pelos resultados das análises de frescor (BNVT e pH) e composição centesimal, foi submetido à análise de variância através de modelo apropriado para experimentos casualizados em blocos com dois fatores (tratamento e armazenamento) e com interação. O uso da análise de variância foi precedido de um estudo de suposições que determinou a adoção de medidas corretivas em alguns dados.

Em seguida à análise de variância foi aplicado o teste de Tukey para comparações múltiplas de médias nos fatores significativos ( $p < 0,05$ ) e a análise de regressão linear para os dados significativos do fator armazenamento ( $p < 0,05$ ).

Por fim, as análises das variáveis observadas no estudo microbiológicos não puderam ser corrigidas de forma satisfatória para aplicação da análise de variância paramétrica, desta forma, foram submetidas à análise não-paramétrica através do teste de Friedman. Nos resultados são apresentadas as comparações de médias do teste de Friedman aproximada pelo teste t.

As análises foram executadas através do sistema SAS (SAS, 2002).

### **3.3 Resultados e Discussão**

#### **3.3.1 Determinação da perda de peso**

Nas coletas realizadas nessa etapa do experimento, verificou-se, em média, uma perda de peso de 2,29 %, sendo este valor menor que os 4,44 % obtidos no capítulo 2 desta pesquisa para o mesmo tempo de 1 dia de depuração dos peixes.

Como já mencionado, a perda de peso é um dos fatores de maior relevância na tomada de decisão de um produtor quanto à aplicação ou não desta técnica, uma vez que esta prática pode ocasionar perda de lucros. Todavia, os benefícios oferecidos por ela muitas vezes acabam compensando e viabilizando o procedimento, como por exemplo, a eliminação ou diminuição do *off-flavor* e a diminuição da contagem microbiana no produto final.

Isso pode ser confirmado por Krolow et al. (2000), que afirmam que a depuração de carpas (*Cyprinus carpio*) acarreta perda de peso do pescado devido a diminuição do seu conteúdo gastrointestinal, minimizando a possibilidade de contaminação durante as operações de abate e

evisceração. Em seu experimento, filés de carpas submetidas à depuração apresentaram contagem para coliformes totais de  $4,3 \times 10^1$  NMP/g e para os não depurados de  $2,3 \times 10^2$  NMP/g.

### 3.3.2 Aferição de temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%) no local de coleta

No intuito de se monitorar a temperatura em todas as etapas do processo de obtenção da matéria-prima, foi possível obter, durante as coletas, os seguintes dados apresentados na Tabela 15:

Tabela 15 – Temperaturas (°C) e umidade relativa do ambiente (%) obtidas nas coletas

Medições	Tanque Depuração		Ambiente	
	T	T	UR	UR
1ª Coleta (out/2008)	18,0	23,0	72	
2ª Coleta (nov/2008)	20,0	21,7	72	
Média ( $\pm$ desvio padrão)	19,0 ( $\pm$ 1,41)	22,3 ( $\pm$ 0,92)	72 ( $\pm$ 0,00)	

T = Temperatura; UR = Umidade Relativa

Observa-se que a temperatura média (19 °C) da água do tanque de depuração foi menor que a temperatura média constatada no mesmo tanque no capítulo 2 deste trabalho, que foi de 20,2 °C, o que pode ter influenciado na menor perda de peso apresentada pelos peixes nessa fase do experimento, como mostra a Figura 34, onde verifica-se tendência de correlação diretamente proporcional entre temperatura e perda de peso, portanto quanto maior a temperatura há maiores chances de perda de peso

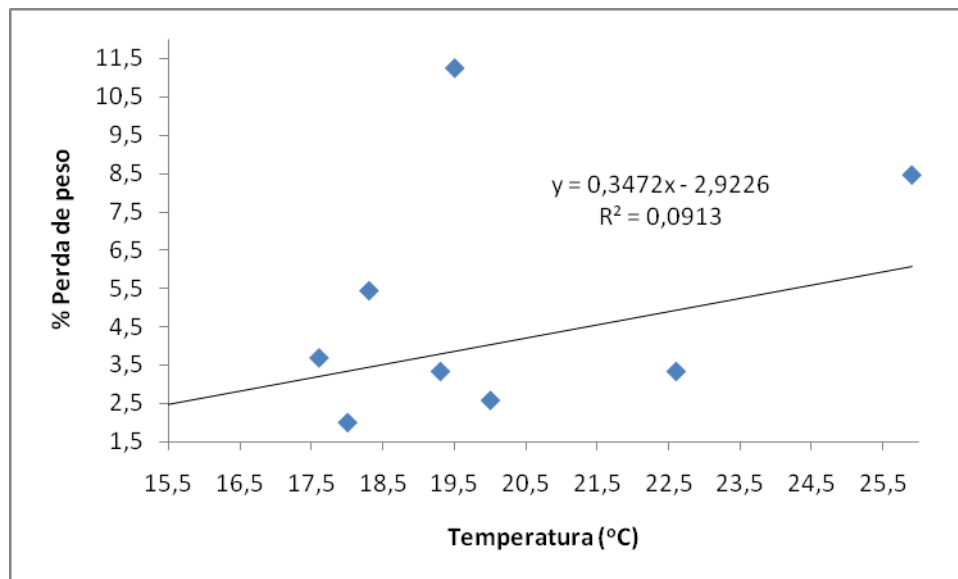


Figura 34 – Correlação entre temperatura do tanque de depuração e perda de peso (%) dos peixes

A tolerância da tilápia do Nilo ao frio é intermediária ao observado para a tilápia azul (mais tolerante de todas) e a tilápia de Moçambique. As temperaturas mínimas letais variam de 8 a 13 °C dependendo da adaptação. Com relação à temperatura máxima letal para a tilápia do Nilo, esta pode variar de 38 a 44 °C, quando aclimatadas em temperaturas de 15 a 35 °C, respectivamente. Quanto mais próxima for à temperatura de aclimação dos peixes das temperaturas extremas, maior será a tolerância dos peixes ao frio e ao calor (KUBITZA, 2000).

De acordo com Pezzato et al. (2004), em peixes, as exigências nutricionais estão diretamente relacionadas a fatores como: temperatura da água, espécie, fase de desenvolvimento, sexo, estágio de maturação sexual, sistema e regime de produção, frequência de arraçoamento e qualidade da dieta. Sendo assim, além da ausência de alimentação, a temperatura pode ter sido um fator que influenciou a perda de peso dos peixes.

A temperatura média do ambiente (22,3 °C), por sua vez, foi maior que a média apresentada no capítulo 2, que foi de 21,5 °C. Além disso, também foi monitorado a umidade relativa do ambiente, que se apresentou com uma média de 72 %.

A temperatura média mantida durante o transporte do pescado foi de 0 °C, mantendo a hipotermia dos peixes.

Segundo Fellows (2006), a redução da temperatura abaixo da mínima necessária para o crescimento microbiano estende o tempo de geração de microrganismos, evitando ou retardando a sua reprodução. O autor complementa que o resfriamento é a operação unitária na qual a temperatura do alimento é reduzida entre  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ . É usada para reduzir as variações biológicas e, assim, prolongar a vida útil de alimentos frescos e processados. Isso causa mudanças mínimas nas características sensoriais e nas propriedades nutricionais dos alimentos e, como resultado, os alimentos resfriados são percebidos pelos consumidores com convenientes, fáceis de preparar, de alta qualidade, “saudáveis”, “naturais” e “frescos”.

Dessa maneira, pode-se dizer que o fato de ter sido possível manter a temperatura das amostras a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  ao longo de todo o percurso de transporte, da fazenda até o local de processamento, possibilitou minimizar problemas quanto a qualidade da matéria-prima utilizada nesse experimento, garantindo o afirmado por Galvão et al. (2006), que quanto menor a temperatura utilizada durante o transporte, maior será o frescor do pescado.

### **3.3.3 Aferição de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e umidade relativa do ambiente (%) na área de processamento mínimo**

Durante todas as etapas do processamento mínimo, a temperatura da sala de processamento foi monitorada, assim como a umidade relativa do ambiente da sala de processamento. Com isso, obteve-se os seguintes valores médios: temperatura ambiente:  $19,4\text{ }^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa do ambiente da sala de processamento: 58 %.

Segundo Castillo (200?) para o mercado de exportação de produtos cárneos, é recomendado que a área de manipulação desses produtos seja mantida durante o processamento a uma temperatura média de 10 a  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Por sua vez, para o mercado interno, é recomendado que a temperatura se mantenha, pelo menos, na faixa de  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Da mesma forma, no Manual de procedimentos para implantação de estabelecimento industrial de pescado fresco, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, recomenda-se a climatização em temperaturas em torno de  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  nos locais para fins de processamento de pescado (BRASIL, 2007).



Com isso, verifica-se que a temperatura média alcançada na sala de processamento durante o processamento mínimo dos filés de tilápia ficou acima do recomendado para manipulação de produtos, tanto para a comercialização no mercado externo como no interno.

Da mesma forma, o valor médio apresentado não atende o recomendado pela ANVISA, em sua portaria de nº 06, de 10 de março de 1999 (BRASIL, 1999), e nem o previsto pela Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas (ABERC, 2003), nos quais a temperatura prevista para área de manipulação de produtos cárneos, aves e pescado consta na faixa entre 12 e 18 °C.

Mesmo não atendendo as especificações recomendadas para temperatura da área de manipulação, as amostras não se mostraram com alterações de frescor, segundo as análises de BNVT e pH, e isso, provavelmente, se deu pelo fato do processamento mínimo ter ocorrido de forma rápida e eficiente.

Em relação ao monitoramento da temperatura interna da BOD, durante o armazenamento, foi possível encontrar o valor médio de 0,94 °C, estando este valor dentro da variação previamente desejada ( $1 \pm 1$  °C) (SOCCOL, 2002; SOCCOL et al., 2005). Segundo Fellow (2006) a redução da temperatura abaixo da mínima necessária para o crescimento microbiano estende o tempo de geração de microrganismos, realmente evitando ou retardando a reprodução.

A umidade relativa, segundo Baruffaldi e Oliveira (1998), é um fator que deve ser bem controlado, pois favorece o aumento da vida de estocagem dos alimentos. O seu perfeito monitoramento fará com que se evitem perdas de umidade por desidratação.

Quanto a umidade relativa do ambiente interno da B.O.D. foi constatado valor médio de 48,22 %, este valor pode ter sido responsável pela ausência de líquido exsudado nas amostras MP, já que estas estavam cobertas com um filme plástico que apresentava alta permeabilidade e trocas de gases e vapor d'água com o ambiente.

### **3.3.3.1 Biometria e rendimento dos filés**

Durante a etapa de processamento mínimo das tilápias foram verificados valores médios das medições biométricas de 25 % dos peixes utilizados nos tratamentos, que podem ser observados na Tabela 16.

Tabela 16 – Medições ( $\pm$  desvio padrão) biométricas realizadas durante o processamento

<b>Medições (cm)</b>	<b>Comprimento</b>	<b>Largura</b>	<b>Cabeça</b>
1ª Coleta (out/2008)	28,5 ( $\pm$ 2,28)	10,9 ( $\pm$ 0,92)	7,0 ( $\pm$ 0,55)
2ª Coleta (nov/2008)	28,8 ( $\pm$ 1,35)	11,9 ( $\pm$ 0,64)	6,8 ( $\pm$ 0,56)
Média	28,7 ( $\pm$ 0,24)	11,4 ( $\pm$ 0,68)	6,9 ( $\pm$ 0,21)

As medidas do comprimento e largura dos peixes, assim como do tamanho das cabeças, foram tomadas a fim de se estabelecer um padrão de tamanho para as tilápias que devem ser destinadas a esse modelo de processamento mínimo.

Verifica-se que não houve grandes diferenças dos valores médios das mesmas medidas apresentados pelos peixes utilizados no capítulo 2 deste trabalho, a saber: 28,4 cm de comprimento, 11,2 cm de largura e 7,2 cm de tamanho da cabeça. O que pode nos garantir uma padronização do tamanho das tilápias e, conseqüentemente, a não interferência desses fatores nos resultados apresentados nos demais itens avaliados.

Simões et al. (2007) encontraram em um de seus experimentos com tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*) valor médio de 38,9 cm para comprimento total dos peixes, com uma variação de 28,0 (mínimo) a 43,0 (máximo) cm. E para largura o valor médio obtido foi de 16,2 cm, com uma variação de 12,0 (mínimo) a 18,0 (máximo) cm. Tendo em vista que o peso médio dos peixes utilizados pelos autores foi de 989,6 g, com uma variação de 447,9 a 1369,6 g, e considerando os valores mínimos obtidos em cada item observado, os valores encontrados em seu experimento estão de acordo com os encontrados nesta pesquisa.

Os peixes inteiros apresentaram em média uma pesagem de 549,64 g ( $\pm$  22,29) e a média do peso dos filés obtidos foi de 154,62 g ( $\pm$  18,19). Sendo esses valores médios menores que os valores obtidos para os peixes utilizados no capítulo 2, que foi de 578,42 g ( $\pm$  113,48) para os peixes inteiros e 183,08 g ( $\pm$  34,91) para os seus respectivos filés.

Com o valor médio dos pesos dos filés minimamente processados, foi possível obter o rendimento médio em filés apresentado pela operação de filetagem de aproximadamente 28,22 %, sendo este também um valor inferior ao apresentado no capítulo 2 que foi de 31,65 %.

Simões et al. (2007), encontraram valores para rendimento médio em filés sem pele de 16,43 % em tilápia tailandesa na faixa de peso de 440-760 g, já para filés com pele em tilápias da mesma faixa de peso encontraram rendimento médio de 21,49 %.

Autores como Ribeiro et.al. (1998), Souza (2003), Souza, Macedo-Viegas e Kronka (1997a) e Souza, Macedo-Viegas e Kronka (1997b) citam que a faixa de peso influencia no

rendimento do filé. Ribeiro et. al. (1998) encontraram um rendimento mínimo de 26,32 % e no máximo de 37,08 % para a tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*) e observaram que o rendimento do filé aumentou em função do peso do peixe, sendo de 31,49 % na menor classe (150-350 g) e de 33,67 % na maior classe (751-950 g).

Examinando os dados obtidos, neste trabalho, verificou-se tendência inversamente proporcional (Figura 35) quando correlacionados dados de rendimento em filés *versus* peso do peixe inteiro (g). Um fator que deve ser levado em consideração, é que muitas vezes o tamanho, peso do peixe, não reflete a quantidade de músculo presente no indivíduo, pois esse é influenciado pela qualidade e composição da ração, que por muitas vezes pode não apresentar condições eficientes de conversão alimentar e ganho de proteína pelo pescado.

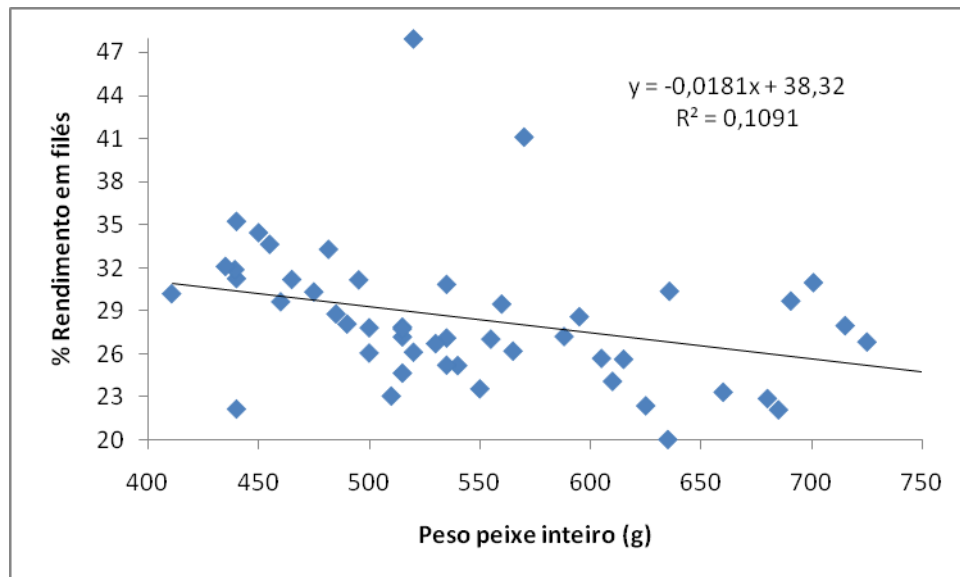


Figura 35 – Rendimento em filés com relação ao peso do peixe inteiro

Por outro lado, Souza e Maranhão (2001) não encontraram diferença significativa para o rendimento de filés de tilápia nilótica na faixa de peso estudado que foi de 36,5% para 300-400 g e 36,84% para a faixa de peso de 401-500 g. Igualmente, Pinheiro et. al. (2006) também não encontraram diferença significativa no rendimento de filé de tilápia tailandesa entre as categorias de peso, (300-600 g), (601-800 g) e (801-1000 g).

Souza (2002) afirma ter encontrado diferença significativa quando comparou seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filés e de subprodutos do processamento da tilápia do

Nilo. O melhor método de filetagem foi o que retirou a pele do peixe inteiro e depois se removeu o filé, sendo exatamente esse o procedimento adotado nesse experimento.

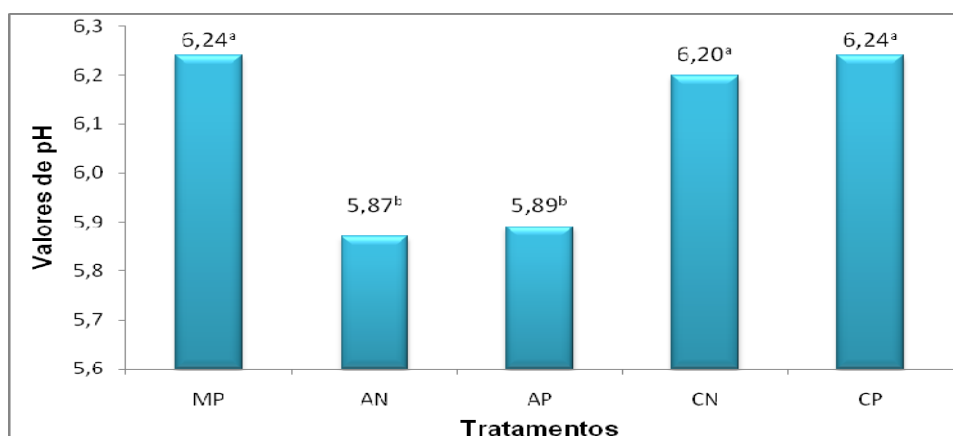
### 3.3.4 Análises laboratoriais

#### 3.3.4.1 Análises físico-químicas dos filés

##### 3.3.4.1.1 Mensuração de pH

De maneira geral, com o início do *rigor mortis*, o pH do peixe cai de 7,0 para 6,5 subindo rapidamente a níveis de 6,6 a 6,8 (ASHIE; SMITH; SIMPSON, 1996; KAI, MORAIS, 1988). A queda de pH é ligeira e depende, entre outras coisas, das condições de pesca pois as reservas de glicogênio dependem da resistência que os peixes opõem à captura (KAI, MORAIS, 1988). Com a deterioração do pescado, o pH aumenta para níveis mais elevados devido à decomposição de aminoácidos e da uréia e à desaminação oxidativa da creatina (LEITÃO, 1988). O aumento do pH é afetado pela espécie do peixe, tipo e carga microbiana, histórico do peixe, métodos de captura, manuseio e armazenamento (ASHIE; SMITH; SIMPSON, 1996; BAYLISS, 1996).

Ao se avaliar os diferentes tratamentos realizados, encontrou-se, para análise de pH, diferença estatística significativa ( $p < 0,0001$ ) entre os valores médios obtidos para os diferentes tratamentos testados (Figura 36).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Tratamento:  $p < 0,0001$ ; Desvio padrão: MP=0,16; AN=0,19; AP=0,17; CN=0,15; CP=0,09

Figura 36 – Valores para pH nos diferentes tratamentos (médias)

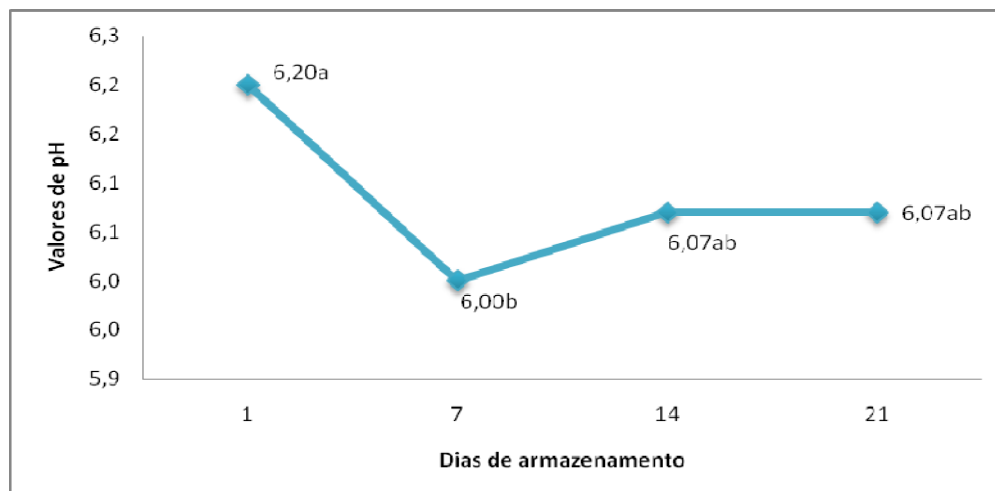
Os valores médios obtidos nos tratamentos AN (5,87) e AP (5,89) não diferenciaram estatisticamente entre eles, mas diferenciaram dos demais tratamentos. Essa diferença se deu, devido ao tratamento com ácido acético realizado nessas amostras, ocasionando uma diminuição considerável do valor médio de pH nas mesmas.

De acordo com Pardi et. al. (1994) o ácido acético e seus sais são bastante eficientes e largamente utilizados como acidulantes e conservadores de alimentos. Sua ação conservadora é atribuída à queda de pH provocada no meio, e sua atividade antimicrobiana inicia-se em concentrações superiores a 0,5 %.

Soccol et al. (2005), ao contrário, ao realizar a imersão de filés de tilápia em solução de ácido acético 1 % e em seguida embalá-los a vácuo não obteve diferença estatística ( $p>0,05$ ) entre essas amostras (valores de pH encontrados variaram de 6,4 a 6,5) e as amostras controle, ou seja, sem acidificação (valores de pH encontrados variaram de 6,0 a 6,2).

Os valores médios apresentados pelos tratamentos MP (6,24), CN (6,20) e CP (6,24) não apresentaram diferença estatística significativa entre si.

Quando analisado o fator armazenamento, a partir do teste de Tukey, também foi encontrado diferença estatística significativa ( $p=0,0073$ ) entre os valores médios obtidos nos tempos avaliados. Sendo assim, verifica-se na Figura 37 que o valor médio obtido no tempo de 1 dia de armazenamento (6,20) diferenciou estatisticamente do valor médio obtido no tempo de 7 dias de armazenamento (6,00).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Armazenamento:  $p = 0,0073$ . Desvio padrão: 1 dia=0,28; 7 dias=0,19; 14 dias=0,21; 21 dias=0,17.

Figura 37 – Valores de pH nos dias de armazenamento (médias)

No tratamento com ácido acético (1 %) realizado por Soccol et al. (2005) em filés de tilápia não foi observado diferença estatística ( $p > 0,05$ ) nas amostras embaladas a vácuo ao longo do tempo de armazenamento. Os valores médios encontrados foram: 6,1, 6,0, 6,2 e 6,2 respectivamente, para os tempos de armazenamento de 1, 7, 13 e 20 dias.

Para o parâmetro pH, também foi realizada uma análise de regressão linear simples para os dados significativos do fator armazenamento (Figura 38).

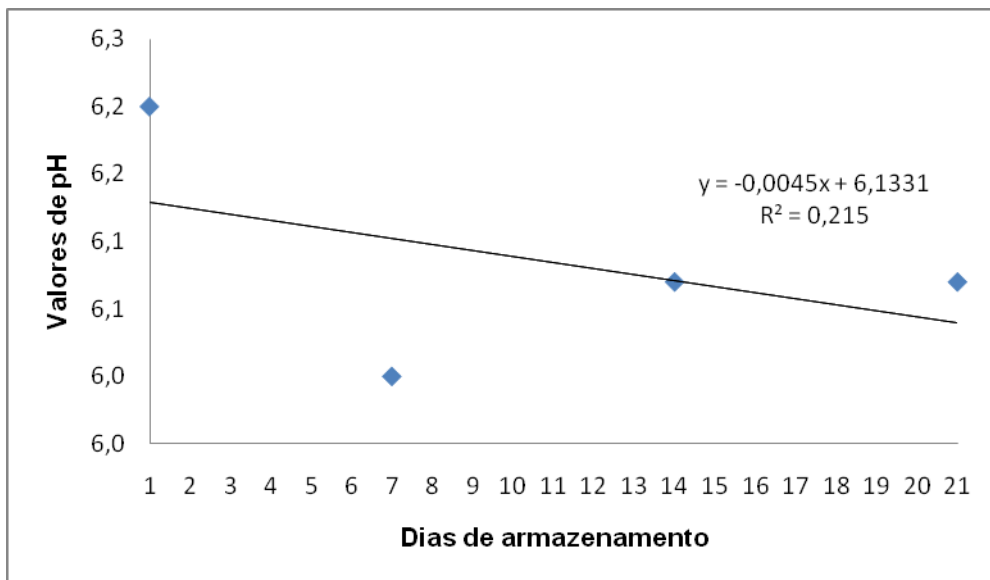


Figura 38 – Regressão linear para os dados de pH nos dias de armazenamento

Entretanto, observou-se que, na regressão linear, a correlação entre os valores de pH e os dias de armazenamento não foi significativa ( $p = 0,3671$ ), mas há uma tendência decrescente entre os dados, ou seja, quanto maior o tempo de armazenamento, menores foram os valores encontrados para pH.

Quando analisado a interação entre tratamentos e tempos de armazenamento, os resultados não apresentaram diferença estatística significativa ( $p = 0,9880$ ) entre si, e os mesmos podem ser observados na Figura 39.

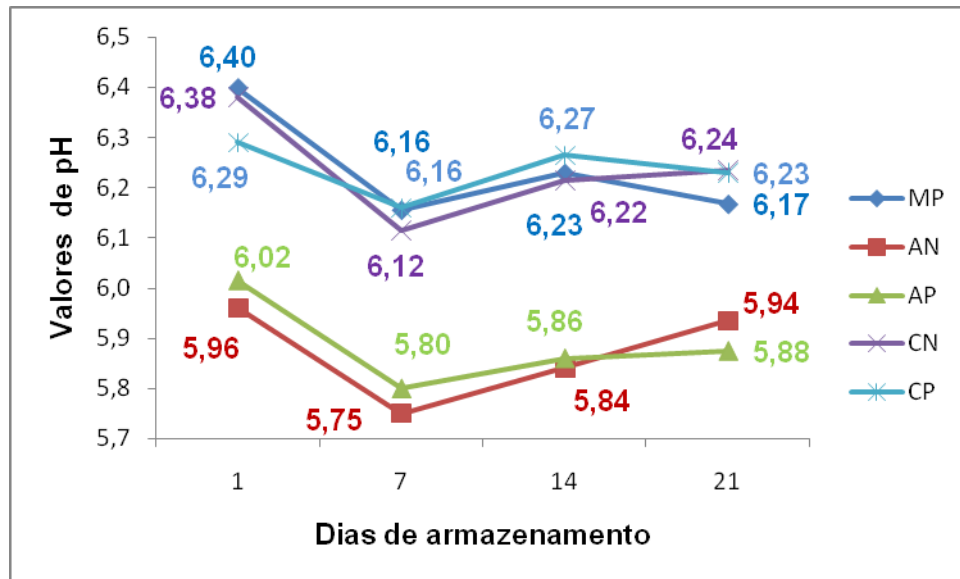


Figura 39 – Valores de pH para os diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento

Observa-se que em todos os tratamentos testados, os valores médios iniciais (1 dia) foram menores que os valores médios encontrados no último dia de análise (21 dias).

Todos os valores de pH encontrados estão de acordo com o estabelecido pela legislação (BRASIL, 1952) para pescado fresco, estando assim, recomendados para o consumo.

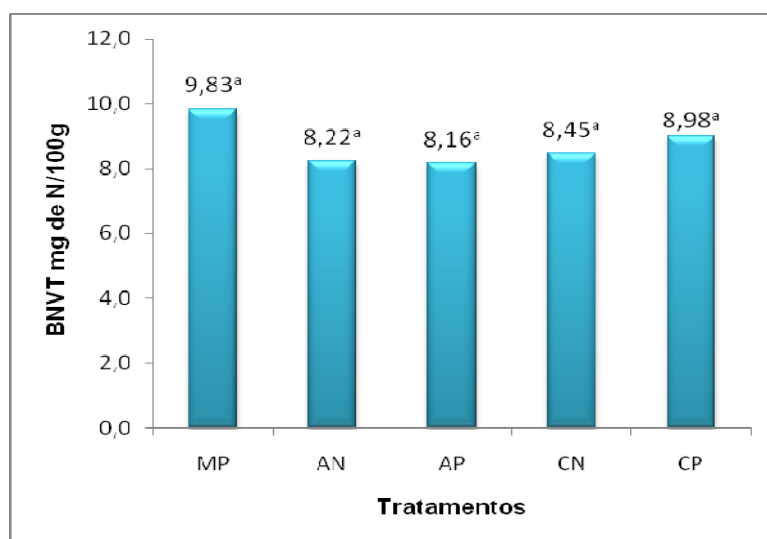
Segundo Ogawa e Maia (1999), o pH é um índice pouco confiável para avaliar o estado de frescor ou início de deterioração em pescado, pois este índice é variável entre as diferentes espécies e apresenta ciclos de flutuação durante a estocagem refrigerada. Sendo assim, torna-se necessário que outros parâmetros, além do pH, sejam avaliados para se determinar o frescor em pescado.

#### 3.3.4.1.2 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)

As Bases Nitrogenadas Voláteis Totais compreendem compostos como amônia, trimetilamina, dimetilamina, e outros. No início do processo degradativo, a base volátil mais representativa é a amônia originária dos produtos da desaminação dos derivados do ATP. Posteriormente, a amônia proveniente da degradação de outros compostos nitrogenados, a exemplo de aminoácidos, juntamente com a trimetilamina, formada a partir do óxido de trimetilamina, passam a se fazer presentes (OGAWA; MAIA, 1999).

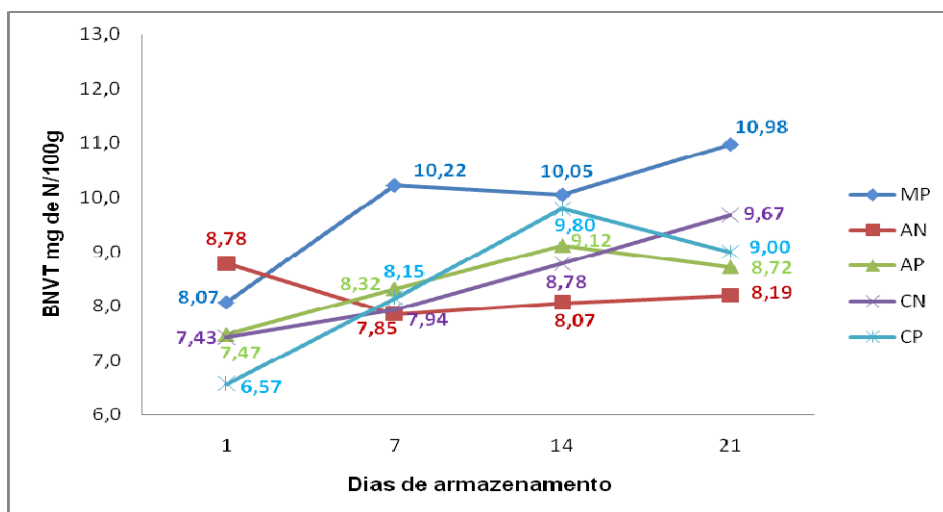
Para análise de BNVT, não foi constatado diferença estatística significativa ( $p=0,0510$ ) para o fator tratamento (Figura 40), e nem para o fator armazenamento ( $p=0,1230$ ) (Figura 41), assim como também não foi constatado interação significativa ( $p=0,5095$ ) entre esses dois fatores.

Na análise do fator tratamento, o MP foi o que apresentou maior média de valores para a análise de BNVT (9,83 mg de N/100 g), e o tratamento AP foi o que apresentou o menor valor médio (8,16 mg de N/100 g) para esse tipo de análise (Figura 40).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Fator tratamento:  $p = 0,0510$ .

Figura 40 – Valores obtidos para BNVT nos diferentes tratamentos realizados (médias)



Fator armazenamento:  $p = 0,1230$ .

Figura 41 – Valores obtidos para BNVT nos dias de armazenamento (médias)



Todos os valores observados estão de acordo com o previsto na legislação brasileira vigente que estabelece o valor de 30 mg de N/100g como limite máximo de BNVT para pescado fresco, exceto para elasmobrânquios (BRASIL, 1997).

As amostras de todos os tratamentos podem ser consideradas com excelente estado de frescor, mesmo após 21 dias de armazenamento (Figura 34). Isso de acordo com Ogawa e Maia (1999), que afirmam que para peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNVT atinge 5 a 10 mg de N/100 g de carne e peixes com frescor satisfatório podem atingir até 15 a 25 mg de N/100 g de carne.

Morga (1975), constatou que os dados referentes à concentração do BNVT no músculo da pescada foguete (*Macrodon ancylodon*), conservada em gelo, durante 12 dias de estocagem, variaram numa faixa de 11,90 a 32,20 mg de N/100 g de músculo. Estes dados quando relacionados com a soma total das características sensoriais, mostraram para faixa de aceitabilidade uma variação de 11,90 a 18,07 mg de N/100 g de músculo, enquanto para a faixa de inaceitabilidade estes dados variaram entre 13,47 a 32,24 mg de N/ 100 g de músculo.

Socol et al. (2005), avaliando tilápia minimamente processada, submetida a diferentes tipos de tratamento, armazenada sob refrigeração, observou, que os valores de BNVT também não foram alterados significativamente pelos tratamentos e pelo período de armazenamento. Todos os valores encontrados para os tratamentos apresentaram-se elevados nos primeiros dias, com exceção do vácuo acrescido de ácido acético e embalagem com atmosfera modificada (EAM) acrescido de ácido acético. O controle apresentou teores de 14,0; 13,3; 14,0 e 18,90 mg de N/100 g de tecido, nos períodos de 1, 7, 13 e 20 dias de armazenamento; o tratamento com ácido acético somente, apresentou valores de 13,07; 11,20; 12,37; 17,07 mg de N/100 g de tecido, nos mesmos períodos; no tratamento somente a vácuo, obteve-se valores de 14,70; 12,60; 15,17; 17,03 mg de N/100 g; o tratamento vácuo acrescido de ácido acético apresentou teores de 12,13; 13,07; 14,0; 17,03 mg de N/100g, no EAM, obteve-se teores de 13,07; 11,90; 13,07; 16,57 mg de N/100 g, também nos mesmos períodos, e o tratamento de EAM acrescido de ácido acético, apresentou os valores mais baixos para BNVT, em todo o período de armazenamento, encontrado teores médios de 12,13; 12,13; 13,07; 14,93 mg de N/100 g, sugerindo, que este tipo de tratamento conserva melhor o pescado das deterioração, observados pelos valores baixos de BNVT.

Os valores apresentados por Soccol et al. (2005) também se mostraram, em sua maioria, mais elevados do que os valores encontrados nesse estudo, principalmente no que diz respeito aos valores apresentados ao longo do tempo de armazenamento.

Durante o período de armazenamento (Figura 41) percebe-se um aumento dos valores de BNVT para as amostras dos tratamentos MP, AP, CN e CP. E uma diminuição para as amostras do tratamento AN. A não regularidade desses dados coloca em questão a real validade desse parâmetro como medida de frescor em pescado. Até mesmo porque os valores detectados nos últimos dias de análise, considerando as amostras ainda com um excelente estado de frescor, são questionáveis, já que durante a análise sensorial, realizada concomitantemente, ocorreu uma diminuição das notas apresentadas pelos consumidores nesse mesmo tempo de armazenamento no que se refere a todos os atributos avaliados. Além disso, as contagens de mesófilos e psicrotróficos nesse tempo também se mostraram extremamente elevadas, quando comparadas às contagens iniciais.

Segundo Ruiz-Capillas e Moral (2001) o teor de bases nitrogenadas voláteis (amônia, trimetilamina e dimetilamina), e o teor de trimetilamina têm sido empregados como índices de frescor para pescado. Entretanto, Lapa-Guimarães (2005) já afirma que existem controvérsias sobre a efetividade destes parâmetros, uma vez que em algumas espécies de pescado, alterações significativas nos teores destes compostos somente ocorrem quando os sinais de deterioração já são perceptíveis sensorialmente.

Para Rodríguez-Jérez et al. (2009) as determinações de BNVT não são efetivas para aferir deterioração para todas as espécies de pescado. Para os autores, estes testes deveriam ser utilizados com reservas para avaliação do pescado próximo ao limite de sua aceitabilidade, não sendo possível considerar esta análise como indicadora de frescor e sim de deterioração.

Sendo assim, faz-se necessário uma reavaliação das considerações encontradas na literatura sobre esse parâmetro. É preciso que haja maiores estudos de padronização das diversas metodologias existentes para determinação desse índice, assim como as peculiaridades existentes em cada espécie de pescado a ser avaliada.

Ao se estudar a correlação entre as variáveis pH e BNVT observou-se relação diretamente proporcional entre eles (Figura 42), o que segundo Hall (1992), é decorrente do aumento das bases voláteis oriundas da decomposição protéica do pescado. O mesmo foi observado por

Prentice e Sainz (2005), em um experimento com filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração.

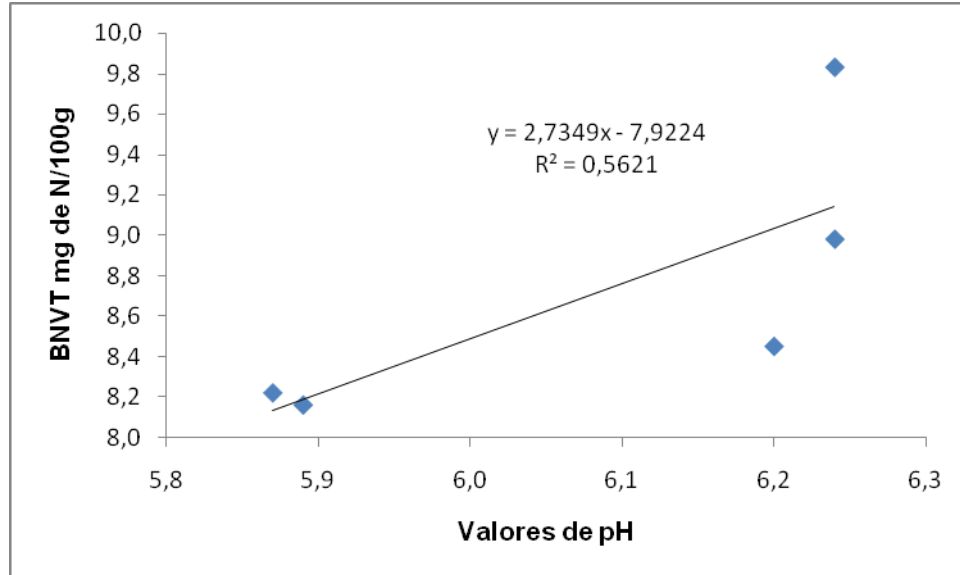


Figura 42 – Correlação entre os valores médios obtidos para pH e Bases Voláteis Totais

#### 3.2.4.1.3 Composição centesimal e valor calórico

Para todos os tratamentos foi realizada análise de composição centesimal e calculado o valor calórico das amostras, e os resultados podem ser observados nas Tabelas 17 e 18.

Através desses dados, é possível afirmar que as embalagens utilizadas e os tratamentos realizados (com e sem ácido acético) não interferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) na composição nutricional do produto final, exceto no que se diz respeito ao teor de cinza (minerais) ( $p = 0,0023$ ), no qual as amostras do tratamento AN diferenciaram estatisticamente das amostras dos tratamentos MP e CN, e as amostras do tratamento AP diferenciaram estatisticamente das amostras do tratamento CN (Tabela 17).

Tabela 17 – Composição centesimal ( $\pm$  desvio padrão) e valor calórico dos filés de tilápias submetidas a diferentes tratamentos (médias)

<b>Componente (g/100g)</b>	<b>MP</b>	<b>AN</b>	<b>AP</b>	<b>CN</b>	<b>CP</b>
Umidade	77,28 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,30)	77,64 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,35)	77,60 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,10)	77,33 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,29)	77,63 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,21)
Proteína bruta	16,64 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,65)	16,73 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,52)	16,78 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,14)	16,82 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,53)	17,02 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,37)
Lipídeo	2,57 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,35)	2,42 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,26)	2,34 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,27)	2,49 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,16)	2,22 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,21)
Cinza	0,97 <sup>ab</sup> ( $\pm$ 0,06)	0,90 <sup>c</sup> ( $\pm$ 0,04)	0,91 <sup>bc</sup> ( $\pm$ 0,03)	0,99 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,03)	0,96 <sup>abc</sup> ( $\pm$ 0,05)
Carboidrato	2,45 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,52)	2,32 <sup>a</sup> ( $\pm$ 1,07)	2,38 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,91)	2,37 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,32)	0,84 <sup>a</sup> ( $\pm$ 0,34)
Calorias (Kcal)	99,49	97,98	97,70	99,17	91,42

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Para o fator tratamento, na variável umidade:  $p=0,3595$ ; proteína:  $p=0,8322$ ; lipídeo:  $p=0,2254$ ; cinza:  $p=0,0023$ ; carboidrato:  $p=0,6728$ .

O valor calórico médio das amostras variou de 91,42 Kcal (CP) a 99,49 Kcal (MP). Estes valores podem ser considerados relativamente baixos, quando comparados a outros tipos de carnes, como exemplificado por Torres et al. (2000) que, em uma pesquisa sobre valor calórico de alimentos de origem animal, encontraram para a mesma porção (g/100g) de coxa de frango sem osso um valor calórico de 156 Kcal, e contra-filé bovino 192 Kcal.

Durante o tempo de armazenamento avaliado as amostras não apresentaram alterações estatisticamente significativas ( $p>0,05$ ) na composição nutricional, assim como também não apresentaram na interação entre os fatores tratamento e tempo de armazenamento (Figura 18).

Tabela 18 – Composição centesimal (média em g/100g) dos filés de tilápias submetidas a diferentes tratamentos ao longo do período de armazenamento

Dias	Umidade				
	MP	AN	AP	CN	CP
1	77,62 <sup>a</sup>	77,71 <sup>a</sup>	77,68 <sup>a</sup>	77,62 <sup>a</sup>	77,93 <sup>a</sup>
7	77,11 <sup>a</sup>	78,08 <sup>a</sup>	77,64 <sup>a</sup>	77,50 <sup>a</sup>	77,49 <sup>a</sup>
14	77,45 <sup>a</sup>	77,25 <sup>a</sup>	77,62 <sup>a</sup>	77,20 <sup>a</sup>	77,64 <sup>a</sup>
21	76,97 <sup>a</sup>	77,53 <sup>a</sup>	77,45 <sup>a</sup>	76,99 <sup>a</sup>	77,49 <sup>a</sup>
Proteína					
1	17,10 <sup>a</sup>	16,93 <sup>a</sup>	16,70 <sup>a</sup>	16,49 <sup>a</sup>	16,51 <sup>a</sup>
7	17,07 <sup>a</sup>	16,72 <sup>a</sup>	16,82 <sup>a</sup>	16,74 <sup>a</sup>	17,39 <sup>a</sup>
14	16,71 <sup>a</sup>	17,25 <sup>a</sup>	16,96 <sup>a</sup>	16,47 <sup>a</sup>	17,10 <sup>a</sup>
21	15,70 <sup>a</sup>	16,03 <sup>a</sup>	16,64 <sup>a</sup>	17,59 <sup>a</sup>	17,08 <sup>a</sup>
Lipídeo					
1	2,47 <sup>a</sup>	2,12 <sup>a</sup>	2,46 <sup>a</sup>	2,30 <sup>a</sup>	2,21 <sup>a</sup>
7	3,09 <sup>a</sup>	2,33 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>	1,93 <sup>a</sup>
14	2,34 <sup>a</sup>	2,73 <sup>a</sup>	2,48 <sup>a</sup>	2,49 <sup>a</sup>	2,32 <sup>a</sup>
21	2,37 <sup>a</sup>	2,53 <sup>a</sup>	1,94 <sup>a</sup>	2,70 <sup>a</sup>	2,41 <sup>a</sup>
Cinza					
1	1,02 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	0,96 <sup>a</sup>	0,91 <sup>a</sup>
7	0,96 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>	0,98 <sup>a</sup>	1,01 <sup>a</sup>
14	0,90 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	1,02 <sup>a</sup>	0,99 <sup>a</sup>
21	1,02 <sup>a</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0,94 <sup>a</sup>	1,01 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>
Carboidrato					
1	2,11 <sup>a</sup>	2,37 <sup>a</sup>	2,22 <sup>a</sup>	2,63 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>
7	1,85 <sup>a</sup>	2,01 <sup>a</sup>	2,22 <sup>a</sup>	2,32 <sup>a</sup>	0,69 <sup>a</sup>
14	2,53 <sup>a</sup>	1,92 <sup>a</sup>	2,47 <sup>a</sup>	2,83 <sup>a</sup>	0,59 <sup>a</sup>
21	3,33 <sup>a</sup>	2,98 <sup>a</sup>	2,61 <sup>a</sup>	1,72 <sup>a</sup>	0,74 <sup>a</sup>

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Para o fator armazenamento, na variável umidade:  $p=0,2355$ ; proteína:  $p=0,6503$ ; lipídeo:  $p=0,6306$ ; cinza:  $p=0,3696$ ; carboidrato:  $p=0,1888$ . Para a interação tratamento x tempo de armazenamento, na variável umidade:  $p=0,9345$ ; proteína:  $p=0,3665$ ; lipídeo:  $p=0,1654$ ; cinza:  $p=0,1247$ ; carboidrato:  $p=0,1449$ .

Os valores médios apresentados pelas amostras de cada tratamento estão de acordo com os valores encontrados na literatura. Soccol (2002) também não encontrou diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) no que diz respeito à composição centesimal de filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos com e sem ácido acético (1 %), diferentes tipos de embalagens e armazenamento por 20 dias. Os valores médios encontrados pelo autor para umidade variaram de 76,62 a 79,02 g/100 g; para proteína bruta seus valores médios variaram de 15,60 a 17,90 g/100 g; para lipídeos de 2,80 a 3,62 g/100 g e cinza de 0,87 a 1,01 g/100 g. Desses valores, apenas o teor de lipídeo está abaixo do encontrado nessa pesquisa.

Ogawa e Maia (1999) citam que o músculo do pescado pode conter de 60 a 85 g/100 g de umidade, aproximadamente 20 g/100 g de proteína, 1 a 2 g/100g de cinza, 0,3 a 1,0 g/100 g de carboidrato e 0,6 a 36 g/100 g de lipídeos. Este último componente apresenta uma maior variação em função do tipo de músculo corporal em uma mesma espécie (por exemplo, em atum a carne dorsal apresenta teores de 1 a 2 g/100 g de lipídeos, enquanto que a carne abdominal pode alcançar até 20 g/100 g), sexo, idade, época do ano, habitat e dieta entre outros fatores.

### 3.3.4.2 Análises microbiológicas dos filés

#### 3.3.4.2.1 Microrganismos mesófilos

A contagem Total de Aeróbios Mesófilos em placas (*Aerobic Plate Count*), também denominada Contagem Padrão em Placas, é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos. Não diferencia espécies de bactéria, sendo utilizado para se obter informações gerais sobre a qualidade de produtos, práticas de manufatura, matérias-primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira. Não é um indicador de segurança, pois não está diretamente relacionado à presença de patógenos ou toxinas. Dependendo da situação, pode ser útil na avaliação da qualidade, porque populações altas de bactérias podem indicar deficiências na sanitização ou falha no controle do processo ou dos ingredientes (SILVA et al., 2007).

Na Tabela 19, estão representados os resultados em UFC/g obtidos para análise de microrganismos mesófilos nas coletas realizadas.

Tabela 19 – Contagem de microrganismos mesófilos (UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos.

Armaz. (dias)	Tratamentos									
	MP		AN		AP		CN		CP	
	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.
1	2,8x10 <sup>2</sup>	9,5x10 <sup>2</sup>	1,6x10 <sup>2</sup>	8,5x10 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>2</sup>	1,6x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>	3,0x10 <sup>2</sup>	5,5x10 <sup>3</sup>	2,5x10 <sup>3</sup>
7	1,9x10 <sup>3</sup>	2,7x10 <sup>5</sup>	2,5x10 <sup>3</sup>	4,0x10 <sup>5</sup>	3,1x10 <sup>2</sup>	5,6x10 <sup>4</sup>	2,7x10 <sup>3</sup>	3,7x10 <sup>4</sup>	2,8x10 <sup>2</sup>	3,5x10 <sup>5</sup>
14	5,8x10 <sup>2</sup>	1,3x10 <sup>5</sup>	3,8x10 <sup>2</sup>	3,9x10 <sup>5</sup>	7,0x10 <sup>3</sup>	8,6x10 <sup>6</sup>	6,7x10 <sup>3</sup>	1,0x10 <sup>6</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>6</sup>
21	8,2x10 <sup>5</sup>	3,8x10 <sup>7</sup>	6,0x10 <sup>4</sup>	5,0x10 <sup>5</sup>	3,9x10 <sup>4</sup>	1,9x10 <sup>4</sup>	8,3x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>7</sup>	8,4x10 <sup>6</sup>	2,4x10 <sup>7</sup>

Armaz. = Armazenamento; Col. = Coleta

Primeiramente, verifica-se que as contagens apresentadas na 2ª coleta foram relativamente maiores que as apresentadas na 1ª. Isso indica que as variações ambientais podem ter influenciado na microbiota presente na água e, conseqüentemente, nos filés.

Levando-se em consideração o fator tratamento, não foi verificada diferença estatística significativa ( $p=0,1855$ ) entre os valores médios apresentados pelas amostras dos diferentes tratamentos realizados.

Na Figura 43, embora não tenha havido diferenças estatísticas significativas, é possível observar que no tempo 1 dia de armazenamento, as menores contagens para mesófilos foram verificadas nas amostras do tratamento AP (2,19 log UFC/g) e as maiores no tratamento CP (3,60 log UFC/g). No tempo de 7 dias de armazenamento, as menores e maiores contagens para mesófilos foram observadas, respectivamente, nos tratamentos CN (4,30 log UFC/g) e CP (5,24 log UFC/g). Já para 14 dias de armazenamento, as menores contagens foram observadas no tratamento MP (4,81 log UFC/g) e as maiores nos tratamentos AN e AP (ambos com 6,63 log UFC/g). Por fim, ao completar 21 dias de armazenamento, as menores contagens foram observadas nos tratamentos AN e AP (6,63 log UFC/g) e as maiores no tratamento MP (7,29).

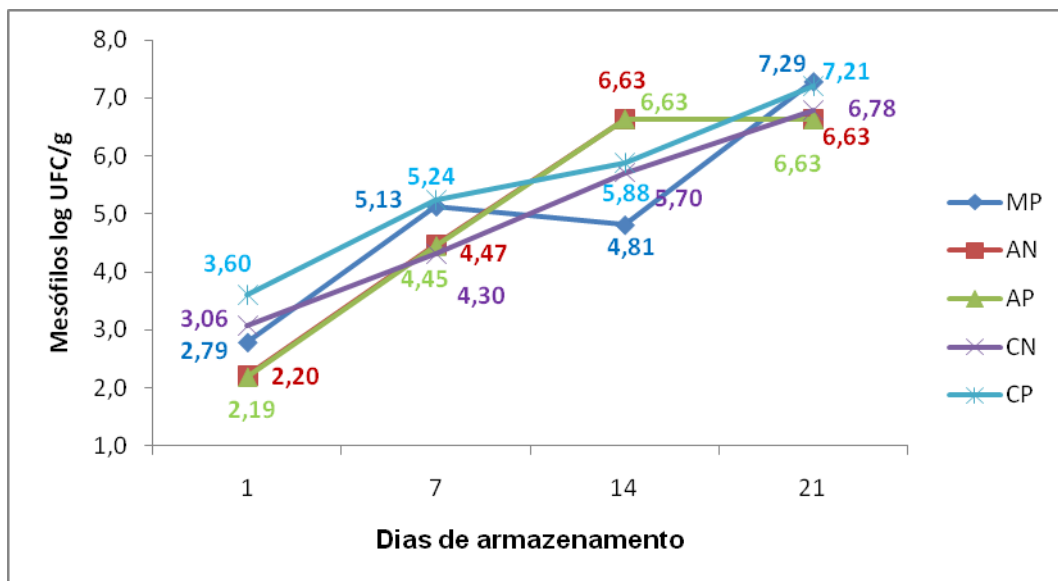


Figura 43 – Contagens de microrganismos mesófilos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos (médias)

No geral, as baixas contagens apresentadas pelos tratamentos AN e AP são resultado do tratamento com ácido acético ao qual essas amostras foram submetidas, pois, segundo Marel et al. (1998) a aplicação superficial de ácidos orgânicos é um tratamento utilizado na descontaminação da carne, e tem como objetivo principal a redução de microrganismos deteriorantes e patogênicos, naturalmente presentes em alimentos.

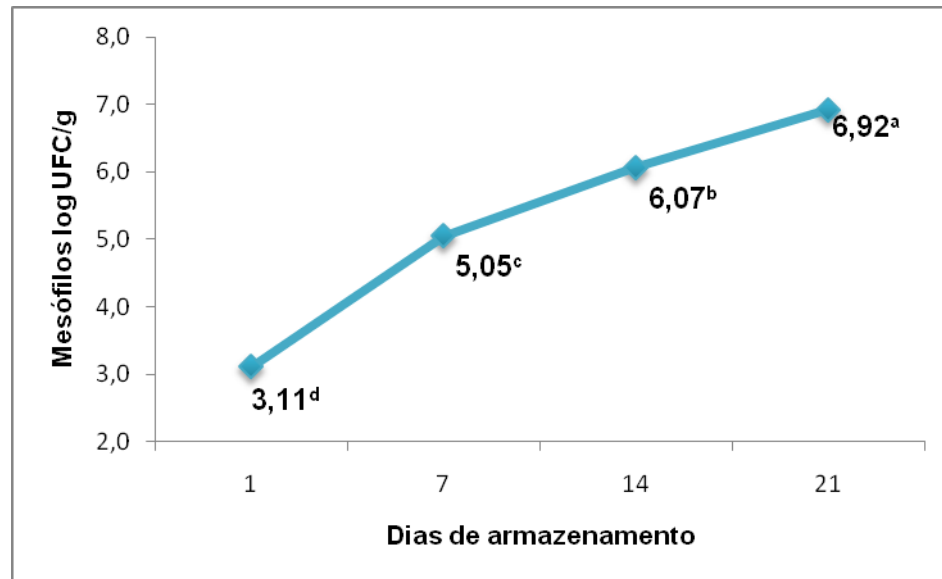
As menores contagens apresentadas pelas amostras AN e AP também podem ser justificadas pela diminuição do pH nas mesmas devido ao tratamento realizado com ácido acético, visto que os microrganismos apresentam melhor crescimento em pHs mais elevados (neutro/básico).

O semelhante comportamento dos microrganismos mesófilos nas amostras AN e AP sugerem que as embalagens utilizadas (nylon poli e polietileno, respectivamente) não apresentaram diferenças de barreiras ao crescimento desses microrganismos.

Embora a legislação brasileira não estabeleça limites para microrganismos mesófilos e psicrotóxicos, populações elevadas podem reduzir a vida útil do pescado (KIRSCHINK; VIEGAS, 2004). A *International Commission on Microbiological Specification for Foods* – ICMSF estabelece o limite de 7 log UFC/g para contagem padrão em placas de microrganismos aeróbicos (ICMSF, 1998). Com isso, pode-se dizer que apenas as amostras dos tratamentos MP (7,29 log UFC/g) e CP (7,21 log UFC/g), e apenas no tempo de 21 dias de armazenamento, apresentaram contagens maiores que log 7 UFC/g e não deveriam ser recomendadas para o consumo.

Examinando o fator armazenamento, verificou-se que houve diferenças estatística significativa ( $p < 0,0001$ ) entre todos os valores médios apresentados para os tempos de armazenamento monitorados, conforme mostra a Figura 44.





Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Friedman aproximada pelo test t. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 44 – Contagem de microrganismos mesófilos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos ao longo de 21 dias de armazenamento (médias)

O crescimento de microrganismos mesófilos foi constante ao longo do período de armazenamento, aumentado cerca de 4 log do 1º dia até o último dia de armazenamento. Contudo, se levarmos em consideração apenas o fator armazenamento, o valor médio das amostras, mesmo no tempo de 21 dias de armazenamento, indica que as mesmas ainda estão aptas para o consumo, se levarmos em consideração a recomendação do limite de 7 log UFC/g indicado pela *International Commission on Microbiological Specification for Foods* (ICMSF, 1998).

Ao se realizar uma análise de regressão linear simples (Figura 45), observa-se que existe uma correlação significativa ( $p=0,0080$ ) e diretamente proporcional entre os valores das contagens obtidas para microrganismos mesófilos e o tempo de armazenamento, ou seja, quanto maior for o período de armazenamento das amostras, maiores serão as contagens encontradas para microrganismos mesófilos nas mesmas.

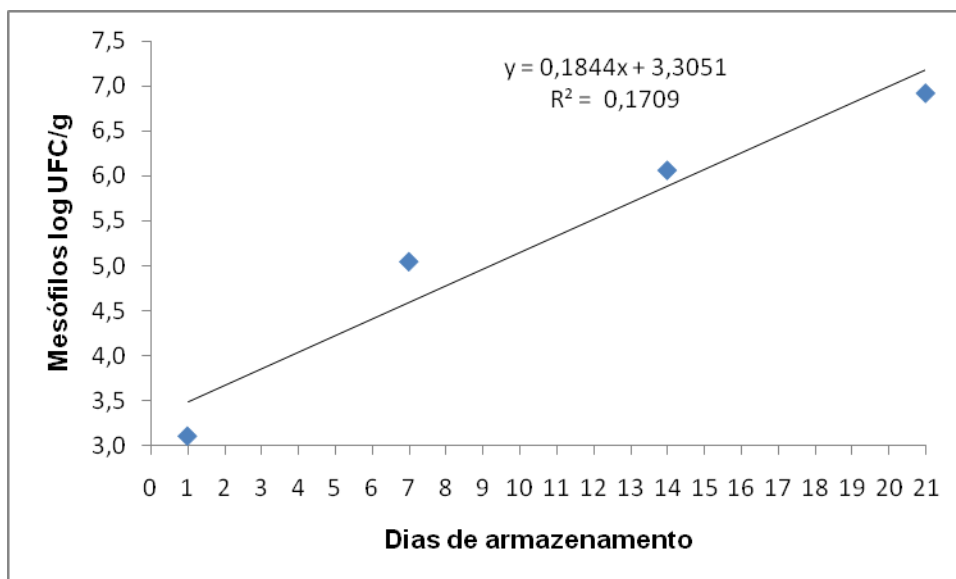


Figura 45 – Regressão linear simples para microrganismos mesófilos e tempo de armazenamento

Quando analisada a interação entre os tratamentos e os tempos de armazenamento, pelo teste t, os resultados não apresentaram diferença estatística significativa ( $p = 0,0956$ ) entre si.

### 3.3.4.2.2 Microrganismos psicotróficos

Shewan (1977) relata que as bactérias predominantes no pescado fresco, bem como no estado deteriorado, são as bactérias psicotróficas Gram-negativas, especialmente quando o pescado encontra-se armazenado à temperatura próxima de 0 °C. Portanto, independente da microbiota inicial, a microbiota final consistirá da presença de *Pseudomonas*, que se desenvolvem bem a baixas temperaturas.

Na classificação tradicional dos microrganismos em função da temperatura – termófilos, mesófilos e psicrófilos – os psicotróficos são um subgrupo dos mesófilos, não dos psicrófilos, porque esses últimos geralmente morrem à temperatura ambiente. Os psicotróficos, ao contrário, se multiplicam em alimentos refrigerados mas crescem melhor em temperaturas da faixa mesófila (SILVA et al., 2007).

O pescado recém capturado apresenta uma microbiota natural composta principalmente de bactérias psicrófilas e psicotróficas que vivem a temperaturas menores de 20 °C, no entanto, os

processos de deterioração não ocorrem até que estes microrganismos tenham se multiplicado em níveis capazes de produzir maus odores (VIEIRA, 2003).

Em seguida, na Tabela 20, estão representados os resultados em UFC/g obtidos para análise de microrganismos psicrotróficos nas 2 coletas realizadas.

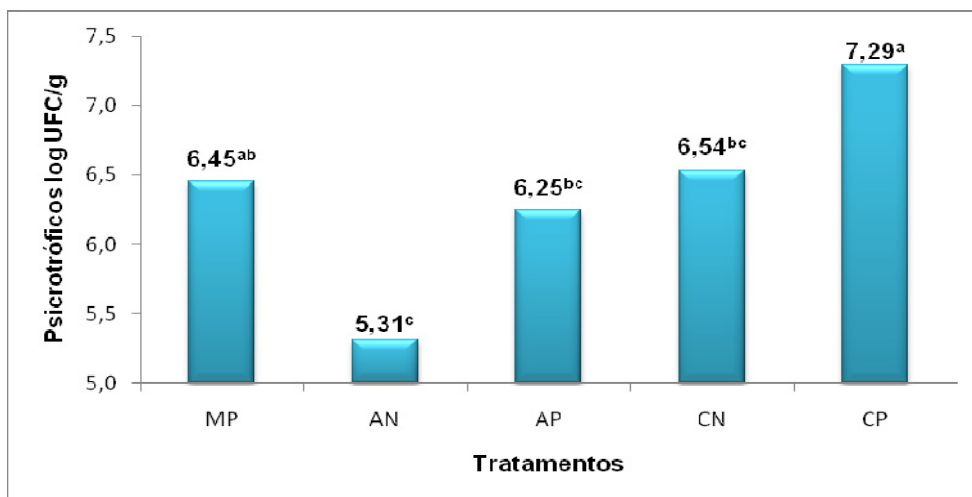
Tabela 20 – Contagem de microrganismos mesófilos (UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos

Armaz. (dias)	Tratamentos									
	MP		AN		AP		CN		CP	
	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.	1ª Col.	2ª Col.
1	$3,4 \times 10^2$	$8,4 \times 10^2$	$7,0 \times 10^1$	$6,5 \times 10^2$	$3,4 \times 10^2$	$1,3 \times 10^2$	$1,5 \times 10^3$	$3,6 \times 10^2$	$1,2 \times 10^4$	$2,6 \times 10^3$
7	$5,3 \times 10^3$	$3,4 \times 10^5$	$3,7 \times 10^3$	$2,0 \times 10^5$	$9,8 \times 10^2$	$4,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^3$	$2,9 \times 10^4$	$5,7 \times 10^2$	$5,7 \times 10^5$
14	$1,7 \times 10^4$	$4,7 \times 10^5$	$7,8 \times 10^2$	$9,9 \times 10^4$	$6,7 \times 10^3$	$1,3 \times 10^7$	$7,7 \times 10^3$	$3,8 \times 10^5$	$2,2 \times 10^4$	$3,0 \times 10^6$
21	$6,9 \times 10^6$	$1,5 \times 10^7$	$6,4 \times 10^5$	$7,0 \times 10^5$	$8,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$	$2,6 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$

Armaz. = Armazenamento; Col. = Coleta

Examinando-se a Tabela 20, é possível notar que, na 1ª coleta, os resultados médios apresentados por todos os tratamentos, exceto o CP, encontraram-se abaixo do valor de log 7 UFC/g. Dessa forma, a determinação da vida útil do produto dependerá da carga inicial da matéria-prima, e isso, sofrerá influência do nível de microrganismos na água de cultivo e da manipulação dos peixes (abate, transporte, processamento e armazenamento).

Levando-se em consideração a média dos valores de cada tratamento, nota-se, na Figura 46, que houve diferença estatística significativa ( $p=0,0103$ ) entre MP (log 6,45 UFC/g) e AN (log 5,31 UFC/g). Assim como entre AN e CP (log 7,29 UFC/g); entre AP (log 6,25 UFC/g) e CP; e entre CN (log 6,54 UFC/g) e CP.



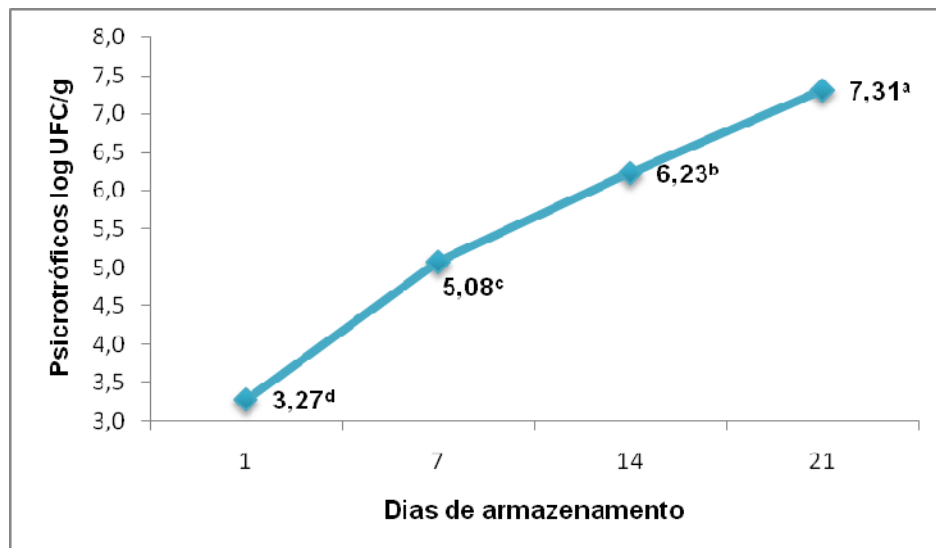
Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Friedman aproximada pelo test t. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 46 – Contagem de microrganismos psicrotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos (médias)

As menores contagens foram apresentadas pelas amostras dos tratamentos AN e AP, muito provavelmente por causa da adição do ácido acético em seus tratamentos, que podem funcionar como agentes antimicrobianos, associado ao embalagem a vácuo.

E a maior contagem foi demonstrada pelo valor médio das amostras do tratamento CP, estando esse inadequado para o consumo (valor maior que 7 log UFC/g). O valor médio de pH apresentado pelas amostras CP foi de 6,24, de acordo com Gram e Huss (1996) e Liston (1982), as bactérias psicrotróficas utilizam para seu desenvolvimento os compostos não protéicos e seu crescimento é incrementado na presença de substâncias nitrogenadas não protéicas em condições de pH alto (>6,0).

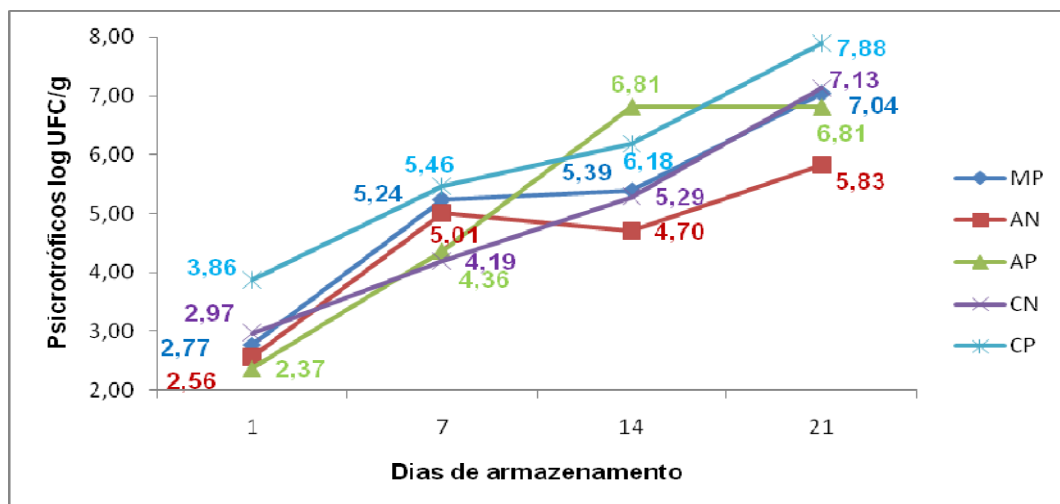
Quando analisado apenas o fator tempo de armazenamento (Figura 47), nota-se que o valor médio das amostras apresentaram diferença estatística significativa ( $p < 0,0001$ ) entre todos os tempos de armazenamento monitorados. Além disso, o crescimento dos microrganismos mesófilos se fez crescente e contínuo. No geral, pode-se dizer que as amostras armazenadas até o tempo de 21 dias podem estar comprometidas, uma vez que o valor médio (7,31 log UFC/g) da contagem de microrganismos mesófilos ultrapassa limite indicado de 7 log UFC/g para contagem padrão em placas de microrganismos aeróbicos (ICMSF, 1998).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Friedman aproximada pelo test t. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 47 – Contagem de microrganismos psicotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos ao longo do tempo de armazenamento (médias)

Analisando, contudo, a média dos valores individuais de cada tratamento ao longo do período de armazenamento, nota-se que os valores apresentados para as amostras AN e AP não ultrapassam esses limites (Figura 48).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Friedman aproximada pelo test t. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 48 – Contagem de microrganismos psicotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento (médias)

Soccol (2002) estudando filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos, não encontrou diferença estatística significativa entre os tratamentos realizados (imersão em ácido acético e embalagens) e nem entre os tempos de armazenamento monitorados (1 a 20 dias). Os valores obtidos para as amostras de filés controle (não acidificadas, embalada em bandeja de isopor coberta por filme plástico) variaram de  $1,0 \times 10^2$  UFC/g (1 dia) a  $1,8 \times 10^7$  UFC/g (20 dias), valores esses semelhantes aos encontrados nesse experimento ( $9,5 \times 10^2$  UFC/g a  $3,8 \times 10^7$  UFC/g para 1 e 21 dias de armazenamento, respectivamente, na 2ª coleta).

Já para as amostras acidificadas e embaladas a vácuo, Soccol (2002) encontrou valores que variaram de  $5,4 \times 10^3$  UFC/g (1 dia) a  $7,0 \times 10^4$  UFC/g (20 dias), sendo o valor do primeiro dia de análise maior do que os encontrados nesse experimento tanto para o tratamento AN ( $1,6 \times 10^2$  UFC/g - 1ª coleta e  $8,5 \times 10^2$  UFC/g - 2ª coleta), como para o tratamento AP ( $1,5 \times 10^2$  UFC/g - 1ª coleta e  $1,6 \times 10^2$  UFC/g - 2ª coleta). Da mesma forma, os valores apresentados para o último dia de análise foram maiores do que os encontrados nesse experimento para as amostras acidificadas, exceto para a amostra AN na 2ª coleta (AN:  $6,0 \times 10^4$  UFC/g - 1ª coleta e  $5,0 \times 10^5$  UFC/g - 2ª coleta); AP:  $3,9 \times 10^4$  UFC/g - 1ª coleta e  $1,9 \times 10^4$  UFC/g - 2ª coleta).

Quando analisado a interação entre os tratamentos e os tempos de armazenamento, pelo test t, os resultados não apresentaram diferença estatística significativa ( $p = 0,3395$ ) entre si.

Realizando-se uma análise de regressão linear simples entre as variáveis tempo de armazenamento e crescimento de microrganismos mesófilos observou-se também uma correlação significativa ( $p=0,0421$ ) e diretamente proporcional entre esses fatores, ou seja, quanto maior o tempo de armazenamento das amostras, maiores foram as contagens para obtidas para microrganismos psicrotróficos, como mostra a Figura 49.

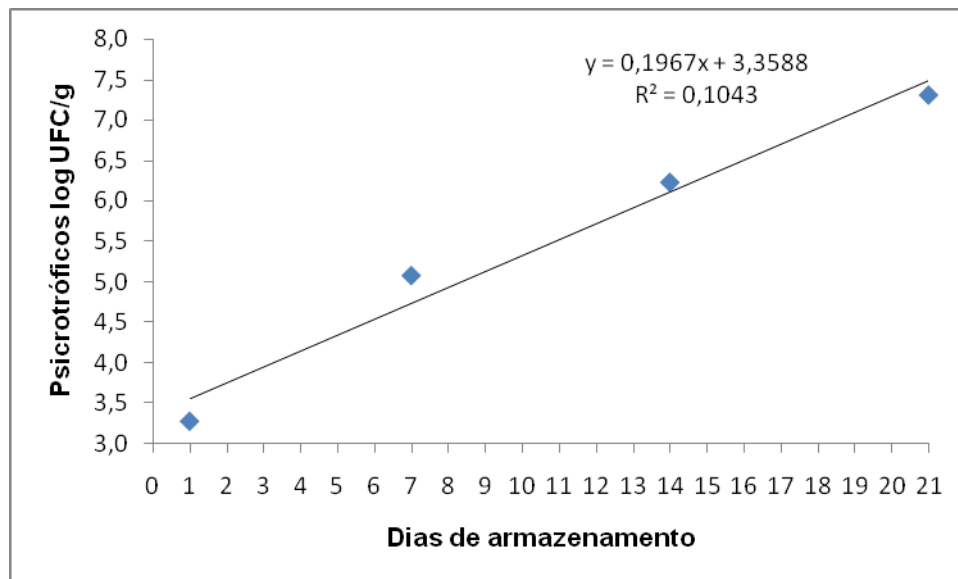


Figura 49 – Regressão linear simples para microrganismos psicotróficos e tempo de armazenamento

Correlacionando-se os valores obtidos para BNVT e as contagens de microrganismos psicotróficos verificou-se que houve um aumento dos valores obtidos para BNVT com o aumento das contagens desse microrganismo nas amostras analisadas, como mostra a Figura 50.

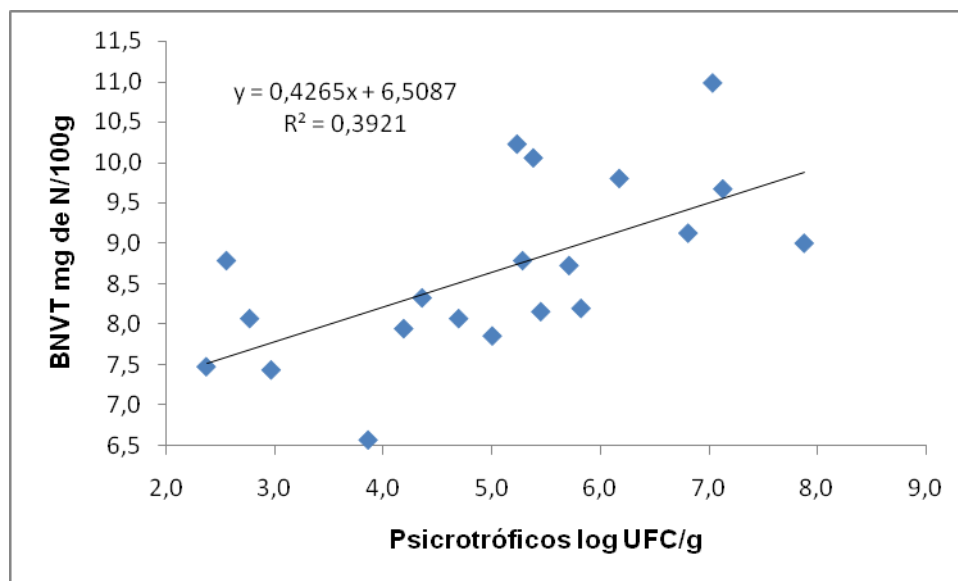


Figura 50 – Correlação entre BNVT e contagem de microrganismos psicotróficos (log UFC/g)

### 3.3.4.2.3 Coliformes totais e *E. coli*

O grupo de coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram negativos, não esporogênicos, aeróbias ou anaeróbias facultativas, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 28h, a 35°C. O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo. Por essa razão, sua enumeração em água e alimentos é menos representativa como indicação de contaminação fecal, do que a enumeração de coliformes ou *Escherichia coli* (FRANCO; LANDGRAF, 1996; SILVA et al., 2000).

Na Tabela 21 estão representados os resultados em NMP/g obtidos na contagem de coliformes totais nas coletas realizadas.

Examinando os valores médios obtidos, verifica-se que os mesmos não apresentaram diferença estatística significativa para o fator tratamento ( $p=0,6464$ ), para o fator armazenamento ( $p=0,5452$ ), e nem para a interação desses dois fatores ( $p=0,9523$ ).

Tabela 21 – Contagem de coliformes totais (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento

Dias	1ª Coleta					2ª Coleta				
	MP	AN	AP	CN	CP	MP	AN	AP	CN	CP
1	3,6	<3,0	3,6	20	4,3x10 <sup>1</sup>	<3,0	<3,0	<3,0	3,6	7,5x10 <sup>1</sup>
7	<3,0	<3,0	3,6	<3,0	<3,0	1,1x10 <sup>4</sup>	1,1x10 <sup>3</sup>	2,9x10 <sup>2</sup>	2,8x10 <sup>1</sup>	3,6
14	<3,0	<3,0	<3,0	1,5x10 <sup>1</sup>	1,5x10 <sup>1</sup>	<3,0	3,6	3,6	<3,0	3,6
21	1,6x 10 <sup>1</sup>	<3,0	<3,0	3,6	9,2	<3,0	3,6	2,0x10 <sup>1</sup>	3	3,6

Mesmo não havendo limites recomendados estabelecidos na legislação brasileira atual para coliformes totais e *E. coli* em peixes *in natura* não consumidos crus, observa-se na RDC de número 12, de 02 de janeiro de 2001, o limites de 10<sup>2</sup> UFC/g considerado como crítico para coliformes termotolerantes a 45° C em outros produtos a base de pescado, como produtos derivados de pescado (surimi e similares), refrigerados ou congelados, ou ainda, pescado pré-cozido, empanado ou não, refrigerado ou congelado (BRASIL, 2001), sendo esse valor um indicativo de problemas de contaminação. Tomando isso como base, considera-se que apenas os valores apresentados para o tempo de armazenamento de 7 dias dos tratamentos MP, AN e AP, da 2ª coleta, estariam comprometidos.



Como esse aumento na contagem aconteceu apenas no tempo de 7 dias de armazenamento da 2ª coleta, pode-se atribuir o fato a não homogeneidade das amostras, ou a contaminações externas da mesma, seja pelos manipuladores que realizaram as análises ou pelos utensílios utilizados.

No experimento realizado por Soccol (2002) o número de coliformes totais também não foi afetado significativamente (Teste F) pelos tratamentos (acidificação e embalagens) e pelo período de armazenamento (1 a 20 dias). Para as amostras acidificadas e embaladas a vácuo, encontrou-se o valor de <2 UFC/g para as amostras de todos os tempos de armazenamento. E para as amostras controle (não acidificadas em bandejas de isopor cobertas com filme plástico) foram encontrados valores de  $3,2 \times 10^1$ , para o 1º dia de análise, e <2 UFC/g para o 20º dia de análise.

O grupo coliformes fecais é restrito aos organismos que crescem no trato gastrointestinal do homem e de alguns animais. Fazem parte desse grupo os gêneros: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter* (HITCHINS et al., 1992), mas apenas *E. coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e de animais (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Observa-se na Tabela 22 os resultados em NMP/g obtidos na contagem de *E.coli*, nas 2 coletas realizadas.

Tabela 22 – Contagem de *E.coli* (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento

Dias	1ª Coleta					2ª Coleta				
	MP	AN	AP	CN	CP	MP	AN	AP	CN	CP
1	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	3,6	3,6	<3,0	<3,0	$2,3 \times 10^1$
7	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	<3,0	$2,3 \times 10^1$	$2,3 \times 10^1$	3,6	$4,6 \times 10^2$	$4,3 \times 10^1$
14	<3,0	<3,0	<3,0	$1,5 \times 10^1$	$1,5 \times 10^1$	<3,0	3,6	9,2	<3,0	<3,0
21	9,2	<3,0	<3,0	<3,0	9,2	<3,0	<3,0	$2,3 \times 10^1$	<3,0	3,6

Novamente, nota-se uma maior carga microbiana nas amostras de todos os tratamentos realizados na 2ª coleta, o que pode embasar ainda mais o sugerido anteriormente.

Da mesma forma que para as contagens de coliformes totais, os valores médios das contagens obtidos para análise de *E. coli* não apresentaram diferença estatística significativa para o fator tratamento ( $p=0,6550$ ), para o fator armazenamento ( $p=0,3833$ ), e nem para a interação desses dois fatores ( $p=9188$ ).

De modo geral, as amostras apresentaram baixas contagens (menor que  $10^2$  UFC/g) para *E. coli*, isso, provavelmente ocorreu devido ao processo de depuração, permitindo, assim, a limpeza do trato gastrointestinal e evitando, desse modo, a contaminação durante o abate, conforme também descrito por Soccol (2002).

Machado (2002) encontrou valores menores que  $1,0 \times 10^1$  UFC/g para contagens de coliformes totais e também para coliformes fecais em peixes eviscerados frescos e congelados. As espécies utilizadas foram castanha (*Umbrina canosai*), pescada (*Macrodon ancylodon*), corvina (*Micropogonias furnieri*), linguado (*Paralichthys* spp.), abrótea (*Urophycis brasiliensis*) e caçonete (*Musteus schmitti*).

Outro fator relevante é a possibilidade da água de cultivo apresentar baixa contaminação por este tipo de bactéria, além da higiene apresentada pelos manipuladores, no que diz respeito ao manuseio das amostras e utensílios utilizados, durante o processamento e a realização das análises.

Segundo Vieira (2003), durante as fases de processamento, os contaminantes mais comuns do pescado são os coliformes, principalmente *Escherichia coli*, os enterococos e os estafilococos. Normalmente, a fonte de contaminação é o próprio manipulador do pescado.

#### **3.3.4.2.4 *Staphylococcus aureus* coagulase positivo**

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são habitantes usuais da pele, das membranas mucosas, do trato respiratório superior e do intestino do homem, destacando-se dentre elas o *S. aureus*, o de maior patogenicidade, responsável por considerável proporção de infecções humanas, notadamente no âmbito hospitalar (GERMANO; GERMANO, 2001).

Avaliando os valores médios obtidos para análise de *S. aureus* coagulase positivo, verifica-se que os mesmos não apresentaram diferença estatística significativa para o fator tratamento, para o fator armazenamento e nem para a interação desses dois fatores ( $p > 0,05$ ).

Os resultados médios apresentados para contagem (UFC/g) de microrganismo *S. aureus* coagulase positivo em todos os tratamentos realizados e em todos os dias de análise (dias de armazenamento) foram  $< 10$  UFC/g, estando estes valores de acordo com os limites tolerados pela legislação que é de  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001).

No experimento realizado por Soccol (2002), utilizando files de tilápia *in natura* embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme e filés acidificados embalados a

vácuo, a contagem de *S. aureus* não foi afetada significativamente ( $p > 0,05$ ) pelos tratamentos e pelo período de armazenamento (21 dias). Nenhum dos tratamentos apresentou valores ( $< 10$  a  $2,3 \times 10^1$ ) acima dos estabelecidos pela legislação brasileira. E todos os tratamentos apresentaram um decréscimo na contagem de *S. aureus*, ao longo do período de armazenamento.

Simões et al. (2007), ao realizar um experimento com filés de tilápia tailandesa, relacionado a rendimento de filés, também encontraram, para o produto *in natura*, contagens  $< 10^2$  UFC/g em suas amostras. Já Vieira et al. (2000), encontraram em tilápias recém capturadas, quanto à presença de *S. aureus*, valores que variaram de  $< 10$  a  $1,06 \times 10^3$  UFC/g.

De acordo com Hintlian e Hotchkiss (1986) o *S. aureus* é uma bactéria anaeróbia facultativa, mas prefere metabolismos aeróbios. Talvez seja por isso que não tenha sido detectadas contagens neste trabalho, uma vez que as amostras, exceto a MP, foram embaladas a vácuo.

O fato de não ter sido identificado presença de *S. aureus* coagulase positivo em nenhuma das amostras analisadas também reforça a idéia apresentada para as baixas contagens de *E. coli* nas amostras de que os manipuladores tiveram todos os cuidados necessários (boas práticas) de higiene pessoal, manipulação e armazenamento das amostras. Além disso, os cuidados realizados no momento do processamento: a higienização dos equipamentos, bancadas e utensílios antes do processamento e entre os processamentos dos diferentes tratamentos com água clorada, sabão e álcool 70 %, provavelmente diminuiram os riscos de contaminação por esse tipo de microrganismo.

A falta de higienização por parte dos manipuladores, na manipulação e comercialização do pescado, caso portem afecções respiratórias e cutâneas, criam-se uma oportunidade de contaminação daquele alimento por bactérias como *S. aureus* (VIEIRA et al., 1998).

#### **3.3.4.2.5 Clostrídios sulfitos redutores**

Clostrídios sulfito redutores, como diz o nome, são clostrídios que reduzem o sulfito a sulfeto de hidrogênio ( $H_2S$ ) a  $46^\circ C$ . Sua aplicação na análise de alimentos é oferecer uma indicação simples e rápida da potencial presença de *C. perfringens*, que também é sulfito redutor. Como *C. perfringens* cresce bem a  $46^\circ C$ , essa temperatura é utilizada para dar uma indicação mais precisa de *C. perfringens*, reduzindo o número de espécies que podem crescer. Ainda assim,

um número significativo de espécies sulfito redutoras crescem a 46°C, incluindo *C. botulinum* e *C. sporogenes* (SILVA et al., 2007).

Nas amostras analisadas de todos os tratamentos e de todos os tempos de armazenamento não foram detectadas contagens para Clostrídios sulfito redutores (<10 UFC/g).

Na RDC de nº 12, de 02 de janeiro de 2001, atual legislação brasileira para padrões microbiológicos em alimentos, não há nenhuma especificação de limites de tolerância para microrganismos Clostrídios sulfito redutores em pescado *in natura*, não consumido cru, resfriado. No entanto, Machado (2002) estabelece como sendo crítico, para pescado, os valores iguais ou superiores a  $10^4$  UFC/g. Essa autora encontrou valores menores que  $1,0 \times 10^1$  UFC/g para contagens de clostrídios sulfito redutores em peixes eviscerados frescos e congelados, em diferentes espécies de pescado.

Mesmo que todas as contagens realizadas para Clostrídios sulfito redutores ficaram abaixo do valor considerado crítico, é importante salientar que, como afirma Silva et al. (2007), a presença desses microrganismos é uma indicação da possibilidade de existência de outras bactérias de mesma classificação, entretanto, mais perigosas, como o *Clostridium perfringens* ou o *Clostridium botulinum*, que podem causar diversos tipos de sintomas desconfortantes, sendo que este último, ainda pode causar seqüelas irreversíveis ou mesmo a morte de um indivíduo. Sendo assim, os tratamentos propostos mostraram eficácia contra esse tipo de microrganismo.

#### **3.3.4.2.6 *Salmonella* spp.**

As salmonelas são amplamente distribuídas na natureza, sendo o principal reservatório destas bactérias o trato intestinal do homem e animais (JAKABI et al., 1999), exceto peixes, moluscos e crustáceos, os quais podem contaminar-se após a pesca (VIEIRA, 2003).

As infecções provocadas pelas bactérias do gênero *Salmonella*, família Enterobacteriaceae, são universalmente consideradas como as mais importantes causas de doenças transmitidas por alimentos. A maior parte destas bactérias é patogênica para o homem, apesar das diferenças quanto às características e gravidade da doença que provocam. Os alimentos com alto teor de umidade e com alta porcentagem de proteína, como o pescado, são os principais alimentos envolvidos com esse tipo de contaminação microbiana (GERMANO; GERMANO, 2001).

Em todas as amostras analisadas dos tratamentos de processamento mínimo aos quais os peixes foram submetidos, encontrou-se ausência em 25g para o microrganismo *Salmonella* spp.

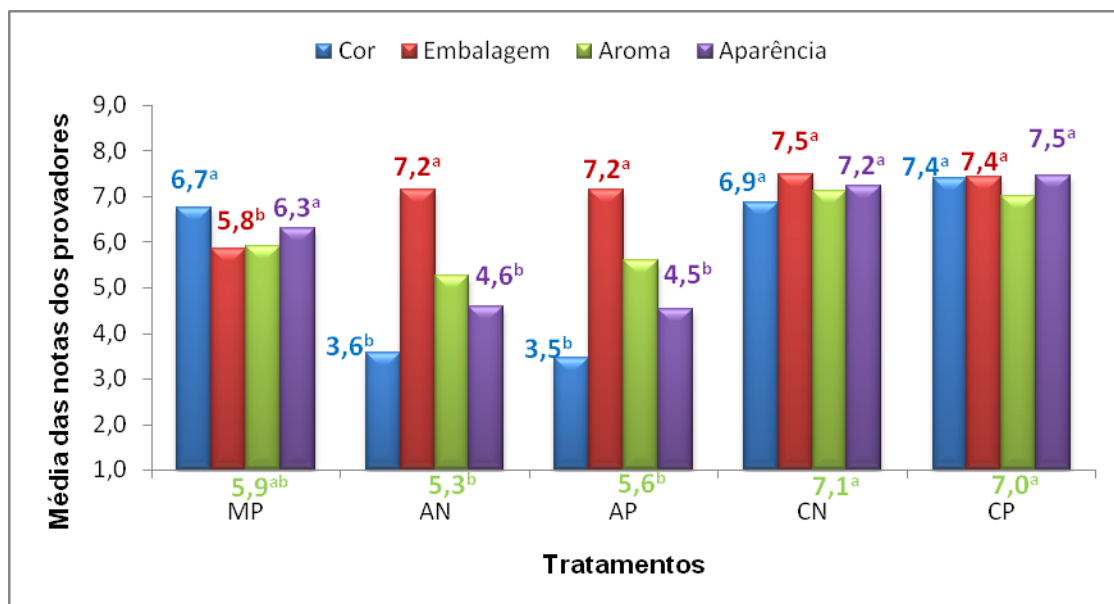
Estando este resultado de acordo com a RDC de número 12 da legislação vigente (BRASIL, 2001), que preconiza ausência desse microrganismo em 25g da amostra.

Sendo assim, a ausência de salmonella nas amostras analisadas sugere que a realização do abate e transporte dos peixes, da mesma forma que, o processamento mínimo e embalagem dos filés foram realizados seguindo as orientações de boas práticas de fabricação.

#### **3.3.4.3 Análise sensorial**

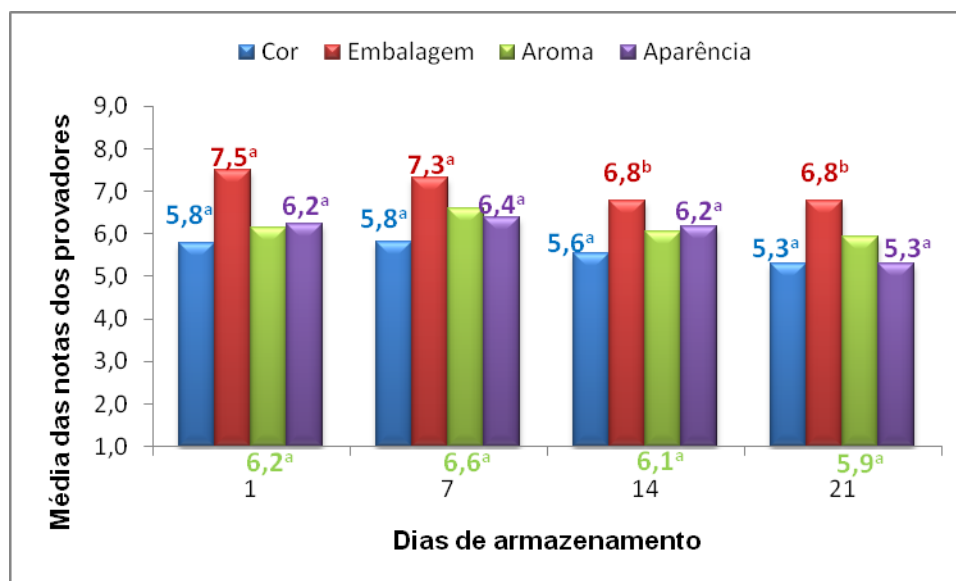
A análise sensorial analisa e interpreta as reações dos provadores às características dos alimentos ou materiais quando são percebidos pelos órgãos da visão, olfato, gosto, audição e o tato (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

Com relação à avaliação sensorial das amostras de filés de tilápia minimamente processados submetidos a diferentes tipos de tratamento (acidificação ou não), embalagens (bandejas de isopor, nylon poli e polietileno) e tempos de armazenamento (1, 7, 14 e 21 dias) é possível observar nas Figuras 51 e 52 as médias das notas dadas pelos provadores na avaliação sensorial realizada.



Sendo MP= filés controle em embalagem de isopor coberta com filme PVC; AN= filés acidificados em embalagens de nylon poli sob vácuo; AP= filés acidificados em embalagens de polietileno sob vácuo; CN= filés não acidificados em embalagens de nylon poli sob vácuo; e CP= filés não acidificados em embalagens de polietileno sob vácuo. Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 51 – Notas dos provadores para diferentes atributos avaliados em amostras de filés minimamente processados submetidos a diferentes tratamentos (média)



Sendo MP= filés controle em embalagem de isopor coberta com filme PVC; AN= filés acidificados em embalagens de nylon poli sob vácuo; AP= filés acidificados em embalagens de polietileno sob vácuo; CN= filés não acidificados em embalagens de nylon poli sob vácuo; e CP= filés não acidificados em embalagens de polietileno sob vácuo. Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 52 – Notas dos provadores para diferentes atributos avaliados em amostras de filés minimamente processados ao longo do período de armazenamento (médias)

Examinando os valores apresentados nessas duas figuras, podem-se fazer as seguintes observações sobre cada atributo avaliado:

**COR:** no que se refere ao fator tratamento, verifica-se que houve diferença estatística significativa ( $p < 0,0001$ ) dos valores médios das notas apresentados pelas amostras AN (3,6) e AP (3,5) com relação aos tratamentos MP (6,7), CN (6,9) e CP (7,4), sendo que entre os tratamentos AN e AP, e entre os tratamentos MP, CN e CP não foi observado diferenças significativas. As maiores notas, indicando maior preferência pelos provadores, foram atribuídas para os tratamentos CN e CP, e as menores, indicando menor preferência pelos provadores, para os tratamentos AN e AP, devido a descoloração dos filés, ocasionada pelo tratamento com ácido acético. Através da Figura 53 é possível visualizar como realmente foi expressiva a diferença da coloração dos filés acidificados dos não acidificados, logo após a realização do tratamento.

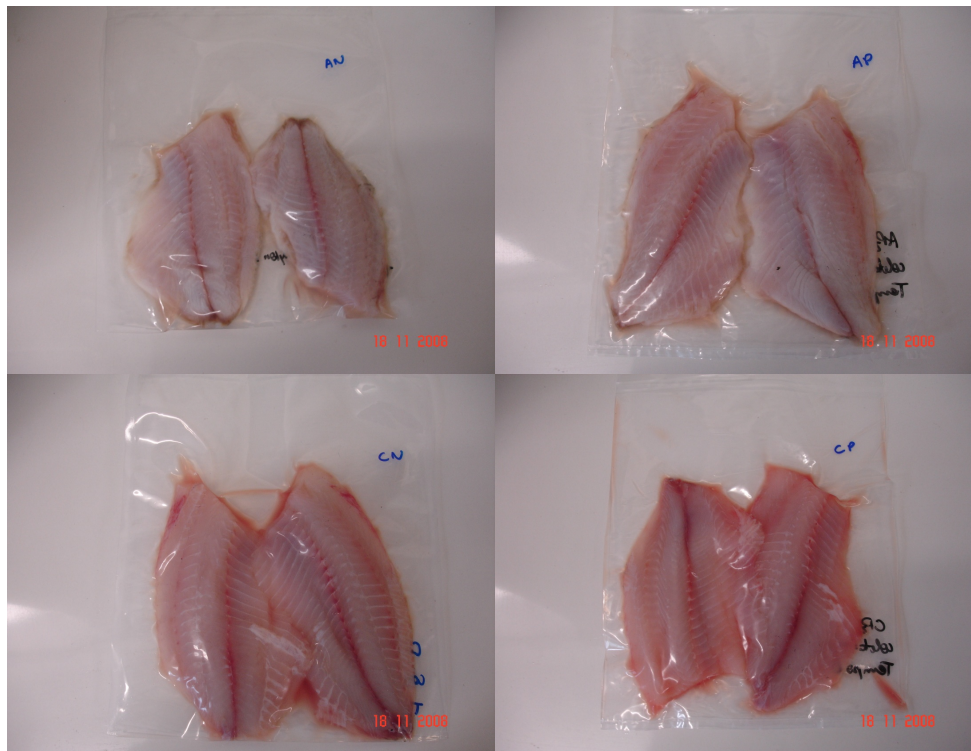


Imagem superior esquerda: filés submetidos ao tratamento AN; imagem superior direita: filés submetidos ao tratamento AP; Imagem inferior esquerda: filés submetidos ao tratamento CN; imagem inferior direita: filés submetidos ao tratamento CP.

Figura 53 – Filés avaliados no tempo de 1 dia de armazenamento

No que se refere ao fator armazenamento, verifica-se que o valor médio das notas atribuídas pelos provadores não apresentaram diferença estatística significativa ( $p = 0,7768$ ).

Quanto ao valor médio das notas houve um decréscimo ao longo do período de armazenamento (1 dia = 5,8; 21 dias = 5,3), indicando correlação inversamente proporcional, pois quanto mais tempo o produto ficou armazenado, menos sua cor agradou aos provadores. Isso provavelmente deve-se às diferenças de coloração entre os filés dos diferentes tratamentos com o passar do tempo, ou seja, com o aumento do tempo de armazenamento os filés, de todos os tratamentos, e principalmente os dos tratamentos AN e AP, se tornaram mais pálidos e sem brilho (Figura 54).



Imagem superior esquerda: filés submetidos ao tratamento AN; Imagem superior direita: filés submetidos ao tratamento AP; Imagem inferior esquerda: filés submetidos ao tratamento CN; Imagem inferior direita: filés submetidos ao tratamento CP.

Figura 54 – Filés avaliados no tempo de 21 dias de armazenamento

Socol (2002) relatou em seu experimento, que os filés de tilápia submetidos ao tratamento com ácido acético apresentaram menores notas em sua avaliação sensorial, principalmente devido à descoloração dos filés que se apresentaram esbranquiçados.

Segundo Della Modesta (1994), o impacto visual é o mais marcante quando se escolhe ou simplesmente se observa um objeto qualquer. O impacto causado geralmente pela cor, que é um atributo de aparência, sobrepõe ao causado pelos demais atributos. Isto porque as cores caracterizam sobremaneira os objetos, constituindo-se no primeiro critério aplicado para a sua



aceitação ou rejeição. Se a cor não for atraente, apesar do sabor e odor o serem, dificilmente o alimento será ingerido ou ao menos provado.

**EMBALAGEM:** para esse atributo, foi solicitado aos provadores que eles indicassem o quanto o tamanho da embalagem, com relação a quantidade de filés por embalagem (2 filés) os agradou. Teoricamente, a resposta dos provadores não deveria se alterar com relação aos diferentes tratamentos e muito menos com relação ao tempo de armazenamento. Isso porque, a quantidade de filés estabelecida para um tratamento foi a mesma para todos os outros, assim como, para todos os tempos de armazenamento avaliados. Contudo, considerando apenas o fator tratamento, notou-se uma diferença estatística significativa ( $p < 0,0001$ ) apenas para o valor médio das notas das amostras do tratamento MP (5,8) com relação as notas das amostras dos demais tratamentos. Sendo que o tratamento MP apresentou a menor média das notas para esse atributo, indicando que os provadores não aprovaram a quantidade de filés sugerida para esse tipo de embalagem (bandejas de isopor).

Da mesma forma, ao se levar em consideração apenas o fator armazenamento, também foi constatado diferença estatística significativa ( $p = 0,0005$ ) entre as médias das notas dadas pelos provadores. Observa-se que a média das notas atribuídas aos tempos 1 (7,5) e 7 (7,3) dias de armazenamento não apresentaram diferença significativa entre eles, mas diferiram dos dias 14 (6,8) e 21 (6,8), que, por sua vez, não diferiram significativamente entre si.

As notas foram sendo menores com o tempo de armazenamento, provavelmente por causa das transformações ocorridas nos filés que podem ter influenciado na aparência do produto, como por exemplo, quantidade de líquido exsudado, que, conseqüentemente, acabou interferindo na avaliação do atributo quantidade de filés por embalagem, justamente pela interferência que o atributo “aparência” pode causar na preferência do consumidor, que inconscientemente, pode ter associado esse fenômeno ao tipo de embalagem, perdendo o foco principal da pergunta que era em relação a quantidade de filés.

**AROMA:** no que diz respeito ao fator tratamento, apenas foi detectado diferença estatística significativa ( $p = 0,0013$ ) entre as médias das notas apresentadas para os tratamentos AN (5,3) e AP (5,6), com relação aos tratamentos CN (7,1) e CP (7,0). A média das notas constatadas ao tratamento MP (5,9), não diferiu de forma significativa em nenhum dos tratamentos. As menores notas atribuídas aos tratamentos AN e AP, indicando a não preferência por essas amostras, devem-se ao fato das mesmas apresentarem intenso aroma de vinagre durante

a avaliação, por causa do tratamento realizado com ácido acético ao qual essas amostras foram submetidas.

No que diz respeito ao fator armazenamento, os tempos avaliados não apresentaram diferença estatística significativa ( $p=0,3065$ ) entre si. E mais uma vez, ocorreu uma diminuição das notas dos provadores ao longo do tempo de armazenamento.

De acordo com Della Modesta (1994), os odores podem atrair ou repelir os consumidores, assumindo assim grande importância na aceitação de vários produtos alimentícios, uma vez que eles podem indicar a qualidade do produto, assim como a sanidade deste.

**APARÊNCIA GERAL:** levando-se em consideração o fato tratamento, mais uma vez é possível notar que houve diferença estatística significativa ( $p<0,0001$ ) das amostras AN (4,6) e AP (4,5) com relação às demais amostras (MP - 6,3, CN - 7,2 e CP - 7,5), que não diferenciaram significativamente entre elas. Para os provadores, as amostras AN e AP encontram-se entre a classificação “desgostei ligeiramente” a “não gostei e nem desgostei”. Por outro lado, as amostras CN e CP encontram-se entre as classificações “gostei regularmente” e “gostei moderadamente”, indicando a preferência desses tratamentos e embalagens por parte dos consumidores.

No quesito armazenamento, não foi observado diferença estatística significativa ( $p=0,0931$ ) entre as médias das notas apresentadas ao longo do período avaliado. Entretanto, ressalta-se, mais uma vez, a diminuição das notas com o passar do tempo de armazenamento (variação de 5,3 a 6,2).

No geral, pode-se afirmar que houve uma tendência dos provadores quanto a preferir as amostras dos tratamentos CN e CP, pois estes receberam as maiores notas em quase todos os atributos avaliados. Com relação ao tempo de armazenamento, ficou claro que a preferência do provador em relação às amostras diminuiu com o passar dos dias, tendo uma queda mais acentuada a partir do 14º dia de armazenamento. Todavia, mesmo as menores notas apresentadas no 21º dia de armazenamento mostraram características na faixa de indiferença (“não gostei e nem desgostei”) a “gostei ligeiramente”. O que significa que nenhuma das amostras dos diferentes tratamentos seriam descartadas sensorialmente, no último dia de análise.

Quando questionados se comprariam os diferentes produtos avaliados as respostas em porcentagem (%) estão na Tabela 23.

Tabela 23 – Respostas (%) quanto à decisão de compra dos provadores

Resposta	MP			
	1	7	14	21
Sim	75	60	37,5	50
Talvez	0	40	25	50
Não	25	0	37,5	0
Resposta	AN			
	1	7	14	21
Sim	0	20	12,5	25
Talvez	50	20	37,5	12,5
Não	50	60	50	62,5
Resposta	AP			
	1	7	14	21
Sim	0	20	12,5	25
Talvez	62,5	40	25	0
Não	37,5	40	62,5	75
Resposta	CN			
	1	7	14	21
Sim	62,5	80	75	87,5
Talvez	37,5	20	25	12,5
Não	0	0	0	0
Resposta	CP			
	1	7	14	21
Sim	87,5	80	87,5	62,5
Talvez	12,5	20	12,5	37,5
Não	0	0	0	0

As respostas dos provadores variaram com os tempos de armazenamento. Para as amostras do tratamento MP a decisão positiva quanto a compra do produto foi de 75 % no primeiro dia de avaliação, mas esse valor decresceu com o passar do tempo de armazenamento para 50 %, aumentando, assim, a porcentagem de incerteza (“talvez compraria, talvez não compraria”) dos provadores. Da mesma forma, se apresentaram os dados obtidos para o tratamento CP, a princípio 87,5 % dos provadores comprariam o produto, entretanto, após 21 dias de armazenamento, apenas 62,5 % o comprariam.

Ao contrário, para as amostras AN, AP e CN as respostas positivas quanto a compra dos produtos aumentou ao longo do armazenamento. Ressalta-se que as amostras AN e AP foram as que apresentaram menores índices de afirmações com relação a compra, e esse comportamento se repetiu em todos os tempos de avaliação, fechando no 21º dia de armazenamento com uma aprovação de apenas 25 % dos provadores com relação a compra de ambos os produtos.

As mudanças nas decisões de compra dos produtos provavelmente ocorreram devido às mudanças físicas ocorridas nas amostras de cada tratamento. E os principais fatores que provocaram essas mudanças podem ser o tratamento com o ácido acético, que mudou drasticamente a coloração do produto e os tipos de embalagens utilizadas.

A princípio, as amostras do tratamento MP, com bandeja de isopor coberta com filme plástico, se mostraram mais atraentes, devido à maior permeabilidade ao oxigênio e vapor d'água, propiciando maior troca de compostos com o ambiente e, principalmente, evitando a presença de líquido exsudado nas amostras. Todavia, ao longo do período de armazenamento, essa alta taxa de permeabilidade aos componentes do ambiente acabaram propiciando transformações desagradáveis nas amostras.

Já nas demais embalagens, havia uma menor troca desses compostos com as amostras, permitindo que o líquido exsudado, provocado principalmente pelo vácuo realizado, se acumulasse nas embalagens.

Além da diferença de permeabilidade com relação à embalagem utilizada no tratamento MP, segundo as informações fornecidas pelo fabricante das embalagens de polietileno e nylon poli, há diferenças entre elas. A primeira apresenta baixa permeabilidade ao vapor d'água e alta permeabilidade a gases; e a segunda, alta permeabilidade ao vapor d'água e média barreira a gases. Essas diferenças quanto às taxas de permeabilidade nesses dois tipos de embalagens apenas se destacaram, de forma estatística significativa, com relação ao crescimento de microrganismos psicrotóxicos, no qual, as amostras do tratamento CN apresentaram menores contagens (log 6,54 UFC/g) com relação as amostras do tratamento CP (log 7,29 UFC/g). Maiores diferenças não foram detectadas provavelmente devido ao extremo controle e monitoramento da temperatura e da taxa de umidade relativa do ambiente de armazenamento das amostras.

No geral, as amostras do tratamento CN foram as que apresentaram maiores índices de probabilidade de compra nos tempos avaliados, principalmente no último dia (tempo 1 dia: 62,5 %; tempo 7 dias: 80 %; tempo 14 dias: 75 %; tempo 21 dias: 87,5 %).

Na Tabela 24, verifica-se a decisão de compra dos provadores (%) com questionados se comprariam ou não os produtos avaliados, caso eles fossem mais caro que outros similares.

Tabela 24 – Respostas (%) quanto a decisão de compra dos provadores, com relação ao preço do produto

Resposta	MP			
	1	7	14	21
Sim	62,5	0	25	37,5
Talvez	25	100	25	12,5
Não	12,5	0	50	50
Resposta	AN			
	1	7	14	21
Sim	0	0	0	25
Talvez	25	40	37,5	12,5
Não	75	60	62,5	62,5
Resposta	AP			
	1	7	14	21
Sim	12,5	0	0	25
Talvez	25	40	25	12,5
Não	62,5	60	75	62,5
Resposta	CN			
	1	7	14	21
Sim	50	40	50	50
Talvez	50	60	50	25
Não	0	0	0	25
Resposta	CP			
	1	7	14	21
Sim	87,5	60	75	37,5
Talvez	12,5	40	12,5	37,5
Não	0	0	12,5	25

Nesse caso, observa-se que, quando há a possibilidade de aumento dos preços desse tipo de produto as respostas positivas quanto a decisão de compra dos consumidores diminui.

Os filés minimamente processados submetidos ao tratamento CN continuaram liderando a preferência de compra dos provadores de uma maneira em geral. Mas quando há a questão do aumento de preço, mesmo para esse tratamento, as respostas positivas passam de 62,5 % no primeiro dia de armazenamento para 50%; e no 21º dia de armazenamento variam de 87,5 % para 50 %. E a incerteza de compra (talvez) aumentou em todos os tempos avaliados.

Os provadores também foram questionados do porquê de sua resposta sobre “se comprariam o produto se ele fosse mais caro que os semelhantes”. Os termos mais utilizados pelos provadores para responder essa questão estão descritos na Tabela 25.

Tabela 25 – Termos mais freqüentes nas respostas dos provadores com relação a decisão de compra do produto

<b>Opções</b>	<b>Resposta</b>
<b>Sim</b>	aparência de fresco; garantia da higiene pela embalagem; aparência agradável; quantidade suficiente; praticidade; cor atraente (CN e CP)
<b>Não</b>	cor não atraente (AN e AP); aparência não atrativa (AN e AP);

Percebe-se que principalmente a avaliação visual (cor e aparência) das amostras interferiu tanto nas respostas positivas quanto nas negativas para decisão de compra.

Durante a análise sensorial, havia ainda uma questão livre para que os provadores comentassem sobre quais os aspectos dos produtos que eles haviam gostado mais e/ou gostado menos. Os termos mais citados pelos provadores podem ser observados na Tabela 26.

Tabela 26 – Termos mais frequentes nas respostas dos provadores com relação a decisão de compra do produto influenciada pelo preço

<b>Tratamentos</b>	<b>Pergunta</b>	<b>Ddias</b>	<b>Termos utilizados nas respostas</b>
<b>MP</b>	<b>Mais gostou</b>	1	aparência, cor, tamanho do filé, quantidade de filés
		7	cor, aparência
		14	cor, aroma
		21	
	<b>Menos gostou</b>	1	embalagem, aroma
		7	Embalagem
		14	embalagem, aparência, cor
		21	Embalagem
<b>AN</b>	<b>Mais gostou</b>	1	embalagem, tamanho do filé, quantidade de filés
		7	embalagem, aroma
		14	Embalagem
		21	Embalagem
	<b>Menos gostou</b>	1	aroma ácido, aparência, cor, aroma de vinagre
		7	Cor
		14	cor, presença de exsudado, aroma
		21	aparência global, cor
<b>AP</b>	<b>Mais gostou</b>	1	embalagem, tamanho do filé, quantidade de filés
		7	embalagem, aroma
		14	embalagem, aroma
		21	Embalagem
	<b>Menos gostou</b>	1	aroma ácido, cor, aroma de vinagre
		7	Cor
		14	cor, presença de exsudado, aroma
		21	Aparência global, cor, aroma ácido
<b>CN</b>	<b>Mais gostou</b>	1	aparência, aroma, cor, embalagem, tamanho do filé, quantidade de filés
		7	embalagem, cor, aparência
		14	embalagem, cor
		21	cor, aparência global, aroma, embalagem
	<b>Menos gostou</b>	1	
		7	cor, aroma
		14	presença de exsudado
		21	Aroma
<b>CP</b>	<b>Mais gostou</b>	1	aparência, aroma, cor, embalagem, tamanho do filé, quantidade de filés
		7	aroma, cor, aparência
		14	embalagem, cor, aroma
		21	cor, aparência global, aroma, embalagem
	<b>Menos gostou</b>	1	
		7	Cor
		14	cor, presença de exsudado
		21	Aroma

Os atributos de aparência (cor, volume de líquido exsudado e aparência geral/global) foram os que mais se sobressaíram nas observações realizadas pelos provadores. Além disso, o atributo aroma também foi determinante para caracterização das amostras, principalmente para as amostras AN e AP, que apresentaram maior destaque para esse atributo devido a forte presença de aroma ácido (vinagre) nas amostras, causado pelo tratamento com ácido acético.

### 3.4 Conclusões

O tratamento realizado com ácido acético (AN e AP) não foi sensorialmente aceito pelos provadores, tanto logo após a realização do mesmo (1º dia) como no último dia de avaliação (21º dia), quando as amostras se apresentaram esbranquiçadas e não atraentes, mesmo tendo apresentado menores valores para contagem microbiana e melhores características de frescor.

O tratamento MP apresentou nos primeiros dias de armazenamento melhores características sensoriais, mas ao longo do armazenamento também não foi a escolha de preferência dos provadores. Além disso, as contagens microbianas e os resultados das análises de frescor se mostraram superiores para as amostras desse tratamento, embora dentro dos limites tolerados pela legislação, exceto para microrganismos psicrotóxicos no 21º dia de armazenamento.

As amostras CN e CP foram as preferidas pelos provadores, e ainda apresentaram resultados satisfatório quanto à carga microbiana e qualidade de frescor. Além disso, o tratamento realizado é menos dispendioso com relação ao tempo, já que os filés minimamente processados não precisam passar pela imersão em ácido acético. Dentre esses, o tratamento CN apresentou maior vantagem quando comparado aos demais, principalmente quanto a decisão de compra afirmativa revelada pelos provadores, mesmo quando há a possibilidade de seu preço ser mais elevado.

Dessa forma, indica-se para a elaboração de filés de tilápia minimamente processados o tratamento dos filés sem a imersão em solução de ácido acético e o seu embalamento a vácuo em embalagens de nylon poli. A vida útil desse produto dependerá da carga microbiana inicial da matéria-prima, sendo indicados até 21 dias de armazenamento somente para os lotes com contagens iniciais baixas e rigoroso controle de temperatura durante o processamento e armazenamento refrigerado. Caso contrário, o recomendado é o armazenamento refrigerado por até 14 dias.



## Referências

ADAMS, M.R.; HALL, C.I. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their moistures. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 287-292, 1988.

ASHIE, I.N.A; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 36, n. 182, p. 87-121, 1996.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. 317 p.

BAYLISS, P. Chemistry in the kitchen: fish and fish products. **Nutrition and Food Science**, Bradford, v. 1, p. 41-43, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA)**. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=14013>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

\_\_\_\_\_. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado)**. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Brasília, 1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2453>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

\_\_\_\_\_. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. **Manual de procedimentos para implantação de estabelecimento industrial de pescado**: produtos frescos e congelados. Brasília, 2007. 116 p. Disponível em: <<http://tuna.seap.gov.br/seap/Jonathan/manual%20de%20procedimentos.pdf>>. Acesso em: 01 jul 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos**. Portaria CVS – 6/99 de 10 de março de 1999 – DOU 12/03/99. Disponível em: <[http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=20920&word=estabelecimentos and alimentos](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=20920&word=estabelecimentos%20e%20alimentos)>. Acesso em: 01 jun 2009.

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001**: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Brasília, 2001. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov/legis/resol./1201redc.html>>. Acesso em: 07 jan. 2008.

CASTILLO, C.J.C. **Disciplina carnes e ovos – LAN 0318**. [s.l.: s.n.], [200-]. Não paginado.

DELLA MODESTA, R.C. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**: geral. Rio de Janeiro: EMBRAPA,CTAA, 1994. t. 1, 115p.

FARIA, E.V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL, LAFISE, 2002. 116 p.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos: princípio e prática**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FIGUEIREDO JÚNIOR, C.A.; VALENTE JÚNIOR, A.S. Cultivo de tilápia no Brasil: origens e cenário atual. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL. 41., 2008, Rio Branco. **Anais...** Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/9/178.pdf>>. Acesso em: 23 maio 2009.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Conservação de alimentos pelo emprego da radiação ionizante. In: \_\_\_\_\_. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 134-139.

GALVÃO, J.A.; FURLAN, E.F.; SAVAY DA SILVA, L.K. ; SALAN, E.O. ; OETTERER, M. Transporte de mexilhões para abastecer a indústria processadora: qualidade da matéria-prima. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20., 2006, Curitiba. **Alimentos e agroindústrias brasileiras no contexto internacional**. Curitiba: SBCTA, 2006. 1 CD-ROM.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 655 p.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 121-137, 1996.

HALL, G.M. **Fish processing technology**. New York: VCH Publ., 1992. 292 p.

HINTLIAN, C.B.; HOTCHKISS, J.H. The safety of modified atmosphere packaging: a review. **Journal of Food Technology**, Oxford, v. 40, n. 12, p. 70-76, 1986.

HITCHINS, A.D.; HARTMAN, P.A.; TODD, E.C.D. Coliforms: *Escherichia coli* and its toxins. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3<sup>rd</sup> ed. Washington, DC: APHA, 1992. p. 325-369.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. Pescados y productos derivados. In: \_\_\_\_\_. **Microorganismos de los alimentos: ecología microbiana de los productos alimentarios**. Zaragoza: Acribia, 1998. p. 121-166.

JAKABI, M.; BUZZO, A.A.; RISTORI, C.A.; TAVECHIO, A.T.; SAKUMA, H.; PAULA, A.M.R.; GELLI, D.S. Observações laboratoriais sobre surtos alimentares de *Salmonella sp.* ocorridos na grande São Paulo, no período de 1994 a 1997. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 58, n. 1, p. 47-51, 1999.

KAI, M.; MORAIS, C. Vias de deterioração do pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U.E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 13-20.

KIRSCHNIK, P.G.; VIEGAS, E.M.M. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 407-412, jul./set. 2004.

KROLOW, A.C.R.; MIGUENS, F.P.; GULARTE, M.; POUHEY, J.L.O.F.; BANDEIRA, F.S.; ANTONIOLLO, P.C.; SILVA, W.P. Qualidade higiênica de lingüiça calabresa fresca elaborada a partir de filés de carpa húgara (*Cyprinus carpio*) submetida ou não à depuração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17., 2000, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: SBCTA, 2000. v. 1, p. 4-71.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. São Paulo: Degaspari, 2000. 289 p.

LAPA-GUIMARÃES, J. **Aminas biogênicas, aminas voláteis, triptofano livre e uréia como índices químicos de qualidade e frescor do pescado**. 2005. 125 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

LEITÃO, M.F.F. Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. In: KAI, M.; RUIVO, U.E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 40-58.

LISTON, J. Recent advances in the chemistry of iced fish spoilage. In: MARTIN, R.E. (Ed.). **Chemistry and biochemistry of marine food products**. Wesport: AVI, 1982. p. 27-37.

MACHADO, M.I.R. **Elaboração e implantação de um programa de análises de perigos e pontos críticos de controle numa indústria pesqueira da região Sul do Brasil**. 2002. 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2002.

MAREL, G.M.; LOGTESTEIN, J.G.; MOSSEL, D.A.A. Bacteriological quality of broiler carcasses as affected by in-plant lactic acid decontamination. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 31-42, 1998.

MORGA, A. **Avaliação do índice de frescor da Pescada Foguete, *Macrodon ancylodon*, conservada em gelo**. 1975. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1975.

OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 200 p.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. v. 1, 453 p.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da carne e subprodutos**. Goiânia: UFG, CEGRAF, 1994. v. 2.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de peixes. In.: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva** São Paulo: Tecart, 2004. p.75-169.

PINHEIRO, L.M.S.; MARTINS, R.T.; PINHEIRO, L.A.S.; PINHEIRO, L.E.L. Rendimento industrial de filetagem da tilápia tailandesa (*Oreochromis spp.*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 2, p. 257-262, 2006.

PRENTICE, C.; SAINZ, R.L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 25, n. 1, p. 127-131, jan./mar. 2005.

RIBEIRO, L. P.; LIMA, L.C.; TURRA, E.M.; QUEIROZ, B.M.; RIBEIRO, T.G.; MIRANDA, M.O. T. Efeito do peso e do operador sobre o rendimento de filé em tilápia vermelha spp. In: AQUICULTURA BRASIL 98, 1998, Recife. **Anais...** Recife: ABRAq, 1998. v. 2, p. 773-778.

RODRÍGUEZ-JÉREZ. J. J.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M.; ROIG-SAGUÉZ, A. X. **New methods to determine fish freshness in research and industry**. Disponível em: <<http://ressources.ciheam.org/om/pdf/c51/00600292.pdf>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius, L*) stored in ice. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 66, n.7, p.1030-1032, 2001.

SAS INSTITUTE. **The SAS System release 9.1.3 – SP 2**. Cary, 2002.

SHEWAN, J.M. The bacteriology of fresh and spoiling fish and biochemical changes induced by bacterial action. In.:CONFERENCE ON HANDLING, PROCESSING AND MARKETING OF TROPICAL FISH, 1997, London. **Proceedings...** London: Tropical Products Institute, 1997. p. 51-66.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007. 552 p.

SIMÕES, M.R; RIBEIRO, C.F.A.; RIBEIRO, S.C.; 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, jul./set. 2007.

SOCCOL, M.C.H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis, niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. 2002. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SOCCOL, M.C.H.; OETTERER, M. GALLO, C.R.; SPOTO, M.H.F.; BIATO, D.O.; Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelflife of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 8, n. 1, p. 7-15, Jan./Mar. 2005.

SOUZA, M.L.R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1076-1084, 2002.

\_\_\_\_\_. **Processamento do filé e da pele da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*):** aspectos tecnológicos, composição centesimal, rendimento, vida útil do filé defumado e testes de resistência da pele curtida. 2003. 169 p. Tese (Doutorado em Zootecnia - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2003..

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

SOUZA, M.L.R., MACEDO-VIEGAS, E.M.; KRONKA, S.N. Efeito do método de filetagem e categorias de peso sobre o rendimento de carcaça, filé e pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997a. 1 CD-ROM.

\_\_\_\_\_. Estudo da carcaça da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes categorias de peso. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ, 1997b. 1 CD-ROM.

TORRES, E.A.F.S.; CAMPOS, N.C.; DUARTE, M.; GARBELOTTI, M.L.; PHILIPPI, S.T.; RODRIGUES, S.M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 20, n. 2, p. 145-150, maio/ago. 2000,

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 filés congelados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 74, p. 37-40, 2000.

VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado:** teoria e prática. São Paulo: Varela, 2003. 380 p.

VIEIRA, R.H.S.F.; TAVARES, L.A.; GAMBAR, R.C.; PEREIRA, M.L.S. *Staphylococcus aureus* em camarão fresco e superfícies de bancada da feira livre do pescado do Mucuripe, Fortaleza, CE: registro de pontos críticos e medidas de controle. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 55, p. 47-50, 1998.

VITALI, A.A. Novas tendências em processamento de alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 15-16, 1997.

#### **4 PADRÃO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) MINIMAMENTE PROCESSADA COMO REQUISITO PARA IMPLANTAÇÃO DE UM SISTEMA DE RASTREABILIDADE**

##### **Resumo**

Com o intuito de se elaborar um produto padronizado do processamento mínimo de tilápias e avaliar a sua vida útil, 78 tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), submetidas a 1 dia de depuração foram divididas em: MP – filés embalados em bandejas de isopor cobertos com filme plástico e CN: filés não acidificados embalados a vácuo em embalagens de nylon poli. O monitoramento das amostras ocorreu em intervalos de 7 dias, durante 28 dias de armazenamento. Foi realizado monitoramento da temperatura da água dos tanques de depuração, das caixas de transporte dos peixes e do ambiente na planta de processamento mínimo. Todas as amostras analisadas estavam de acordo com os limites de frescor tolerados pela legislação vigente, entretanto, registrou-se decréscimo na aceitação, por parte dos provadores, na avaliação sensorial aos 21 e 28 dias de armazenamento. Para a análise de pH, não houve diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) tanto para o fator tratamento como para o fator armazenamento e o valor máximo obtido foi de 6,48. Já para a análise de BNVT, houve diferença estatística significativa ( $p<0,05$ ) apenas para o fator tempo de armazenamento, e o valor máximo obtido foi de 19 mg de N/100g. Para as análises microbiológicas, somente foi indentificado diferença estatística significativa entre os resultados apresentados para o fator tempo de armazenamento da contagem de microrganismos psicrotróficos. Todos os valores apresentaram-se dentro do limite de tolerância estabelecido pela legislação, exceto as contagens de mesófilos e psicrotróficos aos 21 e 28 dias de armazenamento, que excederam a contagem de 7 log UFC/g. Analisando-se os resultados da análise sensorial, verifica-se que o produto avaliado (CN) teve ótima aceitação pelos consumidores (96,9%), no que se refere à aparência geral do produto, e aceitação moderada (75,9%), no que se refere à quantidade de filés por embalagem sugerido para comercialização. A intenção de compra dos consumidores foi alta, cerca de 83%, contudo, se o preço proposto for maior que o de outros produtos semelhantes a intenção de compra dos entrevistados diminui para 67,3%. Para o teste sensorial de vida útil, ambos os tratamentos obtiveram uma perda de qualidade à medida que aumentou o tempo de armazenamento, entretanto, o tratamento MP foi aceito até o 14º dia e o CN até o 21º dia. A vida útil desse produto dependerá da carga microbiana inicial da matéria-prima e das boas práticas de fabricação, sendo indicados 14 dias de armazenamento ou no máximo 21 dias, somente para os lotes com contagens iniciais baixas e rigoroso controle de temperatura durante o processamento e armazenamento. Para a padronização do produto utilizou-se de alguns requisitos da ferramenta APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle, com a intenção de se realizar uma análise de prováveis riscos, determinando os pontos de contaminação e pontos críticos de controle do processo, assim como o estabelecimento de medidas de monitoramento, limites críticos e ações corretivas. Além disso, foi proposto um modelo de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) desse produto, baseado na literatura e nos resultados das análises laboratoriais realizadas.

Palavras-chave: Tilápia do Nilo; Minimamente processado; Vida útil; Padronização; Rastreabilidade; Análise de risco

## Abstract

In aim to produce a standardized product of the minimal processing of tilapia and to evaluate their life, 78 Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) submitted to 1 day of depuration were divided into 2 lots, and their fillets subjected to different treatments: MP - fillets packaged in polystyrene trays covered with plastic film and CN: not acidified fillets packed in vacuum packages of nylon poly. The samples were monitored every 7 days during 28 days of storage. The water temperature of the depuration tanks, boxes transportation and the processing place were monitored. All samples were analyzed according to the limits permitted by the freshness of law, however, is recorded decrease in acceptance by the assessors in sensory evaluation and the 21 and 28 days of storage. For analysis of pH, there was no statistically significant difference ( $p > 0.05$ ) for both the treatment factor and storage factor and the maximum value obtained was 6.48. For the analysis of TVBN, there was a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ) only for the factor time of storage, and the maximum value obtained was 19 mg N/100g. For microbiological analysis, only statistically significant difference was identified between the results presented for the time factor for the storage of enumeration of psychrotrophic microorganisms. All figures presented are within the limits of tolerance set by law, except the mesophilic and psychrotrophic counts of the 21 and 28 days of storage, exceeding the count of 7 log CFU/g. Analyzing the results of sensory analysis, it appears that the evaluated product (CN) had great acceptance by consumers (96.9%), regarding the general appearance of the product, and take moderate (75.9%), regarding the amount of fillets per package proposed for marketing. The intention to purchase the consumer was high, about 83%, however, if the price offered is higher than others similar products intended for purchase of the interviewees declined to 67.3%. For the sensory test of life, both treatments had a loss of quality as it increased the shelflife, however, the MP treatment was accepted by the 14th day and the CN until the 21st day. The shelflife of the product will depend on the initial microbial load of raw material and process manipulations conditions, and given 14 days of storage or at most 21 days, only for lots with low initial counts and strict control of temperature during processing and storage. For the standardization of the product it were applied some tools of HACCP - Hazard Analysis and Critical Control Point, for undertake an analysis of likely risks, determining the points of contamination and critical control points of the process, thus as the establishment of monitoring, critical limits and corrective actions. Furthermore, we proposed a model of Identity and Quality Standards (IQS) of that product, based on the literature and results of laboratory tests.

Keywords: Nile tilapia; Minimally processed; Shelflife; Standardization; Traceability; Analysis risks

## 4.1 Introdução

Atualmente, os consumidores estão mais exigentes, preocupados não apenas com o suprimento de energia fornecido pelos alimentos, mas também com os aspectos nutricionais e de segurança, principalmente no que diz respeito à sua inocuidade. Além disso, o consumidor moderno está à procura de alimentos de conveniência, de fácil e rápido preparo, mas que, no

entanto, não tenham suas características sensoriais alteradas ou perdidas. Para se alcançar esses requisitos, as indústrias processadoras de alimentos, vêm se adequando às legislações vigentes para manter um controle de qualidade rigoroso da matéria-prima, processos, pessoal, e produto final.

Vários fatores contribuíram para o aumento de demanda por produtos minimamente processados. A maior participação da mulher no mercado de trabalho também é um ponto significativo relacionado com o aumento do consumo de minimamente processados. A percentagem da participação feminina na população economicamente ativa do país cresceu de 23 % em 1971 para 40 % em 1998. Isso quer dizer que cada vez mais a mulher tem menos tempo para se dedicar às tarefas domésticas, necessitando de alimentos semi-prontos. O aparecimento de novos produtos como o microondas e o freezer doméstico também contribuíram para que, em 60 anos, o tempo de preparo de uma refeição diminuísse de 150 para 15 minutos. Outros fatores, como o aumento do número de pessoas morando sozinhas e a preferência por comida pronta por quase 50 % dos membros das classes sociais A e B, também tem contribuído de maneira decisiva para o aumento de consumo por produtos minimamente processados (MORETTI, 2001).

Os alimentos minimamente processados, entretanto, podem ter uma vida útil reduzida, quando comparados a outros produtos mais elaborados industrialmente, caso não sejam produzidos com controle de qualidade. Fellows (2006) afirma que a vida útil de alimentos processados e resfriados é determinada por aspectos como: tipo de alimento; grau de destruição microbiana ou inativação enzimática obtido pelo processamento; controle da higiene durante o processamento e embalagem; temperaturas durante o processamento, distribuição e armazenagem. Cada um desses fatores que contribuem para a vida útil de alimentos resfriados podem ser vistos como “barreiras” ao crescimento microbiano.

Por isso, para controlar todos esses fatores faz-se necessário que as indústrias processadoras de pescado e de alimentos, em geral, conheçam e utilizem ferramentas de controle de qualidade, estando muitas delas já disponíveis atualmente.

Uma dessas ferramentas é a rastreabilidade, que é definida pela União Européia, como a capacidade de detectar a origem e de seguir o rastro de um gênero alimentício, de um alimento para animais, de um animal produtor de gênero alimentício ou de uma substância, destinada a ser incorporada em gêneros alimentícios ou alimentos para animais, ou com probabilidade de o ser ao longo de todas as fases da produção, transformação e distribuição (CEN, 2002). Segundo as



informações que compõem a ISO 8402:1994, rastreabilidade é a capacidade de traçar uma história, aplicação ou localização de uma entidade por meio de informação registrada (FSA, 2002).

A importância da rastreabilidade para os segmentos de distribuição, varejo e da indústria de alimentos pode ser aferida da seguinte forma: é um diferencial de competitividade, fortalece a imagem institucional da empresa, auxilia no posicionamento da marca no mercado, estimula a concorrência através da diferenciação da qualidade, estreita relação com os fornecedores, contribui para a construção de estratégias competitivas da empresa e, conseqüentemente, pode passar a definir a estrutura de coordenação vertical (MACHADO, 2002).

A rastreabilidade funciona como um complemento no gerenciamento da qualidade e quando aplicado isoladamente não traduz segurança do produto, nem do processo (IBA et al., 2003). Deve estar agregada a outros sistemas de controle de qualidade como procedimentos de boas práticas de fabricação (BPF), gerência de qualidade ISO 9000, e análise dos perigos e pontos críticos de controle (APPCC), que são amplamente utilizados e carregam informações que auxiliam a rastreabilidade (Thompson et al., 2005). Sistema de dados e inspeção como o APPCC, obrigatório para pescado, são designados para controlar os perigos biológicos, químicos e físicos durante o processamento (HERNANDEZ, 2001).

Alguns estudos já têm sido realizados nesse sentido, e com ótimos resultados, como foi o caso da pesquisa realizada por Galvão (2007), objetivando contribuir para a melhoria do controle da qualidade da pesca de *cod fish* nas águas da Islândia utilizando um sistema de rastreabilidade como uma ferramenta para melhorar a qualidade da matéria-prima. Para isso, foi: a) estudado a rastreabilidade ligada ao controle de qualidade na pesca, observando-se o sinergismos entre eles; b) observado como alguns fatores podem interferir na qualidade da matéria-prima e sugerir a forma como eles podem ser utilizados pelos produtores para maximizar a qualidade e rendimento. Com os resultados obtidos dessa pesquisa, foi sugerido uma adequação no controle de qualidade na pesca brasileira utilizando sistema de rastreabilidade para melhorar a qualidade da matéria-prima para a indústria e garantir a rastreabilidade de toda a informação na cadeia, desde a captura até os consumidores.

Sendo assim, com esta pesquisa, teve-se o intuito de elaborar um produto padronizado advindo do processamento mínimo de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Para essa padronização utilizou-se alguns princípios da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

(APPCC) com a intenção de se realizar uma análise de riscos, determinando os pontos de contaminação e pontos críticos de controle do processo, assim como o estabelecimento de medidas de monitoramento, limites críticos e ações corretivas. Além disso, foi proposto também um modelo de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) desse produto, baseado na literatura e nos resultados das análises laboratoriais realizadas.

## **4.2 Material e Métodos**

### **4.2.1 Obtenção da matéria-prima**

O local e as condições de cultivo dos peixes utilizados nesse experimento estão descritos no item 2.2.1. A coleta foi realizada no mês de janeiro de 2009.

### **4.2.2 Procedimento de depuração**

Após atingirem cerca de 500 g, 78 peixes foram separados aleatoriamente dos tanques-rede da fazenda e levados para o tanque de depuração, como descrito no item 2.2.2., onde permaneceram 1 dia (24 h) sem alimentação. Sendo este o melhor tempo de depuração observado no capítulo 2 deste trabalho.

### **4.2.3 Procedimento pós despesca**

#### **4.2.3.1 Aferição de temperatura (T °C) e umidade relativa do ambiente (%)**

Foram realizados conforme descrito no item 3.2.3.1.

#### **4.2.3.2 Determinação da perda de peso**

O procedimento utilizado para determinação da perda de peso seguiu o descrito no item 2.2.3.2.

#### **4.2.3.3 Abate e transporte**

Em seguida, os procedimentos para o abate e transporte seguiram o preconizado no item 2.2.3.3.

#### **4.2.3.4. Processamento mínimo das tilápias**

##### **4.2.3.4.1 Separação dos peixes para os tratamentos**

Na Planta de Processamento do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (ESALQ/USP), antes do processamento mínimo dos peixes procedeu-se a separação dos mesmos em dois lotes distintos, os quais foram submetidos aos seguintes tratamentos:

- ❖ **MP:** Matéria-prima (filés controle - sem tratamento com ácido acético embalados em bandejas de isopor, cobertos com papel filme - PVC);
- ❖ **CN:** Filés embalados à vácuo em embalagem plástica de nylon poli;

O tratamento MP recebeu 30 peixes e o tratamento CN recebeu 48, sendo que este último número foi propositalmente maior, uma vez que, para este tratamento também foi realizado um teste de aceitação do produto com possíveis consumidores.

Embora o tratamento CN tenha sido o melhor tratamento eleito no capítulo 3 desta pesquisa, procedeu-se ao processamento do tratamento MP para que o mesmo servisse de parâmetro de comparação nas análises laboratoriais, já que não haveria a possibilidade de se ter em cada tempo de análise uma matéria-prima no tempo 0 dia de armazenamento para as comparações.

##### **4.2.3.4.2 Escolha das embalagens**

A escolha e as especificações das embalagens seguem as descrições realizadas no item 3.2.3.4.2.

##### **4.2.3.4.3 Biometria e rendimento dos filés**

As medidas biométricas e o cálculo para rendimento dos filés seguem o descrito no item 3.2.3.4.3.

##### **4.2.3.4.4 Realização dos tratamentos**

Foi realizado o processamento mínimo dos peixes de cada lote individualmente. Antes do início do processamento e entre o processamento dos peixes de cada caixa (tratamento), os

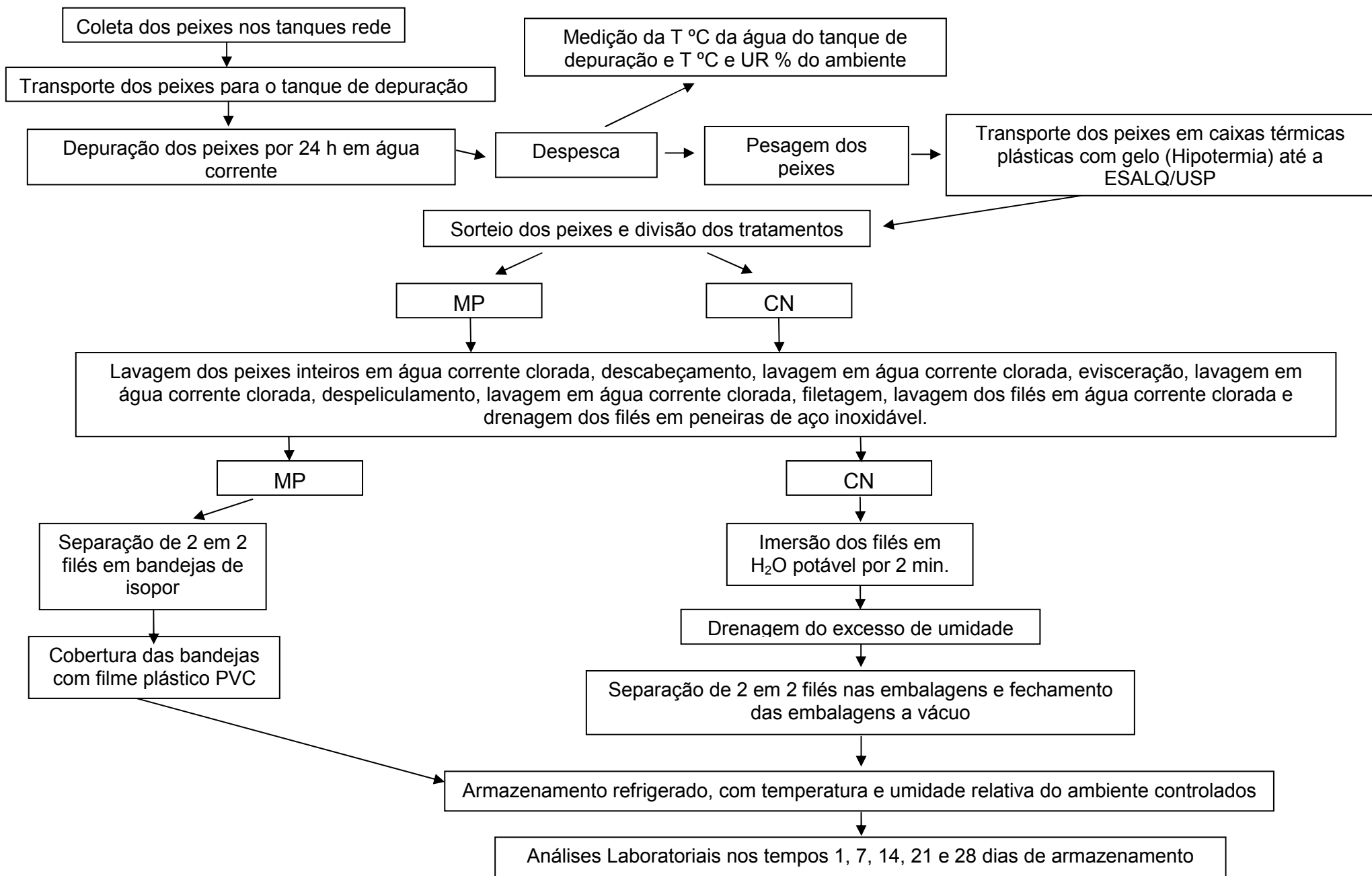
utensílios e bancadas foram higienizados com água clorada, sabão e álcool a 70 %, de forma a se evitar possíveis contaminações cruzadas.

A temperatura (°C) e a umidade relativa do ambiente (%) foram monitoradas durante todas as etapas do processamento mínimo, com o intuito de se rastrear possíveis problemas no produto final causados por alterações nesses parâmetros.

Em todos os tratamentos procederam-se as etapas de processamento mínimo conforme descrito no item 2.2.3.5.

Tanto para o tratamento MP, como para o CN, seguiram-se os mesmos procedimentos descritos no item 3.2.3.4.4., no que se refere ao manuseio e embalamento dos filés em bandejas de isopor e, a vácuo, em embalagem de nylon poli, respectivamente.

Na Figura 55, pode-se observar de forma geral, como se procedeu o processamento mínimo de cada tratamento.



Sendo MP= filés controle em embalagem de isopor coberta com filme PVC; e CN= filés não acidificados em embalagens de nylon poli sob vácuo  
 Figura 55 – Fluxograma de obtenção de filés de tilápia minimamente processados

Obtiveram-se 30 embalagens do tratamento MP e 48 embalagens do tratamento CN (total de 78 embalagens), sendo estas divididas e marcadas para cada dia de análise. Foram separadas 18 embalagens do tratamento CN para realização do teste de aceitação do produto diretamente com os possíveis consumidores. As amostras foram pesadas e embaladas a fim de se obter uma média do peso dos produtos finais.

#### **4.2.3.4.5 Refrigeração e armazenamento refrigerado**

As amostras embaladas foram submetidas à refrigeração de  $1 \pm 1^\circ\text{C}$ , e armazenadas durante 28 dias, nas mesmas condições descritas no item 3.2.3.4.5.

#### **4.2.4 Análises laboratoriais**

As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e as microbiológicas em duplicata. Os procedimentos realizados com os resíduos gerados nas análises físico-químicas seguiram o descrito no item 2.2.4.

As análises laboratoriais foram realizadas a cada 7 dias de armazenamento (Tempo 1, 7, 14, 21 e 28 dias). Para cada dia de análise foram utilizadas 5 embalagens de cada tratamento, contendo 2 filés cada uma.

Antes de se iniciar as análises de cada tratamento, uma embalagem foi separada aleatoriamente para a análise sensorial de vida útil e as outras 4 embalagens foram utilizadas para as análises; os filés foram picados e homogeneizados antes da sua utilização.

##### **4.2.4.1 Análises físico-químicas dos filés**

No laboratório de Tecnologia do Pescado, do departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (ESALQ/USP), foram realizadas para todos os tratamentos, em cada tempo de armazenamento, as seguintes análises:

###### **4.2.4.1.1 Mensuração de pH**

Realizado segundo descrito no item 2.2.4.1.1.

**4.2.4.1.2 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)**

Realizado segundo descrito no item 2.2.4.1.2.

**4.2.4.1.3 Composição centesimal e valor calórico**

Realizado segundo descrito no item 2.2.4.1.3.

**4.2.4.2 Análises microbiológicas dos filés.**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 3.2.4.2.

**4.2.4.2.1 Microrganismos mesófilos**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 3.2.4.2.1.

**4.2.4.2.2 Microrganismos psicrotróficos**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.1.

**4.2.4.2.3 Coliformes totais e *E. coli***

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.2.

**4.2.4.2.4 *Staphylococcus aureus* coagulase positivo**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.3.

**4.2.4.2.5 Clostrídios sulfitos redutores**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.4.

**4.2.4.2.6 *Salmonella* spp.**

O procedimento desta análise foi realizado conforme descrito no item 2.2.4.2.5.

#### **4.2.4.3 Análise sensorial**

Primeiramente foi realizado um teste de aceitação junto aos potenciais consumidores do produto, somente com as amostras do tratamento CN. Em seguida, com provadores selecionados e treinados foi aplicado um teste de qualidade para avaliar a vida útil das amostras dos tratamentos MP e CN.

##### **4.2.4.3.1 Teste de aceitabilidade do produto**

Para se verificar a aceitabilidade do produto, utilizou-se um método sensorial afetivo, usando uma escala hedônica estruturada de 7 pontos (“gostou muito” a “desgostou muito”) para os atributos de “tamanho das embalagens” (quantidade de filés/embalagem); “aparência geral” e “cor”; e outra de 5 pontos (“sim com certeza” a “não com certeza”) para os atributos de “intenção de compra”. Para os atributos de intenção de compra, chamou-se a atenção dos entrevistados para a questão do produto ser “rastreado”, pretendendo-se com isso saber a importância que esse fato teria perante os mesmos. Os consumidores entrevistados também podiam opinar sobre os aspectos que mais gostaram ou mais desgostaram do produto. A elaboração da ficha sensorial foi baseada em Meilgaard, Civille e Carr (1987) e Della Modesta (1994) que pode ser observada no Anexo P.

Para esse teste junto aos consumidores, optou-se por desenvolver um protótipo de embalagem comercial que pode ser observado na Figura 56, cujo objetivo foi apresentar aos consumidores o produto a ser avaliado nas condições mais próximas possíveis de um produto comercial. Para isso, os dados de composição nutricional para fins de rotulagem utilizados nesse protótipo foram provenientes da tabela *Search the USDA National Nutrient Database for Standard Reference* (2009).





Figura 56 – Protótipo da embalagem para filés de tilápia minimamente processados (frente e verso)

A embalagem utilizada foi a mesma dos testes de vida útil (nylon poli), entretanto, as mesmas receberam uma fita adesiva com as informações do produto e um *design* antes de serem colocados os filés e realizado o embalamento a vácuo (Figura 57). O produto final, “Tilápia do Lago”, pode ser observado na Figura 58.



Figura 57 – Embalamento dos filés para o teste de aceitabilidade do produto



Figura 58 – Produto final – filés de tilápia minimamente processados, embalados a vácuo e refrigerados

O teste de aceitabilidade foi realizado em forma de entrevista com consumidores presentes em três redes de supermercados localizados na cidade de Piracicaba, SP, distribuídos nos bairros: Vila Rezende, Vila Prudente e São Dimas.

Após liberação da pesquisa por parte da gerência dos estabelecimentos, os consumidores foram abordados (Figura 59) e, caso concordassem em participar, emitiam sua opinião a um entrevistador, previamente treinado para preencher as fichas sensoriais com perguntas a respeito do produto embalado e processado. Os entrevistadores eram alunos de graduação e de pós-graduação do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP.



Figura 59 – Consumidores sendo entrevistados

Em todos os pontos de entrevista o produto a ser avaliado pelos consumidores foi conservado em caixas de isopor com bolsas de gelo (Figura 60).



Figura 60 – Armazenamento do produto submetido à avaliação sensorial

Os resultados obtidos no teste de aceitação foram apresentados em porcentagem e na forma de gráficos. Em alguns casos na forma de tabela, como os termos mais citados pelos consumidores entrevistados quanto ao que eles mais gostaram ou desgostaram no produto.

#### **4.2.4.3.2 Teste de qualidade para avaliação da vida útil do produto**

Para o teste de vida útil, utilizou-se um método analítico quantitativo, de avaliação de atributos (“cor característica”, “volume de líquido exsudado na embalagem”, “impressão global da aparência do produto” e “aroma característico de fresco”), avaliados através de escala não estruturada de 10 cm, cujos extremos 1 corresponderam a pouco e 9 a muito. A ficha sensorial utilizada pode ser observada no Anexo Q, segundo adaptado de Faria e Yotsuyanagi (2002).

Para este teste foram selecionados alunos de graduação e de pós-graduação do laboratório de Tecnologia do Pescado (ESALQ/USP) que já têm familiaridade com produtos derivados do pescado, considerados como provadores treinados para avaliar esses atributos (Figura 61).



Figura 61 – Proveedor realizando a análise sensorial de vida útil

Para os atributos de “aparência”, o produto foi apresentado ao provador na embalagem (CN) sem adesivo. Entretanto, para a avaliação do atributo “aroma”, as amostras foram apresentadas aos provedores em pratos de cerâmica branca codificados por números de três dígitos escolhidos aleatoriamente (Figura 62).

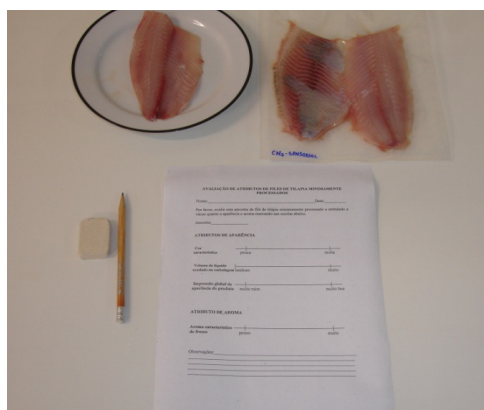


Figura 62 – Apresentação das amostras para avaliação sensorial de vida útil

## 4.2.5 Implantação da rastreabilidade

### 4.2.5.1 Eleição dos melhores parâmetros e descrição do produto

Após a realização de todas as análises foi possível estabelecer um padrão para a tilápia minimamente processada. Foram eleitos parâmetros como: o melhor tempo de depuração, limites

críticos de frescor, composição centesimal, índices microbiológicos, além da definição da preferência do consumidor. Para isso, tomaram-se como base as análises realizadas nessa pesquisa além de outros dados da literatura. Foi também realizada a padronização do fluxograma de produção, bem como a forma em que o produto será oferecido ao consumidor, estabelecendo-se um modelo de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) do produto.

#### **4.2.5.2 Ferramentas para a garantia da qualidade**

Foram utilizadas ferramentas de um sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), identificando-se os perigos potenciais que podem se associar ao produto, sejam eles de natureza química, física ou biológica. Além da identificação dos Pontos de Controle (PC's) e dos Pontos Críticos de Controle (PCC's) do processamento mínimo, foram estabelecidas as medidas de monitoramento, para averiguar se os limites críticos estão sendo atendidos. Em paralelo foram estabelecidas as ações corretivas que irão prever quais ações deverão ser tomadas caso os limites críticos não sejam atendidos.

#### **4.2.6 Análise estatística**

Para as análises de frescor (pH e BNVT) e composição centesimal, foi adotado um modelo para experimentos com dois fatores sem interação; quando detectado efeito significativo foi adotado o teste de Tukey para comparações múltiplas de médias. Já as análises das variáveis observadas no estudo microbiológico não puderam ser corrigidas de forma satisfatória para aplicação da análise de variância paramétrica, desta forma, foram submetidas à análise não-paramétrica, e análise de ANOVA-R (Análise de Variância com Dados Transformados em Ranks). Essas análises foram executadas através do sistema SAS (SAS, 2002).

Os dados apresentados pelo teste de vida útil da análise sensorial foram analisados através de análise de variância - ANOVA, sendo as médias comparadas através do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, no programa de estatística Minitab versão 14.

## **4.3 Resultados e Discussão**

### **4.3.1 Determinação da perda de peso**

Nessa fase do experimento, verificou-se, uma perda de peso de 7,25 %, sendo este valor maior que os valores médios de 4,44 % obtidos no capítulo 2 e os 2,29 % no capítulo 3 desta pesquisa, para o mesmo tempo de 1 dia de depuração dos peixes.

Esse valor fica mais próximo daqueles encontrados por Biato (2005) em seu experimento com tilápias submetidas a um maior tempo de depuração, a saber: 3, 5 e 7, onde os valores obtidos foram 6,72 %, 8,56 % e 8,68 %, respectivamente.

### **4.3.2 Aferição de temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%)**

Nessa coleta, a temperatura média da água do tanque de depuração foi de 21 °C, sendo este valor maior que as temperaturas médias constatadas no mesmo tanque no capítulo 2 (20,2 °C) e no capítulo 3 (19 °C). Esses dados dão suporte ao mencionado anteriormente para os resultados do item 3.3.2. com relação a influência da temperatura da água de depuração na perda de peso, há indícios de que quanto maior a temperatura da água, maior a perda de peso dos peixes.

Para a temperatura ambiente foi registrado um valor médio de 32,17 °C, também maior dos que os valores médios registrados nos capítulos 2 (21,5 °C) e 3 (22,3 °C), uma vez que a coleta ocorreu no verão (janeiro). Por outro lado, a umidade relativa do ambiente, que se apresentou com uma média de 44,33 %, foi menor do que a apresentada no capítulo 2 (72 %).

A temperatura constatada nas caixas térmicas foi de -0,5 °C, sendo possível manter a temperatura ideal (0 °C) para hipotermia dos peixes durante o transporte até o local de processamento, garantindo o afirmado por Galvão et al. (2006), que quanto menor a temperatura utilizada durante o transporte, maior será o frescor do pescado.

Para Fellows (2006), o resfriamento é a operação unitária na qual a temperatura do alimento é reduzida entre -1 °C e 8 °C. É usada para reduzir as taxas de variações biológicas e, assim, prolongar a vida útil de alimentos frescos e processados. Com esse procedimento mudanças mínimas nas características sensoriais e nas propriedades nutricionais dos alimentos são observadas e, como resultado, os alimentos resfriados são percebidos pelos consumidores como convenientes, fáceis de preparar, de alta qualidade, “saudáveis”, “naturais” e “frescos”.

O resfriamento deve ser feito logo após o abate, para manter a qualidade do músculo, como maciez, capacidade de retenção de água e cor; o músculo deve estar frio quando o pH se estabilizar. Pequenas alterações na temperatura podem ser efetivas no aumento da vida útil, além de evitar ou retardar as reações químico-enzimáticas envolvidas na autólise como também, o desenvolvimento de microrganismos que contribuem para a deterioração do alimento (OGAWA; MAIA, 1999).

Dessa maneira, pode-se dizer que pelo fato de ter sido possível manter a temperatura das amostras em torno de 0 °C ao longo de todo o percurso de transporte, da fazenda até o local de processamento (ESALQ/USP) possibilitou minimizar problemas na qualidade da matéria-prima utilizada nesse experimento.

#### **4.3.3 Processamento mínimo das tilápias**

Os valores médios registrados para temperatura e umidade relativa do ambiente, durante o processamento mínimo dos peixes, na sala de manipulação foram de respectivamente: 14 °C e 51 %. Sendo estes valores menores do que os registrados no capítulo 3 (19,4 °C e 58 %, respectivamente).

Com isso, foi possível atender o recomendado para temperatura na área de manipulação (pré-preparo) de pescado, pela Portaria CVS 6/99 de 10 de março de 1999 (BRASIL, 1999) e pela ABERC – Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas (ABERC, 2003), de 12 a 18 °C.

O recomendado para o mercado interno de comercialização de produtos cárneos, é 15 °C, de acordo com Castillo (2007), sendo este requisito também atendido de forma satisfatória. Para atender às exigências do mercado de exportação seria necessário que a temperatura da sala de manipulação se mantivesse na faixa de 10 a 12° C, durante o processamento mínimo.

Para o monitoramento da temperatura interna da BOD, durante o armazenamento, foi possível encontrar o valor médio de 0,8 °C estando este valor dentro da variação desejada ( $1 \pm 1$  °C), (SOCCOL, 2002; SOCCOL et al., 2005). De acordo com Baruffaldi e Oliveira (1998), a estocagem a temperatura acima de 0 °C e até 15 °C resulta na conservação do alimento, pois retarda o crescimento microbiano e as atividades metabólicas *post-mortem* dos tecidos animais, controla as reações químicas deteriorativas, incluindo o escurecimento enzimático oxidativo, a

oxidação de lipídeos e alterações químicas associadas com a degradação de cor, além de controlar a autólise do pescado e de evitar perda de umidade e de nutrientes de alimentos em geral.

Para umidade relativa do ambiente interno da B.O.D. foi constatado um valor de 50 %, sendo este similar ao registrado no capítulo 3 (48,22%) deste trabalho. Novamente, esse baixo valor da umidade relativa do ambiente interno da BOD pode ter sido responsável pela ausência de líquido exsudado nas amostras MP, já que estas estavam cobertas com um filme plástico que apresentava alta permeabilidade e trocas de gases e vapor d'água com o ambiente.

Segundo Baruffaldi e Oliveira (1998), a perda de peso por secagem de um produto, ocasionada pelas baixas taxas de umidade relativa, além do aspecto econômico, deve também considerar aquele da aparência, uma vez que o produto seco poderá apresentar rachaduras, influenciando na qualidade e na perda de água através das soluções de continuidade criadas.

#### **4.3.3.1 Biometria e rendimento dos filés**

Segundo Macedo-Viegas e Souza (2004), poucos são os estudos relacionados às características morfométricas/biométricas e rendimento de filé de peixes de água doce no Brasil, havendo poucos dados que permitam comparar as espécies, avaliar fatores críticos e visualizar o potencial de industrialização. Esses dados são importantes, pois fornecem subsídios às indústrias de processamento e aos piscicultores que podem estimar sua produção econômica.

Os valores médios das medições biométricas dos peixes utilizados nos tratamentos foram 29,3; 11,2 e 7,5 cm, respectivamente para comprimento, largura e tamanho da cabeça.

As medidas de comprimento e largura dos peixes, assim como do tamanho das cabeças, foram tomadas a fim de se estabelecer um padrão de tamanho para as tilápias que devem ser destinadas a esse tipo de processamento mínimo.

Verificou-se que os valores médios encontrados nessa etapa do trabalho foram semelhantes aos valores apresentados pelos peixes utilizados no capítulo 2, que foram de 28,4 cm de comprimento, 11,2 cm de largura e 7,2 cm de tamanho da cabeça. Assim como dos valores médios obtidos para no capítulo 3, a saber: de 28,7 cm de comprimento, 11,4 cm de largura e 6,9 cm de cabeça. O que pôde nos garantir uma padronização do tamanho das tilápias e, conseqüentemente, a não interferência desse fator nos resultados apresentados nos demais itens avaliados.



Souza et al. (2005) encontraram em experimento realizado com tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) valores médios de comprimento total dos peixes entre 30,87 a 33,35 cm. Para o tamanho da cabeça, os valores médios obtidos variaram de 7,97 a 8,76 cm; e para largura entre 9,35 a 10,45 cm. Tendo em vista que o peso médio dos peixes utilizados pelos autores estava na faixa de 556,82 a 731,16 g, e para rendimento em filé, na faixa de 38,54 a 40,47 %.

Os peixes inteiros apresentaram em média uma pesagem individual de 589,6 g ( $\pm 106,83$ ), e o peso médio dos filés obtidos foi de 176,2 g ( $\pm 32,19$ ). O valor médio obtido para o peso individual dos peixes foi maior do que os obtidos nos capítulos 2 (578,42 g,  $\pm 113,48$ ) e 3 (549,64 g,  $\pm 22,29$ ) deste trabalho. Contudo, o valor médio obtido para os filés foi menor do que o encontrado no capítulo 2 (183,08 g,  $\pm 34,91$ ) e menor do que o verificado no capítulo 3 (154,62 g,  $\pm 18,19$ ).

Para o rendimento em filé, foi obtido valor de 29,90 %, sendo este maior do que o obtido no capítulo 3 (28,22 %) e menor do obtido no capítulo 2 (30,34 %).

Todos esses valores são menores quando comparados aos encontrados por Boscolo et al. (2001) para tilápias tailandesa (33,37 a 37,47 %), e aos encontrados por Leonhardt et al. (2006), que relatou uma variação do rendimento em filés para diferentes linhagens de tilápia de 36,51 a 39,05 %.

Por outro lado, esses valores foram maiores daqueles obtidos por Simões et al. (2007), que encontraram um rendimento médio em filés, sem pele, de 16,43% para de tilápia tailandesa, na faixa de peso de 440-760 g, e 21,49 % em filés com pele em tilápias da mesma faixa de peso.

#### **4.3.4 Análises laboratoriais**

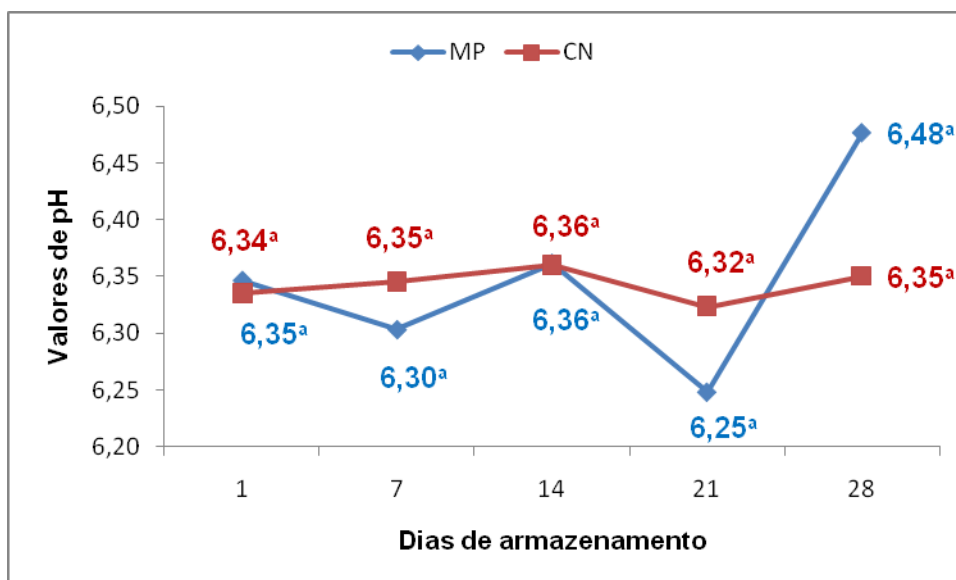
##### **4.3.4.1 Análises físico-químicas dos filés**

###### **4.3.4.1.1 Mensuração de pH**

A perda de frescor do pescado refrigerado é o reflexo da atividade de processos como mecanismos bioquímicos, químicos e microbiológicos (STONE; SIDEL, 1993). O pH final do pescado após a sua morte está relacionado com a quantidade de glicogênio disponível.

A queda do pH em pescado é rápida, se comparada com a carne bovina, pois a reserva de glicogênio é pequena e depende, entre outras coisas, das condições de pesca e da resistência do pescado durante o processo de captura (KAI; MORAES, 1988; OGAWA; MAIA, 1999).

Ao se avaliar os tratamentos MP e CN, não se encontrou, para análise de pH, uma diferença estatística significativa no que diz respeito ao fator tratamento ( $p= 0,6031$ ) e nem no fator armazenamento ( $p= 0,9580$ ), como mostra a Figura 63.



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5% pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 63 – Valores encontrados para pH nos diferentes tratamentos ao longo do período de armazenamento (médias)

Segundo o RIISPOA (BRASIL, 1952), o pH do músculo de pescado fresco deve ser inferior a 6,8, para carne externa, e 6,5 para carne interna. Observa-se que todos os valores obtidos ficaram dentro do recomendado pela legislação brasileira vigente, tendo o pH médio das amostras do tratamento MP variado de 6,35 (1 dia) a 6,48 (28 dias) e o valor médio das amostras do tratamento CN variado de 6,34 (1 dia) a 6,35 (28 dias). Embora não se tenha verificado diferença estatística significativa para o fator armazenamento, percebeu-se uma tendência ao acréscimo dos valores obtidos para pH, quanto maior foi período de armazenamento das amostras.

Em pescado recém capturado, o pH tende à neutralidade. Bello e Rivas (1992), encontraram para tambaquis (*Colossoma macropomum*), conservados a 0 °C e estressados pela captura, valores de pH de 6,69; 6,75 e 6,54. Kodaira; Tome e Perez (2001) encontraram valor de pH, no momento da captura, de 6,94 no híbrido de tambaqui (*Colossoma macropomum*), e Martinez-Valdivieso et al. (1998) observaram que o pH em “cachama híbrida” (*Piaractus*

*branchyomus*) mostrou-se constante entre 6,4 e 6,6, quando a amostra era imediatamente resfriada em gelo. Nair, Tharamani e Lahiry (1971) relataram que o pH de carpas (*Cyprinus carpio*) apresentaram-se praticamente constante entre 6,3 e 6,5 durante 36 dias de estocagem em gelo.

Segundo um estudo realizado por Sales et al (1988), os valores encontrados para o pH do músculo do pescado eviscerados, conservado em gelo, variaram de 6,70 a 7,08 para a tilápia (*Sarotherodon niloticus Dumeril*), 6,78 a 7,95 para o tucunaré (*Cichla ocellaris Schneider*) e 6,80 a 8,20 para a pescada do Piauí (*Plagioscion squamosissimus Heckel*), enquanto que, para o músculo do pescado inteiro submetido ao mesmo tratamento os valores do pH tiveram uma variação de 6,80 a 8,25 para a tilápia, 6,82 a 8,47 para o tucunaré e 6,85 a 8,60 para o pescada do Piauí. Durante as análises realizadas, foram evidenciados aumentos progressivos dos valores de pH de 5,9 a 6,7, respectivamente, no dia zero, logo após a captura, até o 28º dia de estocagem.

Com isso, verifica-se a existência de uma variação expressiva dos valores de pH apresentados em diferentes experimentos, dependendo do tempo e condições de armazenamento e dependendo da espécie estudada.

Como já descrito por Soares et al. (1998), que menciona que os valores encontrados para o pH variam conforme a espécie de pescado e o tipo de processamento. Estudos demonstram que os valores de pH variaram entre amostras de um mesmo tipo de peixe. O aumento do pH é afetado pela espécie do peixe, tipo e carga microbiana, métodos de captura, manuseio e armazenamento. Os altos valores de pH podem estar associados a particularidades de algumas espécies, como os cações, ricos em uréia, que podem apresentar um pH elevado pela ação de microrganismos ureáse positivos.

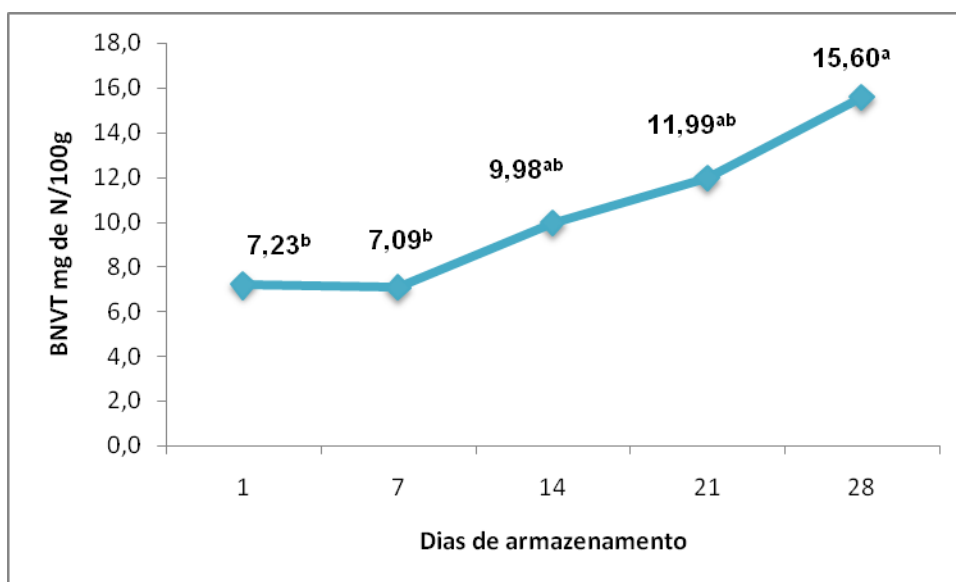
Além disso, de acordo com Ogawa e Maia (1999), o pH é um índice pouco preciso para avaliar o estado de frescor ou início de deterioração em pescado, pois este índice é variável entre as diferentes espécies e apresenta ciclos de flutuação durante a estocagem refrigerada.

#### **4.3.4.1.2 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)**

Para Morga (1975), as bases voláteis nitrogenadas ocorrem no músculo dos peixes, devido ao desdobramento das proteínas por ação enzimática e bacteriana, dando como produtos finais aminas, situando-se entre estas, substâncias voláteis simples. Estas aminas aumentam

progressivamente com a deterioração, sendo determinadas no tecido muscular sob a forma de base volátil total.

Para esta pesquisa, quando analisado o fator tratamento, não foi observado diferença estatística significativa ( $p= 0,2180$ ) entre os valores médios apresentados pelas amostras dos tratamentos MP e CN. Por sua vez, quando examinado o fator armazenamento os valores médios obtidos apresentaram diferença estatística significativa ( $p= 0,0234$ ) (Figura 64).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5% pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. Desvio padrão: 1 dia=0,21; 7 dias= 1,25; 14 dias=0,44; 21 dias=0,59; 28 dias= 4,80.

Figura 64 – Valores obtidos para BNV nos diferentes tratamentos realizados (média)

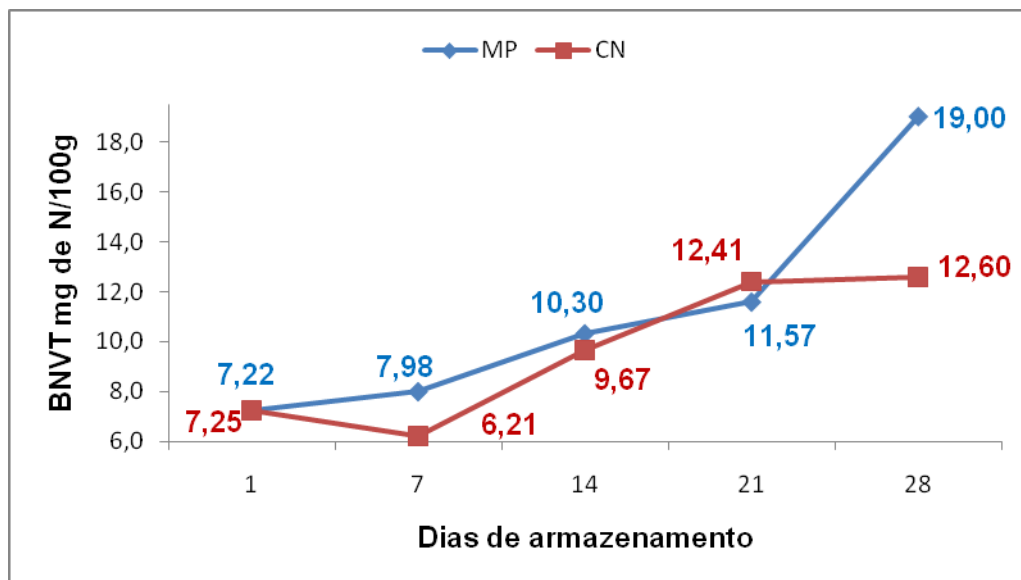
O acréscimo dos valores obtidos, ao longo do período de armazenamento, comprova o mencionado por Shewan (1962), que informa que ao longo da estocagem, o conteúdo das BNV aumenta progressivamente em função dos processos enzimáticos e microbianos sendo, assim, um valor útil na avaliação do frescor do pescado.

Todos os valores observados estão de acordo com os limites de tolerância da legislação brasileira vigente que estabelece o valor de 30 mg de N/100 g como limite máximo de BNV para pescado fresco (BRASIL, 1997), embora as amostras do tempo 28 dias de armazenamento tenham tido certa rejeição dos provadores da análise sensorial.

É mais coerente a classificação eleita por Ogawa e Maia (1999), que determina que para peixes com teores de BNV de até 15 a 25 mg de N/100 g, os mesmos se encontram com frescor

satisfatório. Os autores complementam informando que para teores que atinjam de 5 a 10 mg de N/100 g, os peixes podem ser considerados frescos. E no início da deterioração, este teor pode ir até 30 a 40 mg de N/100 g e, podendo atingir mais de 50 mg de N/100 g.

Os valores médios apresentados por cada tratamento, em cada dia de avaliação, podem ser verificados na Figura 65. Os valores médios apresentados pelas amostras do tratamento CN apresentaram menores valores em quase todos os tempos avaliados e, principalmente, no 28º dia (12,20 mg de N/100 g).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5 % pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem.

Figura 65 – Valores obtidos para BNV nos diferentes tratamentos realizados ao longo do período de armazenamento

Batista et al. (2004) analisando o músculo de matrinxã (*Brycon cephalus*) mantido em gelo, no 16º dia e no 29º dia de estocagem, encontraram valores de BNV de 19,0 mg N/100 g de músculo para o 16º dia e um aumento significativo no 29º dia atingindo os valores de 33,3mg N/100g de músculo. Portanto, os peixes do 29º foram considerados impróprios para o consumo, já que está previsto na legislação brasileira um limite máximo de 30,0mg de BNV por 100 g de músculo de peixe fresco.

Scherer et al. (2004), avaliaram os valores de BNV em carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*), armazenados em gelo clorado, e verificou que, neste tratamento, as bases nitrogenadas

voláteis totais foram inferiores em relação ao controle até o 5º dia de armazenamento. Depois do 8º dia observou-se um atenuado aumento nos valores de BNVT, não ultrapassando os valores de 30 mg de N/100 g preconizado pela legislação.

Velloso (2004), analisando valores de BNVT em filés de tilapia (*Oreochromis niloticus*), observou aumento gradativo durante a estocagem, atingindo os valores de 23,94 mg de N/100g no 12º dia, e no 14º e 15º dias, os índices subiram para 31,50 mg de N/100g e 34,02 mg de N/100 g, respectivamente.

Siqueira (2001) avaliando os valores de BNVT em tilápia (*Oreochromis niloticus*) irradiada e não irradiada armazenada sob refrigeração, encontrou diferença entre os peixes irradiados para os não irradiados, sendo que os teores encontrados na tilápia não irradiada foram de 27,40; 98,23; 258,56 mg de N/ 100 g de músculo, para os períodos de 1, 20 e 30 dias, respectivamente, armazenados sob refrigeração. Já as amostras irradiadas apresentaram teores de 27,66; 30,7; 86,83 mg de N/100 g de músculo, para as amostras irradiadas a 1,0 kGy, e 24,80; 43,0; 44,73 mg de N/100 g para as amostras irradiadas a 2,2 kGy, nos períodos 1, 20 e 30 dias. Entretanto, houve diferença dos valores de BNVT encontrados para as amostras irradiadas a 5,0 kGy, variando entre 16,20; 11,57; 10,17 mg de N/100 g de músculo, nos mesmo períodos.

De acordo com Kirshnik e Viegas (2004), a elevação do pH muscular é acompanhada pelo aumento do BNVT. O aumento do pH, segundo Franco e Landgraf (1996), resulta da utilização das substâncias nitrogenadas não protéicas, por exemplo, BNVT, aminoácidos livres, ácido úrico e uréia, dependendo da espécie.

A metodologia de BNVT apresenta alguns inconvenientes, assim, o seu conteúdo é baixo durante o período de armazenamento do pescado, e somente quando o mesmo está perto da rejeição o conteúdo de BNVT aumenta rapidamente. Em outras palavras, os valores de BNVT não podem ser utilizados para estimar o grau de frescor das primeiras etapas do armazenamento, mas sim nas últimas etapas para a avaliação do grau de deterioração (HUSS, 1988; CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Apesar dos vários estudos que existem a respeito de determinação de qualidade por índices físico-químicos em pescado, não existe uma resposta que seja satisfatória para determinar frescor em pescado. Também não existe concordância entre os autores de qual seria uma provável principal alteração ocorrida durante o processo de deterioração (YOKOYAMA, 2007).

Além das diferenças existentes entre os resultados das análises de frescor apresentados para cada espécie de pescado, ainda há as diferenças apresentadas pelos métodos de avaliação, que não apresentam nenhum tipo de padronização ou regularidade entre eles.

A determinação de BNVT é um método relativamente simples, comumente usado para avaliar a qualidade de frescor de pescado. No entanto, diferentes métodos são usados para determinar o BNVT. Nove diferentes laboratórios na Europa usam seis diferentes metodologias para determinar BNVT. Contudo, cada metodologia, provavelmente, apresenta suas próprias particularidades quanto a detecção da deterioração. Na verdade, quando um único método foi usado nos nove diferentes laboratórios na Europa, diferenças significativas entre os laboratórios foram observadas. Acredita-se que a causa dessas diferenças significativas deve-se a pequenas diferenças no tipo de aparelho usado e pequenas diferenças no método de operação (SHAHIDI; BOTTA, 1994). Antonacopoulous e Vyncke, em 1989, conduziram um estudo detalhado da metodologia de BNVT e concluíram que: a) a metodologia de BNVT é um método de rotina que somente deve ser usado para determinar se o pescado está apropriado ou inapropriado para o consumo humano; b) a identificação dos primeiros estágios de frescor não é possível com o BNVT; c) a determinação do BNVT por destilação direta em peixes é conveniente como um método de determinação da comercialização desse produto por ser simples, rápido e econômico (BOTTA, 1994).

Sendo assim, é premente a padronização dessas metodologias de frescor (pH e BNVT) recomendadas pela legislação brasileira, no que diz respeito a sua eficiência para determinar ou não o frescor de pescado.

#### **4.2.4.1.3 Composição centesimal e valor calórico**

Para todos os tratamentos foi realizada a análise de composição centesimal, e os resultados podem ser observados na Tabela 27.

Tabela 27 – Composição centesimal média (em g/100 g) dos filés de tilápias submetidas a diferentes tratamentos

Tratamentos	Umidade					Média
	1	7	14	21	28	
MP	77,04 <sup>a</sup>	77,02 <sup>a</sup>	76,80 <sup>a</sup>	77,10 <sup>a</sup>	76,62 <sup>a</sup>	<b>76,92<sup>b</sup></b>
CN	77,84 <sup>a</sup>	77,18 <sup>a</sup>	77,30 <sup>a</sup>	77,19 <sup>a</sup>	77,41 <sup>a</sup>	<b>77,38<sup>a</sup></b>
	Proteína					
MP	18,67 <sup>a</sup>	18,93 <sup>a</sup>	18,13 <sup>a</sup>	19,01 <sup>a</sup>	19,63 <sup>a</sup>	<b>18,87<sup>a</sup></b>
CN	17,98 <sup>a</sup>	18,74 <sup>a</sup>	18,76 <sup>a</sup>	18,69 <sup>a</sup>	18,39 <sup>a</sup>	<b>18,50<sup>a</sup></b>
	Lipídeo					
MP	2,47 <sup>a</sup>	2,39 <sup>a</sup>	2,47 <sup>a</sup>	2,53 <sup>a</sup>	1,78 <sup>a</sup>	<b>2,33<sup>a</sup></b>
CN	2,16 <sup>a</sup>	2,42 <sup>a</sup>	2,55 <sup>a</sup>	2,81 <sup>a</sup>	2,45 <sup>a</sup>	<b>2,48<sup>a</sup></b>
	Cinza					
MP	1,00 <sup>a</sup>	1,04 <sup>a</sup>	1,05 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	1,10 <sup>a</sup>	<b>1,05<sup>a</sup></b>
CN	0,93 <sup>a</sup>	1,00 <sup>a</sup>	0,99 <sup>a</sup>	0,95 <sup>a</sup>	0,96 <sup>a</sup>	<b>0,97<sup>b</sup></b>
	Carboidrato					
MP	0,82 <sup>a</sup>	0,62 <sup>a</sup>	1,49 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	<b>0,82<sup>a</sup></b>
CN	1,08 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>	0,44 <sup>a</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,83 <sup>a</sup>	<b>0,67<sup>a</sup></b>

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente a 5% pelo teste de Tukey. Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem. As diferenças entre os dias de armazenamento devem ser analisados na mesma linha de cada tratamento; e as diferenças entre os tratamentos devem ser avaliados, na vertical, na coluna “média”. Para o fator tratamento, na variável umidade:  $p=0,0358$ ; proteína:  $p=0,3033$ ; lipídeos:  $p=0,2978$ ; cinza:  $p=0,0098$ ; carboidrato:  $p=0,5489$ . Para o fator armazenamento, na variável umidade:  $p=0,4945$ ; proteína:  $p=0,6456$ ; lipídeos:  $p=0,6968$ ; cinza:  $p=0,2531$ ; carboidrato:  $p=0,3412$ .

Não foi detectada diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) nos valores médios obtidos ao longo do tempo de armazenamento de cada tratamento, para as análises realizadas.

Por outro lado, para as análises de umidade ( $p=0,0358$ ) e cinza ( $p=0,0098$ ), foi observado diferenças relevantes entre os tratamentos testados. No que se refere a umidade, o fato deve ter ocorrido por causa das diferentes embalagens utilizadas, nota-se que o valor médio obtido para as amostras do tratamento MP foram menores do que para as do tratamento CN, provavelmente, pela maior permeabilidade que esse tipo de embalagem apresenta.

Já no que se refere à análise de composição mineral (cinza), os valores médios apresentados pelas amostras do tratamento MP foram maiores do que os observados para as do tratamento CN. Todavia, os valores médios apresentados pelas amostras de cada tratamento estão de acordo com os valores encontrados na literatura. Contreras-Guzmán (1994) relata que a fração de cinza em peixes de água doce apresenta variações em quantidades que vão de 0,90 a 3,39 g/100 g. Com relação aos minerais, a carne de pescado é considerada uma fonte valiosa de cálcio



e fósforo particularmente, apresentando também quantidades razoáveis de sódio, potássio, manganês, cobre, cobalto, zinco, ferro e iodo.

Segundo Beirão et al. (2000), a composição da carne comestível de peixes, crustáceos e moluscos varia entre 70 e 85 g/100 g de umidade, 20 a 25 g/100 g de proteína, 1 a 10 g/100 g de lipídeo, e 1 a 1,5 g/100 g de cinza ou minerais. Porém essa composição é altamente variável de espécie para espécie de peixe, bem como conforme a sazonalidade, idade, parte do corpo, pré ou pós-desova e as condições nutricionais.

Os valores obtidos para o teor calórico das amostras foram: 99,73 Kcal (MP); e 99 Kcal (CN). Valores, estes, que podem ser considerados baixo, quando comparados a outros tipos de carnes, como exemplificado por Torres et al. (2000) que, em uma pesquisa sobre valor calórico de alimentos de origem animal, encontraram para a mesma porção (g/100 g) de coxa de frango sem osso um valor calórico de 156 Kcal, e contra-filé bovino 192 Kcal.

#### **4.3.4.2 Análises microbiológicas dos filés.**

##### **4.3.4.2.1 Microrganismos mesófilos**

As bactérias mesófilas são consideradas como índice de sanidade, e sua ausência indica que a manipulação e as condições de conservação foram adequadas (LIRA et al., 2001).

As contagens de aeróbios mesófilos não são bons indicadores da segurança em muitos exemplos, pois não necessariamente estão correlacionadas com a presença de patógenos e/ou toxinas. A existência de uma baixa contagem não demonstra um produto ou ingrediente livres de patógenos e/ou toxinas. Apesar disso, os produtos ou ingredientes com altas contagens podem ser potencialmente perigosos à saúde (MORTON, 2001).

Na Figura 66, estão representados os resultados em log UFC/g obtidos para análise de microrganismos mesófilos nessa fase da pesquisa. Estatisticamente, verifica-se que não houve diferença significativa para o fator tratamento ( $p= 0,6584$ ) e nem para o fator armazenamento ( $p= 0,5748$ ) entre os valores médios obtidos.

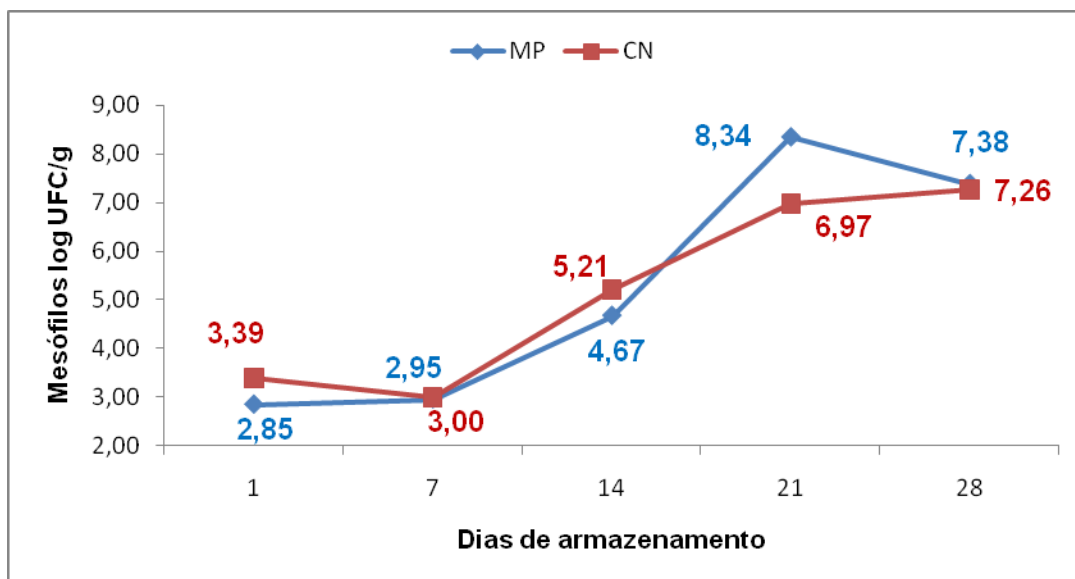


Figura 66 – Contagem de microrganismos mesófilos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos a diferentes tratamentos ao longo de 28 dias de armazenamento (médias)

Embora a legislação brasileira não estabeleça limites para microrganismos mesófilos e psicrotróficos, populações elevadas podem reduzir a vida útil do pescado (KIRSCHINK; VIEGAS, 2004). A *International Commission on Microbiological Specification for Foods* – ICMSF estabelece o limite de 7 log UFC/g para contagem padrão em placas de microrganismos aeróbicos (ICMSF, 1998).

Com isso, pode-se dizer que, no tratamento MP as amostras avaliadas nos tempos 21 e 28 dias de armazenamento estariam impróprias para o consumo, assim como as amostras no tempo de 28 dias de armazenamento do tratamento CN (Figura 66).

Segundo Franco e Landgraf (1996), nas temperaturas de refrigeração inferiores a 10 °C, os microrganismos mesófilos não se desenvolvem, nessa pesquisa foram observados menores contagens para os microrganismos mesófilos com relação aos psicrotróficos, já que a temperatura de armazenamento se manteve em média a 0,8 °C.

Librelato e Shikida (2005), avaliando filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) comercializados em Toledo/SP, encontraram contagens de  $1,3 \times 10^4$  a  $1,5 \times 10^4$  UFC/g para microrganismos mesófilos em suas amostras. Neste trabalho, valores de  $10^4$  só foram verificados a partir do 14º dia de armazenamento.

Martins, Vaz e Minozzo (2002) com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do pescado recém-capturado (filé de tilápia - *Oreochromis niloticus*, e carpa - *Cyprinus carpio*, eviscerada) comercializados nos “pesque-pague” de Toledo (PR), investigaram os grupos de microrganismos aeróbios mesofílicos, psicrotróficos, fungos e leveduras, coliformes totais, fecais e salmonela. Para os mesófilos a contagem nas amostras variou de  $1,7 \times 10^3$  a  $3,8 \times 10^5$  UFC/g para filé de tilápia.

Zúniga et al. (2005) objetivaram avaliar, através da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e determinação de pH, o estado de conservação da tilápia armazenada à temperatura de 0 °C, em diferentes tempos de estocagem. Os peixes apresentaram no 1º dia de armazenamento para bactérias mesófilas valores de 2,84 log UFC/g e no 20º dia 7,11 log UFC/g.

Pode ser observada uma interação entre os valores médios obtidos para análise de BNVT e contagens desse de mesófilos, como mostra a Figura 67. De acordo com Morga (1975) e Contreras (1994), o aumento de amônia pode se originar do desenvolvimento microbiano, além de outros fatores, como da ação das aminoidrolases sobre os nucleotídeos e hidrólise de uréia.

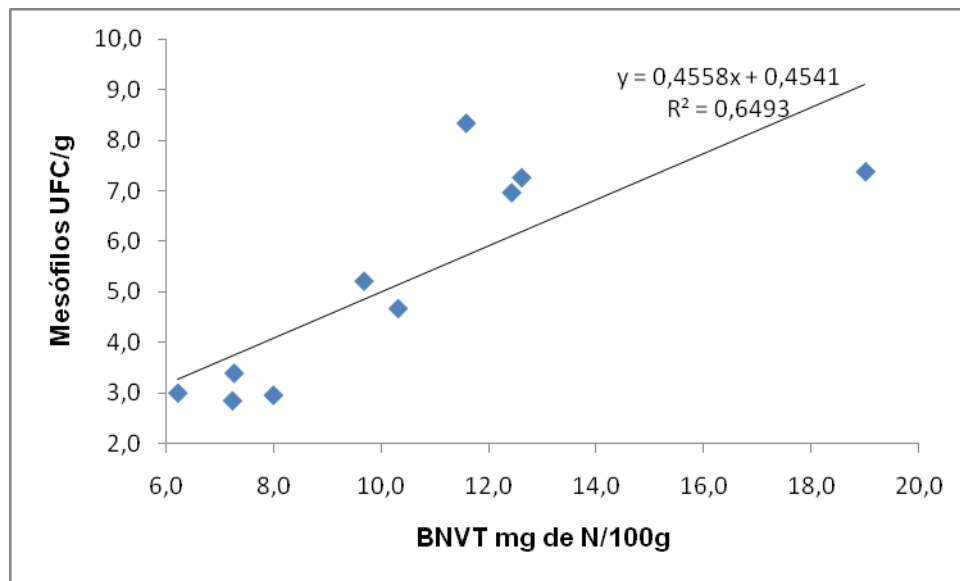


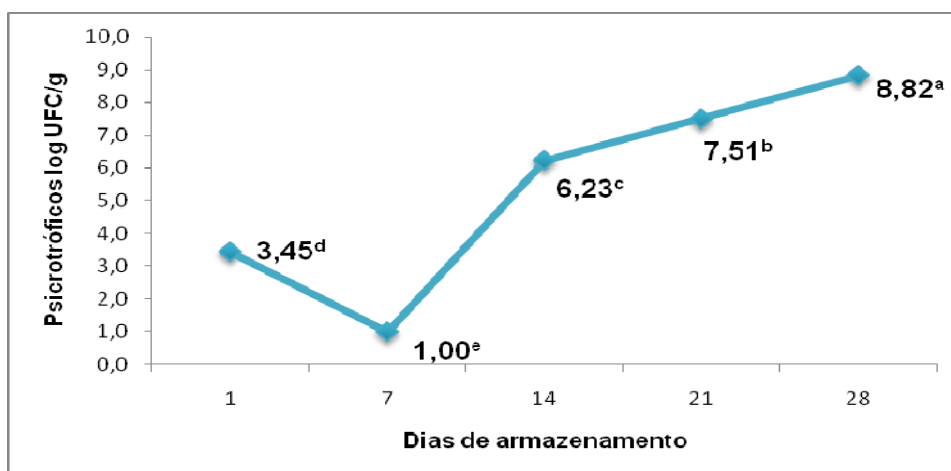
Figura 67 – Correlação entre os valores obtidos para BNVT e a contagem de microrganismos mesófilos (log UFC/g)

#### 4.3.4.2.2 Microrganismos psicrotróficos

As principais bactérias psicrotróficas estão distribuídas em vários gêneros, incluindo, cocos e bastonetes, esporogênicos e não esporogênicos, aeróbios e anaeróbios. As mais comuns em alimentos (produtos lácteos, cárneos, aves, peixes e frutos do mar) são espécies dos gêneros *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Chromobacterium*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Serratia*, *Shewanella*, *Streptococcus* e *Weissella* (SILVA et al., 2007).

Levando-se em consideração o valor médio das contagens apresentadas para os microrganismos psicrotróficos, no que diz respeito ao fator tratamento não foi verificada diferença estatística significativa ( $p= 1,0000$ ) entre os tratamentos MP e CN.

No entanto, no que diz respeito ao fator armazenamento, verifica-se que houve diferença estatística significativa ( $p= 0,0018$ ) entre todos os resultados médios apresentados ao longo do período avaliado (Figura 68).



Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente ( $p>0,05$ ). Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem ( $p<0,05$ ).

Figura 68 – Contagem de microrganismos psicrotróficos (log UFC/g) em filés de tilápias submetidos ao armazenamento (médias)

Se considerarmos o limite de 7 log UFC/g recomendado pela ICMSF (ICMSF, 1998), as amostras dos tempos 21 e 28 dias de armazenamento estariam impróprias para o consumo. O 28º dia foi mantido, como padrão de extrapolação de armazenamento, para efeitos de comparação dos

resultados, visto que, em algumas análises desta pesquisa, o 14º dia de armazenamento ainda pôde ser considerado como satisfatório.

Quando os resultados foram analisados individualmente, observou-se que o crescimento dos microrganismos psicrotróficos foi constante ao longo do período de armazenamento e mostrou-se mais expressivo nas amostras do tratamento MP (Figura 69).

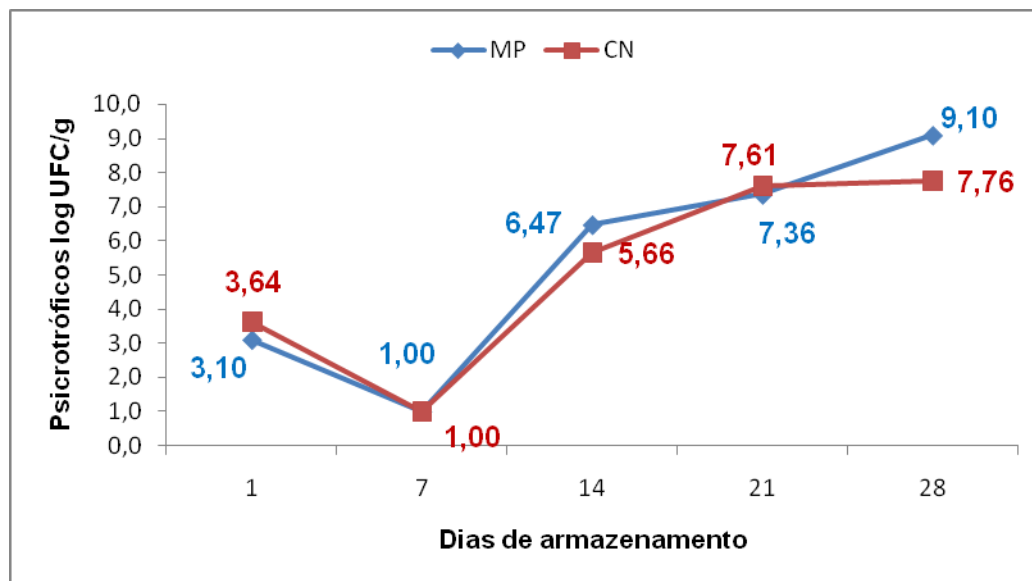


Figura 69 – Contagem de microrganismos psicrotróficos (log UFC/g) em amostras do tratamento MP e CN, ao longo do período de armazenamento

Além disso, notou-se que as amostras apresentaram maiores contagens para os microrganismos psicrotróficos do que para os mesófilos. Sob condições de refrigeração, há o favorecimento da microbiota psicrotrófica em relação à mesófila, porém, quanto mais baixa a temperatura, menor a velocidade de crescimento. De acordo com Franco e Landgraf (1996) essas bactérias utilizam para o seu desenvolvimento o nitrogênio não protéico e, uma vez esgotado, as bactérias passam a atuar sobre as proteínas ocasionando alterações mais profundas, como o amolecimento do músculo e o aumento de concentração de compostos de odor nauseante.

Isso pode ser comprovado durante a avaliação sensorial, quando nos tempos 21 e 28 dias de armazenamento os provadores deram menores notas ao atributo “aroma” para as amostras em questão, quando comparados as notas atribuídas as mesmas amostras nos primeiros dias de avaliação.

Librelato e Lopes-Shikida (2005), em uma avaliação de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) comercializados em Toledo/SP, encontraram contagens de  $8,0 \times 10^4$  a  $2,9 \times 10^5$  UFC/g para microrganismos psicrotróficos em suas amostras.

Em um estudo realizado por Cardoso, André e Serafini (2003), foi encontrado uma variação de  $1,6 \times 10^3$  a  $2,3 \times 10^7$  UFC/g de microrganismos psicrotróficos, em filés de peixe embalados e congelados.

Martins, Vaz e Minozzo (2002) com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do pescado recém-capturado (filé de tilápia – *Oreochromis niloticus*, e carpa - *Cyprinus carpio*, eviscerada) comercializado nos “pesque-pague” de Toledo (PR), investigaram grupos de microrganismos aeróbios dentre ele os psicrotróficos, o qual encontraram valores que variaram de  $1,0^3 \times 10^3$  a  $5,79 \times 10^5$  UFC/g para o filé de tilápia.

A interação entre as variáveis BNVT e contagem de microrganismos psicrotróficos apresentou-se diretamente proporcional (Figura 70), tendo os valores de BNVT elevados, com o aumento da contagem de psicrotróficos.

Segundo Contreras-Guzmán (1994), as BNVT são produzidas com maior velocidade pelas bactérias aeróbicas; porém, em períodos prolongados, as anaeróbias facultativas assumem importância, por isso pôde-se verificar elevadas contagens microbianas mesmo para as amostras embaladas a vácuo (CN), no 21º e 28º dias de armazenamento (Figura 70).

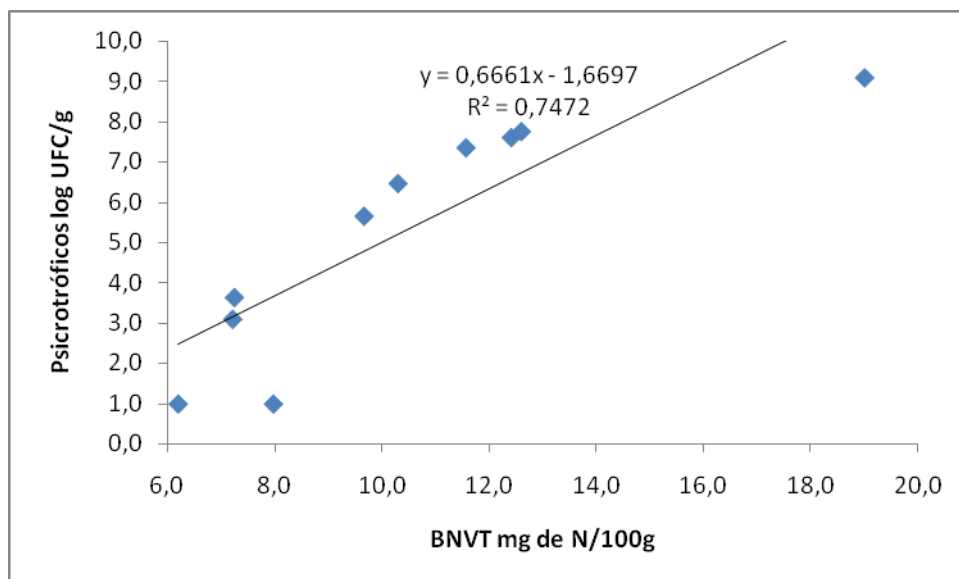


Figura 70 – Correlação entre BNVT e microrganismos psicrotróficos (log UFC/g)

#### 4.3.4.2.3 Coliformes totais e *E. coli*

O grupo de coliformes totais inclui as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 h a 35 °C. O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo, (HITCHINS et al., 1992; SILVA et al., 1997; HAJDENWURCEL, 1998).

Um número elevado de coliformes indicam que falhas higiênicas ao longo do processamento e armazenamento do produto ou deficiência do tratamento térmico, como pasteurização, já que não são organismos esporulados (HAJDENWURCEL, 1998).

Na Tabela 28 estão representados os resultados em NMP/g obtidos na contagem de coliformes totais.

Examinando os valores médios obtidos, verificou-se que os mesmos não apresentaram diferença estatística significativa para o fator tratamento ( $p= 0,2678$ ) e para o fator armazenamento ( $p=0,1013$ ).

Tabela 28 – Contagem de coliformes totais (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento

Dias	Tratamentos	
	MP	CN
1	<3,0 <sup>a</sup>	3,6 <sup>a</sup>
7	<3,0 <sup>a</sup>	7,4 <sup>a</sup>
14	2,4x 10 <sup>2a</sup>	2,3x 10 <sup>1a</sup>
21	<3,0 <sup>a</sup>	<3,0 <sup>a</sup>
28	<3,0 <sup>a</sup>	<3,0 <sup>a</sup>

Mesmo não havendo limites de tolerância estabelecidos na legislação brasileira atual para coliformes totais e *E. coli* em peixes *in natura* não consumidos crus, observa-se na RDC de número 12, de 02 de janeiro de 2001, limites de 10<sup>2</sup> UFC/g considerado como crítico para coliformes termotolerantes a 45° C em outros produtos a base de pescado, como produtos derivados de pescado (surimi e similares), refrigerados ou congelados, ou ainda, pescado pré-cozido, empanado ou não, refrigerado ou congelado (BRASIL, 2001), sendo esse valor um indicativo de problemas de contaminação. Sendo assim, verifica-se que somente as amostras do tratamento MP, analisadas no 14° dia de armazenamento, apresentaram contagens superiores a 10<sup>2</sup> UFC/g.

Machado (2002), estudando várias espécies de peixes, encontrou valores menores que 1,0 x 10<sup>1</sup> UFC/g para contagens de coliformes totais e também para coliformes fecais em peixes eviscerados frescos e congelados.

Librelato e Lopes-Shikida (2005), avaliando filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) comercializados em Toledo/SP, encontraram contagens de 2,3 a 15 NMP/g para coliformes totais e <3,0 NMP/g para *E. coli*.

Observam-se na Tabela 29 os resultados em NMP/g obtidos na contagem de *E.coli*.



Tabela 29 – Contagem de *E. coli* (NMP/g) em filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos ao longo do tempo de armazenamento

Dias	Tratamentos	
	MP	CN
1	<3,0 <sup>a</sup>	<3,0 <sup>a</sup>
7	<3,0 <sup>a</sup>	<3,0 <sup>a</sup>
14	3,6 <sup>b</sup>	3,6 <sup>b</sup>
21	<3,0 <sup>a</sup>	<3,0 <sup>a</sup>
28	<3,0 <sup>a</sup>	<3,0 <sup>a</sup>

Valores seguidos por letras iguais entre si não diferem estatisticamente ( $p>0,05$ ). Entretanto, valores seguidos por letras diferentes entre si, diferem ( $p<0,05$ ).

Da mesma forma que para as contagens de coliformes totais, os valores médios das contagens obtidos para análise de *E. coli* não apresentaram diferença estatística significativa para o fator tratamento ( $p>0,05$ ), contudo, apresentaram para o fator armazenamento ( $p<0,0001$ ). Sendo os valores médios obtidos no 14º dia de armazenamento os únicos que apresentaram discrepância entre os demais valores.

De modo geral, as amostras apresentaram baixas contagens (menor que  $10^2$  UFC/g) para *E. coli*, isso, provavelmente ocorreu devido ao processo de depuração, permitindo, assim, a limpeza do trato gastrointestinal e evitando, desse modo, a contaminação durante o abate, conforme também descrito por Soccol (2002).

Martins, Vaz e Minozzo (2002) com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) recém-capturada comercializado nos “pesque-pague” de Toledo (PR), investigaram microrganismos como coliformes totais e fecais. Os autores verificaram que 66,6 % dos filés de tilápia e 50 % das carpas evisceradas apresentaram valores acima do permitido pela legislação para coliformes fecais.

Outro fator relevante é a possibilidade da água de cultivo apresentar baixa contaminação por este tipo de bactéria, além da higiene apresentada pelos manipuladores, no que diz respeito ao manuseio das amostras e utensílios utilizados, durante o processamento e a realização das análises.

#### 4.3.4.2.4. *Staphylococcus aureus* coagulase positivo

Surtos de infecções alimentares, relacionados à manipulação inadequada de produtos pesqueiros, vêm aumentando a cada ano, no mundo inteiro. A bactéria *Staphylococcus aureus* é de

grande importância nesses surtos, uma vez que está diretamente relacionada aos efeitos causados ao consumidor, em virtude de se encontrar presente nas mãos e mucosas de manipuladores de alimentos (VIEIRA, 2003).

Como consequência direta da manipulação inadequada são apontados os *Streptococcus ssp.* e o *Staphylococcus aureus*, ambos de origem humana, presentes nas mucosas e superfícies da pele, como um dos principais contaminantes do pescado manipulado, pois encontram nele um ambiente favorável para sua multiplicação (GERMANO; GERMANO, 2001).

De acordo com Assumpção et al. (2003), o *Staphylococcus aureus* é responsável por um dos tipos mais frequentes de intoxicação alimentar. Durante sua multiplicação nesses produtos, cepas enterotoxigênicas da bactéria produzem toxinas termo-estáveis que causam náuseas, vômitos e diarreia quando ingeridas em quantidade suficiente. Cepas de outras espécies produtoras de coagulase e termonuclease do gênero *Staphylococcus*, como *S. hyicus* e *S. intermedius*, podem ser produtoras de toxina, razão pela qual é feita a pesquisa de estafilococos coagulase positiva (SC+) em alimentos.

As toxinfecções alimentares devem ser preocupação constante na indústria de alimentos, inclusive nas indústrias processadora de pescado, pois as possibilidades de contaminação da matéria-prima e do produto já elaborado são diversas, antes e após o processamento. Por essa razão, é de grande importância a identificação e o controle das etapas do processamento que possam comprometer a qualidade microbiológica do produto.

Verificou-se o valor  $<10$  UFC/g para a contagem de *S. aureus* coagulase positivo para as diferentes amostras (MP e CN) e tempos de armazenamento avaliados. Este valor está abaixo do limite de tolerância previstos na legislação que é de  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001).

Esse resultado foi mais um indicativo das boas condições microbiológicas da água de cultivo e de depuração dos peixes utilizados.

#### **4.3.4.2.5 Clostrídios sulfitos redutores**

Inúmeros agentes microbianos podem contaminar o pescado e causar riscos à saúde. Clostrídios sulfito redutores, por exemplo, podem ser encontrados nos peixes frescos ou congelados, nos frutos do mar e nos produtos industrializados. A maioria desses microrganismos está relacionada com a qualidade da água, principalmente do gelo utilizado na conservação, e/ou com os procedimentos pós-captura (GERMANO; GERMANO, 2001).

Sabe-se, entretanto, que a sua presença é uma indicação da possibilidade de existência de outras bactérias de mesma classificação, entretanto, mais perigosas, como o *Clostridium perfringens* ou o *Clostridium botulinum*, que podem causar diversos tipos de sintomas desconfortantes, sendo que este último, ainda pode causar seqüelas irreversíveis ou mesmo a morte de um indivíduo (SILVA et al., 2007).

Nos valores médios apresentados pelas amostras dos dois tratamentos testados e em todos os tempos de armazenamento avaliados foram não foram detectadas contagens para Clostrídios sulfito redutores (<10 UFC/g).

Na RDC de nº 12, de 02 de janeiro de 2001, atual legislação brasileira para padrões microbiológicos em alimentos, não há nenhuma especificação de limites de tolerância para microrganismos Clostrídios sulfito redutores em pescado *in natura*, no entanto, Machado (2002) estabelece como sendo crítico, para pescado, os valores iguais ou superiores a  $10^4$  UFC/g. Todas as contagens realizadas ficaram abaixo desse valor.

#### **4.3.4.2.6 *Salmonella* spp.**

As bactérias do gênero *Salmonella*, tanto as de origem humana, *S. typhi* e *S. paratyphi*, quanto as de origem animal, bem como as *Shigella* spp., são encontradas em águas poluídas por esgotos ou por excretas animais. Nestas circunstâncias, as ostras, os mexilhões e os mariscos são os mais susceptíveis a contaminação (GERMANO; GERMANO, 2001).

Uma ampla variedade de alimentos contaminados é associada às salmoneloses, incluindo carne bovina crua, aves domésticas, ovos, leites e derivados, peixes, camarões, pernas de rãs, fermentos, cocos, molhos e temperos para salada, misturas para bolo, sobremesas recheadas e cobertas com creme, gelatina desidratada, manteiga de amendoim, cacau e chocolates. A contaminação do alimento ocorre devido ao controle inadequado da temperatura, de práticas de manipulação ou por contaminação cruzada de alimentos crus com alimentos processados. O microrganismo se multiplica nos alimentos até atingir a dose infectante (FORSYTHE, 2002).

Em todas as amostras analisadas dos tratamentos de processamento mínimo aos quais os peixes foram submetidos, encontrou-se ausência em 25g para o microrganismo *Salmonella* spp. estando este resultado de acordo com a da legislação vigente (BRASIL, 2001).

Martins, Vaz e Minozzo (2002) com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) recém-capturada, comercializado nos “pesque-pague” de

Toledo (PR), investigaram a presença de salmonela, observando também ausência de desse microrganismo em 25 g de amostra.

Sendo assim, a ausência de *salmonella* nas amostras analisadas sugere que a realização do abate e transporte dos peixes, da mesma forma que, o processamento mínimo e embalagem dos filés foram realizados seguindo as orientações de boas práticas de fabricação.

#### 4.3.4.3. Análise sensorial

##### 4.3.4.3.1. Teste de aceitação

Para o teste de aceitação, foram entrevistados nas três redes de supermercado eleitas um total de 162 consumidores. Como pode ser observado na Figura 55, destes consumidores, 58 (36 %) foram homens e 104 (64 %) foram mulheres.

De acordo com Dutcofsky (1996), para que um produto seja considerado aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que se obtenha um índice mínimo de aceitabilidade de 70 %.

Com relação à aparência geral, houve uma ótima aceitação do produto por parte do consumidor, como mostra a Figura 71, pois 96,9 % dos entrevistados responderam que gostaram da mesma. Apenas 0,6 % dos entrevistados disseram ser indiferentes (não gostou nem desgostou) e 2,5 % dos entrevistados disseram não terem gostado da aparência geral do produto.

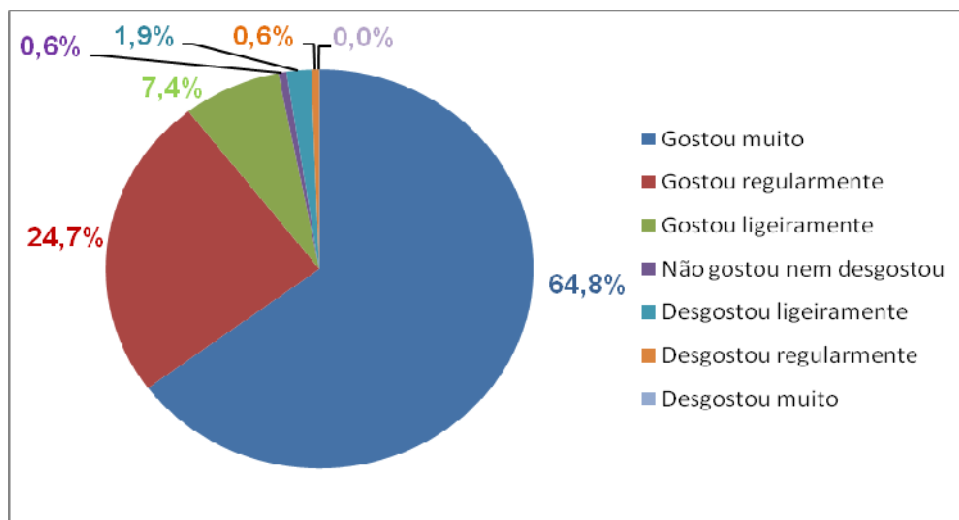


Figura 71 – Porcentagem estratificada da opinião dos consumidores sobre a embalagem, com relação à aparência geral

Segundo Maia et al. (2008), a aceitabilidade deve ser considerada como ótima quando esteve acima de 90 %, boa acima de 80 %, moderada acima de 70 % e, razoável acima de 60%.

Quando questionados sobre o quanto gostaram da embalagem do produto, com relação a quantidade sugerida para comercialização (2 filés por embalagem), a mesma obteve uma aceitação moderada por parte dos consumidores, uma vez que, 75,9 % dos entrevistados responderam ter gostado; 18,5 % não gostaram e 5,6 % dos entrevistados optaram pela respostas não gostei e nem desgostei e (Figura 72).

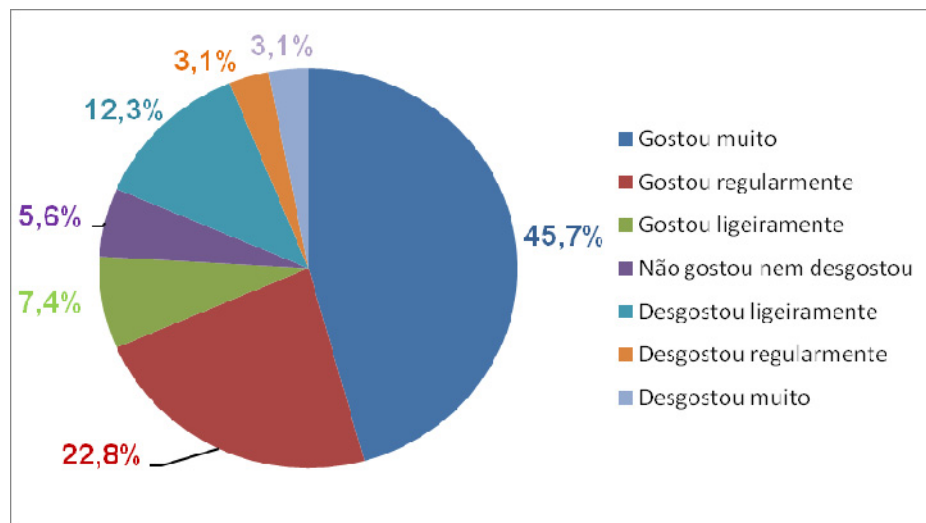


Figura 72 – Percentagem estratificada dos consumidores para opinião sobre a embalagem, com relação à quantidade de produto a ser comercializado

Da mesma forma, quando questionados sobre o quanto gostaram da cor do produto, sua aceitação pode ser considerada boa, já que a maioria disse ter gostado (88,9 %), e apenas 5 % disse não ter gostado e os demais 6,2 % foram indiferentes (não gostou nem desgostou) (Figura 73).

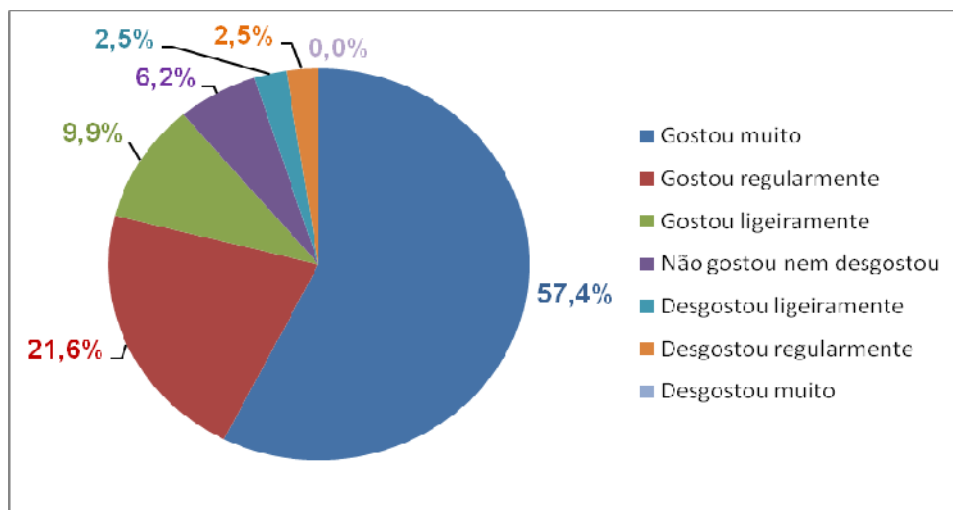


Figura 73 – Percentagem estratificada dos consumidores quanto a cor do produto

Na Tabela 30, podem-se observar os termos mais citados pelos consumidores entrevistados quando questionados sobre o que mais gostaram e o mais desgostaram no produto.

Quando mencionaram o *design* da embalagem para o item que mais gostaram geralmente foi em função da cor da embalagem, por ser atraente e garantir a inocuidade do produto. Entretanto, houve um pequeno número de pessoas mais conservadoras que disseram não ter gostado da embalagem justamente por esta ser mais ousada, eles prefeririam comprar o produto sem embalagem (direto no balcão do açougue, ou em embalagens tradicionais como as de isopor), pois teriam maior visibilidade do produto.

Tabela 30 – Termos mais citados pelos consumidores entrevistados

<b>Filés de tilápia minimamente processados, embalados a vácuo, refrigerados e rastreados</b>	
<b>Gostou mais de</b>	<i>design</i> da embalagem; quantidade de produto/embalagem; cor do produto; aparência de fresco; praticidade; conveniência; rastreabilidade; facilidade de armazenamento; aparência geral.
<b>Desgostou mais de</b>	<i>design</i> da embalagem; quantidade de produto/embalagem; cor do produto; tipo de peixe.

Pôde se averiguar que para o lançamento desse tipo de produto seria necessário um relativo investimento em *marketing* e propaganda, visto que nossa população nem sempre está aberta a inovações. E mais, ainda há falta de divulgação das novas tecnologias utilizadas pelas empresas alimentícias e pelo meio científico para a população em geral, pois esta, às vezes, prefere acreditar que uma embalagem, pode causar algum dano a qualidade do produto e não que ela tenha sido desenvolvida para servir de barreira a contaminações físicas, microbiológicas e químicas.

No que se refere a cor do produto, os consumidores que citaram não terem gostado da mesma justificaram preferir peixes de carnes mais vermelhas, fato que é questionável. Todavia, os que citaram ser a cor o maior atrativo do produto justificaram que ela acaba representando o frescor do mesmo.

Já para a questão da quantidade do produto na embalagem sugerida para a venda (2 filés), percebeu-se dualidade de opiniões. As pessoas que mencionaram ser esse o fator que mais gostaram no produto, geralmente, foram pessoas que moram sozinhas ou têm família pequena. Por outro lado, os entrevistados que se referiram ser um ponto negativo do produto o disseram, na maioria das vezes, por terem famílias muito grandes e por isso a quantidade se mostrar insuficiente para todos.

Sendo assim, em pesquisas futuras seria interessante focar o público a ser abordado na pesquisa de aceitação desse tipo de produto, uma vez que, o produto propõe justamente a praticidade e conveniência, ou seja, é para ser consumido imediatamente após a compra e por pessoas que querem justamente comprar em pequenas quantidades.

Para saber a disponibilidade de compra do produto, foi perguntado se os consumidores comprariam esse produto. Observa-se na Figura 74 que: 82,8 % estariam dispostos a comprá-lo, 6,5 % não compraria o produto. O restante, 9,9 %, indicou indecisão.

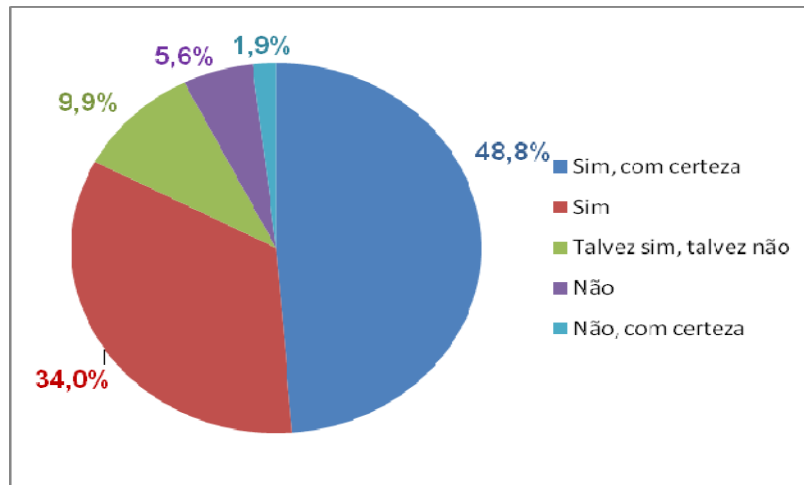


Figura 74 – Percentagem estratificada da opinião dos consumidores quanto à disponibilidade de compra do produto

Se considerarmos a possibilidade desse produto chegar ao mercado mais caro que outros semelhantes, a disposição de compra dos consumidores se alteraria, como pode ser verificado na Figura 75.

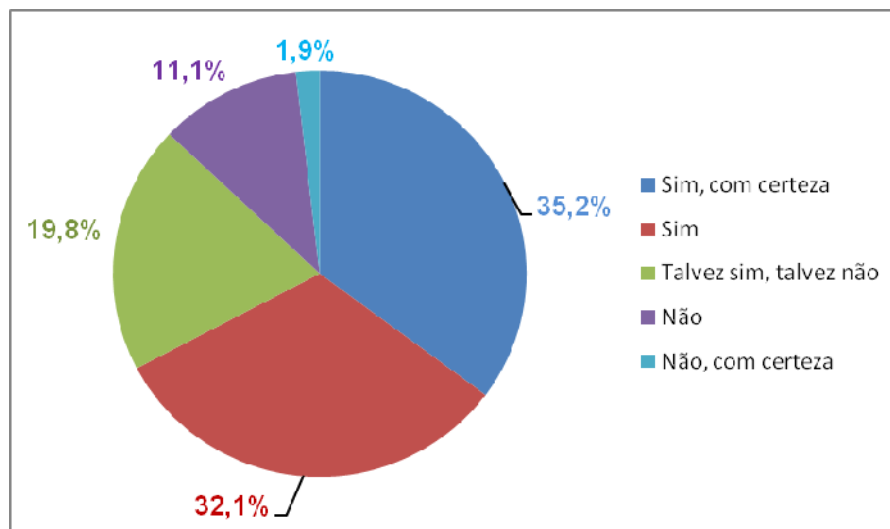


Figura 75 – Percentagem estratificada dos consumidores quanto a disponibilidade de compra caso o produto fosse mais caro que os semelhantes

Verifica-se, nesse caso, que apenas 67,3 % dos consumidores abordados comprariam o produto. Aumentando dessa forma o número de consumidores na incerteza se comprariam ou não



(19,8 %), e 13 % das pessoas disseram que não comprariam esse produto se ele custasse mais do que os convencionais; quase o dobro da porcentagem de respostas que não levaram em consideração o preço do produto.

E quando questionados do porquê sim ou do porquê não comprariam esse produto se esse fosse mais caro, as respostas positivas foram justificadas pela preferência da qualidade e garantia da procedência (rastreadibilidade) ao preço. As negativas, entretanto, se comentaram apenas pela não disponibilidade de pagar a mais pelo produto, sem justificativas.

#### 4.3.4.3.2 Teste de vida útil

Na Tabela 31, destaca-se que as médias dos atributos sensoriais avaliados foram apresentados englobando ambos os tratamentos, sendo que não houve diferença estatística significativa ( $0 > 0,5$ ) com exceção do atributo “volume de líquido exsudado”. No entanto, foi possível destacar que houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para os diferentes dias de armazenamento para todos os atributos, assim como para a interação entre as amostras, com exceção para o aroma característico.

Tabela 31 – Atributos sensoriais<sup>§</sup> de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) durante o armazenamento

Filé de tilápia	Dias de armazenamento	Cor característica	Volume de Líquido exsudado	Impressão global da aparência	Aroma característico
MP e CN	1	7,06 <sup>a</sup>	0,73 <sup>bc</sup>	7,17 <sup>a</sup>	7,33 <sup>a</sup>
	7	7,25 <sup>a</sup>	0,55 <sup>c</sup>	7,12 <sup>a</sup>	7,48 <sup>a</sup>
	14	4,51 <sup>bc</sup>	0,91 <sup>bc</sup>	6,59 <sup>a</sup>	5,84 <sup>b</sup>
	21	5,19 <sup>b</sup>	1,91 <sup>ab</sup>	4,59 <sup>b</sup>	4,10 <sup>c</sup>
	28	3,51 <sup>c</sup>	2,92 <sup>a</sup>	3,08 <sup>c</sup>	3,16 <sup>c</sup>
	F <sub>dias</sub>	24,71*	9,84*	37,85*	24,97*
	F <sub>amostra</sub>	1,87 <sup>ns</sup>	93,35*	2,52 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>
	F <sub>diasxamostra</sub>	23,08*	10,29*	5,96*	1,94 <sup>ns</sup>

<sup>§</sup> avaliados em escala não estruturada de 10 cm, cujos extremos um corresponderam a pouco e nove a muito

ns - não significativo

\* -  $p < 0,05$

Médias com letras diferentes, na vertical, diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Esse fato leva a considerar que os provadores tiveram um comportamento diferente entre si para os atributos onde houve interação. Em geral, um ou dois fatores contribuíram para isso: a

falta de padronização das escalas entre os mesmos ou a falta de um treinamento mais consistente, desde que foram consideradas como pessoas habilitadas para avaliação sensorial.

Mesmo assim, pôde-se notar que houve uma perda da qualidade para todos os atributos sensoriais, e que, pelas médias obtidas, numa escala não estruturada de 10 cm, os produtos para a “cor” e o “aroma característicos” teriam boa qualidade até sete dias de armazenamento.

Pelo “volume de líquido exsudado”, os produtos poderiam ser considerados com qualidade com até o 14º dia de armazenamento, assim como para a “impressão global” da aparência.

Na Tabela 32, fica evidente que para alguns atributos houve, em alguns casos, um comportamento diferente entre os provadores. Nos dados sensoriais pôde-se observar que a variabilidade aconteceu mais para a avaliação do “volume de líquido exsudado”, no tratamento CN em todos os tempos de armazenamento; para a avaliação da “cor característica”, no tratamento CN com 14 e 28 dias de armazenamento; e no aroma característico, em ambos os tratamentos com 28 dias de armazenamento.

Tabela 32 – Valores médios dos atributos sensoriais<sup>§</sup> de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) durante o armazenamento

Dias de armazenamento	Cor característica		Líquido exsudado		Impressão global da aparência		Aroma característico	
	MP	CN	MP	CN	MP	CN	MP	CN
0	7,10	7,03	0,01	1,44	7,27	7,07	7,54	7,13
7	7,74	6,76	0,11	0,99	7,44	6,80	7,87	7,10
14	7,20	1,82	0,00	1,59	7,09	6,10	6,16	5,53
21	4,29	6,10	0,00	3,81	3,67	5,51	3,40	4,80
28	2,20	4,83	0,01	5,83	2,04	4,11	2,51	3,80
F <sub>dias</sub>	24,71*		9,84*		37,85*		24,97*	
F <sub>amostra</sub>	1,87 <sup>ns</sup>		93,35*		2,52 <sup>ns</sup>		0,26 <sup>ns</sup>	
F <sub>diasamostra</sub>	23,08*		10,29*		5,96*		1,94 <sup>ns</sup>	

<sup>§</sup> avaliados em escala não estruturada de 10 cm, cujos extremos um corresponderam a pouco e nove a muito  
 ns - não significativo \* - p<0,05

Observando as médias separadamente, o tratamento MP manteve qualidade até 14 dias de armazenamento para os atributos de “cor característica”, “impressão global” da aparência e “aroma característico”, e até 28 dias para o “volume de líquido exsudado”.

Já para o tratamento CN, apenas a “impressão global” se comportou como no tratamento MP se mantendo com qualidade até com 14 dias; no caso da “cor característica” poderia se considerar até 21 dias, porém a sua média com 14 dias pode invalidar essa consideração; do mesmo modo o volume de líquido exsudado” que teve um comportamento, a princípio, inexplicável; finalmente o aroma característico só teve qualidade sensorial até 14 dias de armazenamento.

Esse desmembramento das médias explica melhor a qualidade de cada atributo que modificou totalmente as observações consideradas pela Tabela 32, pois a cor foi classificada com qualidade até o 7º dia de armazenamento, enquanto separadamente foram consideradas com qualidade com 14 e 21 dias, para MP e CN, respectivamente. Enquanto o “aroma característico” tinha sido avaliado com qualidade até com 7 dias, aqui, em ambos os tratamentos, mantiveram qualidade até 14 dias para MP e para CN. Pelo “volume de líquido exsudado”, os produtos poderiam ser considerados com qualidade com até 14 dias de armazenamento, sendo que separadamente, o tratamento MP conservou qualidade sensorial até 28 dias. O único atributo que teve sustentada sua qualidade para ambos os tratamentos separadamente ou juntas foi a “impressão global” da aparência com 14 dias de armazenamento.

Pela Figura 76 ficou evidente que o tratamento MP apresentou perda de qualidade linear à medida que aumentou o tempo de armazenamento, por outro lado, isso não aconteceu com o tratamento CN, principalmente considerando a média alcançada com 14 dias de armazenamento já discutida anteriormente.

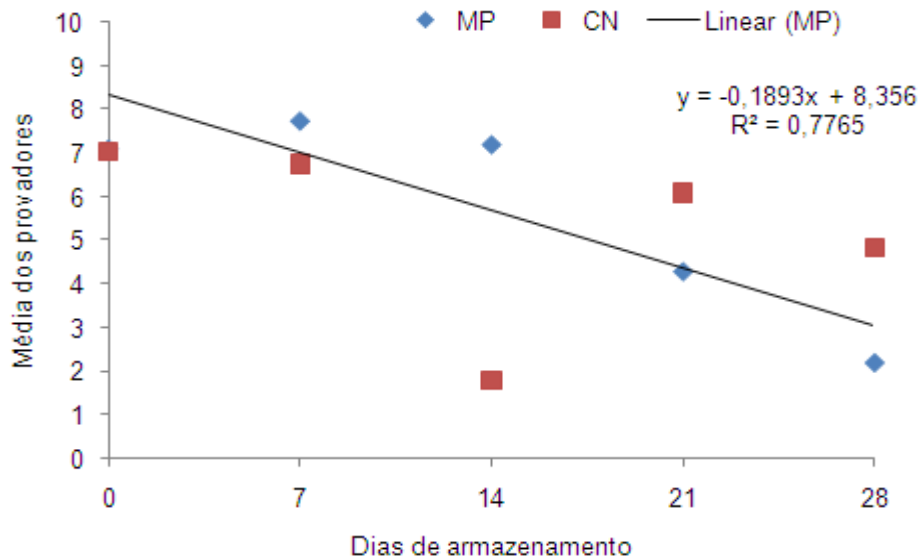


Figura 76 – Variação da cor característica de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento

Já para o “volume de líquido exsudado”, o tratamento CN foi aquele que mostrou uma perda sensorial de forma linear, aumentando com o tempo de armazenamento. O tratamento MP manteve-se sempre perto do valor zero não perdendo qualidade durante o armazenamento (Figura 77).

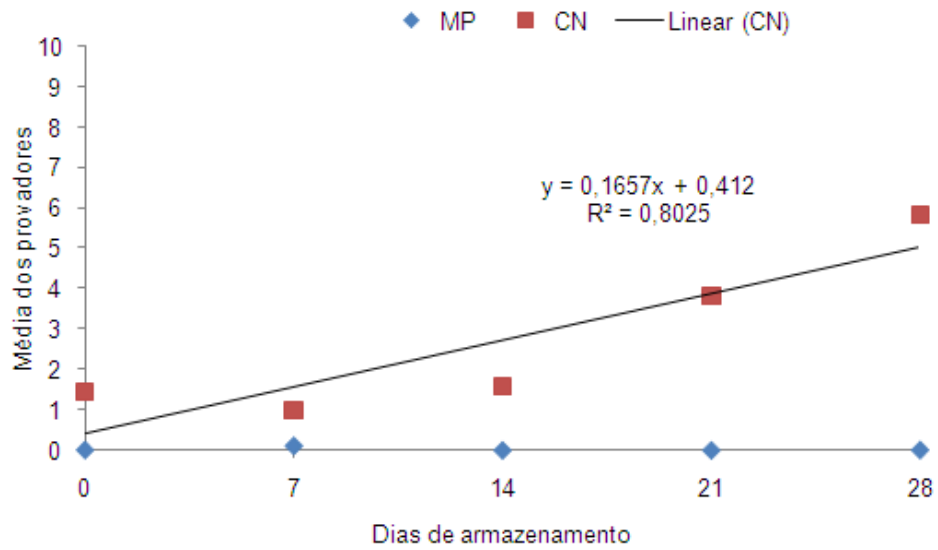


Figura 77 – Variação do líquido exudado de de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento

Também para a impressão global da aparência (Figura 78), embora os dois tratamentos tenham sua qualidade sensorial perdida, apenas a CN teve uma perda linear.

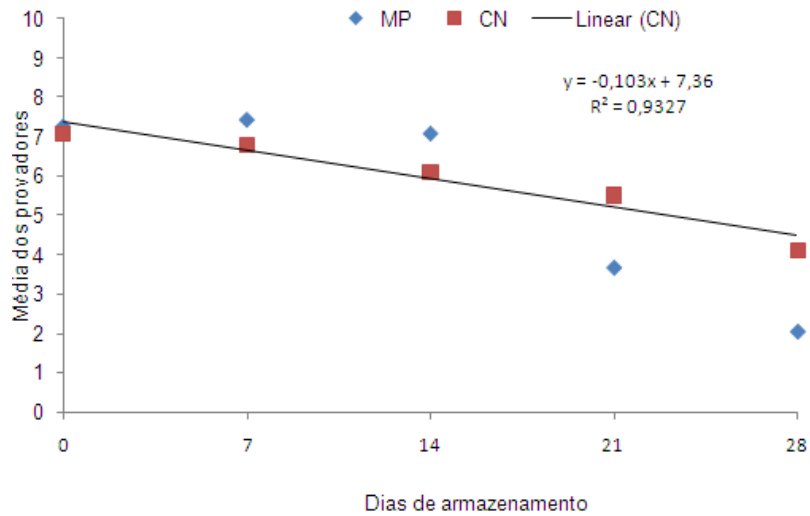


Figura 78 – Variação da impressão global da aparência de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento

O mesmo aconteceu com o aroma característico (Figura 79). Ambos os tratamentos perderam qualidade, porém, somente a CN foi linear.

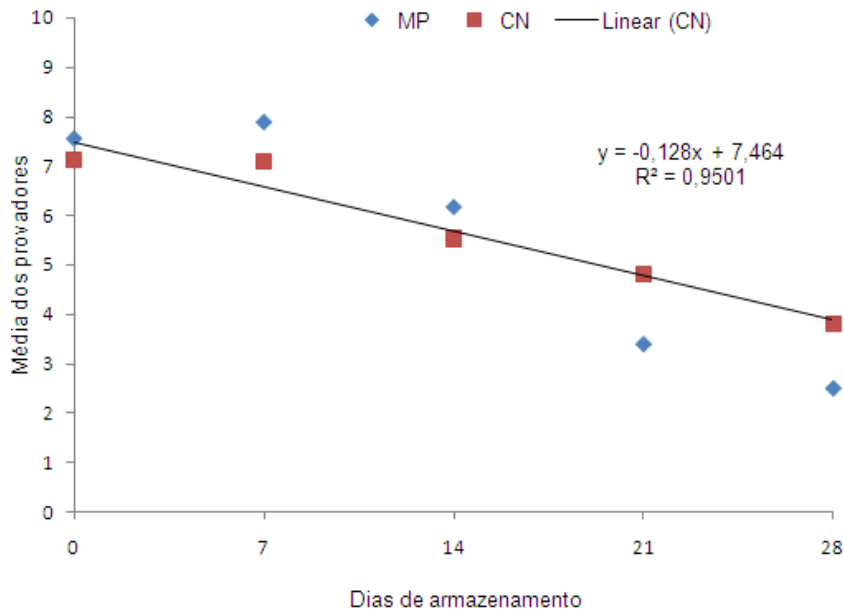


Figura 79 – Variação do aroma característico de filés de tilápia embalados em bandejas de isopor cobertos com papel filme (MP) e embalados na embalagem de nylon poli (CN) em função do armazenamento

### 4.3.5 Implantação da rastreabilidade

#### 4.3.5.1 Eleição dos melhores parâmetros e descrição do produto

Para padronização do fluxograma de produção, bem como a forma em que o produto deverá ser oferecido ao consumidor e de que forma o produto deverá ser consumido, foi estabelecido um modelo de Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) do produto, que pode ser observado a seguir. Sendo assim, baseado nos resultados apresentados nos capítulos 2, 3 e 4 desta pesquisa, além de outras referências obtidas na literatura, foram eleitos parâmetros como: o melhor tempo de depuração, limites críticos de frescor, composição centesimal, índices microbiológicos, além da definição da preferência do consumidor. Para a elaboração do PIQ levou-se em consideração mais de uma possibilidade de tipo de embalagem, baseando em Soccol (2002) e Soccol et al. (2005), e não apenas o melhor tratamento eleito nessa pesquisa.

**REGULAMENTO TÉCNICO DE PADRÃO, IDENTIDADE E QUALIDADE DE**  
**TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) MINIMAMENTE PROCESSADA (PIQ-TMP) –**  
**“MODELO”**

**1. Alcance**

**1.1 Objetivo**

Fixar os requisitos mínimos exigíveis que devem ser observados para a produção (processamento e embalagem), a identidade e a qualidade de tilápia resfriada (*Oreochromis niloticus*) minimamente processada.

**1.2 Âmbito de Aplicação**

O presente Regulamento se refere ao processamento mínimo de tilápias da espécie *Oreochromis niloticus* destinadas ao comércio nacional e internacional como produto alimentício de conveniência.

**2. Descrição**

**2.1 Definição**

2.1.1. Peixes. Entende-se por peixes os animais aquáticos de sangue frio. Excluem-se os mamíferos aquáticos, os animais invertebrados e os anfíbios.

2.1.2. Peixe Fresco: Entende-se por peixe fresco, o produto obtido de espécies saudáveis e de qualidade adequada ao consumo humano, convenientemente lavado e que seja conservado somente pelo resfriamento a uma temperatura próxima a do ponto de fusão do gelo.

2.1.3. Minimamente Processado: Entende-se por minimamente processado, o alimento fresco submetido ao beneficiamento que, no caso de peixes, geralmente, compreendem: lavagem dos peixes inteiros em água corrente clorada, descabeçamento, evisceração, despêliculamento, corte/filetagem, drenagem dos filés em peneiras de aço inoxidável e embalagem, tornando o produto resultante num produto de conveniência, de rápido preparo e alto valor agregado.

2.1.4. Depuração: Entende-se por depuração o processo que leva à diminuição dos microrganismos e substâncias deletérias no pescado. A eficácia desse processo depende do tipo de tanque e tempo de depuração; da temperatura, turbidez, oxigenação e salinidade da água; da espécie e condição fisiológica desta; da densidade de acondicionamento, do nível de contaminação inicial e do tipo de microrganismo a ser eliminado. Outro fator importante é a



circulação da água do tanque que evita a deposição de produtos fecais eliminados que poderiam recontaminar os peixes, além de resultar na queda dos níveis de oxigênio dissolvido na água.

2.1.5. Embalagens com Atmosfera Modificada (EAM): Entende-se por EAM, as embalagens nas quais há substituição do ar da embalagem por um gás ou uma mistura de gases, a qual difere da composição do ar, onde a proporção de cada componente é fixada e a mistura é introduzida, mas nenhum controle adicional é feito durante o período de armazenamento.

2.1.5.1. Os três principais gases utilizados, comercialmente, em embalagens sob atmosfera modificada são gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ), nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) e oxigênio ( $\text{O}_2$ ).

2.1.5.2. O  $\text{CO}_2$  é solúvel tanto em água como em lipídeos e é o principal responsável pelo efeito bacteriostático visto em embalagens sob atmosfera modificada.

2.1.5.3. O  $\text{N}_2$  é um gás insípido, inerte e com baixa solubilidade em água e em lipídeos. É usado para o deslocamento do  $\text{O}_2$  em embalagens, controlando o ranço oxidativo e inibindo o crescimento de microrganismos aeróbios. Por causa da sua baixa solubilidade é usado como gás preenchedor, prevenindo, assim, o colapso das embalagens que pode acontecer quando produtos acumulam  $\text{CO}_2$ .

2.1.5.4. O  $\text{O}_2$  geralmente estimula o crescimento de bactérias aeróbias e pode inibir o crescimento de bactérias estritamente anaeróbias, embora haja uma variação muito ampla na sensibilidade de anaeróbios ao  $\text{O}_2$ . A presença de  $\text{O}_2$  pode causar o ranço oxidativo em peixes com alto teor de lipídeos.

2.1.6. Embalagens a Vácuo: Entende-se por embalagens a vácuo aquelas em que o produto é colocado em um recipiente com baixa permeabilidade ao oxigênio, o ar é evacuado e a embalagem lacrada. A atmosfera gasosa da embalagem a vácuo é menor (2-5 %  $\text{O}_2$ ), e provavelmente é alterada durante o período de armazenamento.

## **2.2. Classificação**

O produto minimamente processado da tilápia classifica-se segundo sua forma de apresentação em:

2.2.1. Descabeçado, Descamado e Eviscerado: com exceção de rins e gônadas, sem nadadeira caudal.

2.2.2. Filé: músculo obtido ao cortar a peça inteira do peixe em sentido paralelo a coluna vertebral, desprovido de ossos da espinha dorsal, com ou sem pele.

2.2.3. Medalhão ou Posta: partes obtidas ao cortar as peças do peixe eviscerado em sentido perpendicular a sua espinha dorsal.

2.2.4. Outros: Permite-se qualquer outra forma de apresentação do produto sempre que: a) Distingam nitidamente as formas de apresentação antes descritas; b) Cumpram-se todos os demais requisitos do presente regulamento; c) Que esteja nitidamente identificado na embalagem para evitar erros, confusões ou fraudes.

### **2.3. Denominação de venda**

A tilápia minimamente processada deve ser denominada de acordo com o seu processamento e com sua embalagem, nos tipos seguintes:

❖ 2.3.1. Tilápia refrigerada minimamente processada embalada sob ar atmosférico: o produto deve ser acondicionado em bandejas de isopor (espuma de poliestileno a partir de resina de poliestileno virgem ou poliestileno de estileno; medida recomendada (largura x comprimento x espessura): 23,5 x 18,0 x 3,5 cm) envolvida por um filme plástico de PVC; em seguida proceder-se-á o selamento térmico da embalagem sob ar atmosférico e o acondicionamento sob refrigeração ( $1 \pm 1$  °C).

❖ 2.3.2. Tilápia refrigerada minimamente processada embalada a vácuo: o produto deve ser acondicionado em embalagens plásticas, preferencialmente de nylon poli, coextrusado liso, solda *pouch* laterais (alta permeabilidade ao vapor d'água; boa barreira a gases e aromas; resistência a óleos e gorduras; excelente resistência química; resistente a altas e baixas temperaturas; selagem sobre contaminantes (sangue, gordura, óleos, etc.); excelente resistência a tração, impacto e rasgamento; medida recomendada (largura x comprimento x espessura): 18 x 24 x 14 cm). Em seguida, deverá receber embalagem a vácuo, a 635 mm Hg, seguido de acondicionamento sob refrigeração ( $1 \pm 1$  °C).

2.3.3. Tilápia refrigerada minimamente processada embalada sob atmosfera modificada (EAM): o produto deve receber uma injeção de mistura gasosa na embalagem, contendo 60 % de CO<sub>2</sub> + 40 % de O<sub>2</sub>, na proporção 2:1 (gás/peixe), ou seja, 1000 mL da mistura gasosa para 500 g de peixe, em seladora a vácuo, automática, seguida de acondicionamento sob refrigeração.

2.3.4. Outros processamentos mínimos da tilápia: aqueles elaborados à base de peixes da espécie tilápia do Nilo, submetidas a outras preparações e agentes de conservação diferentes das anteriores, desde que aprovadas previamente pelo órgão competente.

### 3. Principais referências bibliográficas

3.1. AL-KAHTANI, H.A.; ABU-TARBOUSH, H.M.; BAJABER, A.S. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 61, n.4, p. 729-733, 1996.

3.2. BIATO, D.O. **Detecção de off flavor em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por meio de depuração e defumação**. 2005. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

3.3. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPA)**. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952.

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

3.5. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da vigilância sanitária. **Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997**.

3.6. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado)**. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Ministério da Agricultura, 1997.

3.7. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura.

3.8. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Portaria CVS – 6/99 de 10 de março de 1999**: regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos – DOU 12/03/99.

3.9. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001:** regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Brasília, 2001.

3.10. BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 40, de 21 de março de 2001:** regulamento técnico para rotulagem nutricional obrigatória de alimentos e bebidas embaladas. Brasília, 2001.

3.11. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA.** Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 2001.

3.12. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de conservas de peixe.** Portaria nº 63, de 13 de novembro de 2002. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2002.

3.13. FARBER, J. M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology – a review. **Journal of Food Protection**, v. 54, n.1, p. 58-70, 1991.

3.14. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. Pescados y productos derivados. In: \_\_\_\_\_. **Microorganismos de los alimentos:** ecología microbiana de los productos alimentarios. Zaragoza: Acribia, 1998. p. 121-166.

3.15. OETTERER, M. **Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado-unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos higiênicos e nutricionais.** 1999. 196 p. Tese (Livre-Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

3.16. OETTERER, M.; **Industrialização do pescado cultivado.** Guaíba: Agropecuária, 2002, 200p.

3.17. OGAWA, M.; MAIA, E. I. **Manual de pesca:** ciência e tecnologia do pescado. São Paulo: Varela, 1999. V.1, 430p.

3.18. REILLY, J. A.; BARILE, L.E. Depuration of farmed bivalves in the Philippines. **Infofish Marketing Digest**, v. 4, p. 44-46, 1987.

3.19. SAVAY DA SILVA, L. K.; RIGGO, R.; MARTINS, P.E.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopeneaus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, VII BMCFB. Preprint Series, n. 20, p. 138-144, dez 2008.

3.20. SILLIKER J.H.; WOLFE, S.K. Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meats. **Food Technology**, v.34, n.2, p.59-63, 1980.

3.21. SOCCOL, M. C. H. **Otimização da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. 2002. 124p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

3.22. SOCCOL, M.C.H.; OETTERER, M. GALLO, C.R.; SPOTO, M.H.F.; BIATO, D.O.; Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelflife of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.8, n.1, p. 7-15, jan/mar, 2005.

## **4. Composição e Requisitos**

### **4.1 Composição**

4.1.1. Ingredientes obrigatórios: Músculo de peixe da espécie tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

### **4.2. Requisitos**

4.2.1. As tilápias utilizadas para o processamento mínimo devem ser depuradas, durante o tempo mínimo de 24 h, dependendo das características físico-químicas e microbiológicas da água de cultivo, em taques de depuração anteriormente ao seu abate.

4.2.1.1. Temperatura do tanque de depuração: 19 a 32 °C.

4.2.1.2. Peso mínimo das tilápias: 500 g.

4.2.2.3. Medidas biométricas médias dos peixes: comprimento de 28,4 a 29,3 cm; largura de 11,2 a 11,4 cm; e tamanho da cabeça de 6,9 a 7,5 cm.

4.2.2. Características sensoriais:

4.2.2.1. Aparência: na avaliação sensorial o produto deve apresentar-se com todo o frescor da matéria-prima convenientemente conservada; deverá estar isento de toda e qualquer evidencia de decomposição, manchas por hematomas, coloração distinta à normal para a espécie considerada, incisões ou rupturas das superfícies externas.

4.2.2.2. Escamas: quando apresentado com escamas estas devem estar unidas entre si e fortemente aderidas à pele. Devem ser translúcidas e com brilho metálico. Não devem ser viscosas.

4.2.2.3. Pele: quando apresentados com pele esta deve estar úmida, tensa e bem aderida.

4.2.2.4. Músculos: quando se apresentar em forma de medalhão ou postas ou apenas descabeçado e eviscerado, os músculos devem estar aderidos aos ossos fortemente e de elasticidade marcante.

4.2.2.5. Quando o produto minimamente processado for composto apenas de peixes descabeçados, descamados e eviscerados: as unidades devem ser acondicionadas ordenadamente e a maioria contida em um mesmo recipiente deve ser de tamanho uniforme.

4.2.2.6. Quando o produto minimamente processado for composto apenas de filé de peixe: o filé de peixe deve estar isento de coágulos sangüíneos, escamas e ossos da coluna vertebral, com ou sem pele e acondicionados ordenadamente. A maioria das unidades contidas em um recipiente deve ser de tamanho uniforme, podendo ser adicionadas porções de filés de um tamanho menor para completar o peso líquido.

4.2.2.7. Quando o produto minimamente processado for composto apenas de medalhão ou posta: o medalhão ou posta deve estar livre de escamas, coágulos sangüíneos, guelras e vísceras.

4.2.2.8. A cor, odor, sabor e textura devem ser características da espécie tilápia (*Oreochromis niloticus*), do tipo e classe do produto, livre de descolorações, enegrecimentos, odores e sabores estranhos. Caso o produto contenha coluna vertebral e/ou espinha, devem ser de consistência friável.

4.2.3. Temperatura da área onde ocorrerá o processamento mínimo: 12 a 18 °C.

4.2.4. Prova de cocção: após o cozimento, o produto deve manter as características sensoriais próprias da espécie, sem sabor ou desprendimento de odor estranho ou desagradável.

4.2.4.1. Cocção do produto: os procedimentos a seguir descritos baseiam-se no cozimento de um ou dois pedaços de músculos do produto, com ou sem pele, de acordo a sua forma de apresentação, pesando pelo menos 100 g cada um, até uma temperatura interna igual ou maior que 70 °C.

4.2.4.1.1. Cocção em Forno: envolver amostras em folhas de papel alumínio e distribuir uniformemente em uma chapa plana ou um molde pouco profundo. Aquecer em um forno ventilado pré-aquecido a 200/204 °C, até que a temperatura interna do produto alcance 70 °C.

4.2.4.1.1. Cocção em Saco Plástico: colocar o produto em um saco plástico resistente à água fervente. Fechar a abertura do saco, submergi-lo em água fervendo e manter a cocção até que o produto chegue a 70 °C em seu interior.

4.2.4.1.1. Cocção ao vapor: envolver o produto em folhas de papel alumínio e colocá-lo sobre uma grelha metálica suspensa sobre a água fervente, em recipiente tampado, até que a temperatura interna do produto alcance os 70 °C.

4.2.4.1.1. Cocção em Forno de Microondas: colocar o produto em um recipiente apropriado para a cocção no microondas, até que a temperatura interna do produto alcance 70°C.

4.2.5. Parâmetros físico-químicos:

4.2.5.1. Bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT): Inferior a 15 mg de Nitrogênio/100g de músculo.

4.2.5.2. pH: inferior a 6,5 para carne interna do peixe fresco.

4.2.5.3. Reações ao ácido tiobarbitúrico (TBARS): Inferior a 3,0 mg de malonaldeído/Kg.

4.2.6. Parâmetros microbiológicos:

4.2.6.1. *Salmonella* spp. : ausência em 25 g. de peixe cru.

4.2.6.2. Coliformes fecais (*E. coli*): menor que 10<sup>2</sup> NMP.

4.2.6.3. *Staphylococcus aureus* coagulase positivo: menor que 10<sup>3</sup> UFC/g.

4.2.6.4.: *Vibrio Parahaemolyticus*: máximo de 5 x 10<sup>3</sup> UFC/g.

4.2.6.5.: Microrganismos mesófilos e psicrotróficos: menor que 10<sup>7</sup> UFC/g.

4.2.6.6. Clostrídios Sulfito redutores: menor que 10<sup>4</sup> UFC/g.

### **4.3. Acondicionamento**

4.3.1. Operação complementar ao beneficiamento destinada a proteger o produto minimamente processado e permitir o armazenamento sob refrigeração.

4.3.2. Os materiais que se empregam para acondicionar esse produto não deverão transmitir, ao mesmo, substâncias que alterem suas características próprias.

4.3.3. O acondicionamento deve ser feito de forma a seguir todas as condições higiênico-sanitárias necessárias.

4.3.4. O acondicionamento pode ser feito das seguintes formas:

4.3.4.1. Bandejas de poliestireno e envolvidos por um filme plástico sob ar atmosférico.

4.3.4.2. A vácuo.

4.3.4.3. Sob atmosfera modificada.

4.3.4. O armazenamento deve ser feito sob temperaturas de refrigeração (1 1 °C), durante o período de 14 dias ou 21 dias, dependendo da carga microbiana inicial da matéria-prima.

## **5. Aditivos e Coadjuvantes de Tecnologia/elaboração**

### **5.1. Aditivos**

De acordo com a legislação nacional, bem como as regulamentações estabelecidas no âmbito do MERCOSUL e *Codex Alimentarius*. Podem ser utilizados ácidos orgânicos, preferencialmente o ácido acético, como tratamento para acidificação do músculo em operação por imersão em solução de concentração menor que 1 % por 2 minutos, previamente ao embalamento.

### **5.2. Coadjuvantes de Tecnologia/elaboração**

Pode ser praticada a defumação a quente como coadjuvante de tecnologia/elaboração, após as operações de corte, sendo os peixes submetidos à salmouragem, pré-secagem e defumação.

## **6. Contaminantes**

Os contaminantes orgânicos e inorgânicos não devem estar presentes em quantidades superiores aos limites estabelecidos pela regulamentação vigente.

### **6.1. Conteúdo máximo de metais transição (valores máximos de referência):**

Tabela 33 – Conteúdo máximo de metais transição

<b>Contaminantes Inorgânicos</b>	<b>Limite máximo mg/Kg de produto final</b>
Arsênio	1,0
Cádmio	1,0
Estanho	250
Mercúrio	0,5
Chumbo	2,0



## **7. Higiene**

### **7.1.Considerações Gerais**

7.1.1. Deve ser obrigatória a implementação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle - APPCC em todas as indústrias onde são elaborados os produtos minimamente processados de tilápias, de acordo com a legislação vigente.

7.1.2. As práticas de higiene para elaboração do produto minimamente processado devem estar de acordo com o estabelecido nos seguintes Códigos de Práticas:

Código internacional recomendado para práticas e princípios gerais de higiene dos alimentos (CAC/VOL A - 1985).

Portaria n.º 368, de 04/09/97 - Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Elaboração para Estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de Alimentos - Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil.

Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (HACCP) e Diretrizes para sua Aplicação - Anexo CAC/RPC-1 (1969), Rev. 3 (1997).

Sistema de Análise de Riscos e Pontos Críticos na Indústria da Pesca: manual de procedimentos. Versão preliminar. SENAI/DN/DET, 1995. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Brasil.

Sistema de Análise de Riscos e Pontos Críticos na Indústria da Pesca: manual de auditoria. Versão preliminar. SENAI/DN/DET, 1995. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Brasil.

Portaria n.º 46, de 10/02/98 - Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) - Manual Genérico de Procedimentos. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Brasil.

7.1.3. Todo peixe da espécie tilápia do Nilo utilizado na elaboração de minimamente processados deve ter sido submetido aos processos de inspeção prescritos no RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal e no RTIQ para Peixe Fresco (Inteiro ou Eviscerado).

7.2. Critérios Macroscópicos e Microscópicos. O produto não deve conter materiais estranhos à sua composição.

7.3. Critérios Microbiológicos. Aplica-se a legislação vigente (RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001). O produto final deve estar isento de microrganismos capazes de se desenvolver nas condições normais de armazenagem, distribuição e comercialização, e não deve conter nenhuma outra substância, incluindo-se as derivadas de microrganismos, em quantidades que possam se constituir em perigo para a saúde do consumidor.

## **8. Pesos e Medidas**

Aplica-se o Regulamento MERCOSUL correspondente e/ou a legislação vigente.

## **9. Rotulagem**

9.1. Aplica-se o Regulamento MERCOSUL correspondente ou a regulamentação vigente (RDC nº 40, de 21 de março de 2001 – Rotulagem nutricional obrigatória).

9.2. O nome do produto que se deve declarar no rótulo será o nome vulgar ou comum da espécie, de acordo com a legislação vigente e o costume do local em que se venda o produto, de maneira que não se induza o consumidor a engano.

9.3. O rótulo obrigatoriamente deve conter impresso na língua do país onde o rótulo será comercializado, as seguintes indicações:

9.3.1. O nome do produto, conforme a forma de apresentação descrita no item 2.3 do presente regulamento, sendo:

- a) Tilápia refrigerada minimamente processada embalada sob ar atmosférico.
- b) Tilápia refrigerada minimamente processada embalada a vácuo.
- c) Tilápia refrigerada minimamente processada embalada sob atmosfera modificada.
- d) Adicionar os coadjuvantes se utilizados; acidificados e defumados.

9.3.2. Os caracteres usados para a impressão do nome do produto devem ser destacados e uniformes em corpo e cor sem intercalação de outros dizeres ou desenhos. A designação reconhecidamente aceita para a espécie deve apresentar-se abaixo do nome do produto ou em substituição do termo "Peixe".

9.3.3. A identificação do estabelecimento habilitado e registrado, de acordo com o regulamento do MERCOSUL, incluindo sua razão social e endereço.

9.3.4. São facultativas as seguintes indicações ou formas de indicação no rótulo:

9.3.4.1. A substituição do nome do produto conforme se descreve no item 9.2 do presente regulamento, pela indicação genérica de "Peixe Fresco Minimamente Processado" acompanhada do nome da espécie, e, muito próximo deste, se devem indicar também, no sistema" em quadriculas (entre parênteses), as formas de apresentação: DESCABEÇADO, DESCAMADO E EVISCERADO; FILÉS; MEDALHÃO OU POSTA e outras especificações.

## **10. Métodos de Análises**

Os métodos de análise recomendados são os indicados nos itens 4.2.2., 4.2.3., 4.2.4. e 4.2.5.

## **11. Amostragem**

11.1. A amostragem deve realizar-se de acordo com a Norma do *Codex Alimentarius* CAC/RM 42-1969, Planos de tomada de amostras para os Alimentos Pré-Embalados.

11.1.1. Plano de Amostragem do Codex - AQL - 6,5

Tabela 34 – Plano de amostragem do Codex

TAMANHO DO LOTE (UNIDADE)	NÍVEIS DE INSPEÇÃO I II	
	PESO LÍQUIDO IGUAL OU MENOR QUE 1 Kg	
	n c	n c
4.800 ou menos	6: 1	13: 2
4.801 a 24.000	13: 2	21: 3
24.001 a 48.000	21: 3	29: 4
48.001 a 84.000	29: 4	48: 6
84.001 a 144.000	48: 6	84: 9
144.001 a 240.000	84: 9	126: 13
mais de 240.000	126: 13	200: 19
	PESO LÍQUIDO MAIOR QUE 1 Kg, PORÉM INFERIOR A 4,5 Kg	
	n c	n c
2.400 ou menos	6: 1	13: 2
2.400- 15.000	13: 2	21: 3
15.001 - 24.000	21: 3	29: 4
24.001 - 42.000	29: 4	48: 6
42.001 - 72.000	48: 6	84: 9
72.001 - 120.000	84: 9	126: 13
mais do que 120.000	126: 13	200: 19
	PESO LÍQUIDO MAIOR QUE 4,5 Kg	
	n c	n c
600 ou menos	6: 1	13: 2
601 - 2.000	13: 2	21: 3
2.001 - 7.200	21: 3	29: 4
7.201 - 15.000	29: 4	48: 6
15.001 - 24.000	48: 6	84: 9
24.001 - 42.000	84: 9	126: 13
mais do que 42.000	126: 13	200: 19

(\*) n = número de amostras

(\*\*) c = número de amostras defeituosas toleráveis em um lote.

11.2. Considera-se "defeituosa" qualquer unidade que não cumpra com os requisitos indicados neste Regulamento Técnico.

11.3. Considera-se rejeitado o lote que não cumpra com os requisitos indicados no item 4.2. deste Regulamento Técnico.

#### 4.3.5.2 Ferramentas para garantia da qualidade

Entre os avanços mais significativos, da última década do século 20, está o conceito de inocuidade dos alimentos. Neste contexto, vários setores que abrigam autoridades governamentais, produtores agropecuários, transportadores de matéria-prima e produtos industrializados, desempenham um papel fundamental. As indústrias processadoras, atacadistas,

varejistas, universidades, empresas de comunicação social e consumidor, são responsáveis pela manutenção da inocuidade dos alimentos para que os mesmos não se transformem em produtos nocivos a saúde. Para isso ocorrer é necessário a implantação de um programa que garanta a qualidade da matéria-prima e do produto, tal como o APPCC. No entanto, para sua implantação, é preciso garantir o cumprimento de pré-requisitos como as BPF e PPHO (ALMEIDA, 1998).

As Boas Práticas de Fabricação (BPF), que é a ferramenta indispensável e pré-requisito para a implantação do APPCC, são um conjunto de normas empregadas em produtos, processos, serviços e edificações, visando a promoção e a certificação da qualidade e da segurança do alimento. No Brasil, as BPF são legalmente regidas pelas Portarias 1428/93-MS (BRASIL, 1993) e 326/97-SVS/MS (BRASIL, 1997). A qualidade da matéria-prima, a arquitetura dos equipamentos e das instalações, as condições higiênicas do ambiente de trabalho, as técnicas de manipulação dos alimentos, a saúde dos funcionários são fatores importantes a serem considerados na produção de alimentos seguros e de qualidade, devendo, portanto, serem considerados nas BPF. A avaliação dessas BPF em estabelecimentos de produção ou de comercialização de alimentos, por meio de utilização de questionários apropriados, é citada como subsídio para a implantação do sistema Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (QUEIROZ, et al., 2000).

Para a implantação das BPF em uma indústria processadora de pescado ou alimentos em geral, primeiramente faz-se necessário a elaboração de um Manual de BPF, no qual deverá constar todas as informações que comprovam a implantação das BPF na indústria. Essas informações devem ser verídicas e uma reprodução fiel da realidade da empresa. Esse manual deverá ser revisado periodicamente e atualizado todas às vezes em que houver alguma alteração no processo, na estrutura física ou organizacional da indústria.

A implantação de BPF's na indústria deverá se basear no treinamento de pessoal, monitoramento dos processos e registros. Ou seja, deverá haver um treinamento constante dos manipuladores de alimentos, operários das máquinas e direção para que todos estejam sincronizados para a produção de um produto final de qualidade. Isso só é possível mediante o entendimento de cada um desses colaboradores a respeito do seu papel individual, e coletivo, e de seus limites e espaços na indústria. O monitoramento dos processos, geração e armazenamento de dados será uma garantia da rastreabilidade do produto dentro da empresa, evitando-se, ou solucionando imediatamente, problemas no recebimento da matéria-prima, durante o

beneficiamento, e reclamações de clientes. Já os registros, são essenciais para a comprovação, elaboração e revisão do Manual de BPF e também para a rastreabilidade de eventuais problemas.

Antes da implantação das BPF's é preciso fazer um diagnóstico, através de uma lista de verificação, dos possíveis problemas que serão encontrados nessa indústria processadora de pescado, ou pode-se fazer um embasamento de problemas corriqueiros em indústrias semelhantes, já que a indústria em questão ainda não está em funcionamento. Esses problemas deverão abordar desde relacionamentos pessoais, estrutura física do estabelecimento, higiene pessoal operacional, ambiental e técnicas de manipulação aplicadas. Em seguida, uma equipe da empresa deverá elaborar um plano de ação para a solução das possíveis não conformidades encontradas, ou seja, aqueles itens que estão em desacordo com a legislação vigente. Baseando-se no plano de ação elaborado, a equipe deverá elaborar as instruções de trabalho (IT) e os procedimentos operacionais padronizados (POP's), incluindo os procedimentos padrões de higiene operacional (PPHO). Todos esses itens deverão ser transmitidos a todos os funcionários da indústria mediante treinamentos constantes (SILVA; FERNANDES, 2003).

Em linhas gerais, pode-se dizer que as etapas de implantação das Boas Práticas de Fabricação abordam (SILVA; FERNANDES, 2003):

1. Aspectos gerais de higiene pessoal e treinamento: todas as pessoas que trabalham na indústria principalmente as que têm contato com a matéria-prima, produtos acabados, embalagens e utensílios devem ser conscientizados da importância da higiene pessoal, do asseio e cuidado com a manipulação destes, higiene após o uso do banheiro e antes de se iniciar o contato com o produto – antes, durante e após o processo –, uso de adornos, e presença de pessoal não específico na área de processamento, etc., evitando-se possíveis contaminações físicas, químicas e/ou microbiológicas;
2. Aspectos gerais de projetos e instalações: deve-se tomar cuidado na escolha da localização das instalações, na construção do edifício (separação de área limpa e área suja por uma barreira física (parede), se possível), facilidade para limpeza e higienização, controle de pragas, separação de sanitários e vestiários (masculino e feminino), pisos (com inclinação para o ralo), paredes e janelas devem estar em conformidades com as normas da vigilância sanitária (sendo lisas e planas resistentes ao uso e a corrosão, impermeáveis e laváveis de cor clara ou branca,

facilitando a limpeza e higienização), facilitando o controle de pragas, evitando o acúmulo de sujeiras, e etc.

3. Aspectos gerais do beneficiamento: monitoramento da matéria-prima recebida, dos processos, do produto final, estocagem e distribuição, treinamento do pessoal da produção, o processamento deverá ter um único fluxo, não havendo contato do produto acabado coma matéria-prima, etc.;
4. Aspectos gerais de limpeza e sanificação: manutenção e higienização dos equipamentos, instalações e utensílios, uso de detergentes e sanificantes adequados (eficientes e que não agridam o meio ambiente) no tempo e temperatura suficientes para remover as sujidades,
5. Aspectos gerais de controle integrado de pragas: controle que pode ser de uma empresa terceirizada, que deverá combater as pragas do local de forma eficiente, com periodicidade de verificação;
6. Aspectos gerais da garantia da qualidade: documentação e registros.

Existem dois pontos especiais que merecem maior cuidado e abordagem destacada nos treinamentos. O primeiro é a questão da higiene, todas as pessoas que trabalham na indústria principalmente as que têm contato com a matéria-prima, produtos acabados, embalagens e utensílios devem receber treinamentos constantes e serem conscientizados da importância da higiene, do asseio pessoal e cuidados com a manipulação do produto. A higiene deve ser o principal ponto trabalhado nos treinamentos, pois é através dela que as contaminações poderão ser evitadas e/ou controladas. E quando se fala em higiene pode-se generalizar para todos os âmbitos: desde higiene pessoal (tomar banho, lavar as mãos após o uso do banheiro, antes de iniciar o contato com o produto – antes, durante e após o processo, evitar o uso de adornos durante o trabalho, usar tocas, prender os cabelos, etc.); com as vestimentas (os uniformes devem estar sempre limpos, lavados diariamente, separar uniformes e roupas pessoais); com os sapatos (usar sapatos limpos e adequados); até com o ambiente de trabalho (mantê-lo sempre limpo). Um fator a ser abordado nos treinamentos é a conscientização da importância da cadeia do frio e todas as etapas do processo e durante o armazenamento e distribuição do produto acabado. A manutenção da cadeia do frio possibilitará o prolongamento da vida útil do produto, visto q variações na temperatura são susceptíveis ao aceleração da degradação do produto.

Para o sucesso do treinamento seria interessante a utilização de uma abordagem dinâmica, que envolvesse teoria, mas também aspectos práticos. Poderiam ser elaboradas aulas teóricas, ilustrativas, com recursos áudio-visuais. Em seguida, poderiam ser simuladas algumas situações de degradação da matéria-prima e/ou do produto acabado de forma visualmente perceptível, seja por contaminação do material com bactérias deteriorativas e/ou variações de temperatura. Presume-se que ver o produto final deteriorado ou uma placa de crescimento microbiano possa despertar a atenção dos colaboradores que estão sendo treinados para os aspectos reais da falta de higiene durante a manipulação de alimentos. Gráficos que demonstrem as perdas de produção e perdas financeiras da empresa também poderiam ser alternativas interessantes. O mais importante, na abordagem, seria apresentar esses dados e depois montar grupos de discussão para que haja uma interação entre os participantes de forma que eles mesmos sugerissem as conclusões, ao invés de apenas ouvirem o treinamento.

A implantação das BPF's é o principal pré-requisito para a implantação do Sistema de APPCC, e juntas, essas duas ferramentas de qualidade darão suporte para a implantação de uma terceira, que é a rastreabilidade do produto final.

Para a garantia da qualidade, primeiramente foi identificado a existência de perigos potenciais que podem se associar ao produto seja eles de natureza química, física ou biológica, como mostra a Tabela 35.



Tabela 35 – Identificação dos principais perigos e suas naturezas

Natureza do Perigo	Descrição
<b>Físico</b>	Matéria-prima Espinha ou fragmentos de espinha.
	Processo Adornos dos manipuladores; pedaços de metais (dos equipamentos ou instalações); insetos; perfuração da embalagem
<b>Químico</b>	Matéria-prima Antibióticos, pesticidas; toxinas provenientes de cianobactérias; metais pesados; alergenicos.
	Processo -
<b>Biológico</b>	Matéria-prima Microrganismos mesófilos; psicrotróficos; Clostrídios sulfito redutores, <i>Salmonella</i> spp.; coliformes totais e <i>E. coli</i> ; <i>Vibrio parahaemolyticus</i> ; <i>V. cholera</i> ; parasitas.
	Processo <i>S. aureus</i> coagulase positivo; coliformes totais e <i>E. coli</i> .

Em seguida, foi elaborado e padronizado o fluxograma de produção dos filés de tilápia minimamente processados com base nos resultados de todos os testes já realizados, como pode ser visto na Figura 80.

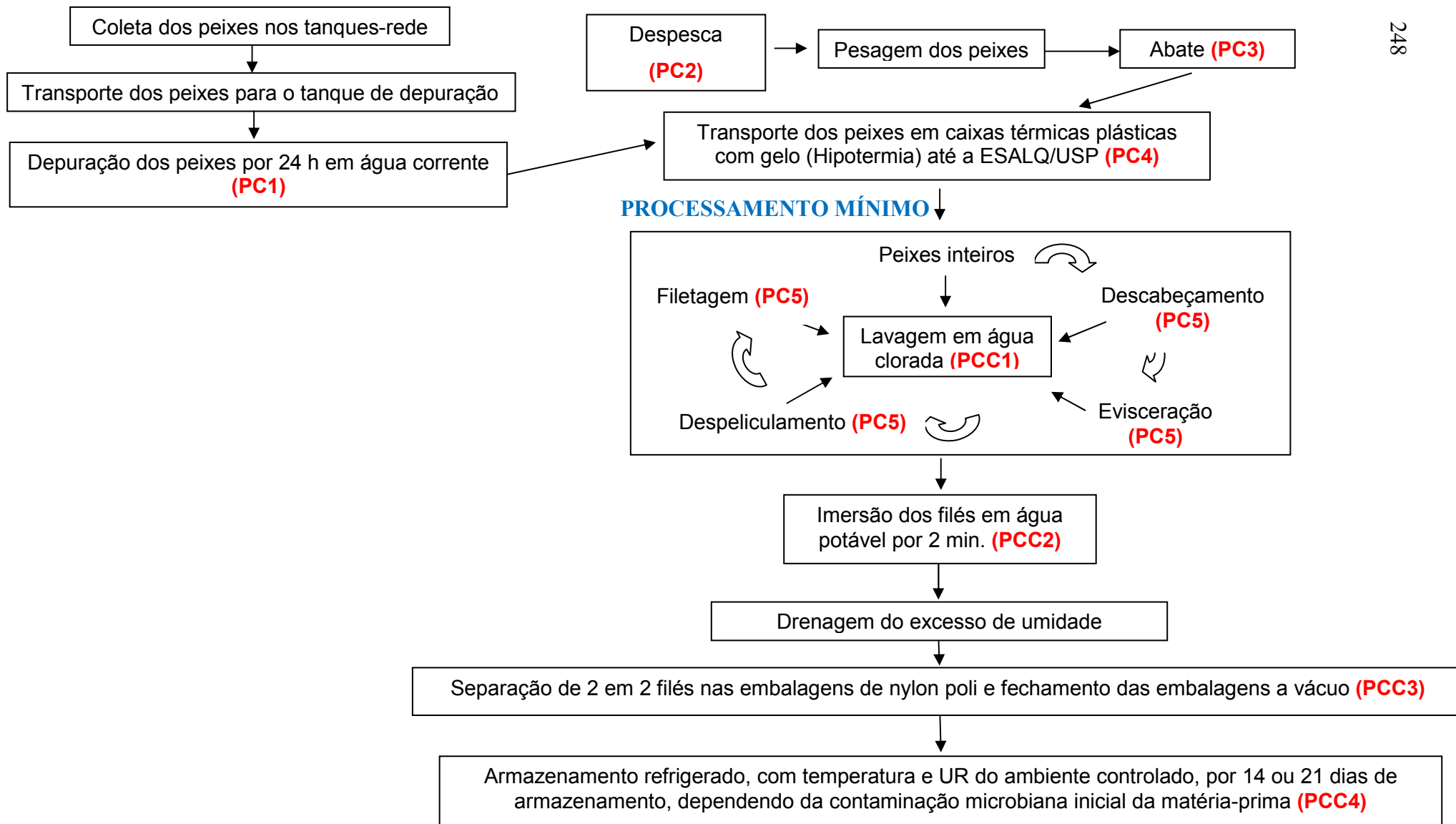


Figura 80 – Fluxograma operacional da produção de filés de tilápia minimamente processados com seus respectivos PC's (pontos de controle) e PCC's (pontos críticos de controle)

Observa-se também na Figura 80, a eleição dos Pontos de Controle (PC's) e dos Pontos Críticos de Controle (PCC's). Segundo Machado (2002), ao se elaborar um fluxograma de produção, são revistas todas as etapas do processamento, sendo possível a verificação dos possíveis focos de contaminação, equipamentos sem proteção e procedimentos a serem revisados, o que reflete diretamente no melhor aproveitamento da matéria-prima, eliminação de focos de contaminação e obtenção de um produto uniforme.

#### **4.3.5.2.1 Descrição do fluxograma operacional da produção de filés de tilápia minimamente processados**

**4.3.5.2.1.1 Coleta dos peixes nos tanques-rede:** ao atingirem cerca de 500 g os peixes devem ser coletados dos tanques-rede e direcionados para os tanques de depuração. A coleta deve ser realizada por pessoal treinado, no período mais fresco do dia e sempre que necessário.

**4.3.5.2.1.2 Transporte dos peixes para os tanques de depuração:** o transporte deve ser feito em caixas plásticas higienizadas, por pessoal treinado, de forma a realizar o procedimento em menor tempo possível para evitar danos físicos e estresses aos peixes. Caso os tanques de depuração não se localizem perto do local de cultivo, o transporte dos peixes vivos deve ocorrer em tanques de água próprias para transporte de peixes, com controle da temperatura e do oxigênio dissolvido na água. Há uma grande diversidade de modelos de tanques usados no transporte de peixes vivos. De uma forma geral estes tanques se diferenciam pelo seu tamanho, formato e pela qualidade e tipo de materiais usados na sua fabricação. De preferência, esses tanques devem ser de materiais leves e resistentes à corrosão pela água como o alumínio, a fibra de vidro, o PVC e o polietileno devem ser usados na fabricação de tanques de transporte. Tanques leves são facilmente carregados e descarregados da carroceria dos caminhões/caminhonetes e permitem o transporte de uma carga maior de peixes sem exceder a capacidade de transporte do veículo usado (KUBITZA, 1999).

**4.3.5.2.1.3 Depuração:** os peixes devem ser colocados em tanques de alvenaria, sem alimentação, com água corrente, durante os períodos de 24 h. O tanque de depuração deve possuir um sistema contínuo de circulação de água e aeração, evitando o acúmulo de dejetos excretados pelos peixes.

Esta etapa do processo foi considerada como sendo o primeiro ponto de controle (CP1), essa água de depuração deve ser proveniente de fonte segura pra evitar a presença de contaminantes (microbiológicos ou químicos) na matéria-prima e ser isenta de resíduos da ração.

As tilápias toleram baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água. Em viveiros de recria, já foi observado alevinos de tilápia-do-Nilo, entre 10-25 gramas, suportarem concentrações de oxigênio entre 0,4 a 0,7 mg/L por 3 a 5 horas, sem registro de mortalidade (KUBITZA, 2000).

Fontes de água superficiais desprovidas de oxigênio são resultantes de algum tipo de poluição (orgânica ou química), podendo conter outros compostos perigosos aos organismos aquáticos. O uso dessa água no abastecimento deve ser evitado (KUBITZA, 2003).

**4.3.5.2.1.4 Despesca dos tanques de depuração:** deve ser realizada após o período de depuração pré-estabelecido. A despesca foi eleita como o PC2, visto que nesta etapa há manejo intensivo do pescado o que pode causar algum tipo de contaminação ou injúria aos animais. Sendo assim, sugere-se que haja o mínimo possível de contato manual com os animais, as tilápias deverão ser capturas dos tanques de depuração com redes, por funcionários devidamente treinados, e que não apresentem qualquer tipo de doenças ou lesões físicas.

**4.3.5.2.1.5 Pesagem:** a pesagem deve ser realizada logo após a despesca dos peixes dos tanques de depuração, afim de se determinar a perda de pesa obtida após o procedimento de depuração. O procedimento deve ser realizado por funcionários treinados e em menor tempo possível para se evitar possíveis danos a matéria-prima. A seleção por tamanho nem precisa ser feita se os lotes forem bem uniformes, o que é característico de peixes provenientes do cultivo. No entanto, para controle da unidade processadora é recomendável que se faça uma amostragem para medição diária (comprimento e peso), bem como nas etapas seguintes para se obter os dados biométricos e se proceder ao cálculo do rendimento para os produtos (OETTERER, 2002).

**4.3.5.2.1.6 Abate:** O abate deverá ser realizado imediatamente após a captura, evitando que os peixes se fadiguem e percam as reservas energéticas, importante para mantê-los mais tempo na fase pré *rigor mortis*. O abate deverá ser por choque térmico – hipotermia (peixe:gelo; 1:1), que é mais efetivo, pois se feito por aumento do CO<sub>2</sub> na água, pode levar ao aparecimento do rigor mais

cedo (OETTERER, 2002). O abate pode ser considerado como o terceiro PC (PC3). Segundo Oetterer (1999), deve-se levar o pescado à processadora na primeira ou na segunda hora após a morte, quando ele ainda estará na fase pré-rigor, para tanto o setor de recepção e abate deve estar em compasso com o de processamento.

Há a necessidade de averiguar a procedência da água utilizada para fabricação do gelo e as condições higiênicas do local que será utilizado para o abate e armazenamento, assim como dos funcionários que executaram a tarefa.

**4.3.5.2.1.7 Transporte até o local de processamento:** o transporte dos peixes, logo após o abate, deve ser realizado de forma rápida, por funcionários treinados e com controle de temperatura adequado. Caso o abate seja realizado dentro da própria beneficiadora, sugere-se que o transporte dos peixes para a planta de processamento seja realizado via esteiras mecânicas, se possível.

**4.3.5.2.1.8 Processamento mínimo:** consiste nas etapas de descabeçamento, evisceração, despeliculamento, e filetagem. A evisceração e o descabeçamento consistem, respectivamente, na retirada das vísceras e cabeças dos peixes durante o processamento. Com essa etapa do processo pretende-se evitar a contaminação do músculo com microrganismos presentes naturalmente nas vísceras. O descabeçamento facilitará a filetagem. O processo de despeliculamento consiste na retirada da pele do músculo dos peixes, tendo-se o cuidado para não danificar os filés, o que poderia causar diminuição do rendimento e perda de qualidade dos mesmos. E a filetagem consiste no procedimento de retirada dos filés dos peixes. Todas essas etapas devem ser intercaladas com lavagem do produto obtido em água clorada.

A água de lavagem deve ser clorada com 5 mg/L de hipoclorito, o que promoverá a assepsia, evitando que microrganismos proliferem nos resíduos de sangue e ainda auxilia na retirada do muco-glicoproteínas liberadas por glândulas da pele, que se não removido será substrato para microrganismos. Nas águas de melhor qualidade, o cloro é mais efetivo e certamente na de pior qualidade, a cloração é menos efetiva e se, neste caso, for utilizada uma maior concentração de cloro, esta prática pode prejudicar o sabor do pescado (OETTERER, 2002).

Todas as etapas do processamento mínimo (descabeçamento, evisceração, despeliculamento, e filetagem), exceto o procedimento de lavagem do produto com água clorada,

entre cada uma dessas etapas, são consideradas como o PC5. Evidentemente, o uso de equipamentos automatizados nessas etapas diminuiriam de forma considerável esse perigo. Mas, independentemente disso, a evisceração e descabeçamento, por exemplo, podem deixar o músculo em contato direto com os microrganismos presentes no trato intestinal dos animais, sendo que a cada etapa do processamento mínimo o músculo fica mais exposto a contaminações através de equipamentos, ambiente e/ou manipuladores. Para se evitar tais problemas é muito importante que os equipamentos e a área de processamento sejam periodicamente higienizados e sanitizados e que os funcionários recebam treinamentos referentes a boas práticas de manipulação de alimentos e higiene pessoal.

**4.3.5.2.1.9 Imersão dos filés em água potável:** este procedimento consiste em deixar os filés obtidos em imersão em água potável por 2 min. (1,2 Kg de peixe para cada 1 L de água potável), com o intuito de se minimizar possíveis contaminações microbiológicas provenientes dos manipuladores, utensílios ou equipamentos utilizados durante as etapas do processamento mínimo.

**4.3.5.2.1.10 Drenagem:** consiste em deixar os filés sobre peneiras de aço inoxidável até perda do excesso de umidade. A temperatura do local onde se realizará esse procedimento e o tempo da drenagem deverão ser controlados por funcionários treinados, assim como a exposição dos filés a contaminantes ambientais (insetos, poeira, entre outros).

**4.3.5.2.1.11 Porcionamento e embalagem dos filés:** consiste no acondicionamento de dois a dois filés em embalagens de nylon poli, seguida de fechamento a vácuo em seladora automática com barra de selagem, e bomba de vácuo de 76M3/H BUSCH. Se usada a seladora de marca Selovac 300B, sugere-se fixar um tempo para promoção do vácuo de 15 segundos, solda de 1,0 segundo, retardo de solda de 0,2 segundos e tempo de resfriamento de 0,3 segundos.

**4.3.5.2.1.12 Armazenamento refrigerado:** após embalado, o produto deverá ser mantido sob refrigeração de  $1 \pm 1$  °C, e armazenadas até 21 dias, com monitoramento da temperatura (°C) e umidade relativa do ambiente (%).

#### 4.3.5.2.2 Elaboração do plano APPCC

O sistema de APPCC permite a identificação, a avaliação e o controle ou a eliminação de perigos potenciais em um processo. Ele estabelece tolerâncias para os perigos e define medidas de controle apropriadas, a frequência de suas aplicações, procedimentos de amostragem, testes específicos a serem utilizados e os critérios para aceitação do produto. O sistema é baseado na monitoração de pontos críticos de controle e na ação a ser tomada quando os resultados da monitoração estão fora dos limites preestabelecidos. O sistema APPCC é utilizado ao longo de cada etapa do processo e inclui matérias-primas, processamento, armazenagem e distribuição. Ele pode ser utilizado para todos os perigos potenciais, incluindo qualidade inadequada ou segurança, e pode identificar áreas de controle onde falhas ainda não ocorreram, tornando-o útil para novas operações (FELLOWS, 2006).

A aplicação dos princípios do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle no processamento de pescado oferece um programa de inspeção melhorado e moderno, identificando os pontos críticos nas operações de processamento do pescado, determinando seu controle e desenvolvendo um esquema de inspeção que satisfaça as regulamentações estabelecidas, através do monitoramento de manutenção dos registros permanentes (DAMS et al., 1994).

Na Figura 81 está representado um resumo do APPCC para filés de tilápia minimamente processados, resfriados e embalados a vácuo. Este documento reúne todas as informações chaves para a produção de alimentos seguros. Nele, estão identificados Pontos Críticos de Controle (PCC's) do processamento mínimo, foram estabelecidas as medidas de monitoramento, para averiguar se os limites críticos estão sendo atendidos; e estabelecidas de ações corretivas: que irão prever quais ações deverão ser tomadas caso os limites críticos não sejam atendidos.

E os pontos críticos de controle, como já mencionado, são aqueles nos quais qualquer tipo de controle inadequado permitirá a disseminação de perigos aos consumidores, uma vez que as etapas posteriores a esses pontos não são capazes de eliminar esses perigos.

Etapa	Perigos	Medidas Preventivas	Limite Crítico	Monitoramento	Ação Corretiva	Registro	Verificação
Lavagem em água clorada (PCC1)	<p>Físico: deficiência do processo.</p> <p>Químico: presença de metais pesados e excesso de aditivos (cloro) na água – sabor e odor indesejáveis.</p> <p>Biológico: presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes</p>	<p>✓ Utilização de água com qualidade assegurada.</p> <p>✓ Treinamento de funcionário.</p> <p>✓ Concentração de cloro adequada.</p> <p>✓ Garantir enxágüe suficiente para remoção de cloro residual.</p>	<p>✓ Presença de Salmonella.</p> <p>✓ Mesófilos: <math>10^7</math> UFC/g.</p> <p>✓ <i>S. aureus</i> coagulase positivo: <math>10^3</math> UFC/g.</p> <p>✓ Clostrídios sulfito redutores: <math>10^4</math> UFC/g.</p> <p>✓ Coliformes totais e <i>E. coli</i>: <math>10^2</math> UFC/g.</p> <p>✓ Arsênio e Cádmio: 1,0 mg/kg/produto final.</p> <p>✓ Estanho: 250 mg/kg/produto final.</p> <p>✓ Mercúrio: 0,5 mg/kg/produto final.</p> <p>✓ Chumbo: 2,9 mg/kg/produto final.</p>	<p><b>O que?</b> Presença de microrganismos; presença de metais pesados; concentração de cloro.</p> <p><b>Como?</b> Análise microbiológicas e de metais pesados da água utilizada p/ lavagem; avaliação da concentração de cloro.</p> <p><b>Quando?</b> 1 vez por mês para as análises microbiológicas e de metais e diariamente para a concentração de cloro, ou quando houver suspeita.</p> <p><b>Quem?</b> Responsável pelo processamento.</p>	<p>✓ Rejeitar o uso de água contaminada.</p> <p>✓ Procurar outra fonte de água não contaminada.</p> <p>✓ Adequar a concentração de cloro na água.</p> <p>✓</p>	<p>✓ Registro de controle</p>	<p>✓ Supervisão.</p> <p>✓ Revisão dos registros de controle.</p> <p>✓ Calibração dos equipamentos.</p> <p>✓ Análises microbiológicas e de metais pesados periodicamente.</p>
Imersão em água potável (PCC2)	<p>Físico: deficiência do processo.</p> <p>Químico: presença de metais pesados.</p> <p>Biológico: presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes.</p>	<p>✓ Utilização de água com qualidade assegurada.</p> <p>✓ Treinamento de funcionário.</p>	<p>✓ Presença de Salmonella.</p> <p>✓ Mesófilos: <math>10^7</math> UFC/g.</p> <p>✓ <i>S. aureus</i> coagulase positivo: <math>10^3</math> UFC/g.</p> <p>✓ Clostrídios sulfito redutores: <math>10^4</math> UFC/g.</p> <p>✓ Coliformes totais e <i>E. coli</i>: <math>10^2</math> UFC/g.</p>	<p><b>O que?</b> Presença de microrganismos e metais pesados.</p> <p><b>Como?</b> Análise microbiológicas e de metais pesados da água utilizada p/ imersão.</p> <p><b>Quando?</b> 1 vez por mês ou</p>	<p>✓ Rejeitar o uso de água contaminada.</p> <p>✓ Procurar outra fonte de água não contaminada.</p>	<p>✓ Registro de controle</p>	<p>✓ Supervisão.</p> <p>✓ Revisão dos registros de controle.</p> <p>✓ Calibração dos equipamentos.</p> <p>✓ Análises microbiológicas e de metais pesados periodicamente.</p>

Figura 81 – Quadro do Plano APPCC – Filés de tilápia minimamente processados, embalados à vácuo e armazenados sob refrigeração



			<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Arsênio e Cádmio: 1,0 mg/kg/produto final.</li> <li>✓ Estanho: 250 mg/kg/produto final.</li> <li>✓ Mercúrio: 0,5 mg/kg/produto final.</li> <li>✓ Chumbo: 2,9 mg/kg/produto final.</li> </ul>	quando houver suspeita. <b>Quem?</b> Responsável pelo processamento.			
Porcionamento e embalagem (PCC3)	<p>Físico: presença de material indesejável na embalagem; descalibração da balança e/ou embaladora a vácuo.</p> <p>Químico: presença de toxinas provenientes da embalagem.</p> <p>Biológico: contaminação microbiológica (patogênicos e deteriorantes) através de manipuladores.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Aplicação das Boas Práticas de Fabricação.</li> <li>✓ Treinamento específico para os manipuladores.</li> <li>✓ Utilização de área limpa.</li> <li>✓ Calibração das balanças e embaladoras.</li> <li>✓ Controle de tempo de embalagem.</li> <li>✓ Controle da temperatura da sala de embalagem.</li> <li>✓ Controle de fornecedores das embalagens.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Temperatura da sala de embalagem: máximo 15 °C.</li> <li>✓ Ausência de vácuo.</li> <li>✓ Presença de Salmonella.</li> <li>✓ Mesófilos: 10<sup>7</sup> UFC/g.</li> <li>✓ <i>S. aureus</i> coagulase positivo: 10<sup>3</sup> UFC/g.</li> <li>✓ Clostrídios sulfito redutores: 10<sup>4</sup> UFC/g.</li> <li>✓ Coliformes totais e <i>E. coli</i>: 10<sup>2</sup> UFC/g.</li> </ul>	<p><b>O que?</b> Presença de microrganismos e copos estranhos/Balanças ; monitoramento do tempo e temperatura do procedimento.</p> <p><b>Como?</b> Análise microbiológicas dos filés minimamente processados/Programação de cronograma de limpeza da área de embalagem/ Conferência da calibração das balanças e/ou embaladoras.</p> <p><b>Quando?</b> Análises microbiológicas: antes da expedição do produto final/ Limpeza e calibrações:</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Rejeitar produto final não conforme.</li> <li>✓ Calibração das balanças e/ou embaladoras.</li> <li>✓ Comprar embalagens que não reajam com o produto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Registro de controle.</li> <li>✓ Laudos das análises microbiológicas.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Supervisão.</li> <li>✓ Auditoria programada.</li> <li>✓ Revisão dos registros de controle.</li> <li>✓ Calibração dos equipamentos.</li> </ul>

Figura 81 – Quadro do Plano APPCC – Filés de tilápia minimamente processados, embalados à vácuo e armazenados sob refrigeração

				sempre que necessário. <b>Quem?</b> Responsável pelo processamento/Equipe de manutenção de equipamentos/Equipe de limpeza			
Armazenamento refrigerado (PCC4)	Físico: Químico: Biológico: presença de microrganismos patogênicos e deteriorantes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Monitoramento da temperatura da câmara de armazenamento.</li> <li>✓ Monitoramento do tempo de armazenamento.</li> <li>✓ Treinamento de funcionários.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Temperatura: <math>1 \pm 1^\circ\text{C}</math>.</li> <li>✓ Tempo de armazenamento máximo de 21 dias.</li> <li>✓ Presença de <i>Salmonella</i>.</li> <li>✓ Mesófilos e psicrotróficos: <math>10^7</math> UFC/g.</li> <li>✓ <i>S. aureus</i> coagulase positivo: <math>10^3</math> UFC/g.</li> <li>✓ Clostrídios sulfito redutores: <math>10^4</math> UFC/g.</li> <li>✓ Coliformes totais e <i>E. coli</i>: <math>10^2</math> UFC/g.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><b>O que?</b> Temperatura/tempo de armazenamento</li> <li><b>Como?</b> Termômetro/data de validade</li> <li><b>Quando?</b> Continuamente ao longo do período de armazenamento.</li> <li><b>Quem?</b> Operador do equipamento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Ajustar a temperatura.</li> <li>✓ Retenção do produto para avaliação.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Registros de controle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Calibração do instrumento de controle.</li> <li>✓ Supervisão.</li> <li>✓ Auditoria programada.</li> </ul>

PC = Ponto de controle

PCC = Ponto Crítico de Controle

Figura 81 – Quadro do Plano APPCC – Filés de tilápia minimamente processados, embalados à vácuo e armazenados sob refrigeração

O PCC1 (lavagem em água clorada) e PCC2 (imersão dos filés em água potável), podem ser considerados os principais pontos críticos de controle, pois se a água de lavagem ou a utilizada para imersão dos filés em algum tipo de tratamento, estiver contaminada irá contaminá-lo também, uma vez que há contato direto entre eles. Além disso, espera-se que a água de lavagem seja uma controladora dos pontos de contaminação e não um contaminante. Por isso, deve-se ter monitoramento constante das condições microbiológicas e físico-químicas da água de lavagem e/ou utilizada para tratamentos dos filés. Segundo Oetterer (2002), se a água for potável, resfriada, adicionada de gelo em escama, a qualidade do produto será melhor e o tempo de armazenamento em câmaras também poderá ser maior.

As etapas de porcionamento e embalagem a vácuo foram consideradas como sendo o PCC3 pelo fato de que erros nessas etapas serão cruciais no desenvolvimento do produto. Os erros nas pesagens podem acarretar perdas quanto ao rendimento, prejuízo financeiro à indústria ou até causar prejuízos ao consumidor, caracterizando fraude por não estar dentro das especificações prescritas no rótulo. Da mesma forma, se o embalagem a vácuo não for realizado de maneira correta, seja por problemas de calibração da embaladora ou falta de treinamento do operador da mesma, o produto final não terá todas as garantias de segurança microbiológicas previstas para um produto embalado a vácuo.

O armazenamento refrigerado constitui o último Ponto Crítico de Controle (PCC4), todavia não o menos importante. Variações na temperatura dessa etapa podem causar danos irreversíveis ao produto final, acarretando diminuição da vida útil do produto, devido o desenvolvimento dos microrganismos presentes no produto final.

A rastreabilidade deverá auxiliar na indicação de eventuais falhas existentes nesses dois sistemas. Ao contrário do Sistema APPCC, ela não previne ou corrige falhas, apenas aponta quais e onde foram essas falhas, possibilitando um *recall* mais rápido e eficiente.

Sendo assim, nenhuma dessas ferramentas por si garantem 100% da qualidade do produto, todavia, quando utilizadas concomitantemente podem apresentar resultados satisfatórios.

#### **4.4 Conclusões**

Tendo em vista os resultados do plano APPCC e a excelente aceitação do produto elaborado e proposto aos consumidores, indica-se que o processamento mínimo de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é perfeitamente possível e viável. Essa pode ser mais uma alternativa para o aumento da rentabilidade de pequenas e grandes indústrias processadoras de

pescado, e até mesmo de pequenos produtores, facilitando o escoamento do produto de valor agregado. Para isso, faz-se necessário seguir a padronização do fluxograma de produção elaborado e proposto nesse trabalho, ou seja, o PIQ-TMP (Padrão de Identidade e Qualidade de tilápia minimamente processada)

A vida útil desse produto pode ser de até 21 dias, dependendo da carga microbiana existente na matéria-prima pré processamento, sendo 14 dias o tempo mais seguro para comercialização, desde que se seguidas as instruções previstas de Boas Práticas de Fabricação e controle da temperatura da cadeia do frio, principalmente do armazenamento.

A padronização da produção e controle de processo deste alimento suportam a implantação de um sistema de rastreabilidade, que, aliada a outras ferramentas de qualidade, garante maior segurança e confiança do consumidor, tornando-se essenciais para produção de produtos de destaque no mercado comercial de gêneros alimentícios.

## Referências

AL-KAHTANI, H.A.; ABU-TARBOUSH, H.M.; BAJABER, A.S. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n.4, p. 729-733, 1996.

ALMEIDA, R.C. O sistema HACCP como instrumento para garantir a inocuidade dos alimentos. Organização Pan Americana da Saúde/ Organização Mundial da Saúde. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 53, p. 12-20, 1998.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE REFEIÇÕES COLETIVAS. **Manual Aberc de práticas de elaboração e serviços de refeições para coletividades**. São Paulo, 2003. 288 p.

ASSUMPÇÃO, E.G.; VALLE, R.H. P.; HIRSCH, D.; ABREU, L.R. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 55, n. 3, p. 366-370, 2003.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. **Fundamentos de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1998. 317 p.

BATISTA, G.M.; LESSI, E.; KODAIRA, M.; FALCÃO, P.T. Alterações bioquímicas *post-mortem* da matrinxã *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 573-581, out./dez. 2004.

BEIRÃO, L.H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.M.; SANTO, M.L.P.E. Processamento e industrialização de moluscos. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP “TECNOLOGIA PARA

APROVEITAMENTO INTEGRAL DO PESCADO”, 2000, Campinas. **Resumos...** Campinas: ITAL, 2000. p. 38-84.

BELLO, R.A.; RIVAS, W.G. **Evaluación y aprovechamiento de la cachama, *Colossoma macropomum*, cultivada, como fuente de alimento**. Mexico: FAO, Proyecto Aquila II, 1992. 113 p.

BIATO, D.O. **Deteção de *off flavor* em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), por meio de depuração e defumação**. 2005. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BOSCOLO, W.R.; HAGASHI, C.; SOARES, C.M.; FURUYA, W.M.; MEURER, F. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 5, p. 1391-1396, 2001.

BOTTA, J.R. Freshness quality of seafoods: a review. In.: SHAHIDI, F.; BOTTA, J.R. **Seafoods: chemistry, processing technology and quality**. London: Blackie, 1994. p. 140-167.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA)**. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/servlet/VisualizarAnexo?id=14013>>. Acesso em 01 jun 2009.

\_\_\_\_\_. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado)**. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Brasília, 1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2453>>. Acesso em 01 jun 2009.

\_\_\_\_\_. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA**. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 2001c. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/sda>>. Acesso: 05 jun 2009.

\_\_\_\_\_. **Regulamento técnico de identidade e qualidade de conservas de peixe**. Portaria nº 63, de 13 de novembro de 2002. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 2002.

\_\_\_\_\_. Laboratório Nacional de Referência Animal. Pescado fresco. In: \_\_\_\_\_. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Brasília, 1981. v. 2, cap. 11, p. 01-08.

\_\_\_\_\_. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução **Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2855>>. Acesso em: 01 jun 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância Sanitária. **Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997a**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326\\_97.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326_97.htm)>. Acesso em 01 jul 2009.

\_\_\_\_\_. **Portaria nº 326-SVS/MS de 30 de julho de 1997b**: Regulamento técnico; condições higiênico- sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de de alimentos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326\\_97.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/326_97.htm)>. Acesso em 01 jul 2009.

\_\_\_\_\_. **Portaria nº1428/MS de 26 de novembro de 1993**: Regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos, as diretrizes para o estabelecimento de boas práticas de produção e de prestação de serviços na área de alimentos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1428\\_93.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1428_93.htm)>. Acesso em: 01 jul 2009.

\_\_\_\_\_. **Regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico-sanitário em estabelecimentos de alimentos**. Portaria CVS – 6/99 de 10 de março de 1999 – DOU 12/03/99. Disponível em:<[http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=20920&word=estabelecimentos and alimentos](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=20920&word=estabelecimentos%20and%20alimentos)>. Acesso em 01 jun 2009.

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 40, de 21 de março de 2001**: regulamento técnico para rotulagem nutricional obrigatória de alimentos e bebidas embaladas. Brasília, 2001a. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/40\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/40_01rdc.htm)>. Acesso em: 01 jan 2009.

\_\_\_\_\_. **Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001**: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. Brasília, 2001b. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/1201rdc.html>>. Acesso em: 07 jan 2008.

CARDOSO, N.L.C.; ANDRÉ, M.C.D.P.B.; SERAFINI, A.B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia, GO. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 109, p. 81-87, jun. 2003.

CASTILLO, C.J.C. **Disciplina carnes e ovos – LAN 0318**. [s.l.: s.n.], [200-]. Não paginado.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409 p.

DAMS, R.I.; BEIRÃO, L.H.; TEIXEIRA, E. Implantação de um sistema de análise de risco e pontos críticos de controle na indústria de pescado. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, v. 18, n. 204, p. 63-64, 1994.

DELLA MODESTA, R.C. **Manual de análise sensorial de alimentos e bebidas**: prática. Rio de Janeiro: EMBRAPA, CTA, 1994. t. 3, 78 p.

DUTCOKSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996. 123 p.

ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Nutrient Data Laboratory. **Search the USDA national nutrient database for standard reference**: fish, tilapia, raw. Disponível em: <[http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list\\_nut\\_edit.pl](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl)>. Acesso em: 02 jan. 2009.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. **Traceability of fishery products**: specifications of the information to be recorded in captured fish distribution chains. Brussels: CEN Workshop Agreement, 2002. Disponível em: <[http://193.156.107.66/ff/po/EUTrace/WGCaptured/WGC\\_StandardFinal.doc](http://193.156.107.66/ff/po/EUTrace/WGCaptured/WGC_StandardFinal.doc)> Acesso em: 13 mai 2009.

FARBER, J.M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology – a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 54, n. 1, p. 58-70, 1991.

FARIA, E.V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL, LAFISE, 2002. 116 p.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do processamento de alimentos**: princípio e prática. Porto Alegre: Artmed, 2006. 602 p.

FOOD STANDARDS AGENCY. **Traceability in the food chain**: a preliminary study. London: FSA, Food Chain Strategy Division, 2002. Disponível em: <<http://www.foodstandards.gov.uk/multimedia/pdfs/traceabilityinthefoodchain.pdf>> Acesso em: 13 maio 2009.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. p.424

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Conservação de alimentos pelo emprego da radiação ionizante. In: \_\_\_\_\_. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 134-139.

GALVÃO, J.A. **Quality control in cod fishing using traceability system**: final project. Reykjavik: United Nations University, Fisheries Training Programme, 2007. 34 p.

GALVÃO, J.A.; FURLAN, E.F.; SAVAY DA SILVA, L.K. ; SALAN, E.O. ; OETTERER, M. Transporte de mexilhões para abastecer a indústria processadora: qualidade da matéria-prima. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 20., 2006, Curitiba. **Alimentos e agroindústrias brasileiras no contexto internacional**. Curitiba: SBCTA, 2006. 1 CD-ROM.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 655 p.

HAJDENWURCEL, J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998. v. 1, 66 p.

HERNANDEZ, M.R.P. **Study of the quality management system and product traceability in a fish processing company**: final project. Reykjavik: United Nations University, Fisheries

Training Programme, 2001. Disponível em: <<http://www.unuftp.is/proj01/MariaRitaPRF.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2009.

HITCHINS, A.D.; HARTMAN, P.A.; TODD, E.C.D. Coliforms – *Escherischia coli* and its toxins. In.: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: APHA, 1992. chap. 24, p. 325-369.

HUSS, H.H. **El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad**. Roma: FAO, 1988. 131 p.

IBA, S.K.; BRABET, C.; OLIVEIRA, I.O.; PALLET, D. **Um panorama da rastreabilidade dos produtos agropecuários do Brasil destinados à exportação - carnes, soja e frutas – ESALQ Projeto ProsPER1**. São Paulo: Centro Franco Brasileiro de Documentação Técnica e Científica (CENDOTEC), 2003. 68 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS - ICMSF. Pescados y productos derivados. In:\_\_\_\_\_. **Microorganismos de los alimentos: ecología microbiana de los productos alimentarios**. Zaragoza: Acribia, 1998. p. 121-166.

KAI, M.; MORAIS, C. Vias de deterioração do pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U.E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 13-20.

KIRSCHNIK, P.G.; VIEGAS, E.M.M. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 407-412, jul./set. 2004.

KODAIRA, M.; TOME, E.; PEREZ, M. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios *post-mortem* y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) cultivados. **Anales Venezolanos de Nutrición**, v. 14, n. 2, p.53-59, jul. 2001, Disponível em: <[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-07522001000200002&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522001000200002&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 0798-0752>. Acesso em: 01 maio 2009.

KUBITZA, F. **Técnicas de transporte de peixes vivos**. Jundiaí: F Kubitza, 1999. 51 p.

\_\_\_\_\_. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. São Paulo: Degaspari, 2000. 289 p.

\_\_\_\_\_. Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões. Jundiaí: Degaspari. 2003. 229 p.

LEONHARDT, J.H.; CAETANO FILHO, M.; FROSSARD, H.; MORENO, A.M. Características morfológicas, rendimento e composição do filé de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, da linhagem tailandesa, local e do cruzamento de ambas. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 125-132, jan./mar. 2006.

LIBRELATO, F.R.; LOPES-SHIKIDA, S.A.R. Segurança alimentar: um estudo multidisciplinar da qualidade do filé de tilápia comercializado no município de Toledo-PR. **Informe Gepec**, Cascavel, v. 10, n. 2, p. 27-50, 2005.



LIRA, G.M., PEREIRA, W.D., ATHYDE, A.H. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió - AL. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 84, p. 67-74, maio 2001.

MACEDO-VIÉGAS, E.M.; SOUZA, M.L.R. Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed.) **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap. 14, p. 405-480,

MACHADO, M.I.R. **Elaboração e implantação de um programa de análises de perigos e pontos críticos de controle numa indústria pesqueira da região Sul do Brasil**. 2002. 102 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2002.

MAIA, M.C.A.; GALVÃO, A.P.G.L.K.; DELLA MODESTA, R.C.; PEREIRA JUNIOR, N. Avaliação do consumidor sobre sorvetes com xilintol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 341-347, abr./jun. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n2/a11v28n2.pdf>>. Acesso em: 01 jul 2009.

MARTINEZ-VALDIVIESO, R.; et al. Efecto del tiempo de retardo en la refrigeración sobre la estabilidad microbiológica de cachama durante su almacenamiento en hielo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. v. 1, p. 232-235

MARTINS, C.V.B.; VAZ, S.K.; MINOZZO, M.G. Aspectos sanitários de pescados comercializados em “pesque-pagues” de Toledo (PR). **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, p. 51-56, 2002.

MEILGAARD, M., CIVILLE, G.V., CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1987. v. 2, 159 p.

MORETTI, C.L. Processamento mínimo. **Cultivar: HF**, Pelotas, v. 1, n. 5, p. 32-33, dez./ jan. 2000/2001. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/public/textos/texto7.html>>. Acesso em: 15 jun. 2009.

MORGA, A. **Avaliação do índice de frescor da Pescada Foguete, *Macrodon ancylodon*, conservada em gelo**. 1975. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1975.

MORTON, R.D. Aerobic plate count. In: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>th</sup> ed. Washington – DC, 2001. chap. 7, p. 63-67.

NAIR, R.B.; THARAMANI, P.K.; LAHIRY, N.L. Studies on chilled storage of fresh water fish I. Changes occurring during iced storage. **International Journal Food Science and Technology**, Oxford, v. 8, p. 53-56, 1971.

OETTERER, M. **Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado**: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos e higiênicos e nutricionais. 1999. 198p. Tese (Livre-docência em Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

\_\_\_\_\_. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 200 p.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**: ciência e tecnologia do pescado. São Paulo: Varela, 1999. v. 1, 453 p.

QUEIROZ, A.T.A., RODRIGUES, C.R., ALVEZ, G.G., KAKISAKA, L.T. Boas práticas de fabricação em restaurantes *self-service* a quilo. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 78/79, p. 45-49, 2000.

REILLY, J.A.; BARILE, L.E. Depuration of farmed bivalves in the Philippines. **Infofish Marketing Digest**, Kuala Lumpur, v. 4, p. 44-46, 1987.

SALES, R.O.; DE OLIVEIRA, J.A.P.; COSTA, F.J.L.; SALES, A.M. Avaliação do estado de frescor do pescado capturado em água doce e mantido sob refrigeração, no Açude de Oros, Ceará. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 19, n. 2, p. 109-115, dez. 1988.

SAS INSTITUTE **The SAS System release 9.1.3** – SP 2. Cary, 2002.

SAVAY DA SILVA, L.K.; RIGGO, R.; MARTINS, P.E.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, VII BMCFB. Preprint Series, n. 20, p. 138-144, dez. 2008. Disponível em: [http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial\\_2009\\_2/v12ne\\_t0288.pdf](http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial_2009_2/v12ne_t0288.pdf)>. Acesso em: 01 maio 2009.

SCHERER, R.; DANIEL, A.; AUGUSTI, P.R.; LAZZARI, R.; LIMA, R.L.; FRIES, L.L.M.; RADUNZ NETO, J.; EMANUELLI, T. Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 680-684, out./dez. 2004.

SHAHIDI, F.; BOTTA, J.R. **Seafoods**: chemistry, processing technology and quality. London: Blackie, 1994. 342 p.

SHEWAN, J.M. The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. **Recent Advances in Food Science**, London, v. 1, p. 167-193, 1962.

SILLIKER J.H.; WOLFE, S.K. Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meats. **Food Technology**, Chicago, v.34, n.2, p.59-63, 1980.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

SILVA, C.A.B.; FERNANDES, A.R. **Projetos de empreendimentos agroindustriais: produtos de origem animal**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 308 p.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007. 552 p.

SIMÕES, M.R; RIBEIRO, C.F.A.; RIBEIRO, S.C.; 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, jul./set. 2007.

SIQUEIRA, A.A.Z.C. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2001. 137 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SOARES, V.F.M.; VALE, S.R.; JUNQUEIRA, R.G.; GLÓRIA, B.A. Teores de histamina e qualidade físico-química e sensorial de filé de peixe congelado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, out./dez.1998. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611998000400020&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20611998000400020&script=sci_arttext&tlng=pt)>. Acesso em: 01 jun. 2009.

SOCOL, M.C.H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. 2002. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SOUZA, M.L.R.; VIEGAS, E.M.M.; SOBRAL, P.J.A.; KRONKA, S.N. Efeito do peso de tilápia no nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre o rendimento e a qualidade de seus filés defumados com e sem pele. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, jan./mar. 2005. Disponível em: <<http://66.102.1.104/scholar?hl=pt-BR&lr=&q=cache:ZbHJ6OEwRcJ:www.scielo.br/sci>>. Acesso em: 01 jun. 2009.

STONE, L; SIDEL, J.L. **Sensory evaluation practices**. San Diego: Academic Press, 1993. 338 p.

THOMPSON, M.; SYLVIA, G.; MORISSEY, M.T. Seafood traceability in the United States: current trends, system design, and potential applications. **Food Science and Food Safety**, Chicado, v. 1, p. 1-7, 2005.

TORRES, E.A.F.S.; CAMPOS, N.C.; DUARTE, M.; GARBELOTTI, M.L.; PHILIPPI, S.T.; RODRIGUES, S.M. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 2, p. 145-150, maio/ago. 2000.

VELLOSO, E.A. **Avaliação sensorial e físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) tailandesa refrigerados e submetidos a radiação gama**. 2004. 68 p. Monografia (

Curso de Especialização em Irradiação de Alimentos) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.



VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**: teoria e prática. São Paulo: Varela, 2003. 380 p.

YOKOYAMA, V.A. **Qualidade do camarão da espécie *Xyphopenaeus kroyeri* mediante ação de antimelanócitos**. 2007. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

ZÚNIGA, N.O.C., BORGES, A.; FREITAS, M.Q.; FRANCO, R.M.; SÃO CLEMENTE, S.C. Determinação do prazo comercial da tilápia (*Oreochromis niloticus*) eviscerada e estocada à temperatura de 0° C com base na contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e determinação de pH. In: II CONGRESSO LATINO-AMERICANO E VII CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 8., 2005, Búzios. **Anais...** Búzios: II Congresso latino-americano e VII Congresso brasileiro de higienistas de alimentos, 2005. 1 CD-ROM.

## **ANEXOS**

## ANEXO A – Físico-química para Determinação de Umidade

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 01	Nº Folha: 1 de 2	
		Emissão: 26/03/2009	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Umidade</b>				

**1. Objetivo:** Verificar a quantidade de umidade presente na amostra analisada.

**2. Descrição:** Umidade corresponde à perda de peso sofrida pelo produto quando aquecido em condições nas quais a água e outras substâncias voláteis podem ser removidas.

**3. Frequência e responsabilidade:** Este procedimento deve ser adotado sempre que se deseja realizar a determinação da quantidade de umidade presente na amostra. A análise deve ser realizada por pessoas treinadas, que tenham conhecimento em utilizar corretamente os equipamentos envolvidos, tomando os devidos cuidados com os mesmos e com a sua própria segurança.

**4. Materiais Necessários:**

4.1. Equipamentos:

- 4.1.1. Estufa de secagem 100 - 102 °C;
- 4.1.2. Dessecador com cloreto de cálcio ou sílica-gel anidros;
- 4.1.3. Balança analítica (precisão +/- 0,0001 g).

4.2. Vidraria, utensílios e outros:

- 4.2.1. Pinça;
- 4.2.2. Espátula;
- 4.2.3. Placas de Petri.

**5. Procedimento:**

- 5.1. Pesar as placas de petri, já limpas e previamente secas em estufa a 100 - 102 °C por uma hora, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente;
- 5.2. Pesar 2 g da amostra em cada placa de petri;
- 5.3. Espalhar a amostra ao longo da placa de petri;
- 5.4. Colocar em estufa a 100 - 102 °C, por cerca de 16 – 18 horas;
- 5.5. Retirar as placas da estufa, esfriar em dessecador até equilíbrio com a temperatura ambiente;
- 5.6. Pesar;
- 5.7. Anotar o peso como perda da umidade.

**OBS:** Ao retirar as placas de petri quentes da estufa, colocá-las no dessecador por 10 minutos com a válvula de segurança aberta e 20 minutos com a válvula de segurança fechada ou então até que a temperatura das placas fique em equilíbrio com a temperatura ambiente.

**6. Cálculo em porcentagem (%):**



$$\text{Umidade\%} = \frac{A \times 100}{B}$$

Onde: A = Perda H<sub>2</sub>O = Peso amostra úmida (g) - Peso amostra seca (g);

B= Peso da amostra úmida (g).

**Emitido por:** Luiz Gustavo F. Travagin e  
Priscila Eloi Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 01	Nº Folha: 2 de 2	
		Emissão: 26/03/2009	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Umidade</b>				

### 7. Cálculo da Matéria Seca (MS):

$$MS = 100 - \%Umidade$$



### 8. Referência:

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 18. ed., Arlington, USA: AOAC, 2005. 989p.

**Emitido por:** Luiz Gustavo F. Travagin e  
Priscila Eloi Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

## ANEXO B – Físico-química para Determinação de Nitrogênio Total

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 02	Nº Folha: 1 de 4	
		Emissão: 28/10/2008	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Nitrogênio Total (Micro-Kjeldahl).</b>				

**1. Objetivo:** Verificar a quantidade de nitrogênio total (% de proteína) presente na amostra analisada.

**2. Descrição:** A determinação de proteínas baseia-se na determinação de nitrogênio, geralmente feita pelo processo de digestão *Kjeldahl*, cuja matéria orgânica é decomposta e o nitrogênio existente é convertido em amônia. O método de *Kjeldahl* baseia-se na determinação do nitrogênio total, sendo o conteúdo de nitrogênio das diferentes proteínas aproximadamente 16%, introduz-se o fator empírico 6,25 para transformar o número de gramas de nitrogênio encontrado em gramas de proteínas. Na digestão da amostra pela ação do  $H_2SO_4$ , o carbono é liberado como gás carbônico, o nitrogênio é transformado em  $NH_3$  e fixado sob a forma de sal amoniacal (sulfato de amônia). Na destilação, a solução concentrada de hidróxido de sódio (NaOH) libera amônia que é destilada e recebida em solução de ácido bórico. Posteriormente é titulada com solução ácida.

**3. Frequência e Responsabilidade:** Este procedimento deve ser adotado sempre que se deseja realizar a determinação do teor (%) de proteína em pescado e demais alimentos. A metodologia deve ser realizada por pessoas treinadas, que tenham conhecimento da periculosidade dos reagentes utilizados e da importância de se padronizar a realização da análise, e que tenham conhecimento em utilizar corretamente os equipamentos envolvidos, tomando os devidos cuidados com os mesmos e com a sua própria segurança.

**4. Ponto de Viragem:** é determinado pela mudança da coloração de azul/ verde para rosa, quando o corre a reação de neutralização por um ácido padronizado.

**5. Materiais Necessários:**

5.1. Equipamentos:

- 5.1.1. Balança analítica;
- 5.1.2. Bloco de Digestão;
- 5.1.3. Capela;
- 5.1.4. Destilador de Proteínas;



5.2. Vidrarias, utensílios e outros:

- 5.2.1. Bagueta;
- 5.2.2. Balão volumétrico de 5 m mL;
- 5.2.3. Balão volumétrico de 1000 mL;
- 5.2.4. Béquer de vidro de 50 mL;
- 5.2.5. Béquer de vidro de 100 mL;
- 5.2.6. Béquer de vidro de 2000 mL;
- 5.2.7. Bureta;
- 5.2.8. Erlenmeyer de 250 ou 125 mL;
- 5.2.9. Espátula;
- 5.2.10. Frasco âmbar de 1000 mL de boca larga;
- 5.2.11. Funil;
- 5.2.12. Papel vegetal;
- 5.2.13. Pêra;
- 5.2.14. Pinça;
- 5.2.15. Pipeta graduada de 10 mL;

**Emitido por:** Alessandra V. Gallani, Thais M. Menegazzo e Priscila E. Martins

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 02	Nº Folha: 2 de 4	
		Emissão: 28/10/2008	Revisado: 23/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Nitrogênio Total (Micro-Kjeldahl).</b>				

- 5.2.16. Pipeta volumétrica de 5 mL;
- 5.2.17. Pipeta volumétrica de 10 mL;
- 5.2.18. Pipeta volumétrica de 25 mL;
- 5.2.19. Pipeta volumétrica de 50 mL;
- 5.2.20. Pisseta com água destilada;
- 5.2.21. Tubos de digestão.

### 5.3. Reagentes:

\*Todos os reagentes devem ser preparados em capela.

#### 5.3.1. Mistura Digestora:

- 5.3.1.1. Pesar em béqueres de 50 mL: 3,6 g de selenito de sódio ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) e 4,0 g de sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ );
- 5.3.1.2. Pesar em béquer de 100 mL: 21,4 g de sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ );
- 5.3.1.3. Medir em pipeta volumétrica: 175 mL de água destilada;
- 5.3.1.4. Utilizar parte da água destilada medida para dissolver, separadamente, os sais pesados;
- 5.3.1.5. Misturar os sais dissolvidos em um béquer de vidro de 2000 mL e acrescentar a água destilada restante, vagarosamente, para completa dissolução dos sais;
- 5.3.1.6. Adicionar, vagarosamente, 200 mL de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (medido com pipeta volumétrica).

**ATENÇÃO:** se a mistura começar a aquecer, esperar até que a temperatura diminua para adicionar mais  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

#### 5.3.2. NaOH 18 N:

- 5.3.2.1. Pesar 720 g de NaOH concentrado (P.A.), em micropérolas, em um béquer de vidro;
- 5.3.2.2. Utilizar outro béquer de vidro de 2000 mL para dissolver o NaOH. A dissolução deve ser feita vagarosamente misturando um pouco do NaOH pesado com um pouco de água destilada, mas não deixar que o volume no béquer ultrapasse 1000 mL;

**ATENÇÃO:** sempre que a solução esquentar demasiadamente, parar de misturar e esperar que ela esfrie;

- 5.3.2.3. Após dissolver todo NaOH, no béquer, transferir a solução, com o auxílio de um funil, para um frasco âmbar de 1000 mL com a marcação do volume desejado. A marcação no frasco âmbar deve ser feita anteriormente;



**OBS:** Marcação do frasco âmbar: medir em um balão volumétrico 1000 mL de água destilada, e transferir essa quantidade medida para um frasco âmbar de boca larga. Fazer uma marcação no frasco no nível da água (1000 mL). Em seguida, descartar a água utilizada para marcação; Esperar até que a solução esteja fria, e completar com água destilada até a marcação de 1000 mL no frasco âmbar.

#### 5.3.3. Ácido Bórico:

- 5.3.3.1. Pesar, em béquer de vidro de 100 mL, 20 g de ácido bórico P.A.;
- 5.3.3.2. Dissolver o ácido bórico pesado em um pouco de água destilada;

**Emitido por:** Alessandra V. Gallani, Thais M. Menegazzo e Priscila E. Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 02	Nº Folha: 3 de 4	
		Emissão: 28/10/2008	Revisado: 23/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Nitrogênio Total (Micro-Kjeldahl).</b>				

5.3.3.3. Transferir a solução obtida para um balão volumétrico de 1000 mL (cuidado para não deixar resíduos de ácido bórico no bquer). Caso haja resíduos, lavar o bquer com um pouco de água destilada, transferindo-a para o balão. Não deixar que o volume no balão ultrapasse 1000 mL;

5.3.3.4. Completar para 1000 mL o volume do balão com água destilada.

5.3.4. Solução indicadora:

5.3.4.1. Pesar 0,05 g de vermelho de metila, e dissolver em 15 mL de álcool etílico (medido com pipeta volumétrica);

5.3.4.2. Pesar 0,05 g de verde de bromocresol, e dissolver em 15 mL de álcool etílico (medido com pipeta volumétrica);

5.3.4.3. Após a completa dissolução, juntar as soluções em um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume do balão com água destilada.

5.3.5. Ácido Sulfúrico 0,02 N (para titulação):

5.3.4.1. Partindo de uma solução de ácido sulfúrico de normalidade conhecida, faz-se a diluição, usando a fórmula:  $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$ ;

N 1 = normalidade do ácido Sulfúrico que se deseja obter (0,02 N);

V 1 = volume desejado do ácido sulfúrico com a normalidade desejada;

N 2 = normalidade conhecida (encontrada no rótulo do reagente);

V 2 = volume do ácido Sulfúrico com a normalidade conhecida, necessário para se preparar o ácido Sulfúrico com a normalidade desejada.

5.3.5.2. Medir o volume de ácido encontrado na fórmula. Ex. usando-se o ácido sulfúrico 0,1 para obter a solução de ácido Sulfúrico 0,02, são necessários 200 mL da solução de ácido Sulfúrico 0,1, para se obter 1000 mL de ácido Sulfúrico 0,02.

5.3.5.3. Transferir o volume de ácido medido para um balão volumétrico de 1000 mL;

5.3.5.4. Completar para 1000 mL o volume do balão com água destilada.

## 6. Procedimento:

6.1. Amostra:

6.2. Pesar em papel vegetal e em balança analítica 0,03 g (30 mg) da amostra seca e triturada, sendo que o papel deve ser pesado anteriormente, tanto os valores de peso do papel e da amostra devem ser anotados;

6.3. Transferir a amostra pesada para o tubo de digestão (previamente marcado com o número da amostra);

6.4. Adicionar 7,0 mL da mistura digestora nos tubos. Para o branco, preparar um tubo somente com a mistura digestora.

6.2. Digestão da amostra:



6.2.1. Colocar os tubos de digestão no bloco digestor;

6.2.2. A temperatura inicial do bloco digestor deve ser de 50°C e esta temperatura deve ser aumentada gradativamente a cada 15 min (ou quando os tubos não estiverem transpirando demasiadamente) até a temperatura de 100° C, mantendo nessa temperatura por 1h;

6.2.3. Aumentar gradativamente 50°C a cada 15 minutos até atingir 350/400°C, mantendo nesta temperatura por no mínimo 2h;

**Emitido por:** Alessandra V. Gallani, Thais M. Menegazzo e Priscila E. Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 02	Nº Folha: 4 de 4	
		Emissão: 28/10/2008	Revisado: 23/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Nitrogênio Total (Micro-Kjeldahl).</b>				

6.2.4. Antes de destilar a amostra, após o resfriamento dos tubos, adicionar 10 a 20 mL de água destilada e esperar esfriar novamente.

6.3. Destilação da Amostra:

6.3.1. Proceder a destilação da amostra conforme o POP de uso do equipamento Destilador de Nitrogênio;

6.3.2. Fazer a conexão do tubo de digestão ao destilador Kjeldahl;

6.3.3. Adicionar cuidadosamente 10 a 15 mL de NaOH 18N no funil de separação do equipamento;

6.3.4. Receber o destilado em erlenmeyer de 250 mL, com 10 mL de ácido bórico 2% com 3 gotas de solução indicadora;

6.3.5. Destilar até atingir o volume de 50 mL no erlenmeyer de 250 mL;

6.3.6. Titular o destilado com  $H_2SO_4 - 0,02N$ .

6.4. Titulação da Amostra:

6.4.1. Transferir o ácido sulfúrico para uma bureta de 50 mL;

6.4.2. Verificar se não há bolhas de ar na bureta, caso contenha, abrir o registro da bureta e deixar escorrer até o desaparecimento das bolhas;

6.4.3. Colocar o erlenmeyer com o destilado sob a bureta;

6.4.4. Abrir vagarosamente o registro da bureta, agitando o erlenmeyer até que ocorra mudança de coloração da solução;

6.4.5. Verificar na bureta o volume de ácido gasto e anotá-lo para a realização dos cálculos.

#### 7. Cálculos em Base Seca:

$$\% N = \frac{(a-b) \times N_{(H_2SO_4)} \times 14 \times 100}{P}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% N \times 6,25$$

Onde:

a = mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) gasto na amostra;

b = mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) gasto no branco;

N = normalidade do ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) utilizado (=0,02);

P = peso da amostra seca em mg.

#### 8. Cálculos em Base Fresca (ou úmida):

$$\% \text{ Proteína} = \frac{\% \text{ Proteína (BS)} \times MS}{100}$$

Onde: MS = Matéria Seca; BS = valor em base seca



#### 9. Referência:

JOHNSON, C. M.; ULRICH, A. Analytical methods. In.: SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/Departamento de Química. Setor nutrição mineral de plantas, 1974. p.04-10. (modificado: quantidade de reagentes para preparo da mistura digestora).

**Emitido por:** Alessandra V. Gallani, Thais M. Menegazzo e Priscila E. Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

## ANEXO C – Físico-química para Determinação de Cinza

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 03	Nº Folha: 1 de 2	
		Emissão: 26/03/2009	Revisado: 30/06/2009	
POP-Físico-química para Determinação de Cinza				

**1. Objetivo:** Verificar a quantidade de minerais totais presentes na amostra analisada.

**2. Descrição:** Cinza de um alimento é o nome dado ao resíduo inorgânico que permanece após a queima da matéria orgânica a 550 °C, a qual é transformada em CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O e NO<sub>2</sub>, assim sendo, a cinza de um material é o ponto de partida para a análise de minerais específicos. Esses minerais são analisados tanto para fins nutricionais como também para segurança.

**3. Frequência e Responsabilidade:** Este procedimento deve ser adotado sempre que se deseja realizar a determinação da quantidade dos compostos minerais totais presentes em amostra de alimentos (inclui-se carnes, pescado, frutas e hortaliças). A análise deve ser realizada por pessoas treinadas, que tenham conhecimento em utilizar corretamente os equipamentos envolvidos, tomando os devidos cuidados com os mesmos e com a sua própria segurança.



**4. Materiais Necessários:**

- 4.1. Equipamentos:
  - 4.1.1. Forno mufla;
  - 4.1.2. Balança analítica;
  - 4.1.3. Bico de bunsen ou forno elétrico.
- 4.2. Vidrarias, utensílios e outros:
  - 4.2.1. Dessecador;
  - 4.2.2. Cadinho de porcelana;
  - 4.2.3. Espátula;
  - 4.2.4. Estufa.

**5. Procedimento:**

- 5.1. Levar os cadinhos de porcelana a serem usados à mufla, a uma temperatura de 550 °C por 1 hora (os quais deverão ser enumerados anteriormente com lápis grafite na parte inferior).
- 5.2. Retirar os cadinhos da mufla e colocar em dessecador por 30 minutos (10 minutos com a válvula de escape aberta e 20 minutos com a válvula de escape fechada).
- 5.3. Tarar os cadinhos em balança analítica e anotar seu peso.
- 5.4. Conferir se a marcação da amostra não apagou.
- 5.5. Pesar 2 g de cada amostra, previamente seca em estufa a 105 °C, em balança analítica e transferi-las para os seus respectivos cadinhos.
- 5.6. Levar os cadinhos com as amostras ao bico de bunsen ou ao forno elétrico em temperaturas mais baixas (inferiores a 550 °C) para carbonização, ou seja, até que as amostras não liberem mais fumaça.
- 5.7. Em seguida, levar as amostras à mufla para incineração à temperatura de 550 °C, deixando-os até que o material apresente uma coloração branca / ou cinza claro, sem a presença de pontos pretos (mais ou menos 2 dias).
- 5.8. Caso não ocorra o clareamento da cinza, adicionar 2 a 3 gotas de água nos cadinhos e secá-los em estufa à 105 °C. Depois levá-los à mufla novamente até se

<b>Emitido por:</b> Priscila Eloi Martins	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 03	Nº Folha: 2 de 2	
		Emissão: 26/03/2009	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Cinza</b>				

obter a cinza clara. Algumas gotas de azeite comestível podem ser adicionada inicialmente facilitando a carbonização.

5.9. Desligar a mufla e transferir os cadinhos para dessecador por 30 minutos (10 minutos com a válvula de escape aberta e 20 minutos com a válvula de escape fechada).

5.10. Pesar os cadinhos com a amostra de cinza em balança analítica.

## 6. Cálculo em porcentagem (%):

### 6.1. Em base seca:

$$\% \text{ Cinza} = \frac{C \times 100}{P}$$

C = Nº de g de cinza (diferença em gramas entre a massa do cadinho com amostra seca antes e após incineração).

P = Nº de g da amostra seca (2g).

### 6.2. Em Base Fresca (úmida):

$$\% \text{ Cinza} = \frac{\% \text{ Cinza (BS)} \times \text{MS}}{100}$$

BS = Valor em base seca

MS = Matéria Seca.

## 7. Funcionamento da mufla:

7.1. Ligar o aparelho na tomada (verificar a voltagem periodicamente)

7.2. Aumentar a temperatura gradativamente até que a mesma atinja 550 °C.

## 8. Recomendações gerais:

8.1. A temperatura da mufla deve ser aumentada gradativamente para não sobrecarregar o aparelho e também para que a queima do material seja uniforme.

## 9. Referências:

### 9.1. Descrição do método:

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N.P. (Coord.). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. p.27-28.



### 9.2. Descrição da quantidade de amostra e método:

WINTERS, S.; TENNYSON, J. Fish and other marine products – aish of seafood. In.: HORWITZ, W. (Ed.). Association of official analytical chemists (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC international**. 18th ed. Gaithersburg, 2006. Chap. 35. p.8.

**Emitido por:** Priscila Eloi Martins

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

## ANEXO D – Físico-química para Determinação de Lipídeos Totais

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 04	Nº Folha: 1 de 4	
		Emissão: 05/03/2008	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Lipídeos Totais</b>				

**1. Objetivo:** Descrever etapas e processos necessários para a extração de extrato etéreo (% lipídica).

**2. Descrição:** Os teores de lipídeo são extraídos da amostra através do extrator de lipídeos, com o uso de solvente orgânico (hexano). A quantidade extraída de lipídeo é medida pela diferença da pesagem da amostra antes e depois do processo de extração.

**3. Frequência e Responsabilidade:** Este procedimento deve ser adotado sempre que se deseja realizar a determinação do teor lipídico total de um produto. Esta análise deve ser realizada com amostra seca e triturada. A análise deve ser realizada por pessoas treinadas, que tenham conhecimento em utilizar corretamente os equipamentos envolvidos.

**4. Materiais Necessários:**

4.1 Equipamentos:

- 4.1.1. Extrator de lipídeo;
- 4.1.2. Estufa;
- 4.1.3. Balança analítica;
- 4.1.4. Estufa de circulação de ar forçada;
- 4.1.5. Dessecador;
- 4.1.6. Capela.

4.2. Vidraria, utensílios e outros:

- 4.2.1. Balões de fundo chato 125 mL;
- 4.2.2. Extrator de soxhleth;
- 4.2.3. Pinça;
- 4.2.4. Material para registrar os dados obtidos;
- 4.2.5. Espátula;
- 4.2.6. Papel filtro;
- 4.2.7. Algodão;
- 4.2.8. Papel macio.

**5. Reagente**



- 5.1. Solvente Hexano P.A.

**6. Procedimento pra Pesagem dos Balões de Fundo Chato Vazios:**

- 6.1. Marcar com uma caneta de retroprojeter os números das amostras nos balões;
- 6.2. Levar os balões à estufa a 105 °C durante uma hora. Contar o tempo somente depois de atingida temperatura de 105 °C;
- 6.3. Utilizar pinças, luvas e demais acessórios que eleger como necessários para não colocar as mãos em contato com os balões, ainda que frio. Este procedimento deverá ser mantido até o término da operação para evitar que resíduos do laboratório e/ ou secreções resultantes de nossa transpiração venham alterar a exatidão/ precisão do método.

**Emitido por:** Thais M. Menegazzo e Priscila Eloi Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 04	Nº Folha: 2 de 4	
		Emissão: 05/03/2008	Revisado: 30/06/2009	
	<b>POP-Físico-química para Determinação de Lipídeos Totais</b>			

6.4. Retirá-los com pinça e colocá-los no dessecador onde permanecerão por no mínimo 30 minutos para resfriar. Nos primeiros 10 minutos mantenha a válvula de segurança do dessecador aberta;

**OBS:** Materiais em alta temperatura danificam a balança e também não permitem uma pesagem exata /precisa;

6.5. Tarrar o balão em balança analítica de quatro dígitos;

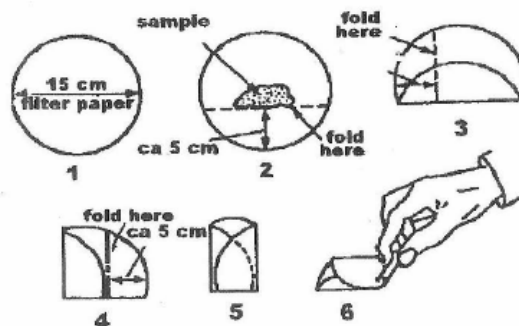
6.6. Registrar o peso dos balões.

### 7. Procedimento para Pesagem da Amostra:

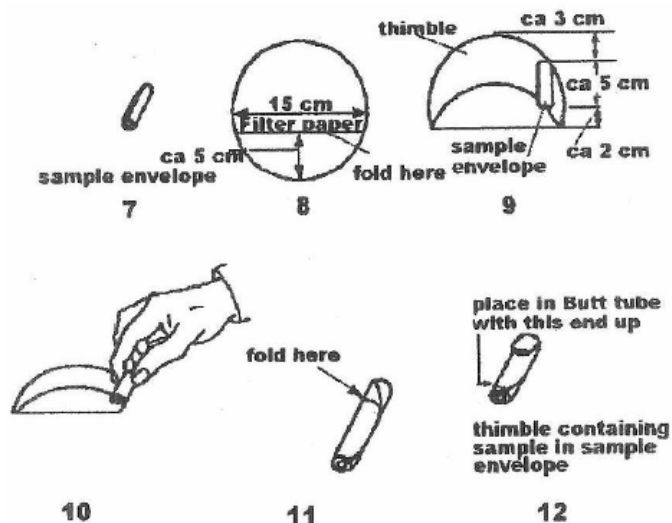
7.1. Tarrar a balança após colocar o papel filtro.

7.2. Pesar 2g da amostra seca e triturada sobre o papel filtro.

7.3. Retirar cuidadosamente da balança e dobrar conforme figura abaixo.





7.4. Após dobrar, enrolar o papel e introduzir em cartucho feito em papel filtro, como mostram as figuras a seguir:



**FIG.28.3. METHOD OF FOLDING FILTER PAPER FOR USE IN BUTT-TYPE EXTRACTION APPARATUS**

Emitido por: Thais M. Menegazzo e Priscila Eloi Martins.

Aprovado por: Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 04	Nº Folha: 3 de 4	
		Emissão: 05/03/2008	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Lipídeos Totais</b>				

7.5. Colocar algodão na extremidade do cartucho que ficou aberta após a última dobra;

7.6. Identificar os cartuchos com o código da amostra.

### 8. Procedimento para Extração de Lipídeo:

8.1. O manuseio dos balões deve ser realizado com papel macio ou luva;

8.2. Colocar o cartucho dentro do extrator;

8.3. Encaixar o extrator dentro do balão;

8.4. Despejar duas sinfonadas de hexano (80-90 mL) cuidadosamente dentro do extrator;

8.5. Encaixar o extrator e balão no equipamento extrator;

8.6. Ligar o aparelho (ligar primeiramente a torneira de água e, a seguir, o aparelho na tomada). Não esquecer de verificar a voltagem;

8.7. Deixar por, no mínimo, 6 a 8 horas;

8.8. Após transcorrer as 6 a 8 horas, começar retirar o hexano que ficar retido no extrator reservando-o para posterior recuperação;

8.9. Quando o lipídeo estiver praticamente seco no balão, retirar o extrator do equipamento, mas não deixar a amostra secar totalmente;

8.10. Levar o balão à estufa, de circulação forçada de ar, a 70/80 °C. Aumentar a temperatura em 10 °C a cada 60 minutos e manter a 105 °C por 1h ou até completa evaporação do solvente. Caso a recuperação não tenha sido completa, ou seja, se existir um resíduo do solvente nos balões, utilize temperaturas iniciais na faixa de 50 a 60 °C e proceda como descrito acima, evitando riscos de indução à chama (fogo); É importante não colocar as mãos sem proteção nos balões volumétricos em momento algum do procedimento.

### 9. Procedimento para pesagem dos Balões com Lipídeo:

9.1 Colocar os balões no dessecador por 30 minutos, nos primeiros 10 minutos mantenha a tampa do dessecador com a abertura de troca na posição aberta ou deixe a tampa com um espaço aberto de 1,0 cm para permitir a queda de temperatura;

9.2 Retirar os balões do dessecador com pinça;

9.3 Pesar em balança analítica, sempre zerando a balança entre um balão e outro;

9.4 Registrar o peso dos balões.

### 10. Cálculo em porcentagem (%):

#### 10.1. Em base seca:

$$\% \text{ Lipídeos Totais} = \frac{((\text{Peso do balão} + \text{óleo}) - (\text{Peso do balão})) \times 100}{\text{Peso da amostra seca}}$$

#### 10.2. Em Base Fresca (úmida):

$$\% \text{ Lipídeos Totais} = \frac{\% \text{ LT (BS)} \times \text{MS}}{100}$$

Onde: MS = Matéria seca



LT = Lipídeos Totais

BS = Valor em Base seca

**Emitido por:** Thais M. Menegazzo e Priscila Eloi Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 04	Nº Folha: 4 de 4	
		Emissão: 05/03/2008	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Lipídeos Totais</b>				



#### 11. Referências:

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N.P. (Coord.). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. p.42-43.

**Emitido por:** Thais M. Menegazzo e Priscila Eloi Martins.

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

## ANEXO E – Físico-química para Determinação pH

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 05	Nº Folha: 1 de 3	
		Emissão: 05/03/2008	Revisado: 19/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação pH</b>				

**1. Objetivo:** Verificação da alcalinidade e da acidez de produtos cárneos e pescado.

**2. Descrição:** O pH é uma característica de todas as substâncias, determinado pela concentração de íons de Hidrogênio ( $H^+$ ). Os valores variam de 0 a 14, sendo que valores de 0 a 6,9 são considerados ácidos, valores em torno de 7 são neutros e valores acima de 7 são denominados básicos ou alcalinos. Quanto menor o pH de uma substância, maior a concentração de íons  $H^+$  e menor a concentração de íons  $OH^-$ .

**3. Frequência e Responsabilidade:** Este procedimento deve ser adotado sempre que se deseja realizar a determinação do valor de pH em um produto. A análise deve ser realizada por pessoas treinadas, que tenham conhecimento em utilizar corretamente o aparelho de determinação de pH, tomando os devidos cuidados com os reagentes, produtos e eletrodos.

**4. Materiais Necessários:**

4.1 Equipamentos:

- 4.1.1. Balança analítica;
- 4.1.2. pHmetro (TEC3-MP).

4.2. Vidraria, utensílios e outros:

- 4.2.1. Bastão de vidro;
- 4.2.2. Béquer de 50 mL
- 4.2.3. Béquer de 100 mL;
- 4.2.4. Proveta 100 mL.

4.3. Reagentes



- 4.3.1. Solução tampão pH 7;
- 4.3.2. Solução tampão pH 4.

**5. Procedimento:**

**5.1. Preparo da Amostra:**

- 5.1. Pesar, em um béquer de 250 mL, cerca de 10 g da amostra finamente picada, ou triturada, e homogeneizar;
- 5.2. Adicionar 100 mL de água destilada a 25 °C. No caso de amostras líquidas a diluição não é necessária;
- 5.3. Homogeneizar a amostra e a água com a ajuda de um bastão de vidro e deixar repousar por 30 minutos, agitando ocasionalmente;
- 5.4. Se não houver dissolução completa, deixe em repouso por 10 minutos. Decante o líquido sobrenadante para um frasco seco e imediatamente determine o pH, ou então, não encoste o eletrodo na amostra decantada ao fazer a medição;
- 5.5. Realizar a análise em triplicata (3 béqueres de 250 mL com 10 g de amostra + 100 mL de água destilada em cada um).

<b>Emitido por:</b> Alessandra Vanessa Gallani e Priscila Eloi Martins	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 05	Nº Folha: 2 de 3	
		Emissão: 05/03/2008	Revisado: 19/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação pH</b>				

#### 6. Funcionamento do pHmetro TEC3-MP:

- 6.1. Ligar o aparelho na tomada (verificar a voltagem) em local sem umidade e que a temperatura não exceda 35 °C;
- 6.2. Ligar o pHmetro através de um botão localizado na parte de traz do aparelho;
- 6.3. Retirar a borracha protetora da ponta sensora do eletrodo e lavar com água destilada para limpar a solução de KCL;
- 6.4. Verificar possíveis bolhas de ar na ponta sensível do eletrodo. Caso haja, agitar com cuidado;
- 6.5. Retirar a tampa de borracha (vermelha) do respiro para que a solução de KCL flua;
- 6.6. É recomendável que se deixe o eletrodo mergulhado em KCL 3M durante algumas horas para ativar seu funcionamento;
- 6.7. Após esse tempo, realizar a calibração do aparelho.

#### 7. Calibração do aparelho:

- 7.1. Na tela do aparelho vão aparecer 3 opções (COFG, DESL, MED) que estão relacionadas com as letras A, B, C , respectivamente, no painel:

COFG = você poderá configurar o equipamento para suas necessidades;  
 MED = irá para a situação de medição e a configuração será de fábrica;  
 DESL = desliga o aparelho.



- 7.2. Escolha a opção MED, apertando a letra C (configuração de fábrica);
- 7.3. Selecione a opção **cal** (calibrar), apertando a letra C;
- 7.4. Lave o eletrodo com água destilada e enxugue-o com papel macio e absorvente, suavemente, sem friccionar;
- 7.5. Mergulhe o eletrodo e o sensor de temperatura no 1º tampão (indicado no visor) e pressione a tecla OK;
- 7.6. Aguarde até que apareça o sinal de = = = (3 vezes) no visor;
- 7.7. Retire o eletrodo da amostra, lave-o com água destilada, enxugue e mergulhe-o no 2º tampão e pressione OK;
- 7.8. Aguarde até que apareça o sinal de = = = (3 vezes) no visor;
- 7.9. Retire o eletrodo da amostra, lave-o com água destilada e enxugue-o com papel macio e absorvente, suavemente, sem friccionar;
- 7.10. Se tudo ocorrer bem, o display indica por alguns segundos a sensibilidade do eletrodo (%).

#### 8. Verificando o pH da amostra:

- 8.1. Colocar o eletrodo na amostra homogeneizada e aguardar alguns segundos, até que o display do aparelho indique o valor fixo (esperar mostrar 3 vezes o símbolo (=));
- 8.2. Sempre que trocar de amostra, lavar o eletrodo com água destilada e enxugar com papel macio e absorvente;

**Emitido por:** Alessandra Vanessa Gallani  
e Priscila Eloi Martins

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 05	Nº Folha: 3 de 3	
		Emissão: 05/03/2008	Revisado: 19/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação pH</b>				

8.3. É importante que, ao colocar o eletrodo na amostra, o mesmo não encoste no fundo do béquer ou então nas laterais.

## 9. Recomendações gerais:

9.1. Quando não se estiver fazendo leituras, sempre deixe o eletrodo mergulhado em KCL 3M;

9.2. Quando o nível da solução de KCL diminuir, completar o nível até quase a abertura do respiro;

9.3. Nunca deixe o meio no qual você está fazendo a medição ficar acima do nível da solução de KCL do eletrodo, pois poderá ocorrer a contaminação da solução KCL, podendo comprometer seu funcionamento.

## 10. Referências:

10.1. Medição de pH:

PREGNOLATTO, W.; PREGNOLATTO, N.P. (Coord.). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. p.27.



10.2. Cuidados com o pHmetro:

TECNAL EQUIPAMENTOS PARA LABORATÓRIO. **Manual do medidor de pH TEC3-MP**. Piracicaba: s.d., 6p.

**Emitido por:** Alessandra Vanessa Gallani  
e Priscila Eloí Martins

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

## ANEXO F – Físico-química para Determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 07	Nº Folha: 1 de 3	
		Emissão: 20/06/08	Revisado: 30/06/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT).</b>				

**1. Objetivo:** Descrever o procedimento adotado para a determinação de bases nitrogenadas voláteis totais em pescado.

**2. Descrição:** O nitrogênio protéico é precipitado com ácido tricloroacético e o filtrado, contendo o nitrogênio volátil, é alcalinizado a vapor, recebido em solução de ácido bórico e titulado com solução de ácido padronizado em presença de indicador adequado.

**3. Frequência e Responsabilidade:** As análises de BNVT devem ser feitas toda vez que há coleta de pescado, imediatamente após o processamento, por ser uma análise de frescor. A equipe responsável pelas análises físico-químicas é encarregada do preparo dos reagentes, separação de vidrarias e pela realização da análise.

**4. Materiais Necessários:**

**4.1. Equipamentos:**

- 4.1.1. Aparelho de destilação a vapor;
- 4.1.2. Balança analítica de precisão de 4 casas (0,0000);
- 4.1.3. Liquidificador e/ou triturador elétrico;
- 4.1.4. Bomba a vácuo (se a amostra triturada for muito densa).

**4.2. Vidrarias, utensílios e outros:**

- 4.2.1. Becker de 250 mL – para colocar a amostra triturada;
- 4.2.2. Bureta de 10 ou 25 mL para a titulação;
- 4.2.3. Cápsula de alumínio – para pesar o óxido de magnésio;
- 4.2.4. Erlenmeyer de 1000 mL para a destilação;
- 4.2.5. Erlenmeyer de 125 mL para o recebimento do destilado;
- 4.2.6. Erlenmeyer de 250 mL – para receber o filtrado;
- 4.2.7. Espátula;
- 4.2.8. Funil de Bücker ou funil normal – para a filtração;
- 4.2.9. Papel de filtro qualitativo;
- 4.2.10. Papel de filtro quantitativo;
- 4.2.11. Pêra;
- 4.2.12. Pipetas volumétricas de 10mL;
- 4.2.13. Pipetas volumétricas de 20 mL.

**4.3. Reagentes:**

\*Todos os reagentes devem ser preparados em capela.

4.3.1. Indicador misto:

- 4.3.1.1. 0,132 g de vermelho de metila e 0,066 g de verde de bromocresol;
- 4.3.1.2. Dissolver em 200 mL de álcool etílico a 70%.

4.3.2. Solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5%:

- 4.3.2.1. Pesar 50 g de ácido tricloroacético;
- 4.3.2.2. Dissolver em água destilada completando o volume de 1000 mL.



**OBS:** O TCA é um produto químico que pode causar queimaduras

4.3.3. Solução de ácido bórico a 4%:

- 4.3.3.1. Pesar 40g de ácido tricloroacético;
- 4.3.3.2. Dissolver em água destilada completando o volume de 1000 mL;

**Emitido por:** Juliana dos Santos Minetto e  
Priscila E. Martins

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 07	Nº Folha: 2 de 3	
		Emissão: 20/06/08	Revisado: 26/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT).</b>				

4.3.3.3. Colocar em agitador magnético até total dissolução.

4.3.4. Solução de ácido sulfúrico 0,01N:

4.3.4.1. Efetuar o cálculo utilizando a fórmula:  $N_1V_1=N_2V_2$ ;

4.3.4.2. A partir de uma normalidade conhecida (ex: 0,1N ( $N_1$ )) efetuar o cálculo para 1000mL ( $V_2$ );

4.3.4.3. Substituindo na fórmula tem-se:  $0,1 \times V_1 = 0,01N \times 1000 \text{ mL}$ , logo  $V_1 = 100 \text{ mL}$ ;

4.3.4.4. Medir o volume de 100 mL em pipeta volumétrica;

4.3.4.5. Transferir para um balão volumétrico, completando-se o volume de 1000 mL.

4.3.5. Óxido de magnésio P.A.;

4.3.6. Água destilada.

## 5. Procedimento:

### 5.1. Preparo da Amostra:

5.1.1. Triturar a amostra de pescado em processador elétrico;

5.1.2. Pesar 50 g (ou 100 g) de amostra triturada;

5.1.3. Bater em liquidificador por 1 minuto com 150 mL (ou 300 ml, quando se usar 100g de amostra) de solução de ácido tricloroacético a 5%, até obter uma massa homogênea;

5.1.4. Filtrar em funil de Bücker com utilização de papel filtro qualitativo sob bomba à vácuo (caso o filtrado não esteja límpido, repetir a operação usando papel de filtro qualitativo).

### 5.2. Destilação da amostra:

5.2.1. Transferir 10 mL (com auxílio de pipeta volumétrica) do filtrado obtido para o Erlenmeyer de 1000 mL ajustável ao destilador;

5.2.2. Adicionar 20 mL de água destilada;

5.2.3. Adicionar 1 g de óxido de magnésio no momento da destilação;

5.2.4. Acoplar o erlenmeyer contendo a amostra + água + óxido no destilador;

5.2.5. Ligar o aquecimento do destilador;

5.2.6. Receber o destilado em erlenmeyer de 125 mL contendo 20 mL de ácido bórico 4% com 5 gotas do indicador misto;

5.2.7. Recolher o destilado até 100 mL.

### 5.3. Titulação:

5.3.1. Titular a amônia e aminas voláteis com solução de ácido sulfúrico 0,01N;

5.3.2. Ponto de viragem é quando o verde/azul passa para lilás/rosa.

### 5.4. Fazer branco correspondente.



## 6. Cálculos:

$$\text{BNVT em mg N/100 g} = \frac{14 \times (150 + A) \times V \times f \times N \times 100}{V_a \times P}$$

Onde: N= normalidade da solução do ácido sulfúrico;

**Emitido por:** Juliana dos Santos Minetto e Priscila E. Martins

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Físico-Químicas</b>	POP nº 07	Nº Folha: 3 de 3	
		Emissão: 20/06/08	Revisado: 26/03/2009	
<b>POP-Físico-química para Determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT).</b>				

V= mL de ácido sulfúrico gastos na titulação;  
 F= fator de correção de solução de ácido sulfúrico 0,01N;  
 Va= volume da alíquota em mL (10 mL do filtrado);  
 P= massa da amostra em gramas (50 g);  
 A= conteúdo de água na amostra expressa em mL/100 g.

Obs: Pode-se considerar que o conteúdo médio de água na carne de pescado é de 80%. Quando utilizar 150 mL de ácido tricloroacético e pesar 50 g, a expressão  $(150+40) = 190$ . Se Utilizar 300 mL de ácido tricloroacético e 100 g de amostra a expressão fica  $(300 +80) = 380$ .

#### 9. Referência:

SAVAY DA SILVA, L. K.; RIGGO, R.; MARTINS, P.E.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, VII BMCFB. Preprint Series, n. 20, p. 138-144, dez 2008. Disponível em: <[http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial\\_2009\\_2/v12ne\\_t0288.pdf](http://bj.ital.sp.gov.br/artigos/especiais/especial_2009_2/v12ne_t0288.pdf)> Acesso em: 30 jun 2009.



Adaptado de:

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999**. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura. Brasília, 1999. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2855>>. Acesso em: 01 jun 2008.

**Emitido por:** Juliana dos Santos Minetto e Priscila E. Martins

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

## ANEXO G – Micro para prepare de Água Salina Peptonada e Diluições Decimais

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 01</b>	<b>Nº Folha 1 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/2009</b>	
<b>POP-Micro para o preparo de Água Salina Peptonada e Diluições Decimais.</b>				

**1. Objetivo:** Preparo da água salina peptonada para realizar a diluição das amostras e obtenção das diluições decimais para se iniciar a análise microbiológica.

**2. Descrição:** A água salina peptonada deverá ser utilizada para o preparo das diluições das amostras a serem analisadas. O volume a ser feito depende da quantidade de amostra a ser analisada.

**3. Frequência e Responsabilidade:** Este procedimento deve ser adotado sempre que se deseja realizar uma análise microbiológica, devendo ser a primeira solução/meio de cultura a ser preparado. Toda a equipe encarregada de realizar as análises microbiológicas é responsável pelo preparo da água salina peptonada e das diluições decimais.



**4. Materiais Necessários:**

- 4.1. Erlenmeyers de 500 mL (1 erlenmeyer para cada amostra sólida a ser analisada);
- 4.2. Tubos de ensaio;
- 4.3. Bécker 500 mL;
- 4.4. Balança;
- 4.5. Bastão de Vidro;
- 4.6. Algodão;
- 4.7. Água destilada;
- 4.8. Autoclave;
- 4.9. Sacos plásticos do tipo Ziploc ou semelhante;
- 4.10. Peptona;
- 4.11. NaCl;
- 4.12. Agitador de tubos;
- 4.13. Stomacher;
- 4.14. Pipetas de 1 mL estéreis;
- 4.15. Pipetas descartáveis de 10 mL.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 01</b>	<b>Nº Folha 2 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/2009</b>	
<b>POP-Micro para o preparo de Água Salina Peptonada e Diluições Decimais.</b>				

### 5. Preparo da Água Salina Peptonada (diluyente):

5.1. Primeiramente, deve ser estabelecido o número de diluições que serão empregadas no experimento.

5.2. Os cálculos para o preparo a água salina peptonada seguem os seguintes critérios:

5.2.1. Cada tubo de diluição seriada deve conter exatamente 9 mL do diluyente e deve ser utilizado um tubo para cada diluição;

5.2.2. Cada amostra sólida deve sofrer a primeira diluição da seguinte maneira: 25 g da amostra: 225 mL do diluyente ou 50 g da amostra: 450 mL do diluyente; caracterizando a diluição  $10^{-1}$ ;

5.2.3. Pesa-se a Peptona e o NaCl, em papel manteiga, nas seguintes proporções:

5.2.3.1. Peptona: 1 g em 1000 mL de água destilada;

5.2.3.2. NaCl: 8,5 g em 1000 mL de água destilada.

#### **5.3. Para amostras sólidas:**

5.3.1. Pesar a peptona e o NaCl em papel de seda;

5.3.2. Transferir para o Erlenmeyer de 500 mL;

5.3.3. Completar com o volume necessário de água destilada;

5.3.4. Homogeneizar bem com o auxílio de um bastão de vidro;

5.3.5. Fechar o frasco com tampão feito com algodão;

5.3.6. Autoclavar a 121 °C/15 min.

#### **5.4. Para os tubos de ensaio:**

5.4.1. Transferir os componentes pesados para o Becker de 500 mL;

5.4.2. Completar com o volume necessário de água destilada;



5.4.3. Homogeneizar bem com o auxílio de um bastão de vidro;

5.4.4. Transferir exatamente 9 mL para cada tubo de ensaio com o auxílio de uma pipeta descartável de 10 mL;

5.4.5. Fechar os tubos com tampão de algodão;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	Documento nº 01	Nº Folha 3 de 4	
		Emissão: 08/04/09	Revisão: 30/06/2009	
<b>POP-Micro para o preparo de Água Salina Peptonada e Diluições Decimais.</b>				

5.4.6. Autoclavar a 121 °C/15 min.

## 6. Preparo das diluições:

### 6.1. Amostras líquidas:



- 6.1.1. Retirar 1 mL da amostra e passar para o tubo de ensaio com 9 mL de água salina peptonada, realizando a diluição  $10^{-1}$ ;
- 6.1.2. Agitar o tubo no agitador de tubos;
- 6.1.3. Descartar a pipeta;
- 6.1.4. Transferir 1 mL da diluição  $10^{-1}$  para outro tubo de ensaio com 9 mL de água salina peptonada, obtendo-se a diluição  $10^{-2}$ ;
- 6.1.5. Agitar o tubo no agitador de tubos;
- 6.1.6. Descartar a pipeta;
- 6.1.7. Repetir os procedimentos até atingir a diluição desejada, lembrando sempre de agitar e descartar as pipetas.

### 6.2. Amostras sólidas:

- 6.2.1. Colocar previamente os saquinhos na luz UV na Câmara de Fluxo Laminar por 15 minutos;
- 6.2.2. Pesar 25 g ou 50 g da amostra e misturar com os 225 mL ou 450 mL, respectivamente, de água salina peptonada em saquinho, para se obter a diluição  $10^{-1}$ ;
- 6.2.3. Agitar a mistura em Stomacher ou massagear manualmente o saquinho;
- 6.2.4. Retirar 1 mL da diluição  $10^{-1}$  e passar para um tubo de ensaio com 9 mL de água salina peptonada, obtendo-se a diluição  $10^{-2}$ ;
- 6.2.5. Agitar o tubo no agitador de tubos;
- 6.2.6. Descartar a pipeta;
- 6.2.7. Retirar 1 mL da diluição  $10^{-2}$  e passar para um tubo de ensaio com 9 mL de água salina peptonada, obtendo-se a diluição  $10^{-3}$ ;
- 6.2.8. Agitar o tubo no agitador de tubos;
- 6.2.9. Descartar a pipeta;
- 6.2.10. Repetir os procedimentos até atingir a diluição desejada, lembrando sempre de agitar e descartar as pipetas.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 01</b>	<b>Nº Folha 4 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/2009</b>	
<b>POP-Micro para o preparo de Água Salina Peptonada e Diluições Decimais.</b>				

**7. Referência:**

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997. 295p.

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

## ANEXO H – Micro para Análises de Microrganismos Mesófilos/Heterotróficos

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 02</b>	<b>Nº Folha 1 de 3</b>	
		<b>Emissão:</b> 08/04/09	<b>Revisão:</b> 30/06/2009	
<b>POP-Micro para a Análise de Microrganismos Mesófilos/Heterotróficos.</b>				

**1. Objetivo:** Preparar o meio Plate Count Agar (PCA) para a Análise de Microrganismo Mesófilos/Heterotróficos em Alimentos e descrever os procedimentos adotados durante a análise.

**2. Descrição:** A contagem Total de Aeróbios Mesófilos em placas, também denominada Contagem Padrão em Placas, é o método mais utilizado como indicador geral de populações bacterianas em alimentos. Não diferencia tipos de bactéria, sendo utilizado para obtenção de informações gerais sobre a qualidade de produtos, práticas de manufatura, matérias-primas utilizadas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira. O volume de meio a ser preparado depende da quantidade de amostra a ser analisada.



**3. Frequência e Responsabilidade:** Adotar o procedimento sempre que for necessário realizar a contagem de Microrganismos Mesófilos/Heterotróficos durante uma análise microbiológica. Toda a equipe encarregada de realizar as análises microbiológicas.

**4. Materiais Necessários:**

- 4.1. Placas de Petri estéreis;
- 4.2. Erlenmeyers de 500 mL;
- 4.3. Algodão;
- 4.4. Banho-maria para manter a temperatura do meio por volta de 45/50 °C;
- 4.5. Balança;
- 4.6. Tubos de diluição com 9 mL de Água Salina Peptonada (ver POP nº01);
- 4.7. Bastão de Vidro;
- 4.8. Água destilada;
- 4.9. Autoclave;
- 4.10. Medidor de pH;
- 4.11. Microondas;
- 4.12. Meio de Cultura Plate Count Agar (PCA);
- 4.13. Estufa a 35 °C;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 02</b>	<b>Nº Folha 2 de 3</b>	
		<b>Emissão:</b> 08/04/09	<b>Revisão:</b> 30/06/2009	
<b>POP-Micro para a Análise de Microrganismos Mesófilos/Heterotróficos.</b>				

4.14. Contador de colônias.

### 5. Cálculos para a determinação da quantidade de material e meio de cultura a ser preparado:

5.1. O cálculo para se estabelecer a quantidade de Placas de Petri que serão usadas durante o experimento deve ser realizado segundo: nº de diluições a serem empregadas x nº de amostras x 2 (duplicata da diluição a ser analisada);

5.2. Sempre acrescentar 10 placas a mais no cálculo final, caso ocorra algum imprevisto;

5.3. Os cálculos para o preparo do meio PCA devem seguir a equação: nº total de Placas de Petri usadas durante a análise x 25 mL (quantidade de mL que será distribuída em cada Placa);

5.4. Sempre que possível, preparar uma quantidade a mais de meio de cultura.

### 6. Preparo do Meio PCA:

6.1. A quantidade total de meio de cultura a ser preparada deve ser distribuída em Erlenmeyers de 500 mL;

6.2. O máximo de meio a ser colocado em cada frasco deve ser de 300 mL, para que não ocorram problemas de vazamento no momento de aquece-lo para a análise;

6.3. Pesar a quantidade de PCA necessário (7,05 g de PCA para cada 300 mL) e transferir o material para o Erlenmeyer, completar com o volume de água requerido e homogeneizar bem com o auxílio de um bastão de vidro;



6.4. Aferir o pH do meio (de acordo com a rotulagem) e se necessário, ajustar o pH com NaOH ou HCl. Aquecer em microondas até que o meio adquira uma cor translúcida, livre de partículas sólidas. Cuidado para não deixar derramar;

6.5. Fechar o frasco com tampão de algodão (cuidado para não deixar o tampão muito frouxo);

6.6. Encapar o algodão com um papel e autoclavar a 121 °C/15 minutos imediatamente.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 02</b>	<b>Nº Folha 3 de 3</b>	
		<b>Emissão:</b> 08/04/09	<b>Revisão:</b> 30/06/2009	
<b>POP-Micro para a Análise de Microrganismos Mesófilos/Heterotróficos.</b>				

#### 7. Análise de Mesófilos/Heterotróficos:

7.1. Fundir em microondas o meio de cultura sólido que se encontra dentro dos Erlenmeyers (PCA's);

7.2. É importante que se funda o meio até que não existam pedaços sólidos do meio de cultura dentro do frasco, o que pode acabar prejudicando a análise;

7.3. Os frascos que já foram fundidos devem permanecer em banho-maria a 45/50 °C até o momento da análise;

7.4. Distribuir 1 mL da diluição desejada em cada placa (lembrando que são 2 placas por diluição);

7.5. Acrescentar o meio de cultura líquido até que se cubra o fundo da placa ( $\pm$  25 mL);

7.6. Agitar as placas em movimentos circulares e em forma de "oito" para que ocorra uma homogeneização do inóculo;

7.7. Esperar secar e incubar as placas invertidas em estufa a 35 °C por 48 horas.

#### 8. Resultados:

8.1. Retirar as placas da estufa;

8.2. Fazer a contagem das colônias em um Contador de Colônias;

8.3. Para expressão do resultado, atentar para a redução decimal de uma diluição a outra;

8.4. Realizar a média da duplicata (mais uniforme) e multiplicar esse valor pelo inverso da diluição;

8.5. O resultado deve ser expresso em UFC/g ou mL do alimento analisado.

**9. Observações:** O Laboratório de Tecnologia do Pescado adota como Microrganismos Mesófilos àqueles provenientes de Alimentos e como Microrganismos Heterotróficos àqueles presentes na água de cultivo.



#### 10. Referências:

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

## ANEXO I – Micro para a Análise de Microrganismos Psicrotróficos/Psicrotrófilos

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 03</b>	<b>Nº Folha 1 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/2009</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de Microrganismos Psicrotróficos/Psicrotrófilos.</b>				

**1. Objetivo:** Preparar o meio Plate Count Agar (PCA) para a Análise de Microrganismo Psicrotróficos em Alimentos e descrever os procedimentos adotados durante a análise.

**2. Descrição:** Este procedimento tem como objetivo quantificar os microrganismos que crescem em alimentos sob refrigeração (0-7 °C) mas apresentam temperatura ótima acima de 20°C, são os chamados psicrotróficos ou psicrotrófilos. São definidos como microrganismos capazes de produzir crescimento visível a 7±1 °C no prazo de 7 a 10 dias, independente de sua temperatura ótima. O volume de meio a ser preparado depende da quantidade de amostra a ser analisada.



**3. Frequência e Responsabilidade:** Adotar o procedimento sempre que for necessário realizar a contagem de Microrganismos Psicrotróficos durante análise microbiológica. Toda a equipe encarregada de realizar as análises microbiológicas é responsável pela realização dessa análise.

**4. Materiais Necessários:**

- 4.1. Placas de Petri estéreis;
- 4.2. Erlenmeyers de 500 mL;
- 4.3. Algodão;
- 4.4. Banho-maria para manter a temperatura do meio por volta de 45/50 °C;
- 4.5. Balança;
- 4.6. Tubos de diluição com 9 mL de Água Salina Peptonada (ver POP nº01);
- 4.7. Bastão de Vidro;
- 4.8. Água destilada;
- 4.9. Autoclave;
- 4.10. Medidor de pH;
- 4.11. Microondas;
- 4.12. Meio de Cultura Plate Count Agar (PCA);
- 4.13. BOD regulada a 20 °C;
- 4.14. Contador de colônias;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	Documento nº 03	Nº Folha 2 de 4	
		Emissão: 08/04/09	Revisão: 30/06/2009	
<b>POP-Micro para a Análise de Microrganismos Psicotróficos/Psicotrófilos.</b>				

4.15. Pipetas de 1 mL/2 mL estéreis.

### 5. Cálculos para a determinação da quantidade de material e meio de cultura a ser preparado:

5.1. Primeiramente, deve ser realizado o cálculo para se estabelecer a quantidade de Placas de Petri que serão usadas durante o experimento da seguinte forma: nº de diluições a serem empregadas x nº de amostras x 2 (duplicata da diluição a ser analisada);

5.2. Sempre acrescentar 10 placas a mais no cálculo final, caso ocorra algum imprevisto;

5.3. Os cálculos para o preparo do meio PCA devem seguir a equação: nº total de Placas de Petri usadas durante a análise x 25 mL (quantidade de mL que será distribuída em cada Placa);

5.4. Sempre que possível, preparar um pouco a mais de meio de cultura.

### 6. Preparo do Meio PCA:

6.1. A quantidade total de meio de cultura a ser preparada deve ser distribuída em Erlenmeyers de 500 mL;

6.2. Sendo que o máximo de meio a ser colocado em cada frasco deve ser de 300 mL, para que não ocorram problemas de vazamento no momento de aquecê-lo para a análise;

6.3. Pesar a quantidade de PCA necessário (7,05 g para cada 300 mL de PCA que se deseja fazer) e transferir o material para o Erlenmeyer, completar com o volume de água requerido e homogeneizar bem com o auxílio de um bastão de vidro;

6.4. Aferir o pH do meio (de acordo com a rotulagem) e se necessário, ajustar o pH com NaOH ou HCl;

6.5. Aquecer em microondas até que o meio adquira cor translúcida, livre de partículas sólidas;



6.6. Cuidado para não deixar derramar;

6.7. Fechar o frasco com tampão de algodão (cuidado para não deixar o tampão muito frouxo);

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 03</b>	<b>Nº Folha 3 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/2009</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de Microrganismos Psicrotróficos/Psicrotrófilos.</b>				

6.8. Encapar o algodão com um papel e autoclavar imediatamente a 121 °C/15 minutos.

#### 7. Análise de Psicrotróficos:

7.1. Fundir em microondas o meio de cultura sólido que se encontra dentro dos Erlenmeyers;

7.2. É importante que não existam pedaços sólidos do meio de cultura dentro do frasco (o meio deve estar translúcido), o que pode acabar prejudicando a análise;

7.3. Os frascos que já foram fundidos devem permanecer em banho-maria a 45/50 °C até o momento da análise;

7.4. Distribuir 1 mL da diluição desejada em cada placa (lembrando que são 2 placas por diluição);

7.5. Acrescentar o meio de cultura líquido até que se cubra o fundo da placa ( $\pm 25$  mL);

7.6. Agitar as placas em movimentos circulares e em forma de "oito" para que ocorra uma homogeneização do inóculo;

7.7. Esperar secar e incubar as placas invertidas em BOD a 20 °C por 72 horas (3 dias).

#### 8. Resultados:

8.1. Retirar as placas da BOD;

8.2. Fazer a contagem das colônias em um Contador de Colônias;



8.3. Para expressão do resultado, atentar para a redução decimal de uma diluição a outra;

8.4. Realizar a média da duplicata (mais uniforme) e multiplicar esse valor pelo inverso da diluição;

8.5. O resultado deve ser expresso em UFC/g ou mL do alimento analisado.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 03</b>	<b>Nº Folha 4 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/2009</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de Microrganismos Psicrotróficos/Psicrotrófilos.</b>				

#### 9. Observações:

9.1. O Laboratório de Tecnologia do Pescado adota 20 °C como temperatura de incubação de Microrganismos Psicrotróficos (durante 3 dias);

9.2. Normalmente encontramos na literatura a temperatura de 7 °C por 10 dias.



#### 10. Referências:

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S.  
Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

ANEXO J – Micro para o prepare de Caldo LST-MUG e Caldo VB para Análise de Coliformes Totais em Alimentos

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 04</b>	<b>Nº Folha 1 de 5</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para o preparo do Caldo LST-MUG e Caldo VB para a Análise de Coliformes Totais em Alimentos.</b>				

**1. Objetivo:** Preparar os meios Caldo Lauril Sulfato Triptose com MUG (LST-MUG) e Caldo Verde Brilhante Bile 2% Lactose (VB) para a análise de Coliformes fecais e totais, respectivamente.



**2. Descrição:** Este procedimento tem por finalidade determinar a quantidade de coliformes totais presentes em um determinado alimento ou na água. No grupo dos coliformes totais estão apenas as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35 °C. O volume do meio a ser preparado depende da quantidade de amostra a ser analisada.

**3. Frequência e Responsabilidade:** Adotar o procedimento sempre que for necessário a realização da contagem de Coliformes durante uma análise microbiológica. Toda a equipe encarregada de realizar as análises microbiológicas.

**4. Materiais Necessários:**

- 4.1. Tubos de ensaio com rosca;
- 4.2. Tubos de Duhran;
- 4.3. Bécker 1000 mL;
- 4.4. Balança;
- 4.5. Tubos de diluição com 9 mL de Água Salina Peptonada (ver POP nº01);
- 4.6. Bastão de Vidro;
- 4.7. Latas de alumínio vazias;
- 4.8. Água destilada;
- 4.9. Autoclave;
- 4.10. Medidor de pH;
- 4.11. Microondas;
- 4.12. Caldo Lauril Sulfato Triptose com MUG (LST-MUG);
- 4.13. Caldo Verde Brilhante Bile 2% Lactose (VB);
- 4.14. Agitador de tubos;

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 04</b>	<b>Nº Folha 2 de 5</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para o preparo do Caldo LST-MUG e Caldo VB para a Análise de Coliformes Totais em Alimentos.</b>				

- 4.15. Estufa a 35 °C;
- 4.16. Pipetas de 1 mL estéreis;
- 4.17. Alça microbiológica;
- 4.18. Câmara de Luz UV;
- 4.19. Pipetas descartáveis de 10 mL.

#### **5. Cálculos para a determinação da quantidade de material e meio de cultura a ser preparado:**

5.1. Primeiramente, deve ser realizado o cálculo para se estabelecer a quantidade de tubos que serão usados durante o experimento: nº de diluições a serem empregadas x nº de amostras x 3 (triplicata da diluição a ser analisada). Sempre acrescentar aproximadamente 5 tubos a mais no cálculo final, caso ocorra algum imprevisto;

5.2. Os cálculos para o preparo do meio LST-MUG devem seguir a equação: nº total de tubos usados durante a análise x 7 (quantidade de mL que será distribuída nos tubos);

5.3. A quantidade de meio VB a ser preparada deve ser igual à metade do nº de tubos de LST-MUG necessários. Não se esquecer de que em cada tubo são utilizados 7 mL de VB.

#### **6. Preparo do Caldo LST- MUG:**

6.1. Pesar a quantidade de meio de cultura (LST-MUG) necessário para a realização da análise (para 75 tubos, 525 ml, pesar 18,74 g de meio);

6.2. Transferir o material para um Bécker de 500 mL e acrescentar o volume adequado de água destilada;

6.3. Homogeneizar com o auxílio de um bastão de Vidro;



6.4. Aferir o pH do meio (de acordo com a rotulagem) e se necessário, ajustar o pH com NaOH ou HCl;

6.5. Aquecer em microondas por alguns minutos ou até levantar fervura;

6.6. Cuidado para não deixar derramar;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 04</b>	<b>Nº Folha 3 de 5</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para o preparo do Caldo LST-MUG e Caldo VB para a Análise de Coliformes Totais em Alimentos.</b>				

6.7. Colocar em cada tubo de ensaio, um tubo de Duhran (jamais esquecer de que este deve estar “invertido” dentro do tubo de ensaio);

6.8. Com a pipeta descartável de 10 mL, distribuir 7 mL do Caldo LST-MUG para os tubos. No momento de fechar os tubos de ensaio, não esquecer de deixar a tampa um pouco frouxa;

6.9. Acondicionar em latas de alumínio e autoclavar a 121 °C/15 min;

6.10. Não retirar da autoclave antes que toda a pressão tenha se dissipado (bolhas podem ser formadas e prejudicar o resultado da análise);

6.11. Retirar os tubos da autoclave e fecha-los completamente.

#### **7. Preparo do Caldo VB:**

7.1. Pesar a quantidade de meio de cultura (VB) necessário para a realização da análise (para 38 tubos, 270 ml, pesar 10,8 g de meio);

7.2. Transferir o material para um Bécker de 1000 mL e completar com o volume adequado de água destilada;

7.3. Homogeneizar com o auxílio de um bastão de Vidro;

7.4. Aferir o pH do meio (de acordo com a rotulagem) e se necessário, ajustar o pH com solução de NaOH ou HCl 0,1N;

7.5. Aquecer em microondas por alguns minutos ou até levantar fervura. Cuidado para não deixar derramar;



7.6. Colocar em cada tubo de ensaio, um tubo de Duhran (jamais esquecer de que este deve estar “invertido” dentro do tubo de ensaio);

7.7. Com a pipeta descartável de 10mL, distribuir 7mL do Caldo VB para os tubos. No momento de fechar os tubos de ensaio, não esquecer de deixar a tampa um pouco frouxa;

7.8. Acondicionar em latas de alumínio e autoclavar a 121°C/15min;

7.9. Não retirar da autoclave antes que toda a pressão tenha se dissipado (bolhas podem ser formadas e prejudicar o resultado da análise). Retirar os tubos da autoclave e fecha-los completamente.

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 04</b>	<b>Nº Folha 4 de 5</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para o preparo do Caldo LST-MUG e Caldo VB para a Análise de Coliformes Totais em Alimentos.</b>				

### 8. Análise de Coliformes:

8.1. Transferir 1 mL da diluição desejada (água salina peptonada) para cada tubo correspondente do Caldo LST-MUG, lembrando-se que a análise é em triplicata, ou seja, devem existir 3 tubos de Caldo LST-MUG para cada diluição;

8.2. Incubar em estufa a 35 °C por 48 horas;

8.3. Verificar a turvação e formação de gás dentro dos tubos de Duhran;

8.4. Os tubos que apresentarem essas características devem ser confirmados no Caldo VB, com o auxílio de uma alça microbiológica e levados até a câmara de luz UV para detectar se apresentam ou não fluorescência;

8.5. Aquecer a alça na chama do Bico de Bunsen e esfriá-la no tubo de Caldo VB, pegar uma alíquota do inóculo presente no Caldo LST-MUG e passar para o respectivo tubo de Caldo VB;

8.6. Incubar os tubos de VB a 35 °C por 24 horas.

### 9. Resultados:

9.1. Os tubos do Caldo VB que apresentarem turvação e formação de gás nos tubos de Duhran são considerados positivos para Coliformes Totais. Os resultados devem ser expresso em NMP/g ou mL do alimento analisado;

9.2. Os tubos do Caldo LST-MUG que apresentarem turvação e formação de gás nos tubos de Duhran, além da fluorescência quando submetidos à luz UV, são considerados positivos para Coliformes Fecais (em termos de *E.coli*);

9.3. Os resultados devem ser expresso em NMP/g ou mL do alimento analisado.



### 10. Observações:

10.1. Ter sempre em mãos a Tabela de Número Mais Provável (NMP);

10.2. Existe uma Tabela exclusiva para a análise de água.

### 11. Referências:

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 04</b>	<b>Nº Folha 5 de 5</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para o preparo do Caldo LST-MUG e Caldo VB para a Análise de Coliformes Totais em Alimentos.</b>				



APHA. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 1992. 325p.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 31p.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

ANEXO K – Micro para Análise de *Staphylococcus* coagulase positiva em Alimentos

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento n° 05</b>	<b>N° Folha 1 de 7</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positivo em Alimentos.</b>				

**1. Objetivo:** Preparar o meio Baird-Parker Agar (BP) para a Análise de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo em alimentos e descrever os procedimentos adotados durante a análise.

**2. Descrição:** O meio mais amplamente utilizado é o Ágar Baird-Parker (BPA), que combina o telurito de potássio (0,01%), a glicina (1,2%) e o cloreto de lítio (0,5%), como agentes seletivos, e a redução do telurito e a hidrólise da gema de ovo, como características diferenciais. Adicionalmente, o meio contém 1% de piruvato de sódio, considerado excelente para a reparação de células injuriadas, pois evita o acúmulo de peróxido de hidrogênio (tóxico para as células). As placas contendo o Agar base devem ser preparadas com 02 dias de antecedência. O volume de meio a ser preparado depende da quantidade de amostra a ser analisada.

**3. Frequência e Responsabilidade:** Adotar o procedimento sempre que for necessário realizar a contagem de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo durante uma análise microbiológica. Toda a equipe encarregada de realizar as análises microbiológicas deve ser responsável pela execução da análise.



**4. Materiais Necessários:**

- 4.1. Erlenmeyers de 500 mL;
- 4.2. Balança;
- 4.3. Bécker de 500 mL;
- 4.4. Bastão de Vidro;
- 4.5. Placas de Petri estéreis;
- 4.6. Microondas;
- 4.7. Estufa a 35 °C;
- 4.8. Banho-maria para manter a temperatura do meio por volta de 45/50 °C;
- 4.9. Banho-maria a 37 °C para realizar o teste de coagulase;
- 4.10. Solução salina 0,85% estéril;
- 4.11. Tubos estéreis com rosca;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento n° 05</b>	<b>N° Folha 2 de 7</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positivo em Alimentos.</b>				

- 4.12. Meios: Baid Parker Agar (BPA);
- 4.13. Caldo Brain Heart Infusion (BHI);
- 4.14. EDTA-Plasma de Coelho;
- 4.15. Egg Yolk enriquecido com telurito;
- 4.16. Lâminas;
- 4.17. Microscópio;
- 4.18. Peróxido de Hidrogênio 3%;
- 4.19. Alça de Drigalsk;
- 4.20. Alça microbiológica;
- 4.21. Kit de coloração de Gram;
- 4.22. Câmara de fluxo laminar;
- 4.23. Algodão;
- 4.24. Medidor de pH;
- 4.25. Tubos de diluição com 9mL de Água Salina Peptonada (ver POP n°01);
- 4.26. Água destilada;
- 4.27. Autoclave;
- 4.28. Pipetas de 1 mL estéreis;
- 4.29. Pipetas de 25 mL estéreis;
- 4.30. Pipetas de 1 mL (não precisam estar estéreis) para a coloração de Gram.

## **5. Cálculos para a determinação da quantidade de material e meio de cultura a ser preparado:**



### **5.1. BP**

5.1.1. Primeiramente, deve ser realizado o cálculo para se estabelecer a quantidade de placas de Petri que serão usadas durante o experimento para uma única amostra: são 4 placas para a diluição  $10^{-1}$  + 2 placas para a diluição  $10^{-2}$  + 2 placas para a diluição  $10^{-3}$  = 8 placas por amostra.

5.1.2. A quantidade de meio de cultura distribuído em cada placa é de aproximadamente 25 mL. Para saber o volume total de meio de cultura a ser preparado, deve-se multiplicar o nº de placas necessárias para toda a análise por 25 (quantidade em

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 05</b>	<b>Nº Folha 3 de 7</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positivo em Alimentos.</b>				

mL que deve ser distribuído por placa). Sempre que possível preparar um pouco a mais do meio de cultura.

5.1.3. Dilua o meio conforme indicado no rótulo da embalagem.

### **5.2. BHI (Caldo Brain Heart Infusion)**

5.2.1. Meio de Cultura empregado para testes confirmativos de *S. coagulase* positiva;

5.2.2. A quantidade de meio de cultura a ser preparada nesse caso, depende o nº de colônias típicas observadas durante o resultado do experimento. Recomenda-se, preparar cerca de 6 tubos com aproximadamente 7 mL de Caldo BHI, para cada mostra analisada. Sendo assim: 6 tubos x nº de amostras a serem analisadas x 7 (quantidade de mL por tubo);

5.2.3. Diluir o meio conforme indicado no rótulo da embalagem.

### **6. Preparo do Baird-Parker Agar (BP):**

6.1. A quantidade total de meio de cultura a ser preparada deve ser distribuída em Erlenmeyers de 500 mL, sendo que o máximo de meio a ser colocado em cada frasco deve ser de 250 mL, para que não ocorram problemas de vazamento no momento de aquecê-lo para a análise;

6.2. Pesar a quantidade de meio de cultura (BP) necessário para a realização da análise;

6.3. Transferir o material para um Bécker de 500 mL;

6.4. Completar com o volume adequado de água destilada;

6.5. Homogeneizar com o auxílio de um bastão de Vidro;



6.6. Aferir o pH do meio (de acordo com a rotulagem) e se necessário, ajustar o pH com NaOH ou HCl 0,1N;

6.7. Transferir até 250 mL do conteúdo do béquer para erlenmeyers de 500 mL;

6.8. Aquecer em microondas até que o meio adquira uma cor translúcida, livre de partículas sólidas. Cuidado para não deixar derramar;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 05</b>	<b>Nº Folha 4 de 7</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positivo em Alimentos.</b>				

6.9. Fechar o frasco com tampão de algodão (cuidado para não deixar o tampão muito frouxo), encapar o algodão com um papel e autoclavar a 121 °C/15 minutos.

## 7. Preparo das placas de Petri

7.1. Fundir em microondas o meio de cultura sólido que se encontra dentro dos Erlenmeyers. É importante que não existam pedaços sólidos do meio de cultura dentro do frasco, o que pode acabar prejudicando a análise;

7.2. Os frascos que já foram fundidos devem permanecer em banho-maria a 45/50 °C até o momento da distribuição. Ligar o banho-maria com 30 minutos de antecedência;

7.3. Retirar o Egg Yolk da geladeira e deixar em repouso ou colocar em banho-maria 45/50 °C até que a temperatura se aproxime da ambiente;

7.4. Em seguida, adicioná-lo aos Erlenmeyers de BP, com o auxílio de uma Pipeta de 25mL estéril, nas seguintes proporções:

7.4.1. 10,5 mL de Egg Yolk em 200 mL de BP;

7.4.1. 13,1 mL de Egg Yolk em 250 mL de BP;

7.5. É importante que o BP não esteja muito quente e o Egg Yolk muito frio, pois pode ocorrer choque térmico e levar a coagulação do meio, ocasionando a perda total do produto;



7.6. Em seguida, homogeneizar bem agitando o erlenmeyer vagarosamente, tomando cuidado para que não ocorram bolhas de ar, que prejudicarão os resultados da análise;

7.7. Colocar previamente as placas de Petri nas Câmaras de Fluxo Laminar (não esquecer de ligar a luz UV 15 minutos antes de colocar as placas dentro), ou realizar a distribuição perto da chama;

7.8. Distribuir aproximadamente 25 mL do meio em cada placa;

7.9. Esperar secar, cobrir as placas com papel filme e guardar as placas (invertidas) em geladeira, até o momento da análise.

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento n° 05</b>	<b>N° Folha 5 de 7</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positivo em Alimentos.</b>				

#### 8. Preparo do Caldo Brain Heart Infusion (BHI):

- 8.1. Pesar o volume necessário de meio de cultura a ser preparado (segundo a rotulagem) e transferir para um Bécker de 500 mL;
- 8.2. Adicionar o volume indicado de água destilada;
- 8.3. Homogeneizar bem com o auxílio de um bastão de vidro;
- 8.4. Aquecer em microondas até levantar fervura;
- 8.5. Transferir 7 mL do Caldo para tubos com rosca;
- 8.6. Fechar os tubos (não completamente), acondicionar em latas de alumínio e autoclavar a 121 °C/15min.

#### 9. Análise de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo:

- 9.1. Após feita a diluição decimal (em água salina peptonada), distribuir alíquotas de 0,3; 0,3; 0,3 e 0,1 mL da diluição  $10^{-1}$  (cada alíquota em uma placa) nas placas de BP que estavam na geladeira;
- 9.2. Espalhar o inóculo sobre a placa com o auxílio de uma Alça de Drigalsk até esta fique seca por completo;
- 9.3. Incubar invertida em estufa a 37 °C por 48 horas;
- 9.4. Para as diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ , distribuir alíquotas de 0,1 mL em duplicata, nas placas de BP;
- 9.5. Seguir o mesmo procedimento dito anteriormente.



#### 10. Contagem das colônias típicas:

- 10.1. Fazer a contagem das colônias típicas (redondas, com o núcleo preto brilhante, formação de halo opaco ao redor do núcleo e seguido de halo translúcido);
- 10.2. Retirar as placas da estufa;
- 10.3. Selecionar cerca de 2 a 5 colônias por placas e fazer os testes confirmatórios (para cada colônia, realizar os testes descritos abaixo).

#### 11. Testes confirmatórios:

##### 11.1. Coloração de Gram:

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento n° 05</b>	<b>N° Folha 6 de 7</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positivo em Alimentos.</b>				

11.1.1. As colônias típicas de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo são Gram positivas;

11.1.2. Se o teste de Gram for positivo, realizar o teste de catalase, se o resultado for Gram negativo, não é necessário a realização dos demais testes, considerando então que não há a presença do microrganismo no alimento analisado.

### **11.2. Teste da Catalase:**

11.2.1. Pegar uma porção da colônia com a Alça microbiológica e transferir para uma lâmina;

11.2.2. Adicionar 2 gotas Peróxido de Hidrogênio 3% e verificar a formação de bolhas;

11.2.3. As colônias típicas de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo são catalase positiva, ou seja, formam bolhas de ar em presença de Peróxido de Hidrogênio;

11.2.4. Se o resultado obtido for catalase positivo, realizar o Teste de Coagulase, caso contrário, considerar que o microrganismo analisado não está presente no alimento em questão.

### **11.3. Teste de Coagulase:**

11.3.1. Transferir, com uma Alça microbiológica, o restante da colônia para tubos contendo o Caldo BHI;

11.3.2. Incubar em estufa a 37 °C por 24 horas;



11.3.3. Preparar o EDTA-Plasma de Coelho de acordo com as recomendações do rótulo. A solução salina 0,85% estéril é o material usado como diluente do EDTA-Plasma;

11.3.4. Pegar os tubos estéreis com rosca e transferir para cada um 0,5 mL de EDTA-Plasma e 0,2 mL da cultura obtida no Caldo BHI (lembrar de descartar a pipeta sempre);

11.3.5. Fechar os tubos e colocar em Banho-Maria a 37 °C por 6 horas;

11.3.6. Observar a formação de coágulos dentro dos tubos. Como alguns coágulos formados muitas vezes podem ser duvidosos, sempre pedir ajuda a alguém mais experiente ou consultar o Atlas de Microbiologia;

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 05</b>	<b>Nº Folha 7 de 7</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Análise de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positivo em Alimentos.</b>				

11.3.7. As colônias típicas de *Staphylococcus aureus* coagulase positivo são coagulase positiva.

## 12. Resultados:

12.1. *Staphylococcus aureus* coagulase positivo são Gram +, Catalase + e Coagulase +;

12.2. Se em algum teste não houver colônias para contagem, o resultado será expresso como: <10UFC/g ou mL do alimento (caso as colônias tenham crescido em placas cujas alíquotas foram utilizadas da diluição  $10^{-1}$ ); <100UFC/g ou mL (caso as colônias tenham crescido em placas cujas alíquotas foram utilizadas da diluição  $10^{-2}$ ) e assim sucessivamente, ou seja, sempre menor que o inverso da diluição.



## 13. Referência:

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F. de A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997. 51p.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

ANEXO L – Micro para Contagem de *Clostridium* Sulfito Redutor em Pescado

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 06</b>	<b>Nº Folha 1 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Contagem de <i>Clostridium</i> Sulfito Redutor em Pescado.</b>				

**1. Objetivo:** Preparar o meio de Trypticase Sulfito Cicloserina (TSC) para a Análise de *Clostridium* Sulfito Redutor em Pescado e descrever os procedimentos adotados durante a análise.

**2. Descrição:** Este procedimento deve ser adotado sempre que se pretende quantificar a presença de Clostrídios sulfito redutores em uma amostra. Os clostrídios sulfitos redutores são aqueles que reduzem o sulfito a sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) a 46 °C. Sua aplicação na análise de alimentos é oferecer uma indicação simples e rápida da potencial presença de *C. perfringens*.



**3. Frequência e Responsabilidade:** A análise se clostrídios sulfito redutores deve ser sempre realizada juntamente com as demais análises microbiológicas do pescado. Toda a equipe encarregada de realizar as análises microbiológicas é responsável pelo preparo de meio de cultura e das análises de clostrídios.

**4. Materiais Necessários:**

- 4.1. Balança;
- 4.2. Microondas;
- 4.3. Estufa a 46 °C;
- 4.4. Banho-maria para manter a temperatura do meio por volta de 45/50°C;
- 4.5. Medidor de pH;
- 4.6. Autoclave;
- 4.7. TSC – Trypticase Sulfito Cicloserina (para o teste presuntivo);
- 4.8. Suplemento: solução 4% de D-Cicloserina (antibiótico);
- 4.9. Tubos de BHI – Infusão Cérebro Coração (para o teste confirmativo);
- 4.10. Peróxido de Hidrogênio a 3% (para o teste da catalase);
- 4.11. Tubos de diluição com 9 mL de Água Salina Peptonada (ver POP nº01);
- 4.12. 25 mL de Água destilada esterilizada (em uma garrafa);
- 4.13. Placas de Petri estéreis;
- 4.14. Bastão de Vidro;
- 4.15. Pipetas de 1 mL e de 10 mL estéreis;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	Documento nº 06	Nº Folha 2 de 4	
		Emissão: 08/04/09	Revisão: 30/06/09	
<b>POP-Micro para a Contagem de <i>Clostridium</i> Sulfito Redutor em Pescado.</b>				

4.16. Erlenmeyers de 500 mL;

4.17. Jarra de anaerobiose;

4.18. Sachês de anaerobiose.

#### **5. Cálculos para a determinação da quantidade de material e meio de cultura a ser preparado:**

5.1. Primeiramente, deve ser realizado o cálculo para se estabelecer a quantidade de Placas de Petri que serão usadas durante o experimento da seguinte forma: nº de diluições a serem empregadas x nº de amostras x 2 (duplicata da diluição a ser analisada);

5.2. Sempre acrescentar 10 placas a mais no cálculo final, caso ocorra algum imprevisto;

5.3. Os cálculos para o preparo do meio TSC devem seguir a equação: nº total de Placas de Petri usadas durante a análise x 25 mL (quantidade de mL que será distribuída em cada Placa);

5.4. Sempre que possível, preparar uma quantidade maior de meio de cultura.

#### **6. Preparo do Agar TSC:**

6.1. Pesar a quantidade necessária de meio de cultura, transferir para um Erlenmeyer de 500 mL, adicionar o volume recomendado de água destilada, homogeneizar bem com o auxílio de um bastão de vidro;

6.2. Aferir o pH do meio (de acordo com a rotulagem) e se necessário, ajustar o pH com NaOH ou HCl. Aquecer em microondas até que o meio adquira uma cor translúcida. Cuidado para não deixar derramar;

6.3. Fechar os frascos com tampão de algodão (cuidado para não deixar frouxo) e autoclavar a 121 °C/15 minutos;



6.4. No preparo de 300ml pesa-se 14,84g de meio de cultura.

**7. Preparo do Suplemento:** O suplemento só poderá ser acrescentado no momento da análise. Portanto, deve-se deixar pronta a base para o preparo do suplemento, esterilizando-se em autoclave uma garrafa contendo 25 ml de água destilada. O

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 06</b>	<b>Nº Folha 3 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão:</b>	
<b>POP-Micro para a Contagem de <i>Clostridium</i> Sulfito Redutor em Pescado.</b>				

7.1. Fundir o meio TSC em microondas e deixar em banho maria até esfriar até 45-50°C.

7.2. Da própria garrafa esterilizada, contendo 25ml de água destilada, com uma pipeta estéril, adicionar 10 ml na embalagem da cicloserina, e depois verter o conteúdo da embalagem de volta na garrafinha para completar 25ml. Como a embalagem contém 1g, ao fazer uma solução de 1g/25ml, a solução preparada já vai ter uma concentração de 4% de D-cicloserina.

7.3. Para cada 1L de meio de cultura, utilizar 10ml da solução de D-cicloserina 4%, no caso de usar 300ml de meio de cultura, adicionar 3 ml do suplemento.

#### 8. Análise de Clostridium:

8.1. Realizar a diluição decimal em tubos contendo 9mL de água salina peptonada. Em seguida, inocular 1mL de cada diluição em duplicata, nas placas de Petri, adicionar uma camada fina de meio de cultura e fazer movimentos circulares e em forma de "oito".

8.2. Esperar secar e fazer uma sobrecamada, ou seja, colocar outra camada fina de meio sobre aquele já solidificado. Não deve mexer novamente. Assim que solidificar, colocar as placas sem inverter em jarras de anaerobiose.

8.3. Antes de fechar a jarra, colocar o sachê de anaerobiose. Lembrar que ele deve ser hidratado com 10mL de água destilada e não esquecer de retirar a fita de alumínio da lateral.

8.4. Incubar as jarras em estufa a 46°C+/- 2°C por 48 horas.

#### 9. Testes confirmatórios:



**9.1. Contagem de colônias:** Selecionar placas com 20-200 colônias e contar apenas as colônias pretas, típicas de clostrídios sulfito redutores em meio TSC.

Obs: o TSC também permite o crescimento de *C. botulinum*, portanto deve-se ter cuidado ao manusear as placas.

**9.2. Confirmação de colônias típicas de clostrídios sulfito redutores:** Selecionar várias colônias típicas (pretas) e transferir para o BHI desaerado. A desaeração deve ser feita com fervura em banho maria por 15 minutos com as tampas afrouxadas e resfriar antes de usar.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento n° 06</b>	<b>N° Folha 4 de 4</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para a Contagem de <i>Clostridium</i> Sulfito Redutor em Pescado.</b>				

**9.2. Confirmação de colônias típicas de clostrídios sulfito redutores:**

Selecionar várias colônias típicas (pretas) e transferir para o BHI desaerado. A desaeração deve ser feita com fervura em banho maria por 15 minutos com as tampas afrouxadas e resfriar antes de usar.

**9.3. Teste da catalase:** adicionar ao tubo de BHI 1,0 mL de Peróxido de Hidrogênio a 3% e observar o borbulhamento (positivo) ou não borbulhamento (negativo).

**10. Resultados:**

10.1. Calcular o número de unidades formadoras de colônia (UFC) por g ou mL da amostra, em função do número de colônias típicas, diluição inoculada e porcentagem de colônias confirmadas:

Ex: Se na placa de diluição  $10^{-2}$  houver 25 colônias típicas, submete-se 10 colônias aos testes confirmativos. Se dessas, 8 colônias forem confirmadas (80%), então, calcula-se:  $UFC/g \text{ ou mL} = 25 \times 10^2 \times 0,8 = 2 \times 10^3$ .

**11. Referências:**



VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of Methods for Microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington. American Public Health Association, 1992.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Livraria Varela. São Paulo, 1997.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin e Juliana M. dos Santos

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

ANEXO M – Micro para Análise de *Salmonella* spp. Em Água e em Pescado pelo Kit 1-2 test

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento n° 08</b>	<b>N° Folha 1 de 6</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para Análise de <i>Salmonella</i> sp. em Água e em Pescado pelo Kit 1-2 test.</b>				

**1. Objetivo:** Descrever os procedimentos adotados na análise de *Salmonella* desde o preparo de meios de cultura até a detecção da mesma através do kit 1-2 test.

**2. Descrição:** O kit 1-2 teste é um método rápido e qualitativo para a detecção da motilidade da *Salmonella* em alimentos. Baseia-se na observação da formação de uma banda bem definida, indicada pela imobilização por anticorpos.



**3. Frequência e Responsabilidade:** A análise de *Salmonella*, bem como o preparo de meios de cultura são de total responsabilidade da equipe encarregada das análises microbiológicas, e o procedimento deve sempre ser adotado toda vez em que houver a realização de análises microbiológicas da água e do pescado.

**4. Materiais Necessários para a Análise de Salmonella:**

- 4.1. Balança;
- 4.2. Autoclave;
- 4.3. Microondas;
- 4.4. Banho Maria 42 °C;
- 4.5. Estufa 35 °C;
- 4.6. Caldo Lactosado (Lactose Broth);
- 4.7. Caldo Tetracionato (Tetrathionate Broth);
- 4.8. Solução de Tintura Verde Brilhante a 0,1% (Brilliant Green Dye + água destilada);
- 4.9. Solução de Iodo Iodeto a 0,1% (Iodo + Iodeto de potássio + água destilada);
- 4.10. Kit 1,2 Test;
- 4.11. Erlenmeyers de 500 mL ou garrafas com tampa de rosca;
- 4.12. Erlenmeyer/garrafa com 100 mL de água destilada esterilizada. Quando esterilizada em garrafa com tampa de rosquear perde-se menor volume;
- 4.13. Tubos de ensaio vazios esterilizados;
- 4.14. Pipetas de 1 mL e 10 ml estéreis;
- 4.15. Provetas de 50 mL e 100mL esterilizadas;
- 4.16. Erlenmeyer de 150 mL e 500mL e vazio esterilizado;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 08</b>	<b>Nº Folha 2 de 6</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para Análise de <i>Salmonella sp.</i> em Água e em Pescado pelo Kit 1-2 test.</b>				

- 4.17. Bécker pequeno;
- 4.18. Placas de petri estéreis;
- 4.19. Faca;
- 4.20. Algodão;
- 4.21. Papel;
- 4.22. Papel Alumínio/seda (para pesagem dos meios);
- 4.23. Pinça;
- 4.24. Tesoura.

Obs: Esterilizar em autoclave: a água destilada e o caldo lactosado.

Esterilizar na estufa: tubos vazios, pipetas, proveta.

Esterilizar com álcool e fogo na hora da análise: faca, pinça e tesoura.

Sempre calcular quantidades a mais de vidrarias, meios e reagentes, para caso haja a necessidade de se repetir a análise.

## 5. Preparo de Meios e Soluções:

### 5.1. Meio de enriquecimento (caldo lactosado):

5.1.1. Preparar o meio em erlenmeyers (ou garrafas) de 500 mL para cada amostra. Cada erlenmeyer deve conter 225 mL do meio (para 25g da amostra);

5.1.2. Diluir o meio seguindo as seguintes proporções:

Caldo Lactosado: 13 g em 1000 mL de água destilada

OBS: para um erlenmeyer de 225 mL, colocar 2,92 g de meio.

5.1.3. Ajustar pH: caldo lactosado: 6,9+/-0,2;

5.1.4. Fechar os erlenmeyers com algodão e papel;

5.1.5. Identificar o erlenmeyer e autoclavar.

### 5.2. Solução de tintura Verde Brilhante a 0,1%:



5.2.1. Pesar 0,025 g de Brilliant Green Dye;

5.2.2. Medir 25 mL de água destilada;

5.2.3. Dissolver a tintura verde brilhante em água destilada;

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 08</b>	<b>Nº Folha 3 de 6</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para Análise de <i>Salmonella sp.</i> em Água e em Pescado pelo Kit 1-2 test.</b>				

5.2.4. Esterilizar filtrando através de membrana de 0,2 µm ou fazer a solução com água destilada previamente esterilizada, em ambiente higienizado e em condições assépticas (uso da chama);

5.2.5. NÃO ESTERILIZAR EM AUTOCLAVE;

5.2.6. Armazenar em refrigerador por no máximo 30 dias.

### **5.3. Solução de Iodo-iodeto a 0,1%:**

5.3.1. Pesar 6 g de Iodo;

5.3.2. Pesar 5 g de Iodeto de Potássio;

5.3.3. Medir 20 mL de água destilada;

5.3.4. Para fazer 5 mL (o necessário para a análise em 5 amostras) pesar 1,5 g de Iodo e 1,25g de Iodeto de potássio;

5.3.5. Dissolver ambos os sais na água destilada;

5.3.6. Esterilizar filtrando através de membrana de 0,2 µm ou fazer a solução com água destilada previamente esterilizada, com o ambiente higienizado e em condições assépticas (uso da chama);

5.3.7. NÃO ESTERILIZAR EM AUTOCLAVE;

5.3.8. Manter refrigerado por no máximo 30 dias.

## **6. Análise:**

### **6.1. Primeira Incubação – Meio de Enriquecimento:**

6.1.1. Para o Pescado: Em condições assépticas (bancada higienizada com álcool e o bico de bunsen aceso), pesar em placas estéreis 25 g da amostra com o auxílio de uma faca (esterilizar no álcool e na chama), colocar no erlenmeyer/garrafa com o caldo lactosado. Tentar utilizar uma amostragem adequada;



6.1.2. Para a água: Em condições assépticas, pipetar 25 mL da água no erlenmeyer/garrafa com caldo lactosado;

6.1.3. Abrir o Erlenmeyer/garrafa perto da chama;

6.1.4. Fechar novamente com algodão o erlenmeyer/ ou rosquear a garrafa e incubar em estufa a +/- 35 °C por 24 horas;

6.1.5. Após 24 h, retirar da estufa os erlenmeyers/garrafas.

<b>Emitido por:</b> Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin	<b>Aprovado por:</b> Luciana K. Savay da Silva
---	--

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 08</b>	<b>Nº Folha 4 de 6</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para Análise de <i>Salmonella sp.</i> em Água e em Pescado pelo Kit 1-2 test.</b>				

### **6.2. Segunda Incubação – Meio Seletivo:**

6.2.1. Medir, em ambiente asséptico, 100 mL de água previamente esterilizada (garrafas) com o auxílio de proveta estéril;

6.2.2. Pesar perto da chama o caldo tetrionato em papel alumínio. Para 100 mL de água pesar 4,6 g do meio;

6.2.3. Transferir o volume de água e meio medidos para um erlenmeyer de 500 mL vazio esterilizado;

6.2.4. Fechar o erlenmeyer com tampão de algodão;

6.2.5. Aquecer o erlenmeyer, no microondas, parando de 15 em 15 segundos para mexer até ferver;

6.2.6. Quando ferver, deixar no microondas durante 1 min sem parar, tomando cuidado para o algodão não sair;

6.2.7. Deixar esfriar até menos de 45 °C;

6.2.8. Após o item 6.2.3 deve-se esterilizar o meio, filtrando-o através de membrana de 0,2 µm ou realizar todas essas etapas em ambiente higienizado e em condições assépticas (uso da chama); Tomar muito cuidado para não contaminar o meio pronto. Manuseá-lo sempre perto da chama;

6.2.9. Medir 50 mL do meio caldo tetrionato resfriado em proveta previamente esterilizada;

6.2.10. Transferir essa quantidade para um erlenmeyer de 150 mL previamente esterilizado;

6.2.11. Pipetar 0,5 mL do verde brilhante a 0,1% e 1,0 mL do iodo iodeto a 0,1% no erlenmeyer contendo o caldo tetrionato;

6.2.12. Mexer devagar para misturar;



6.2.13. Passar 9 mL (com pipeta de 10 mL esterilizada) do meio seletivo pronto (caldo tetrionato + sol. verde brilhante + sol. iodo-iodeto) para os tubos de ensaio vazios e esterilizado;

6.2.14. Marcar a letra da amostra que será inoculada em cada um dos tubos;

6.2.15. Passar 1 mL do caldo lactosado dos erlenmeyers/ ou jarras para os tubos de ensaio (cada amostra em um tubo de ensaio);

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 08</b>	<b>Nº Folha 5 de 6</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para Análise de <i>Salmonella sp.</i> em Água e em Pescado pelo Kit 1-2 test.</b>				

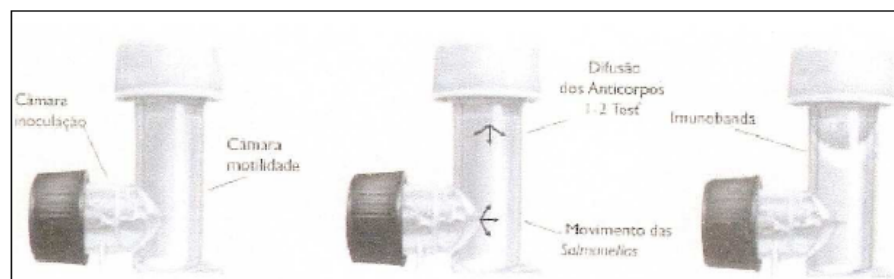
6.2.16. Colocar os tubos em banho maria à 42 °C de 6-8 horas, ou em estufa na mesma temperatura (Contar o tempo a partir do momento que atinge a temperatura desejada).

### **6.3. Incubação no Kit 1-2 Test:**

- 6.3.1. Tirar as amostras do banho;
- 6.3.2. Retirar a tampa preta do kit, transferir o líquido para um Bécker;
- 6.3.3. Retirar o plug tampão com uma pinça estéril e descartar;
- 6.3.4. Passar 1,5 mL do caldo tetrionato, fechar a tampa;
- 6.3.5. Colocar o kit com a tampa branca voltada para cima, retire-a e corte a ponta da tampa (que fica em contato com o gel) com uma tesoura esterilizada (álcool e fogo);
- 6.3.6. Pingar uma gota do reagente 2 (solução de anticorpos) no orifício formado pela ponta cortada;
- 6.3.7. Tampar novamente;
- 6.3.8. Colocar na estufa (35 °C) com a tampa branca para cima;
- 6.3.9. Incubar durante 14-30 horas.



### **7. Resultado:**

- 7.1. Segurar a unidade do kit 1-2 test próximo a uma fonte de luz;
- 7.2. Observar a formação de uma imunobanda (um guarda-chuva invertido) na metade superior do gel da tampa branca (positivo), caso não haja nada (negativo);
- 7.3. Os resultados devem ser expressos em presença ou ausência de *Salmonella* em 25 g de alimento ou 25 mL de água.



**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva

	<b>Procedimento Operacional Padronizado (POP) de Análises Microbiológicas (Micro)</b>	<b>Documento nº 08</b>	<b>Nº Folha 6 de 6</b>	
		<b>Emissão: 08/04/09</b>	<b>Revisão: 30/06/09</b>	
<b>POP-Micro para Análise de <i>Salmonella sp.</i> em Água e em Pescado pelo Kit 1-2 test.</b>				

#### 8. Descarte dos materiais utilizados:

- 8.1. O erlenmeyer com o caldo lactosado deve ser autoclavado assim que inoculado 1 mL para o caldo tetrionato;
- 8.2. Os tubos com o caldo tetrionato e o kit devem ser autoclavados também;
- 8.3. As pipetas que entraram em contato com a amostra ou com meio já inoculado também devem ser esterilizadas antes da lavagem; não esquecer de retirar os algodões da parte superior;
- 8.4. O restante dos utensílios utilizados que não tiveram contato com a amostra podem ser lavados apenas com água e sabão.

#### 9. Referências:

##### 9.1. Validação do método:

WALLACE, H.A.; HAMMACK, T.S. Microbiological Methods. In.: HORWITZ, W. (Ed.). Association of official analytical chemists (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC international**. 18th ed. Gaithersburg, 2006. Chap. 17, p. 153-155.

##### 9.2. Utilização do kit:

BIOCONTROL SYSTEM INC. **Manual Biocontrol para utilização do kit 1-2 Test *Salmonella***. Disponível em: <[http://courses.ag.uidaho.edu/fst/fstmbb417/1-2\\_Directions-English.pdf](http://courses.ag.uidaho.edu/fst/fstmbb417/1-2_Directions-English.pdf)>. Acesso em: 28 abr 2008.

**Emitido por:** Adriana F. Silva, Bruna N. F. S. Travagin

**Aprovado por:** Luciana K. Savay da Silva



Anexo N – Ficha análise sensorial Fase I.

**Análise Sensorial de *off-flavor* em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Nome \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Muito obrigado por participar da nossa pesquisa. Você receberá três amostras de filés de tilápia as quais você deverá atribuir notas de 1 a 9 de acordo com a intensidade do critério.

Marque com um X a intensidade do **SABOR** de barro (*off-flavor*) que você atribui a cada amostra.

	Nada								Muito
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
395									
428									
657									

Marque com um X a nota da intensidade da **COR** que você atribui a cada amostra.

	Desagradável								Agradável
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
395									
428									
657									

Marque com um X a intensidade do **AROMA** de barro, inseticida (*off-flavor*) que você atribui a cada amostra.

	Nada								Muito
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
395									
428									
657									

Marque com um X a nota da **APARÊNCIA GLOBAL** que você atribui a cada amostra.

	Desagradável								Agradável
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
395									
428									
657									

Comentários: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Anexo O – Ficha sensorial da Fase II

Avaliação sensorial de filés de tilápia minimamente processados

Nome \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

**Você irá receber 05 amostras de filés de tilápia minimamente processados, embalados à vácuo. Por favor, avalie os produtos e responda as questões a seguir colocando a sigla da amostra nos parênteses:**

1. Indique o quanto você gostou da cor do produto:

- ( ) desgostei extremamente  
 ( ) desgostei muito  
 ( ) desgostei regularmente  
 ( ) desgostei ligeiramente  
 ( ) não gostei e nem desgostei  
 ( ) gostei ligeiramente  
 ( ) gostei regularmente  
 ( ) gostei moderadamente  
 ( ) gostei extremamente

2. Indique o quanto você gostou da embalagem, com relação ao tamanho (quantidade):

- ( ) desgostei extremamente  
 ( ) desgostei muito  
 ( ) desgostei regularmente  
 ( ) desgostei ligeiramente  
 ( ) não gostei e nem desgostei  
 ( ) gostei ligeiramente  
 ( ) gostei regularmente  
 ( ) gostei moderadamente  
 ( ) gostei extremamente

3. Indique o quanto você gostou do odor do produto:

- ( ) desgostei extremamente  
 ( ) desgostei muito  
 ( ) desgostei regularmente  
 ( ) desgostei ligeiramente  
 ( ) não gostei e nem desgostei  
 ( ) gostei ligeiramente  
 ( ) gostei regularmente  
 ( ) gostei moderadamente  
 ( ) gostei extremamente

4. Indique o quanto você gostou da aparência geral do produto:

- ( ) desgostei extremamente  
 ( ) desgostei muito  
 ( ) desgostei regularmente  
 ( ) desgostei ligeiramente  
 ( ) não gostei e nem desgostei  
 ( ) gostei ligeiramente  
 ( ) gostei regularmente

( ) gostei moderadamente

( ) gostei extremamente

5. Você compraria esse produto?

( ) sim, com certeza

( ) sim

( ) talvez sim, talvez não

( ) não

( ) não, com certeza

6. Você compraria esse produto se ele fosse mais caro do que o normal?

( ) sim, com certeza.

( ) sim

( ) talvez sim, talvez não

( ) não

( ) não, com certeza

Por quê?

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

7. Comentários: por favor, indique o que em particular você mais gostou ou menos gostou nesse produto (use palavras ou frases):

Mais gostei:

MP: \_\_\_\_\_

AN: \_\_\_\_\_

AP: \_\_\_\_\_

CN: \_\_\_\_\_

CP: \_\_\_\_\_

Menos gostei:

MP: \_\_\_\_\_

AN: \_\_\_\_\_

AP: \_\_\_\_\_

CN: \_\_\_\_\_

CP: \_\_\_\_\_

Obrigada!

**Anexo P – Ficha sensorial da Fase III – Teste de aceitação**

**Avaliação sensorial de filés de tilápia minimamente processados GETEP/ESALQ/USP**

Nome \_\_\_\_\_ (opcional) Data: \_\_\_\_\_

**1. Indique o quanto você gostou da embalagem, com relação ao tamanho (quantidade):**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
gostou muito	gostou regula/	gostou ligeira/	não gostou nem desgostou	desgostou ligeira/	desgostou regula/	desgostou muito

**2. Indique o quanto você gostou da aparência geral do produto:**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
gostou muito	gostou regula/	gostou ligeira/	não gostou nem desgostou	desgostou ligeira/	desgostou regula/	desgostou muito

**3. Indique o quanto você gostou da cor do produto:**

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
gostou muito	gostou regula/	gostou ligeira/	não gostou nem desgostou	desgostou ligeira/	desgostou regula/	desgostou muito

**4. Você compraria esse produto?**

sim, com certeza  sim  talvez sim, talvez não  não  não, com certeza

**5. O que você mais gostou?** \_\_\_\_\_

**6. O que você mais desgostou?** \_\_\_\_\_

**7. Você compraria esse produto se ele fosse mais caro do que o normal?**

sim, com certeza  sim  talvez sim, talvez não  não  não, com certeza

**8. Por quê?** \_\_\_\_\_

---



---



---

**Anexo Q – Ficha sensorial Fase III – Teste de qualidade****AVALIAÇÃO DE ATRIBUTOS DE FILES DE TILÁPIA MINIMAMENTE PROCESSADOS**

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

Por favor, avalie, individualmente, as duas amostras de filés de tilápia minimamente processados quanto a aparência e aroma marcando nas escalas abaixo.

Amostra: \_\_\_\_\_

**ATRIBUTOS DE APARÊNCIA**

Cor  
característica pouca \_\_\_\_\_ muita

Volume de líquido  
exudado na embalagem | \_\_\_\_\_ |  
nenhum muito

Impressão global da  
aparência do produto muito ruim \_\_\_\_\_ muito boa

**ATRIBUTO DE AROMA**

Aroma característico  
de fresco pouco \_\_\_\_\_ muito

Observações: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_