ANA PAULA BILLAR DOS SANTOS

**Índices químicos, sensoriais e microbiológicos para avaliação do frescor de
pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) armazenada em gelo.**

Versão corrigida

Dissertação apresentada à Faculdade de
Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo como parte
dos requisitos para obtenção do Título de
Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Ciências da
Engenharia de Alimentos

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Judite Lapa
Guimarães

PIRASSUNUNGA

2011

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Paulo e Vera, por todas as conquistas alcançadas, ao meu marido Fábio, por fazer parte dos meus sonhos e ao nosso filho Ramon por ser a razão de tudo em minha vida!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre ter colocado as pessoas certas em meu caminho.

Ao meu eterno namorado, Fábio, por seu amor e compreensão em todos os momentos. Você foi especialmente importante nessa etapa final!

Aos meus pais, irmãos e cunhados, responsáveis por tudo ter sido possível até aqui e pelo apoio e carinho em todos os momentos da minha vida.

Ao meu filho Ramon que mesmo tão pequeno, soube compreender meus dias de ausência. Sentia saudades, mas não ficava triste.

A toda família Motta, pelo grande incentivo e apoio durante esses anos.

À professora Dra. Judite Lapa Guimarães, pela orientação dedicada e competente e pela paciência ao me transmitir os ensinamentos.

Às minhas companheiras do alojamento, Liliane e Nancy, pela companhia, risos e “teto” durante esses anos.

Ao meu grande colega Fábio Sussel, meus sinceros agradecimentos pelas sugestões e presteza ao longo do curso.

Aos colegas: Eliane, Rafa, Rianna, Pamela e Paulo, pessoas que foram especiais em minha vida durante esses anos.

À professora Dra. Carmen Fávaro Trindade e ao professor Dr. Marco Antonio Trindade, meus primeiros contatos na FZEA.

Ao professor Dr. Paulo José do Amaral Sobral, pela recepção e pelo apoio nos primeiros meses do curso.

À professora Dra. Elisabete M. M. Viegas que ao ministrar uma aula com tanta paixão sobre pescado, fez com que eu me encantasse também.

Aos técnicos dos laboratórios do ZEA, Edneli, Guilherme, Marcelo e Nilson pela participação e auxílio com as análises durante a execução do projeto.

Às meninas que me auxiliaram no laboratório, Andréa, Daniele, Grazi, Mariana, Monique e Sara.

Ao comerciante e pescador da Praia Grande, seu Beto e sua esposa Lia, por terem fornecido as pescadas amarelas mais frescas que meus olhos já puderam ver.

À CAPES pela concessão de bolsa de mestrado e ao CNPq pelo apoio financeiro para realização dessa pesquisa.

RESUMO

Índices químicos, sensoriais e microbiológicos para avaliação do frescor de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) armazenada em gelo. 2011, 95f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

Os objetivos deste estudo foram desenvolver o protocolo do Método do Índice de Qualidade (MIQ) para avaliação da qualidade sensorial da pescada amarela parcialmente eviscerada e armazenada em gelo; avaliar as alterações sensoriais, químicas e microbiológicas da pescada amarela durante o armazenamento e indicar os parâmetros mais adequados para avaliação da qualidade propondo limites de aceitação para a espécie. Quatro lotes com peixes recém capturados em Praia Grande-SP foram transportados à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) e armazenados entre camadas de gelo (0-1°C) em câmara fria. Periodicamente 5 peixes foram amostrados e submetidos às análises sensorial (para desenvolvimento do protocolo MIQ e posterior avaliação), microbiológicas (contagens de psicrotróficos, coliformes totais e fecais, *Salmonella sp*, estafilococos coagulase positiva) e químicas (bases nitrogenadas voláteis-BNV, trimetilamina-TMA, triptofano livre e uréia). A qualidade da pescada amarela comercializada em 14 pontos de venda nas cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande foi avaliada utilizando-se o protocolo MIQ desenvolvido, análises microbiológicas e químicas. O protocolo MIQ desenvolvido apresentou aumento linear do índice de qualidade (IQ) ao longo do armazenamento. Nos peixes do lote 1, contagens de psicrotróficos atingiram 10^7 ufc/g no 14º dia. Nos lotes 3 e 4 esse limite foi alcançado entre o 6º e 8º dia. Contagens de *E.coli* superiores a 10^2 ufc/g foram observadas em 9,5% dos peixes do lote 1 após 21 dias de armazenamento e em 15,25% dos peixes do lote 3 no 6º e 9º dia. *Staphylococcus aureus* estava ausente em todos os peixes e *Salmonella sp* foi detectada em 7,4% das pescadas amarelas analisadas. Os valores finais de BNV variaram de 23.8 mg/100g a 159 mg/100g em pescadas amarelas e foi dependente da carga microbiana inicial. Todos os lotes apresentaram aumento no teor de TMA, que variou entre 0,18 mg/100g e 15,44mg/100g. As amostras de pescada amarela comercializadas apresentaram IQ variando de 2 a 23, indicando um tempo provável pós captura de 3 até 14 dias. Todos os peixes analisados estavam livres de *Salmonella sp* e *E.coli*. *Staphylococcus aureus* foi determinado em níveis abaixo do limite estipulado pela legislação. Contagens de psicrotróficos acima de 10^7 ufc/g foram observadas em 50% dos peixes. Coliformes totais variaram de 10^2 ufc/g até 10^7 ufc/g. Os valores de TMA e BNV foram maiores que os estabelecidos pela legislação brasileira em 50% e 65% dos peixes, respectivamente. No entanto, em relação à TMA, concentrações superiores a 4mg/100g foram encontradas em peixes que apresentaram contagens de psicrotróficos, concentração de BNV e IQ aceitáveis, sugerindo valores em torno de 12-14mg TMA/100g de peixe como limite adequado para consumo de pescada amarela. O valor 30mg de BNV/100g recomendado pela legislação brasileira parece ser adequado como limite de comercialização de pescada amarela, porém a concentração de BNV não está diretamente relacionada ao tempo de armazenamento desde a captura. Triptofano livre e uréia não foram parâmetros químicos adequados para avaliação do frescor da pescada amarela. O protocolo MIQ foi eficiente para a avaliação da qualidade de pescada amarela, apresentando boa correlação entre a perda da qualidade sensorial e o tempo de estocagem. A análise de correlação entre os resultados das diversas análises sugere que a pescada amarela, quando eviscerada e resfriada em gelo, mantém características adequadas para consumo até o 8º dia de armazenamento. Diversos estabelecimentos comerciais de Santos, São Vicente e Praia Grande disponibilizam para os consumidores pescada amarela resfriada em condições inadequadas para consumo de acordo com a legislação brasileira.

Palavras-chave: peixe; frescor; avaliação sensorial; índices químicos; índices microbiológicos.

ABSTRACT

Chemical, sensory and microbial Indices for freshness evaluation of Acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*) stored in ice. 2011, 95 p. Master thesis - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

The objectives of this study were to develop a Quality Index Method (QIM) scheme for sensory evaluation of partially gutted Acoupa weakfish; to evaluate the sensory, chemical and microbial changes during storage in ice and to suggest the best parameters for quality evaluation and limits of acceptability of this fish species. Four groups of Acoupa weakfish caught in Praia Grande, São Paulo state, were transported to the Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) within 24h of their capture and stored between layers of ice (0-1°C) in chilling room. Periodically, 5 fishes were sampled and evaluated by sensory (QIM), microbial (counts of psychrotrophic, total and faecal coliforms, *Salmonella* sp and coagulase-positive *Staphylococcus*) and chemical (volatile base nitrogen-VBN, trimethylamine-TMA, free tryptophan and urea) analysis. The quality of samples of Acoupa weakfish commercialized in fourteen markets in Santos, São Vicente and Praia Grande cities was also evaluated. The QIM scheme presented linear increase of QI during the storage. In fishes of group 1 the counts of psychrotrophic bacteria reached 10^7 cfu/g at the 14th day of storage. In groups 3 and 4 this limit was reached between days 6 and 8. Counts of *E. coli* higher than 10^2 cfu/g were detected in 9.5% of the fishes belonging to the group 1 after day 21. This level was also detected in 15.25% of the fishes of the group 3 after days 6 and 9. *Staphylococcus aureus* was not detected and *Salmonella* sp was present in 7.4% of the Acoupa weakfish in groups 1 and 2. VBN contents ranged from 23.8 mg/100g to 159 mg/100g and was affected by the microbial load at the beginning of the storage. All the groups of Acoupa weakfish in this study, presented increases in TMA contents during storage and the values ranged between 0.18 and 15.44mg/100g. The samples of Acoupa weakfish obtained from markets showed QI ranging from 2 to 23, suggesting a storage time between 3 to 14 days respectively. All the fishes were free from *Salmonella* sp and *E. coli*. Counts of *Staphylococcus aureus* were lower than the amount determined by the Brazilian legislation. Counts of psychrotrophic bacteria higher than 10^7 cfu/g were observed in 50% of the fishes. Counts of total coliforms ranged from 10^2 cfu/g till 10^7 cfu/g. TMA and VBN contents were higher than the amount allowed by the Brazilian legislation in 50% and 65% of the fishes, respectively. Nevertheless, TMA contents higher than 4mg/100g, were detected in fishes presenting low counts of psychrotrophics, low VBN levels and low QI. Contents ranging from 12-14mg TMA/100g of fish are the suggested limits of consumption for Acoupa weakfish. The limit of 30mg of VBN/100g of fish, allowed by the Brazilian legislation is the appropriate amount for commercialization of Acoupa weakfish, although the VBN contents are not directly related to the storage time. Free tryptophan and urea were not useful as quality indices for Acoupa weakfish. The QIM scheme was effective for quality evaluation of Acoupa weakfish showing significant correlation with quality loss and storage time. Results of correlation analysis allow suggesting that Acoupa weakfish, when gutted and maintained in ice, is suitable for consuming until day 8. Several markets in Santos, São Vicente and Praia Grande commercialize chilled Acoupa weakfish that are unacceptable for consumption according to the Brazilian legislation.

Keywords: Fish, Freshness, Sensory evaluation, Chemical indices, Microbiological indices

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção da pesca extrativa marinha nos anos de 2007, 2008 e 2009, discriminada por região.....	15
Figura 2 - Pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>). A – Desenho esquemático (CERVIGÓN, 1992), B – Exemplos eviscerados utilizados no presente estudo.	18
Figura 3 - Pesca extrativa da pescada amarela em estados brasileiros.	20
Figura 4 - Produção em peso (kg) de pescada amarela capturada em todos os municípios do litoral de São Paulo durante o ano de 2010.....	21
Figura 5 - Imagens que ilustram o aspecto de olhos e guelras de um peixe fresco (A e C) e o aspecto após sofrerem alterações pós-morte (B e D), observáveis em <i>Cynoscion acoupa</i> após alguns dias de conservação em gelo.	25
Figura 6 - Perfil da curva de dissociação positiva (A) e negativa (B) para <i>Salmonella</i> apresentada pelo teste BAX® System da DuPont Qualicon.	43
Figura 7 - Relação entre comprimento dorsal (CP) e peso total (PT) das pescadas amarelas coletadas em 3 lotes.	47
Figura 8 - Variações no índice de qualidade (IQ) dos lotes 3 e 4 de pescadas amarelas parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo.....	50
Figura 9 - Representação dos pontos de demérito atribuídos a característica sensorial de cada parâmetro estudado das pescadas amarelas do lote 3.	51
Figura 10 - Representação dos pontos de demérito atribuídos a característica sensorial de cada parâmetro estudado das pescadas amarelas do lote 4.	52
Figura 11 - Aparência da pescada amarela após 1, 8 e 16 dias de armazenamento em gelo.	55
Figura 12 - Variação nas contagens de microrganismos psicotróficos totais em pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) dos lotes 1, 3 e 4, durante o armazenamento em gelo..	56
Figura 13 - Variação nas contagens de coliformes totais em pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo.....	58
Figura 14 - Variação nos teores de bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo.	61
Figura 15 - Variação nos teores de trimetilaminas (TMA) dos 4 lotes de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) evisceradas e estocadas em gelo.....	63
Figura 16 - Variação nos teores de triptofano livre em pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo.	65
Figura 17 - Variação nos teores de uréia em 4 lotes de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>), parcialmente evisceradas e estocadas em gelo.	66
Figura 18 - Análise de Componentes Principais realizada com os resultados dos parâmetros avaliados em pescadas amarelas (<i>Cynoscion acoupa</i>) parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo dos lotes 3 (A) e 4 (B).....	70
Figura 19 - Relação entre comprimento padrão (cm) e peso total (g) das pescadas amarelas adquiridas no comércio das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.....	72
Figura 20 - Gráficos da Análise de Componentes Principais realizada com os resultados dos parâmetros avaliados em pescadas amarelas (<i>Cynoscion acoupa</i>) adquiridas em estabelecimentos comerciais.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção (t) da pesca extrativa marinha nos anos de 2007, 2008 e 2009, discriminada por estado.....	17
Tabela 2 - Bactérias patogênicas presentes no pescado.	30
Tabela 3 - Resultados da análise de <i>Salmonella sp</i> em pescadas amarelas (<i>Cynoscion acoupa</i>) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo.	60
Tabela 4 - Coeficientes de correlação e níveis de p determinados entre os resultados das avaliações sensorial, microbiológicas e químicas das pescadas amarelas (<i>Cynoscion acoupa</i>) parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo, lote 3	68
Tabela 5 - Coeficientes de correlação e níveis de p determinados entre os resultados das avaliações sensorial, microbiológicas e químicas das pescadas amarelas (<i>Cynoscion acoupa</i>) parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo, lote 4	68
Tabela 6 - Resultados de IQ determinado nas análises sensoriais realizadas nas pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.	73
Tabela 7 - Resultados das análises microbiológicas realizadas nas pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.	75
Tabela 8 - Resultados das análises químicas realizadas nas pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande	77
Tabela 9 - Coeficientes de correlação e níveis de p determinados entre os resultados das avaliações sensorial, microbiológicas e químicas das pescadas amarelas (<i>Cynoscion acoupa</i>) adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.	79

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Material de referência utilizado no treinamento dos avaliadores que participaram da avaliação sensorial da pescada amarela eviscerada e estocada em gelo.....	38
Quadro 2 - Características sensoriais levantadas pela equipe, durante a avaliação da pescada amarela parcialmente eviscerada e estocada em gelo.	389
Quadro 3 - Protocolo do Índice de Qualidade (MIQ) desenvolvido para avaliação de pescada amarela (<i>Cynoscion acoupa</i>) parcialmente evisceradas e estocadas em gelo.....	49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 SITUAÇÃO DA PESCA MARINHA NO BRASIL NOS ÚLTIMOS ANOS	15
3.2 BENEFÍCIOS DO PESCADO	21
3.3 AVALIAÇÃO QUÍMICA	25
3.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	29
3.5 AVALIAÇÃO SENSORIAL DO FRESCOR DO PESCADO	31
3.5.1 MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 AQUISIÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS, ARMAZENAMENTO E AMOSTRAGEM	35
4.2 AVALIAÇÃO SENSORIAL E DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ	36
4.2.1 RECRUTAMENTO, SELEÇÃO E TREINAMENTO DA EQUIPE DE AVALIADORES	36
4.2.2 DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ	40
4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	40
4.3.1 DETERMINAÇÃO DE MICROORGANISMOS PSICROTRÓFICOS	41
4.3.2 DETERMINAÇÃO DE <i>Staphylococcus aureus</i>	42
4.3.3 DETERMINAÇÃO DE <i>Salmonella sp.</i> – BAX® SYSTEM	42
4.3.4 DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES E <i>Escherichia coli</i>	42
4.4 ANÁLISES QUÍMICAS	44
4.4.1 EXTRATO DESPROTEINIZADO	44
4.4.2 DETERMINAÇÃO DE BASES VOLÁTEIS (BNV)	44
4.4.3 DETERMINAÇÃO DE TRIMETILAMINA (TMA)	45
4.4.4 DETERMINAÇÃO DE URÉIA	45
4.4.5 DETERMINAÇÃO DE TRIPTOFANO LIVRE	45
4.5 AQUISIÇÃO DAS IMAGENS	45
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46

5.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DAS AMOSTRAS	46
5.2 ALTERAÇÕES DURANTE O ARMAZENAMENTO E AVALIAÇÃO DE ÍNDICES DE FRESCOR	47
5.2.1 DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ	47
5.2.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	56
5.2.2.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE PSICOTRÓFICOS	56
5.2.2.2 ANÁLISE DE COLIFORMES E <i>Escherichia coli</i>	58
5.2.2.3 ANÁLISE DE <i>Staphylococcus aureus</i>	59
5.2.2.4 ANÁLISE DE <i>Salmonella</i>	59
5.2.3 ANÁLISES QUÍMICAS	60
5.2.3.1 ANÁLISE DE BASES NITROGENADAS VOLÁTEIS (BNV)	60
5.2.3.2 ANÁLISE DE TRIMETILAMINA (TMA)	62
5.2.3.3 ANÁLISE DE TRIPTOFANO LIVRE	64
5.2.3.4 ANÁLISE DE URÉIA	66
5.3 CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISES SENSORIAL, MICROBIOLÓGICAS E QUÍMICAS	67
5.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PESCADAS AMARELAS ADQUIRIDAS EM ESTABELECIMENTOS COMERCIAIS DAS CIDADES DE SANTOS, SÃO VICENTE E PRAIA GRANDE E UTILIZAÇÃO DO PROTOCOLO MIQ DESENVOLVIDO.	72
5.4.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DAS AMOSTRAS	72
5.4.2 ANÁLISE SENSORIAL	73
5.4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	74
5.4.4 ANÁLISES QUÍMICAS	76
5.4.5 CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISES SENSORIAL, MICROBIOLÓGICAS E QUÍMICAS	79
6 CONCLUSÕES	81

1 INTRODUÇÃO

A população brasileira vem seguindo a tendência mundial de consumir preferencialmente alimentos que, de alguma forma, tragam benefícios à saúde (PACHECO et al, 2004). De acordo com o Brasil Food Trends 2020 (SÃO PAULO, 2010), institutos de referência identificaram as recentes exigências e tendências dos consumidores mundiais de alimentos, com base em uma análise de relatórios estratégicos, agrupando-os em cinco categorias: sensorialidade e prazer; saudabilidade e bem-estar; conveniência e praticidade; confiabilidade e qualidade e sustentabilidade e ética. Naturalmente, pode-se afirmar que os frutos do mar se enquadram no grupo de alimentos capazes de gerar benefícios à saúde e bem estar ao ser humano. O pescado pode oferecer ao consumidor quantidades adequadas de nutrientes essenciais, os quais necessariamente devem ser adquiridos pela ingestão dos alimentos. A proteína do pescado apresenta excelente digestibilidade e 200 a 250g de carne são suficientes para suprir as necessidades diárias de aminoácidos essenciais (TOPPE, 2008).

Além da procura por hábitos saudáveis, fatores como o crescimento da renda da população brasileira, valorização da moeda e ações públicas que incentivaram a produção, o consumo e a melhoria de infra-estrutura, contribuíram para o crescimento do consumo de pescado no Brasil. Resultados do estudo sobre consumo de pescado per/capita realizado pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) e divulgado em 2010, revelaram um aumento no consumo de pescado por pessoa no país. Esse estudo revelou crescimento de 6,46 kg para 9,03 kg por habitante/ano entre 2003 e 2009, representando aumento de 39,78% (BRASIL, 2010a). A meta, estipulada pelo MPA, era chegar em 2011 ao consumo de 9 kg por habitante/ano e foi cumprida com pelo menos um ano de antecedência, aproximando do patamar considerado ideal pela Organização Mundial de Saúde que são 12 kg por habitante/ano (BRASIL, 2010b).

Não se pode duvidar da qualidade e benefícios que o pescado proporciona para a saúde humana, porém existe a preocupação que este alimento seja fonte de compostos prejudiciais, como metais pesados, toxinas e contaminantes relacionados

a prática higiênica inadequada durante a cadeia de comercialização. O pescado é um alimento altamente perecível, que mesmo sob condições de refrigeração, se deteriora rapidamente devido ao alto teor de umidade, pH próximo à neutralidade e elevada atividade de enzimas endógenas e microbianas que encontram um meio propício para atuação. Assim, o frescor é a característica que determina a qualidade do peixe como alimento, tanto para aqueles consumidos crus ou usados na culinária doméstica, quanto para aqueles que serão processados (MAZORRA-MANZANO et al., 2000).

O frescor do pescado pode ser avaliado por métodos sensoriais, microbiológicos ou físico-químicos. A avaliação sensorial tem sido considerada a principal forma de determinação da qualidade do pescado no setor pesqueiro e serviços de inspeção do pescado (SVEINSDÓTTIR et al., 2002). Um dos métodos de análise sensorial mais recente é o Método de Índice de Qualidade (MIQ), desenvolvido originalmente pela Tasmanian Food Research Unit (BREMNER, 1985). Baseia-se na avaliação objetiva de atributos do peixe cru usando um protocolo de notas com pontos de demérito (de 0 a 2 ou 0 a 3). As notas são totalizadas gerando um índice de qualidade (IQ) que varia durante o período de armazenamento em gelo. O objetivo da metodologia é obter uma correlação linear entre a qualidade sensorial expressa pela soma de pontos de demérito e o tempo de armazenamento em gelo, tornando possível prever a vida útil do pescado (HYDILG; NIELSEN, 1997). O método é não destrutivo e relativamente rápido, baseia-se unicamente na observação direta das propriedades do pescado e é espécie-específico. O protocolo MIQ deve se tornar o principal método utilizado em laboratórios, pesquisas científicas e comércio do pescado para inspeção mais precisa e decisões claras sobre qualidade sensorial do pescado (VAZ-PIRES; SEIXAS, 2006).

No Brasil, as características sensoriais próprias do peixe fresco apto para consumo estão descritas no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 1952), no entanto, as tabelas para avaliação sensorial e classificação da qualidade de peixes comumente utilizadas em nosso país não são nacionais ou espécies-específicas.

Métodos físico-químicos que quantifiquem as alterações e os produtos derivados da atividade enzimática endógena e bacteriana têm sido desenvolvidos e empregados na avaliação do frescor do pescado. Tais métodos se tornam

especialmente úteis quando apresentam correlação com as alterações sensoriais ou microbiológicas.

Os métodos químicos mais comumente aplicados para estimar a qualidade do pescado baseiam-se na quantificação de aminas voláteis, também chamadas de bases nitrogenadas voláteis (BNV) que englobam principalmente amônia, trimetilamina (TMA) e dimetilamina. Aminas biogênicas tais como histamina, tiramina, putrescina e cadaverina, também são quantificadas para estimar a qualidade do pescado em situações mais específicas, uma vez que podem causar intoxicação quando consumidas em níveis elevados, comprometendo a qualidade do pescado. A legislação relacionada à qualidade e segurança do pescado no Brasil define limites máximos apenas para bases nitrogenadas voláteis (30mg/100g para peixes, exceto elasmobrânquios) e histamina (100ppm no músculo em peixes frescos das espécies pertencentes às famílias *Scombridae*, *Scombresocidae*, *Clupeidae*, *Coryphaenidae* e *Pomatomidae*) (BRASIL, 1997). Outros compostos como uréia (OTSUKA et al., 1991, LAPA-GUIMARÃES; FELÍCIO; CONTRERAS, 2005) e triptofano livre (LAPA-GUIMARÃES; FELÍCIO; CONTRERAS, 2005) têm sido considerados bons índices para avaliação do frescor em invertebrados marinhos, porém sua utilidade foi pouco avaliada para peixes.

Em relação à inocuidade de peixes e produtos derivados, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece pela Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, que para amostras indicativas de pescado, ovas de peixes, crustáceos e moluscos cefalópodes "in natura", resfriados ou congelados não consumidos crus, as tolerâncias para *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp são de 10^3 microorganismos/g e ausência em 25g, respectivamente (BRASIL, 2001). Não há limite definido para Coliformes para a categoria de pescado descrito acima, embora haja limite para todos os outros produtos derivados de pescado.

No Brasil várias espécies de peixes da Família Sciaenidae são comercializadas sob o nome comercial de pescada entre elas: *Cynoscion leiarchus* (pescada branca), *Cynoscion acoupa* (pescada amarela), *Cynoscion guatucupa* (pescada maria mole ou olhuda), *Cynoscion jamaicensis* (pescada goete) e *Cynoscion virescens* (pescada cambucu). De acordo com o boletim estatístico da pesca e aquicultura referente aos anos de 2008 e 2009, (BRASIL, 2010), a soma

das nove espécies mais produzidas no Brasil no período de 2008 e 2009 (sardinha-verdadeira, corvina, bonito-listrado, tainha, pescada-amarela, sardinha, sardinhalage, pescadinha real e castanha) representa quase metade (47%) do total de peixes produzidos pelo país nesse período.

O desenvolvimento de metodologia de análise sensorial de frescor específica para pescada amarela e a determinação de limites críticos para os compostos químicos produzidos durante o armazenamento em gelo contribuirão para a garantia da qualidade e inocuidade desta espécie de elevado valor comercial e uma das mais capturadas no litoral brasileiro.

2 OBJETIVOS

- Desenvolver protocolo MIQ para avaliação da qualidade sensorial da pescada amarela parcialmente eviscerada, armazenada em contato direto com gelo e mantida em câmara fria;
- Avaliar as alterações sensoriais, químicas e microbiológicas da pescada amarela durante o armazenamento em gelo;
- Indicar os parâmetros mais adequados para avaliação da qualidade e propor limites de aceitação para a espécie.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 SITUAÇÃO DA PESCA MARINHA NO BRASIL NOS ÚLTIMOS ANOS

A produção brasileira de pescado estimada em 2009 foi de 1.240.813,1 t., sendo 585.671,5 t (47,2 %) provenientes da pesca extrativa marinha (BRASIL, 2010a). A Região Nordeste passou a ser a maior produtora de pescado marinho, além de ter sido a região que mais prosperou de 2007 a 2009, elevando sua produção de 155.625 t, para 215.225 t. Em 2007, a região Sul do Brasil foi responsável pela maior parcela da produção nacional, com 174.638 t, porém não apresentou progresso nos dois anos seguintes, encerrando o ano de 2009 com 173.636 t. Na Região Sudeste, a produção sofreu um decréscimo e de 2007 para 2009, produzindo 137.666 t e 97.753 t. respectivamente, a única região a apresentar queda na produção. Na região Norte, no período de 2007 a 2009, houve um aumento da produção de 72.036 t para 99.055 t (**Figura 1**).

Figura 1. Produção da pesca extrativa marinha nos anos de 2007, 2008 e 2009, discriminada por região. Fonte: Adaptado Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, Brasil 2008 – 2009 (BRASIL, 2010).

A **Tabela 1** discrimina a produção pesqueira extrativa por Estado e Unidades da Federação nos de 2007, 2008 e 2009. Apesar de ter sido a região Nordeste a maior produtora de pesca extrativa marinha em 2009, o Estado de Santa Catarina permaneceu como o maior produtor de pescado do Brasil no período 2007-2009 contribuindo em média, com 26,8% da produção nacional. Em 2008 produziu 144.125 t, e em 2009, a produção foi de 148.906 t, O segundo maior Estado produtor de pescado do país foi o Pará, com 92.047 t. Em 2008, foram produzidas 83.536 t, e em 2007, 65.460 t. A Bahia foi o terceiro maior produtor nacional em 2008 e 2009, com 66.486 t e 83.537 t, respectivamente, Já no Rio de Janeiro, a produção passou de 82.528 t em 2007 para 57.090 t em 2009, uma queda de 30,8%. No Maranhão, a produção permaneceu praticamente estável no período 2007-2009, com uma pequena queda de aproximadamente 1,1% de 2007 (41.839 t) para 2009 (41.380 t). Em São Paulo, onde a produção em 2007 e 2008 girava em torno de 33.500 t, verificou-se uma queda de 18,4% de 2008 para 2009, quando a produção ficou em 27.561 t (BRASIL, 2010a).

Embora o Brasil possua extenso litoral, sua produtividade pesqueira é determinada, principalmente, por três correntes marítimas, sendo elas a corrente da costa Norte do Brasil que flui para o Nordeste; a corrente do Brasil, que flui em direção ao sul e a corrente das Malvinas que alcança o Brasil pela costa do Rio Grande do Sul. Na região Norte há também o despejo do rio Amazonas, que incrementa a produtividade nessa região. Nas regiões Sul e Sudeste há a influência da corrente das Malvinas, águas com baixas temperaturas e salinidade, além da ocorrência de ressurgências. Na região Nordeste, predomina a influência da corrente do Brasil, de altas temperatura e salinidade e pobres em sais e nutrientes. Entretanto, devido às características dominantes tropicais e subtropicais, não é provável que se obtenha qualquer resultado indicativo da presença de estoques de grande magnitude na costa brasileira (IBAMA, 2002).

Tabela 1. Produção (t) da pesca extrativa marinha nos anos de 2007, 2008 e 2009, discriminada por estado.

Regiões e Unidades da Federação	Produção (t)		
	2007	2008	2009
BRASIL	539.966	529.773	585.671
NORTE	72.036	89.065	99.055
Amapá	6.576	5.528	7.007
Pará	65.460	83.536	92.047
NORDESTE	155.625	182.444	215.225
Alagoas	9.699	9.127	8.993
Bahia	44.932	66.486	83.537
Ceará	17.920	20.502	23.816
Maranhão	41.839	40.707	41.380
Paraíba	4.079	6.636	8.987
Pernambuco	11.777	11.946	15.019
Piauí	2.207	2.750	3.019
Rio Grande do Norte	18.157	18.933	24.888
Sergipe	5.014	5.352	5.583
SUDESTE	137.666	99.248	97.753
Espírito Santo	21.759	14.045	13.102
Rio de Janeiro	82.528	51.431	57.090
São Paulo	33.378	33.771	27.561
SUL	174.638	159.014	173.636
Paraná	1.914	2.116	6.093
Rio Grande do Sul	23.594	12.772	18.636
Santa Catarina	149.13	144.12	148.906

Fonte: Adaptado Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, Brasil 2008 – 2009. (BRASIL, 2010)

3.1.1 CARACTERÍSTICAS DA PESCADA AMARELA E SUA PARTICIPAÇÃO NA PESCA EXTRATIVA DE PEIXE NO BRASIL

A pescada amarela (**Figura 2**), *Cynoscion acoupa* (Lacépède, 1801), é uma espécie da família *Sciaenidae*, a qual representa importante recurso pesqueiro mundial com cerca de 70 gêneros e 270 espécies, amplamente distribuída nos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico, ocorrendo principalmente em águas marinhas e estuarinas (RODRIGUES, 2007). No Brasil, ocorre em todo o litoral. É uma espécie nectônica, demersal e costeira de águas rasas (CERVIGÓN, 1993), comum nas águas salobras dos estuários, lagoas estuarinas e desembocaduras dos rios. Podem pesar até 17 kg e alcançar 110 cm de comprimento (FISHBASE, 2011). Os juvenis são restritos às águas salobras e doces, e encontrados em pequenos ou grandes cardumes nadando próximo ao fundo. Alimenta-se principalmente de peixes e crustáceos (SZPILMAN, 2000) e, de acordo com Carvalho-Filho (1999), habita áreas de lodo, areia ou cascalho, entre 1 a 35 metros. A pescada amarela penetra rios de água doce e é a maior espécie do gênero no Brasil. Ela se aproxima de águas mais rasas à noite para se alimentar, e durante o dia é pouco ativa. Seu período reprodutivo acontece na primavera e verão e as larvas se desenvolvem em águas rasas e de baixa salinidade.

Figura 2 - Pescada amarela (*Cynoscion acoupa*). A – Desenho esquemático (CERVIGÓN, 1992), B – Exemplares eviscerados utilizados no presente estudo.

O gênero *Cynoscion sp* engloba um grupo de espécies de peixes capturado em grande volume no litoral brasileiro e que atinge um alto valor comercial. Segundo

Almeida et al. (2009), *C. acoupa* possui grande valor comercial na região Norte do Brasil e está entre os peixes mais valorizados nas cidades do litoral maranhense. Além da carne, também se explora as bexigas natatórias. Estas possuem altos valores comerciais, pois são utilizadas para a elaboração de emulsificantes e clarificantes (CERVIGÓN, 1993; WOLFF; KOCH; ISAAC, 2000).

De acordo com a estatística da pesca de 2007 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 2007), o Estado do Pará, capturou ao longo do ano de 2007, 14.888 t de pescada amarela (**Figura 3**), 100% provenientes da pesca artesanal. No estado do Amapá 1.313,5 t da referida espécie foram capturadas, (93% provenientes da pesca artesanal), ficando atrás apenas da espécie gurijuba (1.329,5 toneladas). Porém, devido ao valor comercial elevado, foi a espécie que mais contribuiu monetariamente para a região. No Estado do Maranhão, a pescada amarela permaneceu em segunda posição, com 3.552,5 t., 100% provenientes da pesca artesanal, atrás apenas da pescada gó (*Macrodon ancylodon*), cuja captura foi de 5.472,5 t. Assim como no Amapá, a pescada amarela foi a espécie de peixe que mais contribuiu em termos econômicos para o Maranhão. No Rio de Janeiro a pescada amarela foi capturada em menor proporção, segundo a estatística de pesca de 2007 sua captura alcançou 45,5 t, 72,52% provenientes da pesca artesanal. No litoral do Estado de São Paulo, a pesca extrativa da pescada amarela atingiu 13 t, 92,3% provenientes da pesca industrial. No Paraná, 0,5 t de peixes marinhos capturados foi da espécie pescada amarela, 100% provenientes da pesca artesanal. Em Santa Catarina, 603 t de peixes dessa espécie foram capturadas em 2007, 100% provenientes da pesca industrial (IBAMA, 2007).

Pesca extrativa da pescada amarela (t) em 2007

Figura 3 - Pesca extrativa da pescada amarela em estados brasileiros. Fonte: Adaptado “Estatística da Pesca 2007” – (IBAMA, 2007)

A pescada amarela ocupa a quarta posição entre as espécies de peixes mais capturadas no litoral brasileiro durante o ano de 2009, (22.102 t), ficando atrás somente da sardinha-verdadeira (83.286t), corvina (45.750 t.) e bonito listrado (23.307 t) (BRASIL, 2010a). Juntas, estas quatro espécies representam 30% de todos os peixes capturados no país durante esse ano.

No ano de 2010, aproximadamente 32000 kg da espécie pescada amarela foram capturados no litoral de São Paulo, de acordo com a estatística pesqueira do Instituto de Pesca do Estado de São Paulo (SÃO PAULO, 2011), como ilustra a **Figura 4**.

Figura 4 - Produção em peso (kg) de pescada amarela capturada em todos os municípios do litoral de São Paulo durante o ano de 2010. Fonte: Adaptado da estatística pesqueira (2010) do Instituto de Pesca do estado de São Paulo.

3.2 BENEFÍCIOS DO PESCADO

Os ácidos graxos ômega-3 estão presentes no pescado e também em óleos vegetais como linhaça e canola. O ômega-3 de origem vegetal é o ácido alfa linolênico (ALA; C18:3 n-3) que necessita de enzimas presentes em nosso organismo para ser convertido em ácido eicosapentaenóico (EPA; C20:5 n-3) e a ácido docosaexaenóico (DHA; C22:6 n-3). Segundo Plourde e Cunnane (2007) é essencial que os alimentos tenham quantidades suficientes de EPA e DHA para garantir um ótimo benefício à saúde, uma vez que a conversão de ALA a EPA e DHA é pouco eficiente, apenas 5% de ALA se convertem em EPA e 0,5% em DHA. No pescado estes ácidos graxos se encontram naturalmente disponíveis e são importantes para o desenvolvimento do sistema nervoso e para a proteção cardiovascular, uma vez que eleva o nível de HDL, regulam o nível de diferentes lipídeos no sangue, como os triglicerídeos e reduz a pressão arterial (LEE et al., 2008). Existem evidências que estes lipídeos melhoram ainda o estado mental, reduzindo o risco de depressão e desenvolvimento de Alzheimer. Outros estudos

têm mostrado que o consumo de óleos marinhos tem efeito favorável em pessoas que sofrem de reumatismo (TOPPE, 2008).

Minerais como o selênio (Se) e iodo (I) estão particularmente presentes em pescado marinho. O iodo é essencial para o desenvolvimento do cérebro e sistema nervoso infantil. Outros minerais como zinco (Zn), ferro (Fe), cálcio (Ca) e fósforo (P) também estão presentes em níveis adequados. Os produtos da pesca ainda são boa fonte de vitaminas A, D e vitaminas do complexo B. Menos conhecidas, mas não menos importantes a taurina (derivada do aminoácido cisteína) e a colina (amina quaternária) estão presentes no pescado e proporcionam benefícios similares aos proporcionados pelo ômega-3 de cadeia longa, em particular os efeitos positivos ao sistema cardiovascular (TOPPE, 2008).

3.3 ALTERAÇÕES DO PESCADO PÓS-MORTE

A qualidade do pescado pode ser definida como o conjunto de características mensuráveis que permite avaliá-lo, considerando-o próprio ou impróprio para o consumo. Segundo o artigo 442 do RIISPOA, o pescado para consumo humano deve possuir as seguintes características: superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico; olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando completamente as órbitas; guelras róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes com odor natural, próprio e suave; ventre roliço, firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos; escamas brilhantes, bem aderentes à pele e nadadeiras apresentando certa resistência aos movimentos provocados, carne firme, consistência elástica, de cor própria à espécie; vísceras íntegras, perfeitamente diferenciadas; ânus fechado; cheiro específico, lembrando o das plantas marinhas (BRASIL, 1952).

Devido à alta perecibilidade do pescado, estas características de frescor podem ser rapidamente perdidas. Entre os produtos de origem animal, o pescado é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração devido ao pH próximo à

neutralidade, a elevada atividade de água nos tecidos, elevado teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos microorganismos, ao teor de lipídios insaturados, a rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e a alta atividade metabólica da microbiota (LISTON, 1982; SIKORSKI et al., 1994; ASHIE et al., 1996). A deterioração é um fenômeno variável, determinado pela composição química da carne, e número relativo de espécies bacterianas presentes e influenciada pelo uso inadequado ou mesmo a falta de refrigeração, condições higiênico-sanitárias deficientes e inadequado acondicionamento do pescado durante seu manuseio, armazenamento, transporte e comercialização (SIKORSKI et al., 1994; ASHIE et al., 1996).

Após a morte dos animais, ocorrem alterações a nível autolítico, químico, microbiológico e sensorial (HUSS, 1995). Segundo Contreras (2002), os compostos formados no músculo do pescado, 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 pós-rigor são produtos de atividade microbiana cuja formação pode ser controlada até certo limite pelo emprego de processos tecnológicos. Os eventos autolíticos ocorrem graças à ação de enzimas que permanecem ativas após a morte dos peixes. Dentre as substâncias salienta-se o óxido de trimetilamina (OTMA), um agente osmorregulador em peixes (RANKIN; DAVENPORT, 1981; SORENSEN e GLOB, 1987). O TMA pode ser transformado em dimetilamina (DMA) e formaldeído (FA), por influência enzimática (HUSS; ABABOUC; GRAM, 2004). Outro composto formado nessa fase é o ácido láctico, proveniente da conversão do glicogênio (armazenado no músculo do peixe) por ação enzimática. A formação do ácido láctico é a principal causa da redução do pH da carne do peixe, levando à ocorrência da proteólise e resultando na liberação de grande quantidade de aminoácidos que irão favorecer a multiplicação das bactérias naturalmente presentes no pescado (VIEIRA, 2004).

A alteração mais importante que ocorre no pescado é o *rigor-mortis*, que pode ser definido como um período transitório de rigidez muscular, que se segue à morte do indivíduo (RANDAL; BURGGREN; FRENCH, 2002). 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, que ocorrem antes e após o *rigor-mortis* respectivamente. O

início e a duração do *rigor-mortis* variam de acordo com a espécie e condições ambientais a que os animais estão expostos. De maneira geral, o fenômeno inicia-se até cinco horas após a morte, cessando em torno de 30 horas após iniciado, quando o peixe é armazenado adequadamente sob refrigeração. Tecnicamente, é importante retardar o aparecimento do *rigor-mortis*, já que a maioria dos fenômenos relacionados à deterioração se acentua após seu término. De qualquer forma, entende-se que quanto maior a temperatura ambiente, mais rapidamente ocorrerá a etapa do frescor bioquímico (HUSS, 1995).

Grande parte das alterações no pescado é consequência da atividade de microorganismos, e se iniciam a partir da morte do peixe com a proliferação da própria microbiota do animal, mas se intensificam após o *rigor-mortis*, quando o pH do peixe se eleva e se aproxima da neutralidade. O desenvolvimento de microrganismos deteriorantes leva à formação de produtos como: trimetilamina, devido à redução do óxido de trimetilamina em pescados marinhos; ácidos graxos de baixo peso molecular, devido à degradação de carboidratos; formação de aldeídos e cetonas, quando as bactérias atuam sobre a gordura; e formação de amônia, aminas, poliaminas e compostos sulfurados voláteis, devido à degradação de aminoácidos (TEODORO; ANDRADE; MANO, 2007).

Sensorialmente, as alterações do pescado são facilmente percebidas após alguns dias de armazenamento. Alguns dos produtos da deterioração do pescado causam alteração de odor e sabor, mesmo em pequenas quantidades, a exemplo da trimetilamina, da amônia e de compostos sulfurados voláteis. De acordo com Esteves; Aníbal (2007), de um modo geral, o corpo dos peixes perde gradualmente o brilho e a pigmentação viva inicial, tornando-se opaco e com cores desvanecidas. Os olhos tornam-se chatos, côncavos e a pupila, a princípio negra, viva e bem delineada no centro de uma córnea transparente, passa a ser acinzentada, rodeada por uma córnea opaca ou leitosa e às vezes amareladas (**Figura 5, A e B**). As guelras, de cor vermelha, hidratada e com cheiro a algas marinhas logo após a captura, tendem para uma coloração marrom, apresentam um muco espesso e odor alterado (**Figura 5, C e D**). Estes e outros parâmetros que sofrem alterações pós-morte, como o muco cutâneo, a consistência da carne ou o odor, são melhor avaliados quando são utilizados critérios específicos para cada espécie.

Figura 5 - Imagens que ilustram o aspecto de olhos e guelras de um peixe fresco (A e C) e o aspecto após sofrerem alterações pós-morte (B e D), observáveis em *Cynoscion acoupa* após alguns dias de conservação em gelo.

3.4 AVALIAÇÃO QUÍMICA

A Testes químicos, físico-químicos ou instrumentais, que reflitam a qualidade sensorial e microbiológica podem ser uma alternativa prática e segura na determinação do frescor do pescado e de outros alimentos (LAPA-GUIMARÃES, 1999). 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 (LAPA-GUIMARÃES FELÍCIO; CONTRERAS, 2005).

A concentração de bases nitrogenadas voláteis (BNV) é um dos parâmetros mais utilizados para avaliar a decomposição do pescado devido a sua simplicidade analítica e razoável concordância com o estado de frescor (CONTRERAS, 1994). Além da amônia, seu componente principal, as BNV incluem trimetilamina, dimetilamina (DEBEVERE; BOSKOU, 1996) e, provavelmente traços de monometilamina e propilamina, que se formariam em etapas mais avançadas da decomposição (MOLTENO et al., 1968). Amanajás (1985) relata que os métodos químicos que avaliam grupos de substâncias produzidas na deterioração

representam melhor a condição geral do pescado, caso da determinação das BNV que permite quantificar uma ampla gama de metabólitos da atividade endógena (degradação autolítica) e exógena (degradação microbiana). O teor de bases nitrogenadas no músculo de pescado fresco, logo após a morte, em geral não excede o valor de 15 a 20mg de nitrogênio por 100g de músculo. O principal componente deste grupo é a amônia, particularmente no que se refere aos peixes de água doce (ZAITSEV et al., 1969; LISTON, 1982; SIKORSKI; KOLAKOWSKA; BURT, 1994). De acordo com CONTRERAS (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 BNV aumenta progressivamente em função dos processos enzimáticos e microbianos sendo, assim, útil na avaliação do frescor e da deterioração do pescado (SHEWAN, 1962).

A determinação de BNV em pescados, embora seja largamente utilizada, é causa de controvérsia entre os pesquisadores, principalmente quanto ao estabelecimento de limites de aceitação do produto. Segundo Ogawa e Maia, (1999) para peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNV atinge 5 a 10mg carne. No início da putrefação, este teor pode ir até 30 a 40mg/100g e, quando deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50mg/100g de carne; peixes com frescor razoável podem atingir até 15 a 25mg/100g. Um valor próximo de 30mg por 100g tem se mostrado compatível com outros parâmetros de avaliação, levando alguns países, como Alemanha, Austrália e Japão a adotarem oficialmente este valor como limite máximo tolerável para a comercialização (COBB; VANDERZANT, 1975, SIKORSKI; KOLAKOWSKA; BURT, et al., 1994). No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento também estabelece o valor de 30mg/100g como limite máximo de BNV para pescado fresco, exceto para elasmobrânquios (BRASIL, 1997). Cornejo Mujica (2000) que estudou a formação de BNV em cação (*Prionace glauca*) comenta que parece problemático estender a adoção deste valor para todas as espécies de pescado, independentemente do conhecimento da sua composição. A Comunidade Européia

(EC) estabelece valores limites maiores que a legislação brasileira, sendo 35mg de BNV e 12mg de TMA por 100g de músculo de peixes nas diretivas 95/149/EEC e 91/493/EEC, respectivamente (RUIZ CAPILAS; MORAL, 2001)

A trimetilamina (TMA) se origina em pescados devido à ação de enzimas bacterianas sobre o óxido de trimetilamina (OTMA). A formação de TMA não é função direta da microbiota contaminante total, mas sim da proporção de bactérias redutoras e não redutoras de OTMA. Os principais grupos de bactérias envolvidas na redução de OTMA para TMA pertencem aos gêneros *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio* e *Acinetobacter* como gram negativas e *Micrococcus* e *Bacillus* como gram positivas, todas elas psicrófilas (LISTON, 1980), sendo que *Shewanella putrefaciens* é uma das bactérias mais representativas da produção de TMA a partir de OTMA (RINGO; STENBERG; STROEM, 1984). Também existem controvérsias sobre a utilidade da TMA como índice de frescor. Smith (1980-81) relata que o teor de TMA de peixes armazenados em condições idênticas, mas capturados em períodos diferentes não é constante e que também não pode de maneira alguma ser relacionado com a perda de OTMA, não sendo, portanto possível usar TMA como método para estimar deterioração. Já de acordo com Pedrosa-Menabrito e Regenstein (1990) e Botta (1995), TMA é uma das aminas voláteis mais estudadas, por estar intimamente relacionada com a deterioração do pescado. Liston (1980) e Sikorski et al. (1994) relatam que há evidências de que a produção de TMA correlaciona-se bem com o aumento da população bacteriana no músculo de pescado, sendo um dos principais responsáveis pelo odor de pescado deteriorado. A diminuição da concentração de OTMA nem sempre é acompanhada por um aumento proporcional de TMA, pois esta pode se perder na água de degelo ou volatilizar (CONTRERAS, 1994).

Aminas biogênicas são aminas não voláteis e a determinação de seus teores tem sido proposta para avaliação da qualidade do pescado (BAIXAS-NOGUERAS et al., 2002). Aminas biogênicas geralmente estão presentes em baixas quantidades em alimentos, mas elas podem ser produzidas durante o armazenamento dependendo da disponibilidade de aminoácidos livres, da presença de bactérias capazes de descarboxilar aminoácidos e de condições favoráveis para o crescimento bacteriano e produção de enzimas (HALÁSZ et al., 1994). Embora aminas biogênicas como histamina, tiramina e putrescina sejam necessárias para

funções fisiológicas no homem e em outros animais, o consumo de alimentos contendo quantidades elevadas destas amins pode ocasionar efeitos tóxicos (BRINK et al., 1990), sendo importante um controle dos teores destas amins em alimentos.

Em pescado as amins biogênicas são produzidas devido à atividade de bactérias deteriorantes que somente estão presentes em número elevado no músculo quando já podem ser detectados sinais de deterioração. Devido a esta característica, alguns autores (MACKIE et al., 1997) consideram que alterações nos teores de amins biogênicas geralmente são mais úteis como índices de deterioração que de frescor. Entretanto, agmatina (YAMANAKA et al., 1987; PAARUP et al., 2002; RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001), cadaverina (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001) e putrescina (BAIXAS-NOGUERAS et al., 2002) têm sido consideradas bons indicativos de frescor, pois foram detectadas antes da deterioração.

Uréia e aminoácidos livres como triptofano têm sido recentemente estudados como índices de frescor principalmente para invertebrados marinhos, apresentando resultados promissores. Otsuka et al. (1991) acompanharam a formação de uréia em espécies de caranguejo, camarão, lagosta, vieira, polvo e lula, armazenados em gelo por 15 dias, concluindo que a uréia pode ser um bom índice para avaliação do frescor nas espécies de camarão, lagosta e lula analisadas pois seu teor se elevou gradualmente durante o período de estocagem. Em lulas da espécie *Loligo plei*, armazenada em gelo sem contato direto, foi detectada uma correlação significativa entre os teores de uréia e a contagem de microorganismos psicotróficos (LAPA-GUIMARÃES, FELÍCIO; CONTRERAS, 2005). O aumento da concentração de triptofano livre no músculo tem sido avaliado como índice de frescor para lulas. Na espécie *Dosidicus gigas* os resultados foram promissores, pois ocorreu um aumento progressivo durante 72h de armazenamento à temperatura ambiente (ROMO et al., 1996). Em *Loligo plei*, armazenada em gelo sem contato direto, foi detectada uma correlação significativa entre os teores de triptofano e a contagem de microorganismos psicotróficos (LAPA-GUIMARÃES, FELÍCIO; CONTRERAS, 2005). Nestes dois estudos a determinação de triptofano foi realizada de acordo com o método desenvolvido por Contreras e Lapa (1989), em um extrato desproteínizado do músculo das lulas. Triptofano também foi considerado como um índice de

controle potencial para merluza (*Merluccius merluccius*) pois sua concentração aumentou progressivamente durante o armazenamento sob refrigeração a $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001).

3.5 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Em relação à inocuidade de peixes e produtos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece pela Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, que para amostras indicativas de pescado, ovas de peixes, crustáceos e moluscos cefalópodes "in natura", resfriados ou congelados não consumidos crus, as tolerâncias para de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp são de 10^3 microorganismos/g e ausência em 25g, respectivamente (BRASIL, 2001). Não há limite definido para Coliformes para a categoria de peixe descrito acima, embora haja limite para todos os outros produtos derivados de pescado.

O grupo de bactérias patogênicas que pode estar presente na microbiota do pescado ou amplamente distribuído no ambiente aquático (bactérias indígenas) e o grupo de bactérias que se encontram em pescado, embora não sendo naturalmente pertencente a esse meio (bactérias não indígenas) de acordo com Huss (1997) estão representadas na **Tabela 2**.

A temperatura da água tem naturalmente um efeito seletivo. Assim, os organismos mais psicrótrópicos (*Clostridium botulinum* e *Listeria*) são frequentes no Ártico e nos climas mais frios enquanto que os tipos mais mesófilos (*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*) representam parte da flora natural do peixe de ambientes costeiros e estuarinos de zonas temperadas ou tropicais quentes (HUSS, 1997).

A carga microbiana inicial dependerá do grau de contaminação da água do mar, espécie do pescado e da arte de pesca utilizada para a captura. Segundo Frazier e Westhoof (1978) o número de bactérias do muco e da pele de peixes marinhos pode variar de 100 ufc a vários milhões por cm^2 e o fluido intestinal pode conter de 10^3 a 10^8 ufc/mL.

Tabela 2 - Bactérias patogênicas presentes no pescado.

Grupo	Bactérias	Modo de atuação			
		Infecção	Toxina pré-formada	Estabilidade térmica da toxina	Dose infecciosa mínima
Bactérias indígenas	<i>Clostridium botulinum</i>		+	baixa	-
	<i>Vibrio</i> sp.	+			alta
	<i>V. cholerae</i>				-
	<i>V. parahaemolyticus</i>				(>10 ⁶ /g)
	outros vibrios*				-
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+			Não conhecida
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	+			Não conhecida
Bactérias não indígenas	<i>Listeria monocytogenes</i>	+			Não conhecida/variável
	<i>Salmonella</i> sp.	+			desde <10 ² até >10 ⁶
	<i>Shigella</i>	+			10 ¹ -10 ²
	<i>E. coli</i>	+			10 ¹ -10 ³ **
	<i>Staphylococcus aureus</i>		+	alta	-

* Outros vibrios são: *V. vulnificus*, *V. hollisae*, *V. furnsii*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*.

** Para a estirpe 0157:H7 produtora de verotoxina.

Fonte: Huss, (1997)

As *Enterobacteriaceae* (*Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*) ocorrem em produtos do pescado como resultado de contaminação do homem ou dos animais. A *Escherichia coli* é a principal bactéria representante do grupo coliforme fecais e é considerada a indicadora mais específica de contaminação fecal e da eventual presença de organismos patogênicos (BRASIL, 2001). Boa higiene pessoal e educação sanitária dos manipuladores de alimentos são, por isso, essenciais no controle das doenças causadas por *Enterobacteriaceae*. Tratamento adequado da água e a eliminação sanitária dos esgotos constituem, igualmente, aspectos essenciais num programa de controle (HUSS, 1997). A *Salmonella spp* não existe originalmente no pescado, no entanto o consumo desse alimento já causou inúmeras intoxicações alimentares (SIKORSKI, 1994). O *Vibrio parahaemolyticus* causa gastroenterite e está associado com alimentos de origem marinha, principalmente quando consumidos crus ou inadequadamente cozidos (VIEIRA, 2004). Chen e Hanna (1992) apontam que esse patógeno tem sido associado com processos infecciosos em peixes marinhos, caranguejos, camarões e ostras. De acordo com Ogawa e Maia (1999), bactérias do gênero *Vibrio* psicrófilos são detectados em qualquer época do ano e no verão, encontram-se mais mesófilos. A

atividade de deterioração dessa bactéria é inferior a de *Pseudomonas* e algumas espécies dão um forte odor de putrefação.

Os *Staphylococcus aureus* são organismos que se encontram por toda a parte e podem ser encontrados na água, ar, poeira, leite, esgotos, chão, superfícies e todos os materiais que entram em contato com o homem e sobrevivem muito bem no ambiente. Contudo, a principal origem e habitat são o nariz, a garganta e a pele do homem e dos animais. A proporção de portadores humanos pode atingir 60% dos indivíduos saudáveis, havendo uma média de 25 a 30% da população que é portadora de estirpes produtoras de enterotoxinas (AHMED, 1991). *S. aureus* podem causar intoxicação e os sintomas são náuseas, vômitos e diarreia, que podem ser percebidos de duas a quatro horas após a ingestão do alimento contaminado e durar cerca de 24 horas. Casos mais graves de desidratação podem levar o paciente à morte. Segundo Gelli (1988) o *Staphylococcus aureus* é indicador de higiene insuficiente na manipulação do pescado e são microorganismos capazes de oferecer risco ao consumidor. O *Staphylococcus aureus* se prolifera a uma temperatura mínima de 10°C, mas produz a toxina em temperaturas superiores a 15°C. Segundo Huss (1997), essas toxinas são muito resistentes a enzimas proteolíticas e ao calor e temperaturas de cozimento atingidas no preparo doméstico não são suficientes para destruí-las. Deve-se também realçar que os estafilococos são competidores fracos e não crescem bem na presença de outros microorganismos. Assim, a presença de estafilococos em alimentos crus, contaminados naturalmente, tem pouco significado.

Segundo Franco e Landgraf (2005) os microorganismos mais importantes na deterioração do pescado são os gêneros *Pseudomonas* e *Shewanella*, principais responsáveis pelas alterações organolépticas devido à formação de trimetilamina, ésteres, substâncias voláteis redutoras e outros compostos com aroma pronunciado.

3.6 AVALIAÇÃO SENSORIAL DO FRESCOR DO PESCADO

A avaliação sensorial é a ferramenta mais antiga e também mais satisfatória para determinar o frescor e classificar o pescado e produtos de pescado (BRANCH; VAIL, 1985; HOWGATE; JOHNSTON; WHITTLE, 1992), assim como o mais

importante método para avaliar o frescor do pescado na pesquisa científica (MARTINSDÓTTIR, 1997).

Vários protocolos para a avaliação sensorial do peixe cru foram desenvolvidos nas últimas décadas. No protocolo da Torry Research Station, desenvolvido por Shewan et al¹. (1953 apud BARBOSA E VAZ PIES, 2004), o conceito fundamental era de que cada parâmetro era independente dos demais. Posteriormente a metodologia foi modificada e passou a avaliar um grupo de características por meio de notas; obtém-se um valor numérico único que varia de 10 a 0 e que expressa uma grande gama de caracteres. O pescado é considerado adequado para consumo quando seu escore é igual ou superior a 6 (HUSS, 1997). Na Europa, a decisão de conselho n. 103/76 de janeiro de 1976 introduziu o protocolo EU, um método utilizado pelos serviços de inspeção e na indústria do pescado. O protocolo EU estabelece 3 níveis de qualidade: E (qualidade extra), A e B. Abaixo do nível B o pescado é considerado impróprio para consumo. Tal protocolo de avaliação sensorial apresenta discrepâncias por não considerar diferenças entre espécies já que utiliza apenas parâmetros gerais (LUTEN; MARTINSDÓTTIR, 1997; NIELSEN, 1995).

Um dos métodos de análise sensorial mais recente é o Método de Índice de Qualidade (MIQ). O método é não destrutivo e relativamente rápido, e baseia-se unicamente na observação direta das propriedades do pescado e é espécie-específico. O objetivo da metodologia é obter uma correlação linear entre a qualidade sensorial expressa pela soma de pontos de demérito e o tempo de armazenamento em gelo, tornando possível prever a vida útil do pescado (NIELSEN; JESSEN, 1997). O protocolo MIQ deve se tornar o principal método utilizado em laboratórios, pesquisa científica e comércio do pescado para uma inspeção mais precisa e decisões claras sobre qualidade sensorial do pescado (VAZ-PIRES; SEIXAS, 2006).

¹ Shewan, J.M., Macintosh, R.G., Tucker, C.G. and Ehrenberg, A.S.C. 1953. The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 4(6): 283–298.

3.6.1 MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE

O Método do Índice de Qualidade (MIQ) foi originalmente desenvolvido pela Unidade de Pesquisa Alimentar da Tasmânia (BREMNER, 1985). O método consiste na avaliação de diversos atributos de qualidade, como: aparência geral, textura, olhos, guelras, abdome, etc., além do odor do pescado resfriado, e na modificação desses atributos de acordo com o tempo de estocagem. A cada atributo é dado um escore, que varia de zero a três ou de zero a dois (de acordo com o seu grau de relevância), sendo considerado zero como o melhor e três (ou dois) como o pior escore. A soma desses escores origina o Índice de Qualidade (IQ), o qual permitirá, além da avaliação da qualidade do pescado em questão, a previsão do prazo de vida comercial da espécie, com a vantagem de ser barato, simples, requerer pouco treinamento e não ser um método destrutivo. Como não é dada ênfase a atributos individuais, uma amostra não é rejeitada com base em um único critério (LUTEN; MARTINSDÓTTIR, 1997). Além disso, a metodologia é útil no primeiro estágio do armazenamento do pescado, quando outros métodos instrumentais são imprecisos (NIELSEN et al., 1992).

O princípio do método é baseado na tese de que os avaliadores não podem julgar graus de perfeição, mas podem muito facilmente detectar alterações de um produto. Às mudanças do produto são dados pontos de demérito (escore), que somados fornecem uma avaliação geral sobre a qualidade do produto. Quanto maior os pontos somados, mais “inadequado” o alimento se encontra. Tal entendimento partiu do fato de que, durante o armazenamento de peixes, ocorrem alterações que são facilmente detectáveis e muitas vezes mensuráveis, já que a grande maioria dos compostos provenientes das reações químicas, bioquímicas e microbiológicas em pescado encontra-se próximo a zero ou a um valor muito baixo logo após a despesca, e tendem a aumentar com a temperatura e período de armazenamento (TAYLOR; FRANCIS, 2010).

Os primeiros protocolos MIQ foram baseados no trabalho de Bremner (1985) e todos foram para peixes conservados em gelo (TAYLOR; FRANCIS, 2010). O MIQ foi inicialmente desenvolvido com finalidade técnica e industrial, mas já existem

estudos voltados a uma versão para o consumidor (WARM², 2000; LARSEN³ et al., 2003, apud HYLDIG et al, 2010) com o objetivo de auxiliá-los a decidir pelo melhor produto na hora da compra no varejo (NIELSEN; HYLDIG; LARSEN, 2002). Barbosa e Vaz-Pires (2004) desenvolveram o protocolo MIQ para *Octopus vulgaris* e constataram a rejeição da espécie no oitavo dia de armazenamento. Nesse mesmo trabalho compilaram uma lista com 21 espécies de pescado para as quais protocolos MIQ haviam sido desenvolvidos. Antes mesmo dos estudos citados por Barbosa e Vaz-Pires (2004), protocolos MIQ foram desenvolvidos para *Merluccius capensis* e *M. paradoxus* congelado (HERNÁNDEZ-HERRERO et al., 2003) e para *Merluccius merluccius* (BAIXAS-NOGUERAS et al., 2003). Desde então, o protocolo MIQ foi desenvolvido para uma série de espécies de pescado: Massa et al., (2005) elaboraram o protocolo MIQ para a espécie *Paralichthys patagonicus*; Lyhs e Schelvis-Smit (2005) para arenques embalados com atmosfera modificada; Oliveira, (2005) para *Litopenaeus vannamei*; Bonilla; SVEINSDOTTIR; MARTINSDOTTIR, (2005) desenvolveram o protocolo para filés de *Gadus morhua*; Vaz Pires e Seixas (2006) elaboraram o protocolo para *Sepia officinalis* e *Illex coindetti*; Guilherm-Regost et al., (2006) para *Hippoglossus hippoglossus* L.; Bekaert et al., (2005) desenvolveram o protocolo MIQ para *Chelidonichthys lucerna*; Pons-Sánchez-Cascado et al. (2006) para *Engraulis encrasicolus in natura* e cozido; Rodrigues (2008) para *Oreochromis niloticus*; Teixeira et al., (2009) elaboraram o protocolo para *Micropogonias furnieri*).

² Warm K. *Sensory Quality Criteria for New and Traditional Fish Species of Relevance to Consumer Needs*. Danish Institute for Fisheries Research, Lyngby, Th e Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark, p. 1, 2000

³ Larsen E, et al. Consumers and experts responses to fresh cod fi llets. In Luten JB, Oehlenschlager J, and Olafsdottir G (eds.). *Quality of Fish from Catch to Consumer: Labelling, Monitoring and Traceability*. Wageningen Academic Publ., Wageningen, the Netherlands, p. 345, 2003

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AQUISIÇÃO DAS MATÉRIAS PRIMAS, ARMAZENAMENTO E AMOSTRAGEM

As pescadas amarelas (*Cynoscion acoupa*) foram capturadas por pescadores artesanais que comercializam pescado no bairro Canto do Forte, na cidade de Praia Grande, localizada no litoral sul do estado de São Paulo. As embarcações utilizadas foram de pequeno porte, construídas de madeira e movidas com motores de popa, sendo desprovidas de gelo ou local específico para armazenamento dos peixes a bordo. Foram utilizadas redes de espera para a captura de peixes de fundo com malhas de 7 cm e a área de pesca foi a área costeira. Os barcos saíam no final da tarde para a colocação das redes e retornavam para a retirada no outro dia pela manhã, permanecendo as redes no mar por aproximadamente 12 horas.

Após o desembarque, os peixes foram parcialmente eviscerados de forma que permanecessem com as guelras, membrana peritoneal e rim intactos, retirando-se apenas as vísceras soltas. Procedeu-se a evisceração com os mesmos utensílios utilizados diariamente pelos comerciantes, como facas com cabo de madeira e tábuas de madeira para corte. Os peixes não foram lavados após a evisceração. As pescadas amarelas foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo fabricado com água potável na proporção de 1:3 (peixe: gelo) e transportadas à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos na cidade de Pirassununga localizada a aproximadamente 300 km do local de obtenção das amostras. A caixa isotérmica contendo as pescadas amarelas foi mantida em câmara fria com temperatura entre 4 e 10°C e o gelo foi repostado a cada 2 ou 3 dias, mantendo a proporção 1:3 (peixe: gelo). No ato de cada troca do gelo, retirou-se toda água proveniente do degelo. Periodicamente 4 ou 5 peixes foram amostrados aleatoriamente para realização das análises sensoriais, microbiológicas e físico-químicas. Antes do início das análises os peixes foram avaliados quanto ao comprimento padrão e peso. O experimento foi realizado em quadruplicata com lotes de pescadas amarelas que continham entre 26 e 36 peixes.

A fim de avaliar a qualidade de pescada amarela no comércio, 39 unidades de pescadas amarelas foram adquiridas em 14 pontos de comercialização de três cidades do litoral de São Paulo (Santos, São Vicente e Praia Grande) durante os meses de outubro, novembro e dezembro de 2010 e fevereiro de 2011. Os seis pontos de venda em Santos foram denominados de A (ambulante), B (ambulante), C (ambulante), D (peixaria), E (peixaria) e F (peixaria); cinco em Praia Grande denominados G (peixaria), H (peixaria), I (peixaria), J (peixaria) e K (peixaria), e três em São Vicente, denominados L (peixaria), M (peixaria) e N (peixaria). Cada amostra continha 3 peixes (exceto para 3 pontos de venda). Os peixes foram armazenados em sacos plásticos contendo gelo e os mesmos acondicionados em caixa isotérmica também com gelo para serem transportados à FZEA. Os peixes foram levados ao laboratório da faculdade no mesmo dia da aquisição e então submetidos às análises sensorial, química e microbiológica. Os peixes submetidos à análise sensorial não foram submetidos às análises microbiológica e químicas, visto que a análise sensorial envolveu a manipulação dos peixes e foi preciso deixá-los disponíveis por um tempo variável até que todos os avaliadores fizessem a análise.

4.2 AVALIAÇÃO SENSORIAL E DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ

4.2.1 RECRUTAMENTO, SELEÇÃO E TREINAMENTO DA EQUIPE DE AVALIADORES

Os avaliadores que participaram do desenvolvimento do protocolo MIQ foram recrutados e selecionados entre funcionários e estudantes da FZEA para que se pudesse minimizar o risco de ausência dos avaliadores durante a execução do experimento. A equipe foi formada por nove pessoas que têm o hábito de comer e comprar peixes.

O treinamento da equipe de avaliadores ocorreu durante o período de armazenamento do primeiro lote de pescada amarela em gelo, utilizando-se aproximadamente 36 peixes da espécie e teve como objetivo aprimorar a habilidade de cada avaliador no processo de reconhecimento e descrição das características dessa espécie de peixe. Neste período de treinamento, e primeira etapa de desenvolvimento do protocolo MIQ, o objetivo da avaliação sensorial foi que os

avaliadores observassem os peixes periodicamente e descrevessem os atributos que mais se alteravam em função do tempo.

Em cada período de amostragem 2 pescadas amarelas foram dispostas individualmente em caixas isotérmicas com uma pequena quantidade de gelo. Pinça e luvas foram disponibilizadas aos avaliadores para facilitar a observação de determinados atributos. Durante a análise, o avaliador recebeu uma ficha de avaliação na qual deveria descrever com suas palavras, as características de determinados atributos previamente definidos, bem como relatar alteração relevante em qualquer outro atributo não presente na ficha.

Nos primeiros dias foi disponibilizada à equipe uma lista (**Quadro 1**) de atributos normalmente observados, dispostos na “Cartilha do pescado fresco” da antiga Secretaria de Aquicultura e Pesca (SEAP) (BRASIL, 2007), a fim de familiarizar a equipe com os termos descritivos, bem como direcionar sua atenção para características importantes.

Quadro 1 - Material de referência utilizado no treinamento dos avaliadores que participaram da avaliação sensorial da pescada amarela eviscerada e estocada em gelo.

Fonte: Cartilha pescado fresco (BRASIL, 2007).

Pescado Fresco		Pescado Deteriorado
Pele brilhante, úmida, tonalidade viva, sem lacerações		Pele pálida e sem brilho
Muco ausente. Quando característico da espécie, deve ser aquoso		Muco presente ou com espessura aumentada
Escamas unidas entre si, fortemente aderidas à pele, translúcidas e com brilho		Escamas soltam-se facilmente, são opacas e sem brilho
Carne firme, elástica e aderida aos ossos		Carne leitosa, amarelada e com má aderência aos ossos
Opérculo (membrana que reveste guelras) rígido, deve oferecer resistência a sua abertura		Opérculo não oferece resistência à abertura
Guelras róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes. Ausência ou discreta presença de muco translúcido		Guelras pálidas e/ou com presença de muco intenso e espesso
Órgãos internos bem definidos; odor suave		Órgãos internos manchados; odor ácido
Olhos salientes, transparentes e brilhantes		Olhos fundos, opacos e sem brilho
Odor suave ou ausente		Odor intenso, desagradável, característico de alteração

Após os primeiros dias de informação e discussão em grupo, os avaliadores fizeram a análise sensorial de forma individual, permanecendo um responsável no local para que possíveis dúvidas fossem solucionadas. Dessa maneira, as características sensoriais começaram a ser levantadas simultaneamente com o aperfeiçoamento da equipe avaliadora, como mostra o **Quadro 2**.

Quadro 2 - Características sensoriais levantadas pela equipe, durante a avaliação da pescada amarela eviscerada e estocada em gelo.

PARÂMETROS	CARACTERÍSTICAS	DIAS DE ARMAZENAMENTO
ASPECTO GERAL	Coloração acinzentada, nadadeira caudal, nadadeiras e abdome amarelados, pele úmida, com brilho e escamas aderidas.	D2
	Coloração acinzentada, cauda, nadadeiras e abdome amarelados, pele úmida, com brilho, escamas aderidas começando a se desprender.	D3
	Coloração acinzentada com pouco brilho, escamas soltas, corpo mole.	D7
	Pele com pouco brilho, escamas soltas e corpo mole.	D10
	Ausência de brilho, pele descorada, escamas soltas, perda da coloração amarelada, corpo mole, odor desagradável.	D14
	Descorada, coloração amarelada da espécie já bem clara, ausência de escamas, pele opaca, consistência mole.	D17
OLHOS	Planos, brilhantes (ligeira opacidade), córnea límpida, pupilas pretas e bem delineadas.	D2
	Forma côncava, brilhantes, (ligeira opacidade), córneas límpidas, pupilas pretas e bem delineadas.	D3
	Forma côncava, opacos, cinza nas extremidades.	D7
	Forma côncava, pupilas e córneas opacas.	D10
	Forma côncava e achatada, pupilas opacas e sem delineamento, pouco brilho, apresentando alguns hematomas avermelhados.	D14
	Forma côncava, pupilas acinzentadas, pupilas brilhantes, sem delineamento,	D17
BRÂNQUIAS	Coloração vermelho escuro, odor metálico, presença de pouco muco, forma íntegra.	D2
	Cor vermelha descorada, odor metálico, presença de muco, forma íntegra.	D3
	Coloração tendendo para o marrom, descoradas.	D7
	Coloração tendendo para o marrom, presença de muco, ligeira deformação, odor metálico.	D10
	Descoradas, grande presença de muco, disformes, odor de ranço.	D14
	Descoradas, cor laranja a marrom, presença de muco, apresentando grande deformidade.	D17
ABDOME	Membrana peritoneal íntegra, aderida e com coloração cintilante, músculo abdominal íntegro.	D2
	Membrana peritoneal íntegra, aderida, coloração esbranquiçada, músculo abdominal firme.	D3
	Membrana peritoneal íntegra, começando a se desprender, opaca.	D7
	Flácido, presença de manchas, membrana peritoneal pouco aderida.	D10
	Flácido, membrana peritoneal pouco aderida.	D14
	Membrana peritoneal frágil, branca, sem brilho, músculo com manchas.	D17
RIM	Cor vermelha escura, íntegro.	D2
	Cor vermelha escura.	D3
	Cor vermelha escura.	D7
	Cor vermelha escura.	D10
	Cor vermelha escura a marrom.	D14
	Cor vermelha escura a marrom.	D17
MUSCULATURA	Musculatura firme com cor rosa claro apresentando translucidez.	D2
	Musculatura firme com cor rosa claro apresentando translucidez.	D3
	Musculatura firme, cor rosa claro, com ligeira opacidade.	D7
	Musculatura flácida, cor rosa claro, com translucidez restrita.	D10
	Musculatura flácida, pouco solta, opaca.	D14
	Musculatura flácida, cor branca, opaca, com manchas mais escuras.	D17

4.2.2 DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ

Os dois peixes disponibilizados para análise sensorial foram avaliados individualmente pela equipe de avaliadores. Durante a avaliação das pescadas amarelas do lote 1, os atributos identificados pelos avaliadores como os que mais se alteraram durante o armazenamento em gelo, assim como a descrição do atributo das pescadas frescas, em estado intermediário de frescor e já inaceitáveis para consumo, correspondendo a 0, 1 e 2 pontos de demérito, respectivamente, foram organizados em uma ficha representando o protocolo MIQ provisório.

No segundo experimento, ou seja, no lote 2, o protocolo MIQ provisório foi utilizado pelos avaliadores para avaliar as pescadas amarelas em cada período de estocagem. Pequenas modificações foram introduzidas na ficha de avaliação para que todos os provadores concordassem que os atributos e parâmetros estabelecidos seriam úteis e representativos das alterações ocorridas durante a estocagem. Na última etapa de desenvolvimento do protocolo MIQ para pescada amarela foram feitas curvas de calibração para verificar a existência de correlação linear significativa entre o tempo de estocagem e a perda de qualidade sensorial da pescada amarela.

Para os lotes 3 e 4 e para as amostras adquiridas em estabelecimentos comerciais utilizou-se o protocolo MIQ definitivo para avaliação sensorial das pescadas.

4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Nos dias de análises, três peixes amostrados aleatoriamente foram utilizados para realizar as análises microbiológicas que compreenderam contagem de microorganismos psicrótrópicos, enumeração de coliformes totais e fecais a 37°C, pesquisa de *Salmonella sp* e *Staphylococcus aureus*.

A primeira parte do procedimento, relativa à higienização dos utensílios, preparação da amostra e diluições, foi comum para todas as determinações.

A higienização da bancada, tábuas de corte e facas foi realizada com álcool 70% e todos os outros materiais foram esterilizados previamente em autoclave. O

fluxo laminar foi higienizado com álcool 70% e submetido à ação de luz ultravioleta por 30 minutos antes de cada análise.

Na bancada higienizada e entre dois bicos de Bünsen, foi retirado um filé de cada peixe. O filé foi cortado em pedaços pequenos (menores que 1cm^3), e em seguida os pedaços foram transferidos para béqueres estéreis identificados. Os béqueres com as amostras foram levados ao fluxo laminar onde pesou-se 25g de cada amostra e adicionou-se 225ml de água peptonada 0,1% em sacos plásticos estéreis e identificados. Os sacos com as amostras foram fechados e submetidos à agitação no homogeneizador por 3 minutos, originando a diluição 10^{-1} de cada amostra.

Ainda no fluxo, 1,0ml da primeira diluição foi transferido para um tubo de ensaio contendo 9,0 ml de água peptonada 0,1%, obtendo-se assim a diluição 10^{-2} . Transferiu-se 1,0 ml da solução 10^{-2} para um tubo de ensaio contendo 9,0 ml de água peptonada 0,1%, obtendo-se assim a solução 10^{-3} . Repetiu-se esse procedimento sucessivamente até a obtenção das diluições necessárias de acordo com a contaminação estimada para o dia da amostragem.

4.3.1 DETERMINAÇÃO DE MICROORGANISMOS PSICOTRÓFICOS

Para a determinação de microorganismos psicrotróficos, foi utilizado o método descrito por Johnston, R.W.; Tompkin, R.B. (1992). No máximo dois dias antes da análise, fundiu-se o Agar padrão para contagem (PCA) em microondas e, no fluxo laminar, adicionou-se cerca de 10,0ml de PCA em cada placa de Petri estéril e esperou-se o meio resfriar e solidificar-se. As placas foram identificadas com o código da amostra, diluição a ser inoculada e data da análise.

Adicionou-se 0,1ml da amostra (começando pela amostra mais diluída) a uma placa de Petri contendo ágar PCA, espalhando com o auxílio de uma alça de Drigalsky em movimentos circulares suaves até a secagem do líquido. A alça foi banhada no álcool puro e em seguida flambada na chama do bico de Bünsen e resfriada antes de cada nova inoculação. As placas foram invertidas e incubadas a 20°C por 3 dias e então efetuada a contagem utilizando um contador de colônias.

4.3.2 DETERMINAÇÃO DE *Staphylococcus aureus*

A metodologia foi seguida de acordo com AOAC Official Method 2003.11 (AOAC) (2007). Nesta análise foram utilizadas Placa 3M™ Petrifilm™ para contagem rápida de *Staphylococcus aureus*. Dentro do fluxo laminar as placas do kit comercial foram retiradas da embalagem e identificadas com os códigos das amostras, diluição a ser inoculada e data da análise. Aliquotas de 1 ml da diluição adequada foram inoculadas no centro das placas. Após incubação por 24h a 37°C, os resultados foram interpretados de acordo com o método acima citado.

4.3.3 DETERMINAÇÃO DE *Salmonella* sp. – BAX® SYSTEM

A metodologia foi seguida de acordo com o AOAC Official Method 2003.09 (AOAC) (2007), utilizando o BAX® System PCR Assay for *Salmonella*, fabricado pela Du Pont Qualicon, validado e aprovado pelo MAPA e certificado pelo AOAC Research Institute sob nº100.201

A interpretação dos resultados foi realizada pelas curvas de dissociação e de ícones positivo/negativo apresentados na tela. O perfil da curva positiva para *Salmonella* é representado por picos alvos a 84°C, a 87,5°C e 89°C, variando de 82,5°C a 90°C (**Figura 6A**), sendo o terceiro pico o dominante. A curva negativa para *Salmonella* apresenta um pico controle a 79°C (**Figura 6B**).

4.3.4. DETERMINAÇÃO DE COLIFORMES E *Escherichia coli*

Nesta análise foram utilizadas placas do kit Compact Dry “Nissui” EC fabricado pela Nissui Pharmaceutical Company LTD com certificação Micro Val. Dentro do fluxo laminar as placas do kit comercial foram retiradas da embalagem e identificadas com os códigos das amostra, diluição a ser inoculada e data da análise. Prosseguiu-se com a incubação, inoculação e interpretação dos resultados de acordo com as orientações do fabricante: colônias vermelho/cor-de-rosa indicam presença de coliformes, exceto *E.coli*, enquanto colônias azul/violeta indicam a presença de *E.coli*. A soma das colônias vermelhas e azuis representa o número total do grupo coliformes.

Figura 6 Perfil da curva de dissociação positiva (A) e negativa (B) para *Salmonella* apresentada pelo teste BAX® System da DuPont Qualicon.

4.4 ANÁLISES QUÍMICAS

4.4.1 AMOSTRAGEM, PREPARO E CONSERVAÇÃO

Os mesmos 3 peixes utilizados para avaliações microbiológicas foram posteriormente preparados para as análises químicas. De cada peixe amostrou-se o outro filé, a pele foi retirada e o filé sem pele foi cortado em pedaços pequenos, que foram misturados e acondicionados em sacos plásticos estéreis.

Após feita a coleta da amostra, fez-se o extrato desproteínizado que foi mantido sob refrigeração até o momento das análises.

4.4.2 EXTRATO DESPROTEINIZADO

Após a amostragem, pesou-se 5,0 g do músculo em tubo falcon de 50 ml, adicionou-se 30 ml de TCA 5% e a homogeneização foi realizada utilizando-se um extrator Ultra-Turrax por aproximadamente 1 minuto. Terminada a homogeneização, o tubo permaneceu em repouso por 30 minutos para que houvesse a precipitação das proteínas e então filtrou-se o precipitado em papel filtro, adicionando TCA 5% até completar 50 ml no balão volumétrico. Transferiu-se o extrato para o tubo falcon identificado e o mesmo foi acondicionado sob refrigeração para futura utilização. Tal extrato foi utilizado nas determinações seguintes.

4.4.3 DETERMINAÇÃO DE BASES VOLÁTEIS (BNV)

Seguiu-se o método de Howgate, (1976), o qual permite determinar o teor de substâncias básicas voláteis, geralmente amônia e aminas de cadeia curta, como dimetilamina e trimetilamina, que se acumulam nos músculos dos pescados após a morte. Após alcalinizar e destilar o extrato desproteínizado em TCA 5% ocorre a recuperação das BNVs em forma de amônia. Em seguida, uma titulação com HCl padronizado permitiu a quantificação das BNV.

4.4.4 DETERMINAÇÃO DE TRIMETILAMINA (TMA)

Foi analisada colorimetricamente como picrato de TMA pelo método de Dyer (1945), modificado por Murray e Gibson (1972).

4.4.5 DETERMINAÇÃO DE URÉIA

A uréia foi determinada pelo método colorimétrico com diacetil monoxima, originando uma diazina púrpura com absorbância máxima a 545nm. A análise é baseada no KIT UREA NITROGEN Cat. N°535 da Sigma Chemical company.

4.4.6 DETERMINAÇÃO DE TRIPTOFANO LIVRE

Seguiu-se o método descrito por Contreras e Lapa Guimarães (1989) para determinação rápida de triptofano por reação com antrona. Neste método, o aminoácido triptofano é determinado colorimetricamente após reação com antrona em ambiente ácido, na presença de Fe^{+2} e Fe^{+3} . O complexo colorido formado absorve fortemente a 545nm e é estável por várias horas.

4.5 AQUISIÇÃO DAS IMAGENS

Os peixes foram fotografados nos dias das análises, utilizando-se uma câmera Canon EOS Rebel sob luz de tungstênio. Além do aspecto geral dos peixes foram feitas imagens de detalhes das brânquias, olhos, nadadeira caudal e abdome. As imagens foram reunidas em uma prancha fotográfica para caracterização da espécie nos diversos estágios de frescor.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

De acordo com Gacula; Sing (1984) as regressões linear simples, quadrática e exponencial são os modelos estatísticos mais usados em estudos de vida de prateleira, quando se quer relacionar a taxa de perda de qualidade de um produto em função do tempo de armazenamento e estimar a vida útil do produto. Assim, modelos estatísticos (linear, exponencial e quadrático) foram testados para representar as variações ocorridas em alguns parâmetros examinados em função do período de armazenamento, sendo sua adequação aos dados avaliada pelo nível de significância e Índice de Determinação (R^2). A inter-relação entre os diversos parâmetros avaliados em pescada amarela foram avaliados por análise de correlação de Pearson e Análise de Componentes Principais (ACP). Os programas utilizados foram Excel (Copyright ©2007 Microsoft Corporation) e Statistica 9 for Windows (Microsoft Corporation – StatSoft, Inc. 1984-2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DAS AMOSTRAS

A relação entre comprimento padrão (cm) e peso total (g) das pescadas amarelas está apresentada na **Figura 7**. O comprimento padrão (CP) variou desde 26cm até 46cm com média de 31cm e o peso total (PT) desde 259g até 586g com média de 381g. Considerando a informação de Chao⁴ (1978) apud FISHBASE (2011) de que 45cm de comprimento total é o tamanho comum para pescada amarela verifica-se que os exemplares utilizados neste estudo apresentavam tamanho médio relativamente menor que o tamanho comum capturado. Foi obtida uma regressão linear significativa ($p < 0,01$) entre CP e PT com coeficiente de determinação $R^2 = 0,594$.

⁴ CHAO, L. N. **A basis for classifying western Atlantic Sciaenidae (Teleostei:perciformes)**. NOAA Technical Report NMFS Circular 415, 1978

Figura 7 - Relação entre comprimento padrão (CP) e peso total (PT) das pescadas amarelas coletadas em 3 lotes.

5.2 ALTERAÇÕES DURANTE O ARMAZENAMENTO E AVALIAÇÃO DE ÍNDICES DE FRESCOR

5.2.1 DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ

Após o período de treinamento, ocorrido durante o armazenamento dos lotes 1 e 2, o protocolo MIQ (**Quadro 3**) foi desenvolvido e utilizado pela equipe para avaliação dos lotes seguintes. O protocolo foi elaborado com 14 parâmetros para avaliação da qualidade da pescada amarela mantida em gelo. Os parâmetros foram pontuados de 0 a 1 ou de 0 a 2, dependendo da característica a ser avaliada. A soma dos escores do protocolo totalizou 23 pontos de demérito, sendo 6 pontos relativos ao aspecto geral, 5 aos olhos, 5 às brânquias, 2 ao abdome, 1 ao rim e 4 à

musculatura. O protocolo para pescada amarela possui parâmetros semelhantes ao elaborado por Teixeira et al., (2009) para corvina (*Micropogonias furnieri*), onde avaliaram 11 parâmetros, totalizando 22 pontos de demérito.

A soma dos escores atribuídos a cada característica sensorial em cada dia de estocagem permitiu a construção das curvas de calibração apresentadas na **Figura 8**, na qual podem ser observados os resultados dos dois peixes avaliados em cada dia da análise sensorial. Considerando a média dos dois peixes avaliados, no primeiro dia de armazenamento (dia 2) do lote 3 a pescada amarela obteve IQ = 1,29, chegando ao final do armazenamento (dia 16) com IQ = 21,88. No lote 4 apresentou no primeiro dia (dia 1) IQ = 0,2 e IQ = 23 no último dia de armazenamento (dia 19). As relações entre Índice de Qualidade e tempo de armazenamento nos lotes 3 e 4 foram lineares, e apresentaram valores de $R^2 > 0,97$ e $p < 0,01$. Os resultados obtidos indicam que a pescada amarela parcialmente eviscerada em elevado estado de frescor (com 0 a 3 dias de armazenamento em gelo) deve apresentar valor de IQ entre 0 a 3, com 5 a 10 dias devem apresentar IQ de 5 a 13 e com mais de 14 dias IQ superior a 19.

Quadro 3 - Protocolo do Índice de Qualidade (MIQ) desenvolvido para avaliação de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) parcialmente evisceradas e estocadas em gelo.

PARÂMETROS		CARACTERÍSTICAS	ESCORE	OBSERVAÇÃO
ASPECTO GERAL	COLORAÇÃO AMARELADA	Cor intensa, viva.	0 ()	
		Descorada.	1 ()	
		Opaca.	2 ()	
	BRILHO	Intenso.	0 ()	
		Pouco brilho.	1 ()	
		Opaco.	2 ()	
	ESCAMAS	Aderidas.	0 ()	
		Pouco aderidas.	1 ()	
		Soltas.	2 ()	
OLHOS	FORMA	Planos.	0 ()	
		Côncavos.	1 ()	
	PUPILA	Bem delineadas.	0 ()	
		Perda parcial do delineamento.	1 ()	
		Disforme.	2 ()	
	TRANSPARÊNCIA	Límpidos.	0 ()	
		Ligeiramente opacos.	1 ()	
Opacos, amarelados.		2 ()		
BRÂNQUIAS	COR	Vermelho vivo à vermelho escuro.	0 ()	
		Laranja, tendendo ao marrom.	1 ()	
		Marrom escuro.	2 ()	
	ODOR	Odor metálico.	0 ()	
		Odor de ranço e amônia.	1 ()	
	MUCO	Pouco muco.	0 ()	
		Muco consistente.	1 ()	
Muito muco.		2 ()		
ABDOME	MEMBRANA PERITONEAL	Aderida, firme, cintilante.	0 ()	
		Íntegra, frágil, esbranquiçada.	1 ()	
		Desprendendo, esbranquiçada, opaca.	2 ()	
RIM	COR	Vermelho escuro.	0 ()	
		Descorado.	1 ()	
MUSCULATURA	COR	Rosada.	0 ()	
		Rosada, descorada nas extremidades.	1 ()	
		Opaca, com manchas.	2 ()	
	FIRMEZA	Músculo firme.	0 ()	
		Músculo flácido.	1 ()	
	VASOS SANGUÍNEOS	Visíveis.	0 ()	
		Não visíveis.	1 ()	
ÍNDICE DE QUALIDADE (IQ)

Figura 8 - Variações no índice de qualidade (IQ) dos lotes 3 e 4 de pescadas amarelas parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo.

A soma dos escores atribuídos a cada parâmetro separadamente durante os dias de estocagem permitiu a construção das curvas apresentadas nas **Figuras 9 e 10**. Nos gráficos é possível observar a evolução de cada atributo de qualidade. Algumas características sensoriais apresentaram variação desde o início do armazenamento, como o aspecto geral, transparência dos olhos, muco e cor das brânquias e coloração da musculatura, enquanto outras características variaram mais tarde, após o 5º ou 6º dia, como a forma dos olhos e delineamento da pupila. As mudanças citadas foram constatadas no lote 3 e se confirmaram no lote 4. O atributo “aspecto geral” demonstrou uma perda evidenciada da coloração amarela, brilho e escamas desde o primeiro dia de avaliação, atingindo o escore máximo no dia 16 para o lote 3 e no dia 15 para o lote 4.

Figura 9 - Representação dos pontos de demérito atribuídos a característica sensorial de cada parâmetro estudado das pescadas amarelas do lote 3.

Figura 10 - Representação dos pontos de demérito atribuídos a característica sensorial de cada parâmetro estudado das pescadas amarelas do lote 4.

No lote 3, o atributo “olhos” apresentou alteração branda no delineamento da pupila e transparência do globo ocular do 1º ao 6º dia de estocagem, evoluindo mais acentuadamente até o 16º dia, quando recebeu 2 pontos de demérito. A forma dos olhos não recebeu pontuação até o término da estocagem. No lote 4, o parâmetro “transparência” se alterou constantemente até o 8º dia, mantendo-se estável até o 15º dia, quando então voltou a evoluir até o 19º dia, recebendo 2 pontos de deméritos no 19º dia de estocagem. A forma dos olhos iniciou sua alteração no 5º dia, mantendo-se estável novamente do 15º ao 19º dia, não alcançando a pontuação máxima. O delineamento da pupila iniciou suas alterações no 8º dia e recebeu o escore máximo no 19º dia de estocagem.

No lote 3, o parâmetro “brânquias” iniciou alterações na cor, odor e muco desde o 2º dia de armazenamento em gelo. A cor e o muco se alteraram constantemente até receberem 2 pontos de demérito no 16º dia de armazenamento. O odor se alterou até o 9º dia mantendo-se estável até o 16º dia, não recebendo a pontuação máxima até o final da estocagem. No lote 4, a cor e o muco das brânquias se alteraram de forma constante até o 15º dia, quando receberam o escore máximo. O odor iniciou sua alteração no 5º dia e elevou sua pontuação até o 8º dia, mantendo-se estável e não recebendo o escore máximo até o fim do armazenamento.

O abdome apresentou sucinta alteração do 2º ao 6º dia no lote 3, quando então a membrana peritoneal se modificou constantemente até receber 2 pontos de demérito no 13º. Já no lote 4 foi constatada alteração desde o 1º dia de armazenamento, evoluindo progressivamente até o 15º dia, quando recebeu 2 pontos de demérito. Segundo os avaliadores, o rim sofreu alteração constante e progressiva do 6º ao 16º dia de avaliação do lote 3, porém não recebeu o ponto máximo de demérito até o término da estocagem. Durante a avaliação do lote 4, os pontos de deméritos dados pelos avaliadores alternaram-se de 0 à 1 até o 15º dia, permanecendo constante até 19º dia.

Em relação ao parâmetro “cor” da musculatura, a alteração constatada pelos avaliadores foi progressiva do 2º ao 16º dia de armazenamento do lote 3, se aproximando da pontuação máxima ao término do armazenamento. Alterações nos parâmetros “firmeza” e “vasos sanguíneos” foram notadas a partir do 6º e 9º dia respectivamente, permanecendo praticamente sem alterações até o 16º dia. No lote

4 os avaliadores notaram alterações nos 3 parâmetros desde o início do armazenamento, porém constataram-se alterações mais aparentes no parâmetro cor, assim como no lote 3. A cor se alterou progressivamente até o 5º dia, manteve-se inalterada até o 8º e recebeu o escore máximo no 15º dia. O parâmetro “firmeza” apresentou o mesmo comportamento da cor até o 8º dia, mantendo-se sem alteração até o término da estocagem, não alcançando o ponto máximo de demérito. Alterações nos vasos sanguíneos foram constatadas desde o início do armazenamento, porém não de forma progressiva até o 15º dia. Esse parâmetro também não recebeu a maior pontuação de demérito ao final da estocagem.

Algumas destas variações podem ser constatadas pelas imagens da **Figura 11**, que retratam a modificação na característica sensorial de determinadas partes da pescada amarela após 1, 8 e 16 dias de armazenamento em gelo.

Baixas-Nogueras et al. (2003), desenvolveram o protocolo MIQ para *Merluccius merluccius* onde utilizaram 8 parâmetros para avaliação da qualidade, totalizando, 19 pontos de demérito. O limite de aceitabilidade para consumo foi determinado entre o 8º e 10º dia, quando a somatória dos pontos se aproximou de 12,35, 65% da pontuação máxima. No protocolo MIQ para a espécie *Paralichthys patagonicus*, são avaliados 12 parâmetros que poderiam somar, no máximo, 32 pontos. No momento de sua rejeição (7º dia) 18 pontos de demérito foram totalizados, 56,2% da pontuação máxima possível (MASSA et al., 2005). Lyhs e Schelvis – Smit (2005), avaliando arenques embalados com atmosfera modificada, utilizaram 9 parâmetros para o desenvolvimento do protocolo MIQ que somariam 25 pontos. Bonilla; Sveinsdottir; Martinsdotti, (2007) desenvolveram o protocolo para filés de *Gadus morhua*, baseando-se em 8 parâmetros para avaliação da qualidade. No 8º dia de armazenamento o IQ máximo foi alcançado, totalizando 18 pontos de demérito no momento de sua rejeição. Vaz Pires e Seixas, (2006) elaboraram o protocolo para *Sepia officinalis* e *Illex coindetti*; para a primeira espécie, basearam-se em 8 parâmetros, finalizando com 17 pontos de demérito no décimo dia de armazenamento, momento de sua rejeição. Já para a segunda espécie estudada, utilizaram 9 parâmetros para avaliar sua qualidade, finalizando com 16 pontos de demérito no nono dia, considerado inaceitável para consumo. Ambas as espécies atingiram a pontuação máxima no momento de rejeição sensorial. Pons-Sánchez-Cascado et al. (2006) desenvolveram o protocolo MIQ para *Engraulis encrasicolus*

in natura e cozido avaliando dez parâmetros, e determinaram o limite de aceitabilidade após cinco dias de estocagem em gelo. Teixeira et al., (2009) elaboraram o protocolo para *Micropogonias furnieri* utilizando 11 parâmetros, e encontraram a pontuação máxima (22 pontos de demérito) no 14º dia de estocagem, considerado como limite para seu consumo seguro; Sykes et al, (2009) para o desenvolvimento do protocolo para a espécie *Sepia officinalis*, utilizaram 13 parâmetros e estimaram 8 dias como período máximo para armazenamento em gelo.

Figura 11 - Aparência da pescada amarela após 1, 8 e 16 dias de armazenamento em gelo.

5.2.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

5.2.2.1 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE PSICOTRÓFICOS

No lote 1 as contagens iniciais de psicrotróficos variaram de 10^2 a 10^3 ufc/g , enquanto que nos lotes 3 e 4 foi maior, com contagens variando entre 10^4 e 10^5 (**Figura 12**). Verificou-se que nesses lotes, a contagem foi maior durante todo período de armazenamento. No lote 2, devido a um erro de estimativa das contagens, foram feitas diluições inadequadas, não sendo possível obter os resultados de microorganismos psicrotróficos. Equações exponenciais se mostraram estatisticamente adequadas para representar as variações ocorridas neste parâmetro, como indicam os coeficientes de determinação (R^2) e valores de significância (p) obtidos.

Figura 12 - Variação nas contagens de microrganismos psicrotróficos totais em pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) dos lotes 1, 3 e 4, durante o armazenamento em gelo. Estão apresentadas as equações e coeficientes de determinação de cada modelo.

Esses resultados estão de acordo com Labuza (1982), que relata que o crescimento microbiano em carne fresca é um tipo de deterioração que segue uma cinética de 1º ordem. Embora a ANVISA (BRASIL, 2001) não estabeleça limites para microorganismos psicrotróficos, níveis elevados podem reduzir a vida útil do pescado (KIRSCHNIK; VIEGAS, 2004) e até mesmo representar um risco para saúde do consumidor. O limite seguro máximo aceitável para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas na superfície muscular do pescado de 10^7 ufc/g é adotado conforme padrões internacionais (ICMSF, 1986). Considerando o limite de 10^7 ufc/g e utilizando os modelos matemáticos ajustados, verificou-se que no lote 1 as contagens atingiram 10^7 ufc/g no 14º dia de armazenamento em gelo, enquanto nos lotes 3 e 4, que apresentaram maior contaminação inicial, este limite foi alcançado entre o 6º e 7º dia e entre o 7º e 8º dia, respectivamente. Esses resultados indicam que a vida útil da pescada amarela eviscerada e estocada em gelo em termos de segurança microbiológica, varia entre 1 e 2 semanas, e é altamente dependente da contaminação inicial. As contagens iniciais encontradas no lote 1 concordam com as contagens iniciais encontradas por Borges (2007), em seu estudo sobre a qualidade da corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada e inteira em diferentes períodos de estocagem à temperatura de 0°C, onde observou valores médios de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas nas amostras de músculo e pele variando entre $1,0 \times 10^2$ à $4,2 \times 10^9$ ufc/g e $1,0 \times 10^2$ à $9,8 \times 10^{10}$ ufc/g respectivamente, ultrapassando o limite de 10^7 ufc/g apenas no 23º dia de estocagem. Andrade (2006), avaliando o prazo de vida comercial do atum com pele (*Thunnus atlanticus*) armazenado sob refrigeração durante 15 dias, encontrou valores médios das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas, variando entre 9 à 17 log ufc/g, estando as três amostras analisadas fora do limite estabelecido (10^7 ufc/g) desde o princípio do armazenamento. Assim como ocorreu nos lotes 3 e 4, o limite estabelecido pela ICMSF (1986) foi alcançado antes que as características sensoriais fossem gravemente afetadas. Tal fato pode ser explicado pela elevada contaminação inicial do peixe que exerce forte influência na evolução bacteriana ao longo da estocagem.

5.2.2.2 ANÁLISE DE COLIFORMES E *Escherichia coli*

A variação da contagem de coliformes totais em função do tempo de armazenamento em gelo da pescada amarela se mostrou significativa ($p < 0,01$) apenas para o lote 1 (**Figura 13**), no qual as contagens variaram de $1,3 \times 10^3$ até $3,3 \times 10^5$ ufc g⁻¹, e foi bem representada por equação exponencial.

Figura 13 - Variação nas contagens de coliformes totais em pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo. Está apresentada a equação e coeficiente de determinação do modelo ajustado para o lote 1.

E. coli foi encontrada em 6 (28,5%) amostras do lote 1, em 3 (16,6%) amostras do lote 2, em 4 (30,7%) amostras do lote 3 e em 1 (5,5%) amostra do lote 4; com contagens variando entre 9×10^{-1} a 10^3 . *E. coli* foi isolada no 14º, 17º e 21º dia de armazenamento do lote 1; no 1º e 6º dia do lote 2; no 6º e 9º dia do lote 3 e no 8º dia do lote 4. Esses resultados indicam que a presença de *E. coli* não está relacionada ao tempo de armazenamento. A ocorrência e proliferação desse grupo de microrganismos geralmente estão associadas às práticas inadequadas de manipulação no ambiente de captura, embarcação, armazenamento e/ou refrigeração insuficiente. Embora a legislação brasileira não especifique limites para coliformes de origem fecal (termotolerantes ou coliformes a 45°C) para a categoria

de pescado resfriado não consumido cru, considera-se a similaridade da natureza e do processamento do produto, como base para seu enquadramento nos padrões estabelecidos para um produto similar, sendo assim utiliza-se o limite de 10^2 ufc g⁻¹, utilizado para todos os outros produtos derivados de pescado (BRASIL, 2001). Apenas nos lotes 1, após 21 dias de armazenamento e no lote 3, após 6 e 9 dias de armazenamento em gelo foram encontradas contagens de *E. coli* em níveis superiores a 10^2 ufc/g. Os resultados obtidos indicaram que 9,5% dos peixes do lote 1 e 15,25% dos peixes do lote 3 atingiram condições sanitárias insatisfatórias durante o armazenamento em gelo, se tornando impróprios para o consumo humano por apresentar resultados analíticos acima dos limites estabelecidos para amostra indicativa conforme especificado na legislação para produtos similares (BRASIL, 2001). Os coliformes fecais são indicadores específicos e apresentam elevada correlação positiva com a contaminação fecal por animais de sangue quente. Algumas desvantagens são apontadas quanto ao uso dos coliformes como indicadores de poluição fecal em ambientes hídricos, devido à sua baixa tolerância à toxicidade da água do mar ou salgada, bem como ao procedimento de cloração, em relação a alguns patógenos resistentes (PÁDUA, 2003).

5.2.2.3 ANÁLISE DE *Staphylococcus aureus*

Observou-se ausência de *Staphylococcus aureus* em 100% das pescadas amarelas analisadas. A legislação brasileira em vigor limita em 10^3 ufc/g o número de *Staphylococcus* coagulase positiva/g do pescado (BRASIL, 2001). Dessa maneira todos os peixes encontravam-se dentro dos padrões definidos pela legislação atual.

5.2.2.4 ANÁLISE DE *Salmonella*

No Brasil, a Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamenta que o pescado “in natura”, resfriado ou congelado e que não será consumido cru, deve apresentar ausência de *Salmonella* sp em 25g; a legislação internacional, estabelecida pela ICMSF, também estabelece o mesmo padrão. Na **Tabela 3**, pode se verificar que no presente estudo

92,6% dos peixes estavam em concordância com os padrões oficiais, também se observa a presença dos patógenos apenas em 2 amostras nos lotes 1 e 2.

Tabela 3 - Resultados da análise de *Salmonella sp* em pescadas amarelas (*Cynoscion acoupa*) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo.

Lote	Armazenamento em gelo (dias)																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1		☑	☑	☑			☒			☑				☑			☑				☑	
2	☑	☑				☑		☑					☑			☒	☑					
3		☑				☑			☑				☑			☑				☑		
4	☑				☑			☑							☑				☑			☑

☒ Símbolo que indica presença de *Salmonella sp*.
 ☑ Símbolo que indica ausência de *Salmonella sp*.

5.2.3 ANÁLISES QUÍMICAS

5.2.3.1 ANÁLISE DE BASES NITROGENADAS VOLÁTEIS (BNV)

Os valores iniciais de BNV em pescada amarela apresentaram grande variação, desde 6,94mg/100g no lote 2 até 25,98mg/100g no lote 4. Geralmente valores inferiores a 20mg de BNV/100g são determinados em peixes marinhos frescos. Debevere e Boskou (1996) detectaram ao redor 8mg de BNV/100g de bacalhau (*Gadus morhua*) e em merluza (*M. merluccius*) foram determinados 10,92mg de BNV por 100g de músculo (RUIZ CAPILAS; MORAL, 2001).

Na **Figura 14** observa-se a variação nos teores de BNV nos quatro lotes de pescada amarela. Todos os lotes apresentaram tendência de aumento dos valores de BNV ao final do armazenamento, bem representados por modelos de equações quadráticas nos lotes 1, 2 e 3 e por equação exponencial no lote 4. Os valores finais de BNV variaram de 23,8mg BNV/100g no lote 1 à 159mg BNV/100g no lote 4.

A maioria dos estudos publicados relata um aumento dos teores de BNV durante o armazenamento de peixes em gelo. Tomita et al. (2006) avaliaram a

qualidade físico química de pescado marinho refrigerado e os valores de BNV encontrados oscilaram entre 10,16 e 42,01mg N/100g de pescado. Dhananjaya e Stroud (1994) relataram que o aumento de BNV foi progressivo durante o armazenamento de hadoque (*M. aeglefinus*). Ao contrário, Hernández-Herrero et al. (2002) não observaram diferenças significativas nos teores de BNV durante o armazenamento de bacalhau por 9 dias em gelo.

Figura 14 - Variação nos teores de bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo. Estão apresentadas as equações e coeficientes de determinação de cada modelo.

Os baixos teores de BNV encontrados nas pescadas amarelas do lote 1 podem estar correlacionados com a baixa contagem de microorganismos psicotróficos encontrados nos primeiros dias de armazenamento desse lote (10^3 ufc/g no dia 2). Verifica-se que mesmo após o final do experimento, dia 21 no lote 1 e dia 16 no lote 2, não foi atingido o valor limite de 30mg/100g especificado na legislação como limite para consumo. Para a corvina (*Micropogonias furnieri*), espécie de peixe marinho também da família *Sciaenidae*, Borges et al., (2007) relataram que os teores de Bases Voláteis Totais variaram de 10,1 a 56,7 (mg N/100g) do 1º até o 28º dia de armazenamento em gelo e que os valores se mantiveram dentro dos valores estipulados como próprios para o consumo até o 21º

dia de estocagem. Esse último resultado se equipara com o resultado encontrado no para os lotes 1 e 2 de pescada amarela. Nos últimos dois lotes ocorreu uma produção bastante intensa de BNV ao final da estocagem e observou-se uma grande dispersão dos valores entre os peixes amostrados no mesmo período de armazenamento. Nestes lotes foram observados valores mais elevados de BNV desde o 1º dia de armazenamento, provavelmente relacionados à alta contagem de microorganismos psicrotróficos ($3,2 \times 10^5$ ufc/g no dia 2 e 1×10^5 no dia 1, nos lotes 3 e 4 respectivamente).

Utilizando os modelos matemáticos ajustados, verifica-se que no lote 4, o nível de 30mg BNV/100g foi atingido entre o 3º e 4º dia e no lote 3 esse valor foi alcançado no 9º dia de armazenamento em gelo. Esses resultados mostram que a produção de BNV é extremamente dependente da carga microbiana inicial do pescado. Considerando o período de armazenamento em que foi atingido o limite seguro máximo aceitável de 10^7 ufc/g para a contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas na superfície muscular nas pescadas amarelas dos lotes 3 e 4, verifica-se que os valores de BNV eram de aproximadamente 20 e 40mg/100g. O valor limite de 30mg de BNV/100g estabelecido pela legislação brasileira é inferior ao recomendado pela Comunidade Européia e pode ser considerado adequado para a espécie *Cynoscion acoupa*, no entanto, devido à grande dispersão de valores permanece a dificuldade para estabelecer BNV como um índice químico de frescor eficiente para estimar o tempo de captura de pescada.

5.2.3.2 ANÁLISE DE TRIMETILAMINA (TMA)

Em pescadas amarelas recém capturadas foram encontrados valores de TMA variando de 0,50mg/100g (lote 3) a 0,96mg/100g (lote 2), típicos de peixes marinhos frescos. Debevere e Boskou (1996) detectaram 1mg de TMA por 100g de *G. morhua*. Fernandez-Salguero e Mackie (1987) detectaram 0,45mg de TMA/100g em *M. aeglefinus*. Em merluza (*M. merluccius*) foram determinados 0,29mg de TMA/100g de músculo (RUIZ CAPILAS; MORAL, 2001). Evangelista; Ogawa; Ogawa, (2000), avaliando peixes marinhos recém desembarcados, encontraram níveis de TMA também semelhantes aos encontrados nesse estudo, sendo $0,38 \pm 0,33$ mg/100g para o bagre branco (*Trachysurus upsulonophorus*); $0,30 \pm 0,25$ para ariacó

(*Lutjanus synagris*); $0,30 \pm 0,19$ para cioba (*Lutjanus analis*); $0,38 \pm 0,26$ para guaiúba (*Ocyurus chrysurus*); $0,56 \pm 0,27$ para pargo (*Lutjanus purpureus*); $0,31 \pm 0,26$ para pirá (*Malacanthus plumieri*); $0,39 \pm 0,36$ para piraúna (*Cephalopholis fulvus*) e $0,48 \pm 0,46$ para mariquita (*Holocentrus ascensionis*).

Na **Figura 15** estão representadas as variações de trimetilamina (TMA) de pescada amarela dos quatro lotes ao longo do armazenamento em gelo. Todos os lotes apresentaram aumento no teor de TMA ao final do período de armazenamento, sendo atingido o valor máximo de 15,44mg/100g no lote 2. Estes valores são semelhantes aos relatados por Sales, Azevedo e Monteiro (1999) em estudo sobre avaliação da qualidade do pescado armazenado em gelo durante 16 dias. Tais autores encontraram teores de TMA variando de 0,15mg a 13,25mg/100g para o pargo (*Lutjanus purpureus*), de 0,17mg/100g a 14,05mg/100mg para cioba (*Lutjanus analis*), de 0,18mg/100g a 15,72mg/100g para biquara (*Haemulum plumieri*) e de 0,19mg/100g a 16,82mg/100g para cangulo (*Balistes vetula*).

Figura 15 - Variação nos teores de trimetilamina (TMA) dos 4 lotes de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) parcialmente evisceradas e estocadas em gelo. Estão apresentadas as equações e coeficientes de determinação de cada modelo.

Os teores de TMA nos lotes 1 e 3 se elevaram constantemente desde o primeiro dia de estocagem, e foram bem representadas por equações lineares. Nos

lotes 2 e 4 os conteúdos de TMA se mantiveram mais baixos até aproximadamente o 7º dia de armazenamento, quando ocorreu um rápido aumento, chegando ao final da estocagem com teores mais elevados quando comparados aos teores finais dos outros dois experimentos. A Comunidade Européia (EC) estabelece valor limite de 12mg de TMA por 100g de músculo de peixes na diretiva 91/493/EEC (RUIZ CAPILAS; MORAL, 2001). O limite estabelecido pela legislação brasileira (artigo 443 do decreto 30691 de 1952) é bem menor, pois recomenda que o pescado fresco deve conter bases voláteis terciárias inferiores a 4mg/100g de músculo (BRASIL, 1952), o que corresponde ao valor máximo permitido para TMA.

Equações quadráticas representaram adequadamente as variações de TMA em pescadas amarelas dos lotes 2 e 4. Utilizando os modelos matemáticos ajustados, verifica-se que nos lotes 1 e 3, o nível de 4mg TMA/ 100g foi atingido entre o 8º e 10º dia de armazenamento em gelo. Nos lotes 2 e 4 este limite foi atingido após 12 e 16 dias de armazenamento, respectivamente. Apesar da baixa contagem de microorganismos psicrotróficos encontrados no início do armazenamento no lote 1, foi neste lote que os valores de TMA foram os mais altos durante a primeira semana de armazenamento. Uma possível explicação para isso é o fato de que a TMA é produzida por microorganismos capazes de reduzir o O-TMA que poderiam representar uma % maior dos psicrotróficos neste lote de pescada amarela.

Fernández-Salguero e Mackie (1987) observaram um aumento progressivo de TMA em hadoque inteiro e em filés armazenados em gelo e concluíram que este composto é útil como índice de frescor. Hernández-Herrero et al. (2002) observaram que os teores de TMA aumentaram em bacalhau após o terceiro dia e concluíram que TMA poderia ser útil apenas como indicador do processo de putrefação. No presente estudo, onde a alteração da concentração de TMA foi avaliada em quatro lotes diferentes de pescada amarela verificou-se que a intensidade de produção de TMA pode ser variável para a mesma espécie.

5.2.3.3 ANÁLISE DE TRIPTOFANO LIVRE

O teor de triptofano dos 4 lotes de pescada amarela armazenadas em gelo variou de 0,14mg/100g a 8,47mg/100g. A formação de triptofano nos lotes 1 e 4

seguiu a mesma tendência, representada por equações quadráticas que se ajustaram significativamente à variação de triptofano ao tempo de armazenamento (**Figura 16**).

Os valores médios iniciais encontrados foram 1,4mg/100g e 2,3mg/100g, respectivamente, para os lotes 1 e 4. O lote 2 apresentou pequena variação ao longo do armazenamento em relação aos demais, tendo sido encontrado o mínimo de 3,52 mg/100g e máximo de 7,89mg/100g. Esta variação não foi considerada significativa, não possibilitando o ajuste de modelo matemático representativo. No lote 3, onde os peixes iniciaram o armazenamento contendo em média 3,6mg/100g e chegaram ao final da estocagem com níveis médios de 1mg/100g, houve uma tendência de diminuição de triptofano que foi representada por uma equação quadrática ($p < 0,05$), mas que, no entanto apresentou índice de determinação (R^2) muito baixo (0,2721). Triptofano não se mostrou confiável para ser utilizado como índice de frescor para pescada amarela em gelo, pois não apresentou tendência constante de diminuição ou aumento progressivo durante o período de armazenamento para os 4 lotes estudados, diferentemente dos resultados encontrados por Lapa - Guimarães; Felício; Contreras, (2005) para invertebrados marinhos.

Figura 16 - Variação nos teores de triptofano livre em pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo. Estão apresentadas as equações e coeficientes de determinação de cada modelo.

5.2.3.4 ANÁLISE DE URÉIA

A **Figura 17** representa a variação nos teores de uréia em pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) nos 4 lotes, durante o armazenamento em gelo. Os lotes 2, 3 e 4 apresentaram menores níveis iniciais de uréia, variando de 0,62mg/100g no lote 3 a 2,7mg/100g no lote 4, enquanto que o lote 1 variou de 2,22mg/100g a 12,27mg/100g. Ao longo do período de armazenamento o teor desse composto variou entre 0,11mg e 36,74mg/100g nos diversos lotes de pescada amarela. Houve reduções nos lotes 1 e 3, representadas por equações quadráticas e exponencial respectivamente. No lote 4 houve flutuação dos valores ao longo do armazenamento, não sendo possível o ajuste de nenhum modelo matemático representativo das variações. Diferentemente dos demais, os peixes do lote 2, apesar de reduzido teor inicial, apresentaram aumento constante até 6º dia aproximadamente, quando atingiram nível máximo de 36,74mg/100g voltando a reduzir até 11,04mg/100g no 16º dia, final do armazenamento. Tais resultados não permitem que a uréia seja considerada um bom índice de frescor para pescada amarela, uma vez que a variação desse composto não apresentou tendência regular de produção ou perda significativa em dois dos quatro lotes, como demonstram as respectivas equações apresentadas na **Figura 17**.

Figura 17 - Variação nos teores de uréia em 4 lotes de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*), parcialmente evisceradas e estocadas em gelo.

5.3 CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISES SENSORIAL, MICROBIOLÓGICAS E QUÍMICAS

Quando o objetivo é estudar a força da relação entre duas variáveis aleatórias deve ser efetuada uma análise de correlação. O coeficiente de correlação (r) é uma medida da proximidade da relação à forma de uma linha reta, de modo que um r baixo indica uma falta de relação linear, mas não significa a inexistência de uma relação de outro tipo, ou seja, não-linear. Por outro lado, um alto coeficiente de correlação não significa necessariamente uma relação causal entre duas variáveis, pois uma terceira variável pode estar causando a correlação observada, que neste caso é a chamada correlação espúria. Determinar se uma correlação observada é verdadeira ou espúria depende mais de bom senso que da aplicação de estatística (LAPA-GUIMARÃES, 1999).

Nas **Tabelas 4 e 5** podem ser observados os coeficientes de correlação entre os diversos parâmetros observados em pescadas amarelas dos lotes 3 e 4 e os respectivos valores de p . O IQ, obtido através do protocolo MIQ, foi o parâmetro que apresentou maior número de correlações significativas com outros parâmetros. No lote 3 foram detectadas correlações lineares positivas entre IQ e psicrotróficos, IQ e BNV, e IQ e TMA. As correlações de IQ com BNV e TMA também foram observadas no lote 4. TMA esteve positivamente correlacionada com a contagem de psicrotróficos nos dois lotes. BNV e psicrotróficos apresentaram correlação com $r > 0,7$ nos dois lotes, porém a correlação foi significativa apenas no lote 3. Tais correlações demonstram que o aumento da contaminação microbiana leva ao aumento dos teores de BNV e TMA e que concomitantemente ocorre perda de qualidade sensorial.

Triptofano não apresentou correlação com qualquer dos outros parâmetros no lote 3 e o mesmo ocorreu com uréia no lote 4. As correlações entre uréia e outros parâmetros no lote 3 e entre triptofano e outros parâmetros no lote 4 são exemplos de correções espúrias, uma vez que o aumento ou diminuição dos conteúdos destes compostos não foi regular em pescada amarela, indicando não estar relacionada a perda da qualidade.

Tabela 4 - Coeficientes de correlação e níveis de p determinados entre os resultados das avaliações sensorial, microbiológicas e químicas das pescadas amarelas (*Cynoscion acoupa*) parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo, lote 3 .

	IQ	Coliformes	Psicrotróficos	BNV	TMA	Triptofano	Uréia
IQ	1,0000 p= ---						
Coliformes	-0,5658 p=0,320	1,0000 p= ---					
Psicrotróficos	0,9772 p=,004	-0,4390 p=0,460	1,0000 p= ---				
BNV	0,8930 p=0,041	-0,2154 p=0,728	0,9276 p=0,023	1,0000 p= ---			
TMA	0,8972 p=0,039	-0,8608 p=0,061	0,8098 p=0,097	0,6753 p=0,211	1,0000 p= ---		
Triptofano	-0,6649 p=0,221	0,4062 p=0,497	-0,5336 p=0,354	-0,4723 p=0,422	-0,6177 p=0,267	1,0000 p= ---	
Uréia	-0,9335 p=0,020	0,6701 p=0,216	-0,8436 p=0,072	-0,7203 p=0,170	-0,9105 p=0,032	0,8606 p=0,061	1,0000 p= ---

Correlações significativas a $p < 0,05$ e correspondentes níveis de p estão grafados em negrito e vermelho

Correlações significativas a $p < 0,1$ e correspondentes níveis de p estão grafados em negrito

Tabela 5 - Coeficientes de correlação e níveis de p determinados entre os resultados das avaliações sensorial, microbiológicas e químicas das pescadas amarelas (*Cynoscion acoupa*) parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo, lote 4 .

	IQ	Coliformes	Psicrotróficos	BNV	TMA	Triptofano	Uréia
IQ	1,0000 p= ---						
Coliformes	0,6934 p=0,194	1,0000 p= ---					
Psicrotróficos	0,6610 p=0,224	0,9989 p=0,000	1,0000 p= ---				
BNV	0,9335 p=0,020	0,7555 p=0,140	0,7257 p=0,165	1,0000 p= ---			
TMA	0,8884 p=0,044	0,9019 p=0,036	0,8829 p=0,047	0,9530 p=0,012	1,0000 p= ---		
Triptofano	0,8096 p=0,097	0,1578 p=0,800	0,1162 p=0,852	0,6295 p=0,255	0,4571 p=0,439	1,0000 p= ---	
Uréia	0,6149 p=0,270	0,4468 p=0,451	0,4369 p=0,462	0,3256 p=0,593	0,3879 p=0,519	0,5987 p=0,286	1,0000 p= ---

Correlações significativas a $p < 0,05$ e correspondentes níveis de p estão grafados em negrito e vermelho

Correlações significativas a $p < 0,1$ e correspondentes níveis de p estão grafados em negrito

A alteração da qualidade de um produto e a relação entre as características ou parâmetros avaliados em um produto podem ser avaliadas graficamente com o emprego da Análise de Componentes Principais (ACP). O objetivo principal da ACP é a obtenção de um pequeno número de combinações lineares (componentes principais ou fatores) de um conjunto de variáveis, que retenham o máximo possível da informação contida nas variáveis originais. Deste modo, geralmente um pequeno número de componentes pode ser usado na análise de correlação, análises de agrupamentos de amostras, em substituição às variáveis originais. Os componentes ou fatores são extraídos na ordem do mais explicativo para o menos explicativo. Teoricamente o número de componentes é sempre igual ao número de variáveis. Entretanto, alguns poucos componentes são responsáveis por grande parte da explicação total. Na **Figura 18A** e **B** podem ser observados os resultados da ACP das variáveis utilizadas na avaliação de pescada amarela dos lotes 3 e 4.

Na ACP os parâmetros avaliados aparecem no gráfico representados como vetores e as amostras representadas por um ponto, uma linha, um triângulo ou um quadrado, de acordo com o número de repetições avaliadas. Neste estudo a ACP foi aplicada aos resultados dos lotes 3 e 4 separadamente e foram usados os valores médios, de modo que apenas um ponto representa a pescada amarela em cada período de armazenamento. A separação espacial entre as amostras está relacionada ao grau de similaridade ou diferença entre elas.

No lote 3 (**Figura 18A**) o primeiro componente principal (CP 1) explicou 76,32% da variabilidade total entre as amostras dos diferentes períodos de armazenamento e o segundo componente principal (CP 2) explicou 14,04% da variabilidade total. No lote 4 (**Figura 18B**) os Fatores 1 e 2 explicaram 70,6% e 19,12% da variabilidade existente entre as amostras de diferentes períodos de amostragem, respectivamente.

Figura 18 - Análise de Componentes Principais realizada com os resultados dos parâmetros avaliados em pescadas amarelas (*Cynoscion acoupa*) parcialmente evisceradas e armazenadas em gelo dos lotes 3 (A) e 4 (B). Onde PSI = psicrotróficos, CF = coliformes, TRIP = triptofano livre, BNV = Bases nitrogenadas voláteis, TMA = trimetilamina, IQ = Índice de qualidade e D1, D5, D8 e D15 = dias 1, 5, 8 e 15.

Na ACP o comprimento dos vetores corresponde à importância relativa de cada parâmetro na discriminação das amostras, de modo que vetores longos sugerem parâmetros nos quais as amostras diferem mais entre si. Neste estudo todos os vetores apresentaram comprimento bastante semelhante o que sugere que sua importância na discriminação das amostras foi igual. A posição relativa entre os vetores também origina informações importantes na ACP, deste modo vetores próximos indicam atributos que provavelmente apresentam correlação linear positiva entre si e aqueles cujo ângulo se encontra próximo de 180° possivelmente apresentam correlação linear negativa entre si. Deste modo, a **Figura 18** confirma a existência e correlação linear positiva entre IQ, psicrotróficos, BNV e TMA nos dois lotes de pescada amarela.

A ACP pode fornecer inclusive indicações sobre a redução da qualidade das pescadas amarelas ao longo do armazenamento em gelo, uma vez que as amostras ficam localizadas próximas aos vetores que representam os atributos presentes em maior intensidade nestas amostras. A posição relativa das amostras dos diversos períodos de armazenamento nos gráficos A e B sugere que tanto no lote 3 quanto lote 4 houve uma significativa diminuição da qualidade das pescadas amarelas após o 8º dia de armazenamento, pois a partir do 9º dia as amostras se encontram localizadas nos quadrantes onde também se localizam os vetores que representam características indesejáveis. Desta maneira a **Figura 18** confirma (pois os resultados anteriores mostraram contagens de psicrotróficos acima de 10^7 ufc/g entre 1 e 2 semanas) que as amostras de pescada amarela com mais de 8 dias de armazenamento em gelo se caracterizaram por apresentar maiores teores de BNV e TMA, maior contagem de psicrotróficos, maior valor de IQ (mais pontos de demérito) e conseqüentemente menor qualidade sensorial.

5.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE PESCADAS AMARELAS ADQUIRIDAS EM ESTABELECIMENTOS COMERCIAIS DAS CIDADES DE SANTOS, SÃO VICENTE E PRAIA GRANDE E UTILIZAÇÃO DO PROTOCOLO MIQ DESENVOLVIDO.

5.4.1 CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA DAS AMOSTRAS

A relação entre comprimento padrão (CP) e peso total (PT) das pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande está apresentada na **Figura 19**. O CP variou de 22,5cm a 35cm com média de 28,8cm e o PT de 143g a 451g com média de 315,5g. Foi obtida uma regressão linear significativa ($p < 0,01$) entre CP e PT com coeficiente de determinação $R^2 = 0,6411$. Verificou-se que os exemplares adquiridos no comércio apresentaram comprimento padrão médio 37% inferior ao comprimento considerado comum para a espécie, segundo Chao (1978). Analisando as pescadas amarelas armazenadas em gelo do lote 1, 2 e 3, nota-se que estas apresentaram valores de comprimento médio e peso médio 10% e 15%, respectivamente, superiores às pescadas amarelas comerciais.

Figura 19. Relação entre comprimento padrão (cm) e peso total (g) das pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.

5.4.2 ANÁLISE SENSORIAL

As amostras com 2 a 3 pescadas amarelas adquiridas em 14 comércios varejistas foram sensorialmente avaliadas utilizando-se o protocolo MIQ desenvolvido nesse estudo. A soma dos escores durante a avaliação sensorial revelou IQ variando de 2 a 23, com médias de 3,60 a 19,66. As amostras responsáveis pelos IQs mais elevados foram adquiridas no comércio varejista da cidade de São Vicente. Utilizando os escores obtidos com a avaliação sensorial dos peixes e executando o modelo matemático desenvolvido durante o armazenamento da pescada amarela em gelo, foi possível estimar o tempo (dias) pós captura de cada amostra de pescadas. O tempo provável pós captura dos exemplares de pescada amarela adquiridos no comércio varejista variou de 3 a 14 dias, como mostra a **Tabela 6**, sendo 8 dias o tempo médio estimado.

Tabela 6. Resultados de IQ determinado nas análises sensoriais realizadas nas pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Cidade	Comércio	Média IQ	Dias pós captura*
Santos	A	10,83	8
	B	12,66	9
	C	11,83	9
	D	16,00	12
	E	13,14	10
	F	3,60	3
Praia Grande	G	12,48	9
	H	11,57	9
	I	13,66	10
	J	9,00	7
	K	8,50	6
São Vicente	L	17,00	13
	M	19,66	14
	N	9,80	7

*Estimativa baseada nos modelos matemáticos previamente desenvolvidos.

Considerando os valores de IQ e 8 dias como o período limite para armazenamento de pescada amarela sob resfriamento com gelo verifica-se que 9 dos 14 estabelecimentos comerciais comercializam pescada amarela além do período adequado para consumo.

5.4.3 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Em relação à *Salmonella* e *E.coli* 100% dos peixes analisados estavam livres desses microorganismos. *Staphylococcus aureus* foram encontrados em 3 (10,7%) exemplares de pescadas amarelas e em níveis próximos de 10^2 ufc/g, mas abaixo do limite estipulado pela resolução RDC nº 12-ANVISA/2001 (BRASIL, 2001). Contagens de microorganismos psicotróficos variaram de 6×10^4 a 9×10^9 ufc/g, sendo que 50% apresentaram níveis acima de 10^7 ufc/g, estando essas unidades acima dos padrões internacionais sugeridos como seguros para consumo. Coliformes totais estavam presentes em todas as amostras acima de 10^2 ufc/g, sendo encontrados níveis até 10^7 ufc/g em uma das amostras (**Tabela 7**). Tais resultados são semelhantes ao encontrados por Moura (2007), que avaliando peixes marinhos obtidos na feira livre de Messejana-Fortaleza-CE, constatou que 8,33% das amostras analisadas foram positivas para *Estafilococos* coagulase positiva, embora não tenham ultrapassado o limite de tolerância para amostra indicativa, da ordem de (10^3 ufc/g), estando, assim, em conformidade com o que está estabelecido pela legislação. Já para as análises de *Samonella sp*, seus resultados foram todos negativos. Níveis mais altos de contaminação foram observados por Alvares et al. (2008) que com o propósito de avaliar a qualidade higiênico-sanitária e microbiológica dos peixes adquiridos na Grande São Paulo, analisaram 88 amostras de peixes do tipo pescada e atum provenientes de três tipos de estabelecimentos comerciais (feira-livre, supermercados e CEAGESP) e encontraram 79,6% de amostras contaminadas por coliformes fecais. Das amostras contaminadas, no mínimo 50% se encontravam fora do padrão. Silva, Matté e Matté (2008) avaliaram a qualidade microbiológica de 20 amostras de peixes comercializados em feiras livres, sendo 9 amostras de salmão, 8 de atum, 1 de badejo e 2 amostras de *sashimi* (oferecidas em bandejas, com três espécies de peixes cada, porém sem identificação do conteúdo). Os autores encontraram coliformes termotolerantes em

valores superiores a 10^2NMP.g^{-1} em 5 (25%) das amostras e *Escherichia coli* foi isolada em 1 (5%) amostra analisada, totalizando 6 (30%) amostras impróprias para o consumo. *Staphylococcus aureus* foi isolado, porém dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela legislação e *Salmonella* não foi encontrada nas amostras do referido estudo.

Tabela 7 - Resultados das análises microbiológicas realizadas nas pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Cidade	Comércio	Peixe	<i>Salmonella sp</i> Ausente/ presente	<i>Staphylococcus aureus</i> (ufc/g)	Psicrotróficos (ufc/g)	Coliformes (ufc/g)	<i>E.coli</i> (ufc/g)
Santos	A	1	-	-	9×10^6	$>10^2$	-
		2	-	-	4×10^6	$>10^2$	-
	B	1	-	-	$10,5 \times 10^6$	$>10^2$	-
		2	-	-	6×10^6	$>10^2$	-
	C	1	-	1×10^2	5×10^6	$>10^2$	-
		2	-	-	7×10^6	$>10^2$	-
	D	1	-	-	1×10^8	4×10^5	-
		2	-	-	1×10^9	2×10^6	-
	E	1	-	-	9×10^9	1×10^5	-
		2	-	1×10^2	3×10^9	$>10^5$	-
	F	1	-	-	6×10^4	2×10^3	-
		2	-	-	6×10^5	$6,7 \times 10^3$	-
Praia Grande	G	1	-	-	5×10^8	4×10^5	-
		2	-	-	6×10^8	3×10^5	-
	H	1	-	3×10^2	6×10^8	5×10^6	-
		2	-	-	3×10^8	$1,3 \times 10^7$	-
	I	1	-	-	6×10^7	1×10^5	-
		2	-	-	7×10^8	7×10^4	-
	J	1	-	-	2×10^8	$>10^5$	-
		2	-	-	7×10^7	1×10^4	-
São Vicente	K	1	-	-	$1,6 \times 10^7$	7×10^4	-
		2	-	-	$2,3 \times 10^7$	1×10^5	-
	L	1	-	-	9×10^9	7×10^4	-
		2	-	-	1×10^9	6×10^4	-
	M	1	-	-	8×10^8	1×10^5	-
		2	-	-	6×10^8	8×10^4	-
	N	1	-	-	1×10^7	1×10^4	-
		2	-	-	2×10^6	3×10^4	-

De acordo com os resultados do presente estudo, todos os exemplares analisados apresentaram-se próprios para consumo em relação à qualidade microbiológica, por estarem dentro dos limites preconizados pela legislação brasileira atual, a qual especifica limites para essa categoria de pescado apenas para *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*, e para *E.coli*, levando-se em conta a similaridade com outros produtos. No entanto, 50% dos exemplares analisados não estão de acordo com os padrões internacionais em relação aos níveis de psicotróficos encontrados. A baixa incidência e ausência de microorganismos nocivos ao ser humano encontrados nesses exemplares sugere uma boa qualidade microbiológica dos peixes adquiridos, uma vez que essas bactérias não fazem parte da microbiota e habitat do pescado e, se presente nos mesmos, seriam fruto de contaminação por animais de sangue quente, como afirmou Huss (1997). Tal situação, no entanto, não descarta a preocupação do risco de contaminação por microorganismos nocivos à saúde do consumidor, uma vez que os locais de comercialização pesquisados não se encontram, ainda, em conformidade com as boas práticas de manipulação e conservação do pescado.

5.4.4 ANÁLISES QUÍMICAS

Os resultados das análises químicas efetuadas nos exemplares de pescada amarela adquiridos no comércio varejista de Santos, Praia Grande e São Vicente estão expressos na **Tabela 8**. Os 12 exemplares de pescada amarela adquiridos em 06 pontos comerciais da cidade de Santos apresentaram teores de TMA de 0,04mg/100g a 28,93mg/100g, BNV variando de 14mg/100g a 89,55mg/100g, teores de uréia de 2,54mg/100g a 18,50mg/100g e níveis de triptofano entre 0,20mg/100g a 12,57mg/100g. Os 10 exemplares adquiridos em 05 pontos comerciais em Praia Grande apresentaram teores de TMA de 0,26mg/100g a 18,15mg/100g, BNV variando de 21,42mg/100g a 71,78mg/100g, teores de uréia de 4,28mg/100g a 15,23mg/100g e níveis de triptofano entre 0,18mg/100g a 14,09mg/100g. Nos 06 exemplares adquiridos em 03 pontos comerciais em São Vicente encontrou-se teores de TMA de 0,14mg/100g a 14,34mg/100g, BNV variando de 14,16mg/100g a 53,57mg/100g, teores de uréia de 0,08mg/100g a 11,7mg/100g e níveis de triptofano entre 0,19mg/100g a 14,08mg/100g.

Tabela 8 - Resultados das análises químicas realizadas nas pescadas amarelas adquiridas em estabelecimentos comerciais das cidades de Santos, São Vicente e Praia Grande.

Cidade	Comércio	Peixe	TMA (mg/100g)	BNV (mg/100g)	Uréia (mg/100g)	Triptofano (mg/100g)
Santos	A	1	0,25	60,99	16,66	2,60
		2	13,44	46,08	14,25	3,77
	B	1	3,39	89,55	8,08	5,72
		2	0,67	73,39	4,08	2,09
	C	1	28,93	35,00	11,58	0,66
		2	5,40	36,02	18,50	0,66
	D	1	0,51	75,74	9,13	12,57
		2	0,04	47,61	2,54	11,75
	E	1	17,01	70,00	4,19	2,46
		2	15,26	71,99	5,02	1,39
	F	1	0,50	14,00	ND	0,20
		2	0,15	14,34	ND	1,97
Praia Grande	G	1	11,11	52,64	6,40	0,41
		2	0,29	68,65	8,75	5,61
	H	1	0,26	29,52	7,84	7,03
		2	18,15	41,02	13,85	9,47
	I	1	4,68	71,78	4,28	6,73
		2	4,66	35,60	4,45	14,09
	J	1	0,88	35,29	4,31	4,79
		2	0,36	22,49	15,23	12,05
	K	1	15,02	23,71	ND	1,20
		2	13,34	21,42	ND	0,18
São Vicente	L	1	14,34	53,57	0,08	10,43
		2	13,84	27,00	2,30	14,08
	M	1	1,26	26,35	11,70	0,19
		2	0,14	36,99	3,77	6,79
	N	1	3,46	21,92	ND	1,68
		2	6,40	14,16	ND	2,20

ND – não determinado

Os resultados máximos das amostras comerciais excederam os valores máximos encontrados nas pescadas amarelas armazenadas em gelo dos lotes 1, 2, 3 e 4, exceto para BNV. Além disso, foram encontrados valores muito heterogêneos

no mesmo lote, com peixes apresentando concentrações de TMA e/ou BNV abaixo e acima dos limites máximos permitidos para consumo, principalmente entre as amostras dos comércios A, G e H (TMA) e J, L e M (BNV), revelando a grande variabilidade possível em peixes de uma mesma procedência. Nestas amostras também foram observados cargas de psicotróficos superiores a 10^6 UFC/g, exceto para o comércio A, e valores de IQ superiores a 10, exceto para o comércio J. Por outro lado, nas amostras F e N onde observamos menores valores desses compostos e maior homogeneidade entre os resultados, notamos também menor contaminação microbiológica e valores baixos de IQ. No estudo com lotes de pescada amarela fresca já tinha sido observada uma tendência de dispersão dos valores de BNV e TMA para amostras do mesmo período nas amostragens realizadas ao final do armazenamento.

De acordo com a legislação brasileira os teores de TMA estavam acima do permitido pela legislação em 14 (50%) exemplares de pescada amarela adquiridos no varejo, enquanto que 65% delas estariam impróprias para consumo em relação à concentração de BNV. O valor máximo de BNV encontrado para os exemplares do varejo (89,55mg/100g) foi alcançado apenas pelas pescadas amarelas dos lotes 3 e 4, e entre o 15º e 20º dia de armazenamento em gelo. Vicente, (2005), avaliando exemplares de corvinas (*Micropogonias furnieri*) e sardinha (*Sardinella brasiliensis*) adquiridos no mercado varejista do município de São Gonçalo-RJ, obteve valores de BNV variando de 9,32mg/100g a 23,8mg/100g e de 8,82mg/100g a 34,77mg/100g para corvina e sardinha, respectivamente.

Aparentemente teores elevados de TMA (em torno de 14mg/100g), nem sempre são indícios de amostras impróprias para consumo. A Comunidade Européia estabelece limites de 12mg de TMA em 100g de peixe fresco, limite bastante superior ao recomendado pela legislação brasileira. Amostras onde se encontram valores altos de TMA em relação aos valores de BNV podem possuir presença numerosa de microorganismos produtores de TMA e nesse caso, esse composto é predominante na composição das BNVs.

As análises de uréia e triptofano, embora tenham sido realizadas, novamente não se mostraram bons índices de qualidade e não se correlacionaram bem com outros resultados, como observado na avaliação das pescadas amarelas armazenadas em gelo dos lotes 1 a 4.

5.4.5 CORRELAÇÃO ENTRE ANÁLISES SENSORIAL, MICROBIOLÓGICAS E QUÍMICAS

A análise de correlação entre os dados da avaliação sensorial, análise microbiológica de psicrotróficos e análise químicas não mostraram existência de correlações importantes (**Tabela 9**). Os valores muito heterogêneos de BNV e TMA principalmente entre as amostras dos comércios A, G, H, J, L e M explicam em parte a inexistência de correlações significativas entre estes parâmetros e as análises microbiológicas e sensorial.

Tabela 9 - Coeficientes de correlação e níveis de p determinados entre os resultados das avaliações sensorial, microbiológicas e químicas das pescadas amarelas (*Cynoscion acoupa*) adquiridas em estabelecimentos comerciais de Santos, São Vicente e Praia Grande .

	IQ	Psicrotróficos	BNV	TMA	Triptofano	Uréia
IQ	1,0000 p= ---					
Psicrotróficos	0,2462 p=0,269	1,0000 p= ---				
BNV	-0,0388 p=0,864	0,1919 p=0,392	1,0000 p= ---			
TMA	-0,0832 p=0,713	0,3712 p=0,089	-0,0577 p=0,799	1,0000 p= ---		
Triptofano	0,2054 p=0,359	0,0183 p=0,936	-0,1868 p=0,405	-0,1950 p=0,385	1,0000 p= ---	
Uréia	-0,4547 p=0,033	-0,4535 p=0,034	-0,2176 p=0,331	-0,0082 p=0,971	-0,3133 p=0,156	1,0000 p= ---

Correlações significativas a $p < 0,05$ e correspondentes níveis de p estão grafados em negrito e vermelho

A análise de componentes principais confirmou detalhes importantes das características das amostras de pescada amarela adquiridas em estabelecimentos comerciais (**Figura 20A e B**). As amostras F, N, K são as mais homogêneas (localização próxima) e apresentam baixos valores de BNV e IQ. As amostras D, E, L, M apresentam os maiores valores de IQ e psicrotróficos (**Figura 20A**).

Os componentes principais 1 e 2 (CP 1 e CP 2) explicaram em conjunto 63,5% da variabilidade total entre as amostras, portanto é recomendável analisar

também a variação explicada pelo CP3, que explica mais 16,6% da variabilidade total (**Figura 20B**). As amostras dos estabelecimentos A, B e 1 amostra dos estabelecimentos D, G e I apresentam os valores mais altos de BNV.

Figura 20 - Gráficos da Análise de Componentes Principais realizada com os resultados dos parâmetros avaliados em pescadas amarelas (*Cynoscion acoupa*) adquiridas em estabelecimentos comerciais de Santos, São Vicente e Praia Grande A – Visualização de parâmetros e amostras alocados no plano CP1 e CP2, B – Visualização de parâmetros e amostras alocados no plano CP1 e CP 3.

6 CONCLUSÕES

O protocolo MIQ para avaliação de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) foi desenvolvido e se mostrou eficiente na avaliação do frescor, correlacionando-se com o tempo de captura dos peixes.

Avaliações microbiológicas confirmaram que a contaminação inicial afeta a velocidade e níveis de produção de BNV. O valor de 30mg de BNV/100g recomendado pela legislação brasileira é adequado como limite de comercialização de pescada amarela, porém a concentração de BNV não está diretamente relacionada ao tempo de captura.

Teor de trimetilamina mais elevado do que o estipulado pela legislação pode ser aceitável na espécie *Cynoscion acoupa*. Valores em torno de 12-14mg/100g parecem ser adequados como limite para consumo de pescada amarela.

Triptofano livre e uréia não são parâmetros químicos adequados para se avaliar o grau de frescor e a qualidade da pescada amarela.

Os resultados das diversas análises, e principalmente a correlação entre elas sugere que a pescada amarela, quando eviscerada e mantida resfriada em gelo mantém características adequadas para consumo até o 8º dia de armazenamento.

Diversos estabelecimentos comerciais de Santos, São Vicente e Praia Grande disponibilizam para os consumidores pescada amarela resfriada em condições inadequadas para consumo de acordo com a legislação brasileira.

REFERÊNCIAS

AHMED, F.E. **Seafood safety**. National Academy Press, Washington D.C., USA, 1991.

ALMEIDA, M.C. et al. Contribuição para gestão do sistema de produção pesqueira da pescada-amarela, *Cynoscion acoupa* (pisces: Sciaenidae) (Lacepède, 1802) na costa do Maranhão, Brasil. **Boletim do laboratório de hidrobiologia**, v. 22, p. 25-38, 2009.

ÁLVARES, P. P. et al. Análise das características higiênico-sanitárias e microbiológicas de pescado comercializado na grande São Paulo. **Higiene Alimentar**; v. 22, n. 161, p 88-93, maio 2008.

AMANAJÁS, P. P. **Determinação dos compostos básicos totais do pescado e o seu potencial para avaliação do frescor**. 1985. 110 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1985.

ANDRADE, P.F. **Avaliação do prazo de vida comercial do atum (*Thunnus atlanticus*) armazenado sob refrigeração**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2006.

AOAC. **Official Methods of analysis of AOAC Internacional**. 18 ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists – AOAC, 2007

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**, v. 36, n. 1/2, p. 87-121, 1996.

BAIXAS-NOGUERAS, S. et al. Chemical and sensory changes in Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) under refrigeration (6 – 8°C) and stored in ice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 6504-6510, 2002.

BAIXAS-NOGUERAS, S. et al. Development of quality index method to evaluate freshness in Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*). **Journal of Food Science**, v. 68, n. 3, p. 1067-1071, 2003

BARBOSA, A.; VAZ-PIRES, P. Quality index method (QIM): development of a sensorial scheme for common octopus (*Octopus vulgaris*). **Food Control** v. 15, p. 161–168, 2004.

BEKAERT, K. Development of a quality index method scheme to evaluate Freshness in tub gurnard (*chelidonichthys lucernus*). In: WEFTA Meeting, 35., 2005, Antwerp. **Proceedings...** Antwerp, Belgium, 2005.

BONILLA, A. C.; SVEINSDOTTIR, K.; MARTINSDOTTIR, E. Development of Quality Index (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. **Food Control**, v. 18, p. 352-358, 2007.

BORGES, A. et al. Qualidade da corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada em diferentes períodos de estocagem a 0°C. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.1, 2007.

BOTTA, J. R. **Chemical methods of evaluating freshness quality.** Evaluation of seafood freshness quality. New York: VCH, 1995. p.9-33.

BRANCH, A. C.; VAIL, A. M. A. Bringing fish inspection into the computer age. **Food Technology in Australia**, v.37, n.8, p.352–355, 1985.

BRASIL. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo. Brasília, DF, 07 jul. 1952. Seção 1. p. 10785. Título VII. Cap. VII, Seção I, art. 442, p. 104.

BRASIL. Portaria Nº 185 de 13 de maio de 1997. Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). **Diário Oficial**

[da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo. Brasília, DF, 19 mai. 1997. Seção 1, p.10282.

BRASIL. Presidência da República. Secretaria Especial de Aquicultura e Pesca. **Pescado fresco**, 2007 24p. disponível em: http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/cartilha_do_pescado_meg%20FINALIZADA.pdf. Acesso em 11/10/2011.

BRASIL. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Ministério da Saúde. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília, 2001. **Diário Oficial da União**, 10 de janeiro de 2001, seção 1.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2008-2009**, 2010a. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/docs/anu%E1rio%20da%20pesca%20completo2.pdf>> Acesso em: 15/10/2011.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA). **Consumo Per Capita Aparente de Pescado no Brasil 1996-2009**, 2010 b. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/docs/folder%20consumo%20de%20pescado%202009%202.pdf>. Acesso em 15/10/2011.

BRASIL. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Poder Executivo. Brasília, DF, 19 mai. 1997. Seção 1,p.10282.

BREMNER, H. A. A convenient, easy to use system for estimating the quality of chilled seafood. **Fish Processing Bulletin**, v. 7, p.59–70, 1985.

BRINK, B. et al. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 11, p. 73-84, 1990.

CARVALHO-FILHO, A. **Peixes: costa brasileira**. São Paulo: Melro, 1999. 320p.

CERVIGÓN, F. et al.. **Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca: Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América.** FAO, Rome, 1992, p. 513. Acesso em: 12 de setembro de 2011.

CERVIGÓN, F. **Los peces marinos de Venezuela.** 2.ed. Caracas, Fundación Científica Los Roques. v.2, 497p.

CHEN, D.; HANNA, P. J. Attachment of *Vibrio* pathogens to cells of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Waalbaum). **Journal of fish Diseases**, Oxford, v.15, p. 331-337, 1992.

COBB III, B.F., AND C. VANDERZANT. 1975. Development of a Chemical Test for Shrimp Quality J. **Food Science**. 40:121, 1975.

COBB III, B. F.; VANDERZANT, C. Development of a chemical test for shrimp quality. **Journal of Food Science**, v. 40, p.121, 1975.

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

CONTRERAS, G. E.; LAPA GUIMARÃES, J. G. Determinação rápida de triptofano por reação com antrona. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 12., 1989, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBCTA, 1989. p.152.

CONTRERAS, G. E. **Bioquímica de pescados e derivados.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409p.

CORNEJO-MUJICA P. Y. **Vida útil do cação (*Prionace glauca*) armazenado sob refrigeração e otimização dos métodos microbiológicos e sensoriais de avaliação da qualidade.** 2000. Tese (doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2000.

DHANANJAYA, S.; STROUD, G. D. Chemical and sensory changes in haddock and herring stored under modified atmosphere. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 29, p. 575-583, 1994.

DEBEVERE, J.; BOSKOU, G. Effect of modified atmosphere packaging on the TVB/TMA-producing microflora of cod fillets. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p. 221-229, 1996.

DYER, W. J. Amines in fish muscle. 1. Colorimetric determination of TMA as picrat salt. **Journal of the Fisheries Research Board Canada**, v.6, p.351-358, 1945.

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

ESTEVEZ, E.; ANÍBAL, J. Quality Index Method (QIM): utilização da Análise Sensorial para determinação da qualidade do pescado. CONGRESSO DO ALGARVE, 13, 2007, Lagos. **Anais do 13º congresso de Algarve, Lagos**, v. 13, p. 365-373, Lagos, 2007

EVANGELISTA, N. P.; OGAWA, N. B. P.; OGAWA, M. Determinação de óxido de trimetilamina (OTMA) e trimetilamina (TMA) em pescado. **Revista Científica de Produção Animal**, v.2, n.2, p.168-177, 2000

FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. ; MACKIE, I.M. Comparative rates of spoilage of fillets and whole fish during storage of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and herring (*Clupea harengus*) as determined by the formation of non-volatile and volatile amines. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 22, p. 385-390, 1987.

FISH BASE - **A global information system on fishes**. Disponível em: <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=1169&AT=pesca da+amarela>. Acesso em 07 /07/2011.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005, 196 p

FRAZIER, W. C.; WESTHOOF, D. C. **Contaminación, conservación y alteraciones del pescado y otros productos marinos**. In: Microbiología de los alimentos. Zaragoza: Acribia, 1978.

GACULA, M. C.; SINGH, J. **Statistical Methods in Food and Consumer Research**. Academic Press Inc., 1984. 503p.

GELLI, D. S. Análise Microbiológica do Pescado Marinho. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, Santos (SP). **Seminários**. São Paulo: Leopoldinum Editora e Edições Loyola, pág. 59 – 62, 1988.

GUILLERM-REGOST, C. et al.. Quality characterization of farmed Atlantic halibut during ice storage. **Journal of Food Science**, v.71, n.2, p. S83-S90, 2006.

HALASZ, A. et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends in Food Science and Technology**, v.5, n.2, p.42, 1994.

HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M. et al. Amino acid decarboxylase activity and other chemical characteristics as related to freshness loss in iced cod (*Gadus morhua*). **Journal of Food Protection**, v.65, n.7, p.1152-1157, 2002.

HYDILG, G., & NIELSEN, J. A rapid method for quality management. In: Methods to determine the freshness of fish in research and industry. **Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action** “Evaluation of Fish Freshness”, Nantes Conference, pp. 297–305, Paris, 1997.

HYLDIG, G. et al. **Quality Index Methods**. In: Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis, 887p. Taylor and Francis Group, 2010, p.464.

HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Torry Research Station**. Aberdeen, Appendix 4, 1976.

HOWGATE, P., JOHNSTON, A., & WHITTLE, K. J. Multilingual guide to EC freshness grades for fishery products. Aberdeen: **Torry Research Station**, Food Safety Directorate, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1992.

HUSS, H. H. **Quality and quality changes in fresh fish**. FAO Fisheries technical paper 348. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 193p., Rome, 1995.

HUSS, H. H. **Garantia da qualidade dos produtos da pesca**. FAO Documento Técnico sobre a Pesca. Nº. 334. Roma, FAO, 1997. 176p.

HUSS, H. H. L. ABABOUC; L.GRAM. **Assessment and Management of Seafood Safety and Quality**. FAO Fisheries technical paper 444. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **O estado dos recursos pesqueiros**. In: Geo Brasil 2002: Perspectiva do Meio Ambiente no Brasil. pp.131-132.. Brasília, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS.(IBAMA). **Estatística da pesca ano de 2007**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/documentos-recursos-pesqueiros/estatistica-pesqueira>. Acesso em: 02/09/2011.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS - CMSF. **Microorganisms in Foods. 2. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications**. Buffalo: University of Toronto, 1986.

JOHNSTON, R.W.; TOMPKIN, R.B. Meat and poultry products. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington: APHA, 1992. Cap.44, p.821-835.

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**, v.24, n. 3, Campinas July/Sept., 2004.

LABUZA, T.P. Shelf-life dating of foods. Westport: **Food & Nutrition Press**, 1982. 500p.

LAPA-GUIMARÃES, J. **Estudos de índices químicos, sensoriais, microbiológicos e instrumentais para avaliação do frescor de lulas (*Loligo plei*, Bainville, 1823) armazenadas em gelo**. 1999. 151p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 1999.

LAPA-GUIMARÃES, J. FELÍCIO, P. E.; CONTRERAS, E. S. G. Chemical and microbial analyses of squid muscle (*Loligo plei*) during storage in ice. **Food Chemistry**, v.91, n.3, p.477-483, 2005.

LEE, E.H.; et al. Development and psychometric evaluation of a chronic liver disease-specific quality of life questionnaire. **Journal gastroenterol hepatol.**, v. 23, n.2, p. 231-238, 2008.

LISTON, J. Microbiology in fishery science. In: CONNELL, J. J. **Advances in fisheries science and technology**. Farnham: News Book, 1980. 138p.

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

LUTEN, J. B.; MARTINSDÓTTIR, E. QIM: a European tool for fish freshness evaluation in the fishery chain. **Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness"**, pp. 287–296. Nantes Conference, Paris, 1997.

LYHS, U.; SCHELVIS-SMIT, R. Development of a Quality Index Method (QIM) for Maatjes Herring Stored in Air and Under Modified Atmosphere, **Journal of Aquatic Food Product Technology**, 14:2, 63-76, 2005.

MACKIE, I. M. et al. The formation of non-volatile amines in relation to concentrations of free basic amino acids during postmortem storage of the muscle of scallop (*Pecten maximus*), herring (*Clupea harengus*) and mackerel (*Scomber scombrus*). **Food Chemistry**, v.60, n.3, p.291-295, 1997.

MARTINSDÓTTIR, E. et al. Sensory evaluation in research of fish freshness. Methods to determine the freshness of fish in research and industry.

Proceedings of the final meeting of the concerted action “Evaluation of Fish Freshness”, pp 306-312. Nantes Conference, Paris, 1997.

MASSA, A. E. et al. Postmortem changes in quality indices of ice-stored flounder (*Paralichthys patagonicus*). **Journal of Food Biochemistry**, n. 29. P570-590, 2005.

MAZORRA-MANZANO, M. A. Post mortem changes in black skipjack muscle during storage in ice. **Food Chemistry and Toxicology**, v.65, n. 5, p.774-779, 2000.

MOLTENO, C. ET AL. Composición química del destilado de água de cola y su utilización en calderas. **Instituto de Fomento Pesquero**, n.18, Santiago de Chile, 1968.

MOURA, H. F. A **Qualidade dos Alimentos no Contexto da Política de Segurança Alimentar: estudo de Caso numa Feira Livre Tradicional de Fortaleza**. 2007. Dissertação (mestrado) - Centro de Estudos Sociais Aplicados, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2007.

MURRAY, C. K.; GIBSON, D. M. An investigation of the method of determining trimethylamine in fish muscle extracts by the formation of its picrate salt. Part I. **Journal of Food and Technology**, v.7, n.1, p.35-46, 1972.

NIELSEN, J. Assessment of fish quality. In: H. H. Huss (Ed.), **Quality and quality changes in fresh fish**. FAO Fisheries Technical Paper 348, pp. 116–124, 1995.

NIELSEN, J. et al. Development of methods for quality index of fresh fish. **FAR Meeting**, Noordwijkerhout, Netherlands. 1992.

NIELSEN, J.; JESSEN, K. New developments in sensory analysis for fish and fishery products. In J. B. Luten, T. Børresen; J. Oehlenschläger (Eds.), **Seafood from producer to consumer**, Integrated approach to quality (pp. 537–547). Amsterdam, 1997.

NIELSEN J, HYLDIG G, AND LARSEN E. Eating quality of fish—A review. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v11, p.125, 2002.

OGAWA, M.; MAIA, E. I. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. v.1. 430 p.

OLIVEIRA, V. M. **Estudo da qualidade do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*)**. 2005. 91 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005.

OTSUKA, Y. et al. Change in the contents of arginine, ornithine and urea in the muscle of marine invertebrates stored in ice. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.56, n.6, p.863-866, 1991.

PAARUP, T., et al. Sensory, chemical and bacterial changes during storage of iced squid (*Todaropsis eblanae*). **Journal of Applied Microbiology**, v.92, n.5, p.941-950, 2002.

PACHECO, T. A. et al. Análise de coliformes e bactéria mesofílicas em pescado de água doce. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 116/117, p.68-72, 2004.

PÁDUA, H. B. Caracterização da qualidade do pescado oriundo de criação/aqüicultura Relação: meio/alimento/organismo,(conceitos básicos), 2003. helcias@pescar.com.br & helcias@ifxbrasil.com.br. site-
<http://www.pescar.com.br/helcias>

PEDROSA-MENABRITO, A. ; REGENSTEIN, J. M. Shelf-life extension of fresh fish - a review. Part II - Preservation of fish. **Journal of Food Quality**, v.13, p. 129-146, 1990.

_____. Shelf-life extension of fresh fish - a review. Part III - Fish quality and methods of assessment. **Journal of Food Quality** 13, p. 209-223, 1990b.

PLOURDE M. & S. C. CUNNANE. Extremely limited synthesis of long chain polyunsaturates in adults: implications for their dietary essentiality and use supplements **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v.32, n.4, p.619-634, 2007.

PONS-SÁNCHEZ-CASCADO, S, et al. Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. **Food Control**, v.17, pp 564–569, 2006.

RANDAL, D.; BURGGREN, W.; FRENCH, K. Eckert Animal Physiology. W. H. Freeman and Company, New York, 736 pp, 2002.

RANKIN, J C.; DAVENPORT, J. **Animal osmoregulation**. Blackie & Sons Limited, Glasgow, 202 p. 1981.

RINGOE, E., E. STENBERG AND A.R. STROEM. Amino-acid and lactate catabolism in trimethylamine oxide respiration of *Alteromonas putrefaciens*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.47, p.1084-1089,1984.

RODRIGUES, R. M. S. **A nálise da variabilidade genética da pescada amarela (*Cynoscion acoupa*–*Sciaenidae*) da costa norte brasileira baseada no seqüenciamento da região controle do DNA mitocondrial**. 2007. Dissertação (Mestrado Programa de Pós-Graduação em Biologia

Ambiental) Campus Universitário de Bragança Universidade Federal do Pará, Bragança-PA, 2007.

RODRIGUES, T.P. **Estudo de critérios para a avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada, eviscerada e estocada em gelo.** 2008. 116 f. Tese (Doutorado) Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2008.

ROMO, C. et al. Determinación de índices bioquímicos y funcionales relevantes para evaluar la conservación de jibia (*Dosidicus gigas*) a bordo. **Proceedings of the Workshop sobre peixes e Larvicultura de moluscos**, Centro de Estudios en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Santiago (1996), pp 197-213

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

SALES, R.O; AZEVEDO, A.R.; MONTEIRO, J.C. .Avaliação da qualidade do pescado utilizando métodos físicos, químicos e sensoriais. **Revista Científica de Produção Animal**, V. 1, Nº 2, 1999.

SÃO PAULO. **Brasil Food Trends 2020**. 176p., 2010. Disponível em: http://www.brasilfoodtrends.com.br/Brasil_Food_Trends/index.html.

SÃO PAULO., **Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo**. Produção pesqueira marinha do estado de São Paulo no ano 2010. Instituto de Pesca – APTA – SAA – SP. Disponível em <http://www.pesca.sp.gov.br/estatistica/index.php>. Acesso em 24/10/2011.

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.

SIKORSKI, Z. E., KOLAKOWSKA, A., BURT, J. R. **Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura**. In: SIKORSKI, Z. E. (Ed).

Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación. Zaragoza: Acribia, 1994. cap.4, p.73-101.

SILVA, M. L; MATTÉ, G. R; MATTÉ, M. H. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz** ,v.67, n.3, São Paulo, 2008

SMITH, T.A. Amines in food. **Food Chemistry**, v.6, n.3, p.169-200, 1980-81.

SORENSEN, J.; GLOB, E. Influence of benthic fauna on trimethylamine concentrations in coastal marine sediments. **Marine Ecology Progress**, v 39 p.15-21, 1987.

SVEINSDÓTTIR, K. et al. Application of Quality Index Method (QIM) scheme in shelf life study of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, v.64, n.4, p.1570–1579, 2002.

SYKES, A.V. Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods. **Food Science and Technology**. v. 42, n. 1, p. 424-432, 2009.

SZPILMAN, M. **Peixes marinhos do Brasil: Guia prático de identificação**. Rio de Janeiro: Mauad. 288 p., 2000.

TAYLOR; FRANCIS. **Quality Index Methods**. In: Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis, pp. 463-477. Taylor and Francis Group, LLC 2010.

TEIXEIRA, M.S. Método de índice de qualidade (QIM): desenvolvimento de um protocolo sensorial para corvina (*Micropogonias furnieri*). **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 16, n. 2, p. 83-88, 2009

TEODORO A. J.; ANDRADE È. C. B.; MANO S. B. Avaliação sobre a utilização de embalagem modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v. 27, n. 1 p. 158 – 161, 2007.

TOMITA, R.Y.et al. Qualidade físico-química do pescado marinho refrigerado em diferentes formas de apresentação. **II Simpósio de Controle do Pescado (SIMCOPE), São Vicente, 2006**. Resumo expandido apresentado no II Simpósio de Controle do Pescado, São Vicente, 2006.

TOPPE, J. **Consumo de pescado, riesgos e beneficios: una perspectiva nutricional**. 15ª Reunión de La Red Panamericana de Inspección, Control de Calidad y Tecnología de Productos Pesqueros, Guayaquil, Ecuador, 2008.

VAZ-PIRES, P.; SEIXAS, P. Development of new quality index method (QIM) schemes for cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*). **Food Control**, v.17, p.942–949, 2006.

VICENTE, C. P. **Avaliação da qualidade do pescado fresco comercializado no comércio varejista no município de São Gonçalo – RJ**. 2005, 65 f. Dissertação (Mestrado) - Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de POA), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005

WOLFF, M.; KOCH, V.; ISAAC, V. A Trophic flow model of the Caeté mangrove estuary (north Brazil) with considerations for the sustainable use of its resources. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v.50, p.789-803. 2000.

YAMANAKA, H.; SHIOMI, K. & KIKUCHI, T. Agmatine as a potential index for freshness of common squid (*Todarodes pacificus*). **Journal of Food Science**, v.52, n.4, p.936-938, 1987.

ZAITSEV, V. ET AL. **Fish curing and processing**, 722p., Mir. Publishers, Moscow, 1969.