

UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: HIGIENE VETERINÁRIA E  
PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE PRODUTOS DE  
ORIGEM ANIMAL

JULIA SIQUEIRA SIMÕES

PERFIL DE MACRONUTRIENTES E ACEITAÇÃO DO  
CAMARÃO DA MALÁSIA (*Macrobrachium rosenbergii*)  
E INFLUÊNCIA DA PERMEABILIDADE DA  
EMBALAGEM SOBRE SUA VALIDADE COMERCIAL

NITERÓI

2012

**JULIA SIQUEIRA SIMÕES**

**PERFIL DE MACRONUTRIENTES E ACEITAÇÃO DO CAMARÃO DA MALÁSIA  
(*Macrobrachium rosenbergii*) E INFLUÊNCIA DA PERMEABILIDADE DA  
EMBALAGEM SOBRE SUA VALIDADE COMERCIAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Eliane Teixeira Mársico

Niterói

2012

**JULIA SIQUEIRA SIMÕES**

**PERFIL DE MACRONUTRIENTES E ACEITAÇÃO DO CAMARÃO DA MALÁSIA  
(*Macrobrachium rosenbergii*) E INFLUÊNCIA DA PERMEABILIDADE DA  
EMBALAGEM SOBRE SUA VALIDADE COMERCIAL**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovada em:

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eliane Teixeira Mársico – Orientadora  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Emília Teixeira  
Programa Nacional de Pós Doutorado - CAPES

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Micheli da Silva Ferreira  
Programa Nacional de Pós Doutorado - CAPES

---

Prof. Dr. Thiago Silveira Alvares  
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Niterói

2012

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Criador do Universo, pela oportunidade da vida, da família, dos obstáculos fortalecedores, mas acima tudo aos companheiros afins que encontramos pelo caminho.

Ao meu pai, José Almeida Simões, pelo exemplo de trabalho, luta, sabedoria e amor até os últimos instantes. A gratidão de tê-lo como pai e vivido grande parte da minha vida ao seu lado é reconfortante. A saudade será eterna.

À minha mãe, Lourdinha, por ter me dado a oportunidade da vida e de tê-la como exemplo de determinação, companheirismo e sabedoria.

À orientadora, Prof<sup>a</sup>. Eliane Teixeira Mársico pelo exemplo de profissional de generosidade, sabedoria e força.

Ao orientador Prof. Carlos Adam Conte Júnior, pelos ensinamentos teóricos, práticos e acima de tudo pelo exemplo de determinação, força e competência.

Aos meus irmãos, Guilherme e Gustavo, pelo apoio de sempre e exemplos de competência e profissionalismo.

À minha sobrinha, Clara, pela oportunidade de dividir momentos únicos em nossas vidas.

À minha cunhada, Flavia, pelos interrogatórios, questionamentos e por me ensinar que saber ouvir é uma grande virtude.

Ao Prof. Robson Maia Franco e Prof. Sergio Borges Mano pelos ensinamentos compartilhados.

A todos os Professores que tanto me auxiliaram nessa caminhada e, principalmente, pela generosidade em dividir ensinamentos e experiências.

Às amigas-irmãs, pelo apoio e incentivo e por compreenderem minha ausência necessária.

Às Basiletes, que me deram a oportunidade de dividir não apenas a nossa casa, mas instantes e ensinamentos que ficarão marcados por toda vida.

A todos os amigos e às famílias escolhidas, por estarem sempre ao meu lado, apoiando, vibrando e simplesmente, pela amizade tão longamente cultivada.

À Aquicultura Santa Helena, em especial ao Sydney e Anna Paula, que desde o início apoiaram e acreditaram no projeto e foram muito solícitos em nos fornecer amostras.

A todos que trabalham ativamente no Laboratório de Controle Químico, técnicos, estagiários e discentes pela disposição em auxiliar no que fosse necessário

Aos amigos construídos e solidificados durante o período de Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo auxílio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para que mais esse objetivo tenha sido alcançado.

## EPÍGRAFE

“Talvez meio caminho andado seja a gente acreditar no que faz. Mas acima de tudo, o que mais nos incentiva, que mais nos valoriza e também mais nos torna conscientes de nossa responsabilidade, é saber que outros creem em nós. E não há palavras que descrevam o que sentimos ao saber dos sacrifícios a que eles se impõem por crerem não apenas em nós, mas também no que cremos”.

(Albert Einstein)

## **BIOGRAFIA**

Graduada em Medicina Veterinária pela Universidade Vila Velha em 2010, Julia Siqueira Simões, brasileira, natural de Vitória - Espírito Santo, nascida em 1985, filha de José Almeida Simões e Maria de Lourdes Siqueira Simões, efetuou estágio durante seu período acadêmico no Laboratório de Referência Animal do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento no período de julho de 2006 a julho de 2007. No período de agosto a outubro de 2009 estagiou nos Laboratórios de Controle Químico e Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense - UFF, realizando análises de rotina laboratorial e auxiliando no desenvolvimento de experimentos da equipe discente da UFF.

No ano de 2011 ingressou no Curso de Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal como bolsista da CAPES. Em 2012 enviou trabalho para o XXIII Congresso Pan-Americano de Ciências Veterinárias e participou da equipe de desenvolvimento do Projeto de Auxílio à Pesquisa - APQ1 contemplado pelo Edital da FAPERJ de 2012.

## RESUMO

A carcinicultura de água doce apresenta como característica a produção de crustáceos com baixo impacto ambiental. Considerando este tipo de produção, o camarão da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) é a espécie mais difundida e cultivada. Assim sendo, objetivou-se no presente trabalho verificar a qualidade nutricional e sensorial deste camarão além de avaliar a influência da permeabilidade da embalagem na validade comercial desta matriz. Foram utilizados 3 Kg de camarão da Malásia para as análises da qualidade nutricional (umidade, proteínas, lipídio, cinzas e carboidrato), bacteriológica (contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) e psicotróficas (CBHAP), *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp., coliformes totais e coliformes termotolerantes) e os atributos sensoriais, através do teste de aceitação com um grupo de 50 julgadores não treinados. Visando estudar a validade comercial desta matriz utilizou-se 7 Kg de camarão da Malásia, subdivididos em dois tipos de embalagem: permeável (T1) e impermeável (T2) aos gases O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, e mantidos sob refrigeração controlada (1±1°C). Utilizou-se para esta avaliação parâmetros bacteriológicos, que incluíram CBHAM e CBHAP, e físico-químicos, como a determinação do pH, N-BVT, amônia, H<sub>2</sub>S e aminas biogênicas. Os resultados de composição centesimal do *M. rosenbergii* o caracterizaram como uma matriz de elevado valor nutricional. A aceitabilidade deste produto possuiu atributos próximos ao ideal e boa intenção de compra. Demonstrou-se também que a permeabilidade da embalagem não interferiu significativamente nos resultados dos parâmetros avaliados e que, em ambos os tratamentos, a validade comercial do camarão foi estabelecida em seis dias de estocagem. A avaliação da contagem de mesófilos foi o parâmetro determinante para avaliar a qualidade desta matriz alimentar nos tratamentos estudados. Possibilitou-se inferir ainda que os parâmetros físico-químicos de N-BVT e pH não foram os melhores indicadores para avaliar a qualidade nas condições do estudo, no entanto, as aminas biogênicas demonstraram potencial para serem utilizadas como índice de qualidade.

Palavras-chave: camarão da Malásia, oxigênio, embalagem, aminas biogênicas, mesófilos, qualidade



## ABSTRACT

Freshwater shrimp characterize the production of shellfish with low environmental impact. Considering this type of production, the freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) is the most widespread species and cultivated. Therefore, the aim of the present work is to investigate the nutritional and sensory quality of the shrimp and the influence of packaging permeability on shelf-life of this raw material. It was used 3 Kg of Malaysian freshwater prawn to analyse the nutritional quality (moisture, protein, lipid and ash), bacterial (heterotrophic bacteria count of aerobic mesophilic (HBCAM) and psychrotrophic (HBCAP), coagulase positive *Staphylococcus*, *Salmonella* spp., total and thermotolerant coliforms and sensory attributes by acceptance testing with 50 untrained panelists. In order to study the shelf-life, it was used 7 kg of freshwater prawn subdivided into two types of packaging: permeable (T1) and impermeable (T2) to O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> gases kept under controlled refrigeration (1±1 °C). Was used bacteriological parameters, which included CBHAM and CBHAP, and physico-chemical, as determination of pH, TVB-N, ammonia, H<sub>2</sub>S and biogenic amines. The chemical composition of *M. rosenbergii* showed it as high nutritional value raw material. The ideal acceptance showed good attributes and purchase intent. It was also demonstrated that the kind of treatment did not significantly interfere on the parameters results, and the shelf-life of this freshwater prawn was established in six days of storage. The evaluation of mesophilic count was the determining parameter for evaluating the quality and the physicochemical parameters of TVB-N and pH were not the best indicators to assess the quality, on this work conditions however, biogenic amines showed potential to be used as a quality index.

Keywords: malaysian shrimp, oxygen package, biogenic amines, mesophilic, quality

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** Desenho experimental, f. 36
- Figura 2** Despesca do camarão da Malásia realizada na Aquicultura Santa Helena, no município de Silva Jardim, RJ, f. 37
- Figura 3** Realização de abate por hipotermia em gelo filtrado ( $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), f. 38
- Figura 4** Separação dos crustáceos em grupos distintos. A embalagem da direita corresponde ao grupo T1, e a embalagem da esquerda ao grupo T2, f. 39
- Figura 5** Escala colorimétrica da Prova de Nessler. A - coloração do Reagente de Nessler; B - reação negativa; C - reação positiva; D - reação fortemente positiva, f. 45
- Figura 6** Resultado do teste de aceitação realizado com o camarão da Malásia (*M. rosenbergii*) nos diferentes atributos avaliados, f. 52
- Figura 7** Resultado da Escala do ideal estruturada em nove pontos para o atributo cor, f. 53
- Figura 8** Resultado da Escala do ideal estruturada em nove pontos para o atributo suculência, f. 53
- Figura 9** Resultado da Escala do ideal estruturada em nove pontos para o atributo maciez, f. 54
- Figura 10** Resultado do Teste de Intenção de Compra em escala estruturada de cinco pontos, f. 55
- Figura 11** Regressão linear da curva de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (a) e psicotróficas (b), demonstrando o comportamento bacteriano em valores reais de T1 ( $\Delta$ ); valores ajustados de T1 por DMFit 2.0 (—); valores reais de T2 (O) e valores ajustados de T2 por DMFit 2.0 (---), f. 56

- Figura 12** Valores de pH em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*) em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) ao O<sub>2</sub> armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 140 horas, f. 59
- Figura 13** Valores de N-BVT (mg/100g) em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) ao O<sub>2</sub> armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 6 dias, f. 60
- Figura 14** Cromatograma referente ao padrão das aminas biogênicas tiramina, agmatina, cadaverina, triptamina, histamina e espermina, f. 62
- Figura 15** Concentração de agmatina em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) ao O<sub>2</sub> armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 6 dias, f. 63
- Figura 16** Concentração de histamina em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 6 dias, f. 64
- Figura 17** Concentração de triptamina em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 6 dias, f. 65

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

®	Marca registrada
°C	Grau Celsius
ABCC	Associação Brasileira de Criadores de Camarão
ABs	Aminas Biogênicas
AOAC	“Association of Analytical Communities”
APHA	“American Public Health Association”
BVT	Bases Voláteis Totais
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DMA	Dimetilamina
Eh	Potencial de oxi-redução
FA	Formaldeído
FAO	“Food and Agriculture Organization”
FDA	“Food and Drugs Administration”
g	Grama
h	Hora
HCl	Ácido Clorídrico
Kg	Quilograma
L	Litro
M	Molar
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
mg	Miligramma
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MMA	Monometilamina
N	Normal
n°	Número
OTMA	Óxido de Trimetilamina
pH	Potencial Hidrogeniônico
SSP	Solução Salina Peptonada
T	Volume da solução de Ácido Tricloroacético
TMA	Trimetilamina
U	Umidade
UFC	Unidade Formadora de Colônia
V	Volume
WHO	World Health Organization

## SUMÁRIO

**RESUMO**, f. 7

**ABSTRACT**, f. 8

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**, f. 9

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**, f. 10

**1 INTRODUÇÃO**, f. 16

**2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**, f. 18

2.1 CAMARÃO DA MALÁSIA E PRODUTIVIDADE, f. 18

2.2 DETERIORAÇÃO DO PESCADO, f. 20

**2.2.1 Parâmetros analíticos físico-químicos**, f. 21

2.2.1.1 Bases voláteis totais e amônia, f. 22

2.2.1.2 pH, f. 23

2.2.1.3 Aminas biogênicas, f. 24

**2.2.2 Parâmetros analíticos bacteriológicos**, f. 27

**2.2.3 Parâmetros sensoriais**, f. 28

2.3 EMBALAGEM, f. 30

**3 MATERIAL E MÉTODOS**, f. 32

3.1 MATERIAL, f. 32

**3.1.1 Equipamentos**, f. 32

**3.1.2 Material de consumo e vidrarias**, f. 33

**3.1.3 Reagentes e soluções preparadas**, f. 35

## 3.2 MÉTODOS, f. 35

### **3.2.1 Obtenção e preparo das amostras, f 36**

### **3.2.2 Análises bacteriológicas, f. 39**

3.2.2.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, f. 40

3.2.2.2 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas, f. 40

3.2.2.3 Contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva, f. 40

3.2.2.4 Número Mais Provável de *Escherichia coli*, f. 41

3.2.2.5 Pesquisa de bactérias do gênero *Salmonella* spp. , f. 41

### **3.2.3 Análises físico-químicas, f. 42**

3.2.3.1 Composição centesimal, f. 42

3.2.3.1.1 Determinação de umidade, f. 42

3.2.3.1.2 Determinação de proteína, f. 42

3.2.3.1.3 Determinação de lipídio, f. 43

3.2.3.1.4 Determinação de cinzas, f. 43

3.2.3.1.5 Determinação de carboidrato, f. 43

3.2.3.2 pH, f. 44

3.2.3.3 Bases voláteis totais, f. 44

3.2.3.4 Amônia (NH<sub>3</sub>), f. 44

3.2.3.5 Gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S), f. 45

3.2.3.6 Identificação e quantificação de aminas biogênicas pelo Método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), f. 45

### **3.2.4 Avaliação sensorial, f. 46**

### **3.2.5 Tratamento estatístico dos resultados, f. 47**

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO, f. 49**

4.1 QUALIDADE REFERENTE À MATÉRIA-PRIMA, f. 49

**4.1.1 Qualidade microbiológica, f. 49**

**4.1.2 Qualidade nutricional, f. 50**

**4.1.3 Qualidade sensorial, f. 51**

4.2 VALIDADE COMERCIAL, f. 55

**4.2.1 Parâmetros bacteriológicos, f. 55**

**4.2.2 Parâmetros físico-químicos, f. 58**

**5 CONCLUSÕES**, f. 67

**6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, f. 68

**7 APÊNDICES**, f. 79

7.1 ARTIGO SUBMETIDO A PERIÓDICO, f.79

7.2 PROJETO CONTEMPLADO POR ÓRGÃO DE FOMENTO, f. 79

**8 ANEXO**, f. 80

## 1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é um setor de produção alimentícia que tem crescido rapidamente nos últimos 50 anos no cenário mundial (FAO, 2010). No Brasil, esta atividade zootécnica tem se destacado para o pequeno e médio produtor devido à possibilidade de aumentar a produtividade regional (MORAES-RIODADES; VALENTI, 2001; New et al., 2010).

A carcinicultura de água doce, na última década, obteve reconhecimento na produção de crustáceos em função de fatores relacionados ao baixo impacto ambiental, adaptação ao sistema familiar, atendimento aos preceitos da aquicultura sustentável, viabilidade econômica, potencial mercado para exportação e utilização de sistemas de policultivo com outros peixes diversificando a fonte de renda e aumentando a rentabilidade da produção (NEW et al., 2000; MORAES-RIODADES; VALENTI, 2001).

Entretanto, o pescado de uma forma geral, apresenta aspectos fisiológicos e bioquímicos que propiciam condições intrínsecas favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos como elevada atividade de água, pH próximo da neutralidade, rápida ação de enzimas autolíticas, presença de gordura insaturada e grande quantidade de nutrientes facilmente utilizáveis pela microbiota.

No entanto, o processo de degradação nos camarões ocorre mais rapidamente do que nos peixes devido à elevada quantidade de metabólitos de baixo peso molecular resultante da autólise do hepatopâncreas (MADRI, 1998; SRIKET et. al, 2010). Substâncias não nitrogenadas e aminoácidos livres servem como substrato para o desenvolvimento de microrganismos. Outro fator de relevância são as alterações degradativas físico-química como oxidação de lipídios e hidrólise de proteínas, que formam compostos voláteis como amônia e gás



sulfídrico, e não voláteis como as aminas biogênicas (SILVA et al., 2011; MONTEIRO et al., 2012).

As aminas biogênicas, além da fundamental importância para a saúde pública, são consideradas critérios para avaliação de qualidade de vários produtos (ZHAO et al., 2007). A partir da última década, diversos métodos têm sido utilizados para a determinação de aminas biogênicas para pescado (YEH et al., 2006; CINQUINA et al., 2004; JEYA et al., 2001). No entanto, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a técnica mais utilizada para as diferentes matrizes alimentícias pela seletividade, sensibilidade, boa versatilidade e em função da facilidade do tratamento da amostra até a injeção no equipamento (MORET; CONTE, 1996).

Uma matriz alimentar perecível, quando conservada em atmosfera normal, apresenta a validade comercial limitada, em função do oxigênio atmosférico e desenvolvimento de microrganismos aeróbios, responsáveis por alterações de cor, odor, sabor e textura, que culminam com a perda da qualidade do produto (PARRY, 1993; MANO, ORDÓÑEZ e FERNANDO, 2002; CONTE-JUNIOR et al., 2010). No entanto, Davis (1995) evidenciou que a utilização de oxigênio na embalagem reduz a exsudação durante estocagem de peixes, o que poderia favorecer o aumento da validade comercial. Apesar da literatura pontuar diferentes embalagens para pescado (MONTEIRO et al., 2012; PACQUIT et al., 2007; LOPES et al., 2004), ainda é possível inferir sobre a que melhor se aplica à conservação de crustáceos, quando se correlaciona o binômio custo x benefício.

Tendo como base os aspectos supracitados, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência da permeabilidade de embalagens com barreira multicamadas na validade comercial do *Macrobrachium rosenbergii* armazenado sob temperatura controlada ( $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), a partir de parâmetros físico-químicos, bacteriológicos e sensoriais. Objetivou-se ainda determinar a composição centesimal, a aceitação desta espécie frente ao consumidor, o tipo de embalagem mais eficiente e apontar os parâmetros analíticos mais adequados para avaliar a qualidade do camarão dulcícola.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A presente fundamentação teórica visa fornecer informações sobre a espécie estudada incluindo a produtividade, aspectos de qualidade do pescado, assim como, abordar características das embalagens utilizadas.

### 2.1 CAMARÃO DA MALÁSIA E PRODUTIVIDADE

O gênero *Macrobrachium* é o maior da família *Palaemonidae*, podendo atingir 32cm e pesar 500g. O camarão da Malásia, *Macrobrachium rosenbergii*, foi uma das primeiras espécies dulcícolas a se tornar cientificamente conhecida (VALENTI, 2002; NEW et al., 2010). É considerada espécie rústica, precoce, fecunda, fértil e prolífica, adaptando-se bem à criação em cativeiro, por resistir bem às variações físico-químicas do ambiente, principalmente climáticas (VALENTI, 1996).

A espécie é originária do Sul e Sudeste Asiático e de algumas ilhas do Pacífico, podendo habitar lagos, rios, canais e áreas estuarinas, porém a preferência é habitar áreas de extrema turbidez. Por ser a espécie mais facilmente cultivada e adaptável às regiões, o *M. rosenbergii* tem sido importado mundialmente para outras zonas tropicais e subtropicais. Na última década constatou-se que os maiores produtores foram Bangladesh, Brasil, China, Equador, Índia, Malásia, Taiwan e Tailândia (FAO, 2002; VALENTI, 2002; NEW et al., 2010).

A aquicultura moderna desta espécie teve sua origem no início da década de 1960, porém foi reforçada quando a FAO descobriu que a larva do camarão acima de 5 dias, necessitava de água salobra para se desenvolver, fato não observado anteriormente devido aos produtores coletarem os adultos cerca de 160 km longe da costa. Este fator propiciou que os produtores conhecessem as características

fisiológicas das larvas e favoreceu o início da produção zootécnica (NEW et al., 2010).

No Brasil, a espécie foi primeiramente reportada em 1977 pela Universidade Federal de Pernambuco que a importou para estudos e expansão comercial, que foi consolidado na década de 1990. O camarão demonstrou excelente adaptação às condições ambientais do país, favorecendo a proposta de criação (VALENTI, 1993; NEW et al., 2010). Nesta mesma década, a produção se estabilizou em aproximadamente 500 toneladas anuais (FAO, 2003), o que corresponde a cerca de 20% do volume total produzido pelo setor de camarões marinhos. Historicamente, este percentual sempre foi ao redor de 5%, permitindo assim inferir sobre a expansão da carcinicultura dulcícola (VALENTI, 1999).

O cultivo de camarões de água doce é relativamente mais simples do que a carcinicultura marinha, podendo ser realizada em propriedades de pequeno, médio e grande porte, localizadas próximas ao interior ou ao litoral. A produtividade varia conforme o sistema de cultivo empregado e as condições climáticas, mas geralmente, sistemas semi-intensivos produzem entre 500 e 5.000kg/ha/ano (NEW et al., 2010).

A tecnologia de produção está relativamente bem desenvolvida e o camarão atinge bons preços nos mercados nacionais e internacionais devido ao tamanho e sabor da carne. As instalações necessárias para a criação causam menor impacto ambiental quando comparadas ao camarão marinho, que utiliza área de mangues para a construção de viveiros de cultivo (NEW et al. 2000). Além disso, o crustáceo pode ser cultivado em associação com outras espécies de peixes dulcícolas, diversificando a fonte de renda e aumentando a rentabilidade da produção (VALENTI, 1999).

As estatísticas de produção são de difícil obtenção, pois geralmente estes crustáceos são produzidos por pequenos proprietários rurais e têm consumo local. Além disso, a FAO contabiliza “crustáceos dulcícolas” e dentre eles o gênero *Macrobrachium*, o que não permite uma fidelidade na estatística (FAO, 2010; VALENTI, 1998).

## 2.2 DETERIORAÇÃO DO PESCADO

A garantia de uma alimentação balanceada está relacionada à ingestão de complexos moleculares constituídos por água, carboidratos, lipídios, proteínas, vitaminas e sais minerais. Dentre as diversas fontes, os produtos de origem animal apresentam destaque e, atualmente, o pescado tem sido apontado como opção para o apelo de consumo de proteína de alto valor biológico e fração lipídica com relevante quantidade de ácidos graxos da série ômega-3 ( $\Omega$ -3) representada pelos ácidos alfa-linolênico, eicosapentaenoico e docosahexaenoico, que ingeridos em proporções adequadas geram inúmeros benefícios ao organismo humano, incluindo ações anti-inflamatórias e antitrombóticas (FURUYA et al., 2006).

No entanto, algumas características intrínsecas do pescado como a alta atividade de água, pH próximo da neutralidade e a presença de enzimas autolíticas, o torna altamente perecível. Os processos degradativos são resultantes de alterações ocasionadas pela oxidação de lipídios, ação de enzimas autolíticas e pela atividade metabólica de microrganismos que ocasionam alterações de sabor, odor e maciez do produto (SIVERTSVIK et al., 2002). Os crustáceos apresentam relevância no grupo de pescado por serem matrizes bastante consumidas e apreciadas tanto no mercado nacional quanto no mercado internacional.

Imediatamente após a morte do crustáceo, a degradação mais significativa que ocorre são as alterações bioquímicas decorrentes da autólise do hepatopâncreas. O órgão deteriorado permite a liberação de enzimas que entrarão em contato com a musculatura originando o fenômeno denominado “mushiness” que por definição significa a não resistência à mordida, consistência mole e facilidade de separação da musculatura em flocos (MADRI, 1998). A deterioração nos camarões ocorre mais rapidamente do que nos peixes devido à elevada quantidade de metabólitos de baixo peso molecular, como aminoácidos livres, que se tornam disponíveis para o metabolismo bacteriano.

Fatores exógenos como a temperatura de armazenamento, tipo de processamento e métodos de conservação vão definir se a degradação ocorrerá em sua maioria por alterações microbiológicas e/ou bioquímicas (VINAGRE et al., 2012) Desta forma, é fundamental que, a partir da despesca, sejam adotadas medidas que

reduzam ao mínimo a ação de tais fatores, com a finalidade de se obter um produto final em condições adequadas para consumo (ESAIASSEN et al., 2004).

### **2.2.1 Parâmetros analíticos físico-químicos**

Conforme descreve Oetterer (2010), o *rigor mortis* no pescado atinge o auge na 6ª hora após captura. No entanto, esta fase pode durar de 2 a 18 horas, considerando a grande variedade de espécies que compõe este grupo, além de sofrer interferência de fatores externos como o tipo de captura, a cadeia de frio e a higiene do processo. Ao final desta fase, inicia-se o processo de degradação com proteólise e formação de peptídeos e aminoácidos livres, ocasionando alteração da textura. Além disso, ocorre o desprendimento de metabólitos voláteis, como bases nitrogenadas e amônia, responsáveis pelo odor característico desta etapa (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Além de alterações na fração proteica, a fração lipídica do pescado também é afetada, ocorrendo em uma primeira etapa a formação de peróxidos, moléculas altamente instáveis, que geram os hidroperóxidos que, apesar de não alterarem o sabor, podem levar ao aparecimento de colorações amareladas no tecido. Em seguida, ocorre a degradação dos hidroperóxidos, originando aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos, que causam o sabor e odor característicos de ranço (HUSS, 1997).

Alguns autores (OGAWA; MAIA, 1999; VIERA et al., 2003) destacam a importância da refrigeração e do congelamento no aumento do período de validade comercial do pescado, permitindo que produtos frescos estejam disponíveis em locais distantes aos de captura. Além disso, Tancredi et al. (2001), afirmam que é imprescindível atender às normas sanitárias, especialmente relativas às condições adequadas de temperatura na exposição e armazenamento do pescado como forma de prevenir alterações e riscos ao consumidor. Caso haja condições impróprias de armazenamento e temperatura (acima de 10°C), o pescado se deteriora rapidamente, principalmente por proteólise, sua forma predominante de autólise.

### 2.2.1.1 Bases voláteis totais e amônia

Na deterioração do pescado, são formados, dentre outros metabólitos, compostos nitrogenados denominados Bases Voláteis Totais (N-BVT), que incluem a Trimetilamina (TMA), Dimetilamina (DMA), Monometilamina (MMA), traços de propilamina e amônia ( $\text{NH}_3$ ) (PEREIRA et al., 200; ZHU et. al, 2012). Contreras-Guzmán (2002) salienta que, sob refrigeração, a degradação do Óxido de Trimetilamina (OTMA) gera principalmente TMA e, sob congelamento, DMA, MMA e formaldeído (FA) endógeno. As maiores alterações químicas associadas à deterioração estão relacionadas à produção de BVT, principalmente TMA e amônia ( $\text{NH}_3$ ). Vários autores fazem referência a determinação de N-BVT como indicador de qualidade para peixes marinhos (Lu et. al, 2009; Reza et al., 2009)

No caso específico de peixes marinhos, o OTMA, através da ação de enzimas bacterianas (desaminases), decomposição enzimática ou ainda por degradação não-enzimáticas, se reduz em TMA, que por sua vez gera DMA e FA (TIMM; JORGENSEN, 2002; CINTRA et al., 1999). Apesar do OTMA ser inodoro, quando é reduzido à TMA produz alterações no odor, alterando a qualidade do pescado, perceptível por ser uma amina volátil com odor forte e desagradável (DYER, 1945; ZHU et. al, 2012).

A amônia é resultante, principalmente, da desaminação oxidativa e de componentes proteicos da musculatura do pescado (KAI; MORAIS, 1988; ZHU et al., 2009) sendo a base volátil mais representativa no início do processo degradativo do pescado (OGAWA; MAIA, 1999). Outra via de produção da amônia é a desaminação bacteriana de aminoácidos, aumentando significativamente seus níveis após a primeira semana de estocagem (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; CHYTIRI et al., 2004).

A prova de Nessler é um parâmetro qualitativo que determina a presença de amônia a partir de uma reação colorimétrica (Li-qiong e Yong, 2011). Outra forma de avaliar a presença de amônia, em conjunto com outras bases voláteis, é através da avaliação quantitativa do N-BVT (AOAC, 2005).

Peixes em excelente estado de frescor, apresentam teor de N-BVT variando de 5 a 10 mg N/100g carne, com média conservação entre 15 e 25 mg N/100g de carne e, em estágio avançado de deterioração este teor pode atingir de 30 a 40 mg

N/100g (OGAWA; MAIA, 1999). A Portaria nº 185 (BRAZIL, 1997) aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco e estabelece o limite de 30 mg N/100g para peixes de qualquer espécie. Apesar da análise de N-BVT ser de fácil realização, Huss (1995) menciona que este parâmetro revela apenas estágios mais avançados de decomposição, não indicando o processo inicial de deterioração, seja de origem autolítica ou bacteriana.

Além disso, o pescado dulcícola apresenta baixas concentrações de OTMA (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994) não havendo redução enzimática significativa em TMA, DMA e FA, não sendo, portanto conveniente confrontar resultados deste parâmetro com o limite preconizado para pescado marinho (MÁRSICO; MANO, 2008). A partir desta característica intrínseca, alguns autores indicam que o N-BVT não seja utilizado como indicador de qualidade para este grupo (CHYTIRI, 2004; TEJADA e HUIDOBRO; 2002) e Gimenez et al., 2002 e Ojagh et. al (2012) propuseram o valor de 25 mg N/100g como o limite máximo aceitável para pescado dulcícola.

#### 2.2.1.2 pH

A atividade enzimática e a ação bacteriana sobre a matriz alimentar ocasionam a decomposição de moléculas e alteram a concentração de íons hidrogênio livre, ocasionando variações de pH no pescado. Além disso, a produção de amônia por degradação de nucleotídeos e desaminação de aminoácidos são fatores fundamentais para alterar o valor do pH e caracterizar perda de qualidade (OGAWA; MAIA, 1999).

Imediatamente após a morte, o pescado se encontra em pré *rigor mortis*, com duração de 1 a 2 horas, etapa onde o glicogênio e a adenosina trifosfato (ATP) encontram-se combinados à miosina, conferindo ao pescado uma carne macia (OLIVEIRA, 2004). Após essa fase, têm-se o início do *rigor mortis*, caracterizado pelo progressivo enrijecimento da musculatura do animal devido à redução dos níveis de ATP (KUBITZA, 2000). Barros (2003) descreve que é nessa fase que o pescado se encontra em seu mais alto grau de frescor devido ao pH ácido que desfavorece a ação microbiana e controla a ação enzimática. A duração deste

estágio é variável e depende de fatores como manejo, captura, higiene e temperatura.

Quando há intenso estresse pré abate, os animais entram e saem do estado do *rigor mortis* mais rapidamente, ocasionando a redução na reserva de glicogênio, com menor acúmulo de ácido lático na musculatura. Desta forma, o pH da carne fica próximo à neutralidade, favorecendo a ação das enzimas musculares, o desenvolvimento bacteriano e consequente degradação da carne. Portanto, quanto maior a duração do *rigor mortis*, mais lentas serão as alterações da carne e maior será a validade comercial do produto após o processamento.

A despesca nas unidades de produção deve ser rápida e o crustáceo não deve permanecer muito tempo na rede. O abate deve ser feito por choque térmico em água limpa, de preferência hiperclorada, com gelo em quantidade suficiente para manter a temperatura da água em torno de 4 a 6°C (K UBITZA, 2000).

Após a fase de *rigor mortis*, instala-se o *rigor post-mortem*, estágio caracterizado pelo momento em que a actomiosina é degradada por enzimas proteolíticas. Nesta fase ocorre o amolecimento da carne e, devido à hidrólise proteica, ocorre a formação de peptídeos e aminoácidos livres, que favorecem a ação dos microrganismos endógenos e exógenos, originando substâncias nitrogenadas voláteis ou não voláteis que favorecem o aumento gradativo do pH (OLIVEIRA, 2004). No entanto, as mudanças de pH diferem significativamente de acordo com a espécie do pescado e com a época do ano (SIQUEIRA, 2001; LI et al., 2012).

### 2.2.1.3 Aminas biogênicas

Aminas biogênicas são compostos básicos nitrogenados de baixo peso molecular que apresentam atividade biológica. As estruturas químicas são distintas, podendo apresentar cadeia alifática (putrescina, cadaverina, espermina, espermidina), aromática (tiramina, feniletilamina) ou heterocíclica (histamina, triptamina) (KIRSCHBAUM et al, 1994; LANDETE et al., 2005).

A aminas putrescina, espermina e espermidina estão presentes em plantas e animais e, em baixas concentrações, apresentam variadas funções no organismo como ação antioxidante, fatores de crescimento, regulação de ácidos nucleicos,



síntese proteica e a estabilização de membranas. Existe ainda a classe das aminas denominadas catecolaminas, indolaminas e histamina que apresentam importante função metabólica em humanos, especialmente no sistema nervoso e no controle da pressão sanguínea (RAUSCHER-GABERNIG et al., 2012).

As aminas biogênicas geralmente não representam risco para a saúde humana a não ser que uma grande quantidade seja ingerida ou que haja alguma inibição ou deficiência metabólica que impeça o catabolismo das mesmas. Sob condições normais, uma amina absorvida através de alimentos é rapidamente metabolizada através de reações de acetilação e oxidação mediadas por enzimas monoamino-oxidase, diamino-oxidase, poliamino-oxidase e histamina N-metiltransferase (BARDÓCZ, 1995; LEHANE; OLLEY, 2000).

A intoxicação causada por aminas biogênicas está principalmente relacionada com a histamina, no entanto, putrescina, cadaverina e agmatina são identificadas como potencializadoras da toxicidade da histamina em humanos, por causarem a diminuição da oxidação e aumentarem a absorção intestinal da histamina. Alguns sintomas típicos são observados, incluindo náusea, sudorese, dor de cabeça, hiper ou hipotensão e diferentes graus de reações alérgicas. A dose intoxicante é altamente dependente da eficiência do mecanismo de desintoxicação do organismo em diferentes indivíduos, por esta razão, existe a dificuldade em estipular a dose tóxica da histamina (KALKAN et al., 2007; SILVEIRA et al., 2001; HUNGERFORD, 2010).

Os limites permitidos para a presença de aminas biogênicas é variável entre diversos países. No Brasil, o limite máximo estabelecido é de até 10mg.100g<sup>-1</sup> de amostra para peixes da família *Scombridae*, *Clupeidae*, *Coryphanenidae*, *Pomatomidae*. A Comunidade Europeia (2005) permite o limite de até 20mg.100g<sup>-1</sup> para espécie de peixes com potencial para a formação de histamina, enquanto a "Food and Drug Administration" - FDA estabelece o limite de 5mg.100g<sup>-1</sup> (FDA, 2001). Entretanto, até o presente momento, não existem valores estabelecidos para crustáceos, especificamente o camarão da Malásia.

As aminas biogênicas estão presentes em grande variedade de alimentos incluindo pescado, carne, leite e seus derivados, além de vinho, cerveja, vegetais e chocolate. Todos os alimentos proteicos ou que contenham aminoácidos livres estão sujeitos a condições que permitem atividade microbiana ou bioquímica e, portanto, a

produção de aminas biogênicas (SHALABY, 1996; SILLAS-SANTOS, 1996). A descarboxilação de proteínas geram aminoácidos livres em concentrações elevadas, fator favorável à multiplicação de microrganismos descaboxilase-positivos (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

A concentração de aminas biogênicas em alimentos pode ser utilizada como índice de qualidade, visto que o aumento da atividade microbiana eleva as concentrações de enzimas descarboxilases, originando estes compostos básicos nitrogenados (SILVEIRA et al., 2001; MORENO et al., 2003). A determinação das concentrações de histamina, tiramina, putrescina e cadaverina é de extrema importância, não apenas pelo aspecto de toxicidade, mas também como indicador de frescor, diretamente relacionado a inadequadas condições sanitárias durante a produção do alimento (ALBERTO, et al., 2004; GALGANO et al., 2009).

As enzimas proteolíticas provocam a decomposição, propiciando a disseminação de microrganismos endógenos. Além da microbiota normal, os microrganismos contaminantes podem ser incorporados durante a captura e, principalmente, na sua manipulação (JAY, 2005; BRANDÃO et al., 2007).

Fatores intrínsecos desta matriz, juntamente com as falhas nas condições higiênico-sanitárias desde a captura até o beneficiamento, aliados a temperaturas inadequadas durante armazenamento, transporte e comercialização são fatores que favorecem sua deterioração e a produção de aminas biogênicas (SOCCOL, 2002).

Estudos referentes à ocorrência de histamina em camarão relatam a ocorrência de bactérias mesófilas e psicrotólicas. Bactérias da família *Enterobacteriaceae* são as mais ativas no processo de descarboxilação da histidina, destacando-se as espécies *Enterobacter* spp., *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Hafnia alvei*, e os gêneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas* e *Clostridium* (MAVROMATIS, 2002; EMBORG, 2005; TSAY et al., 2005).

Halász et al. (1994) demonstraram que a forma mais eficiente de inibir a produção de aminas biogênicas é através do controle de temperatura. Verificaram que a 10°C a formação de histamina é reduzida e a 5°C é controlada, devido ao lento desenvolvimento de microrganismos capazes de atuar sobre os aminoácidos livres.

### 2.2.2 Parâmetros analíticos bacteriológicos

A autólise exerce um papel muito importante na deterioração do pescado, no entanto, menos acentuada do que a degradação bacteriana. A grande maioria dos microrganismos que atua sobre o pescado, apresenta atividade proteolítica e/ou lipolítica contribuindo para a desintegração dos tecidos e para uma série de transformações bioquímicas indesejáveis que levam à total decomposição do pescado (NETTO, 1984; ZHU et. al, 2012).

O pescado vivo e saudável tem integridade de superfície corporal funcionando como uma barreira às bactérias. Quando a autólise se instala, a superfície do pescado se torna permeável às bactérias e açúcares compostos são liberados, constituindo assim um meio nutritivo para o desenvolvimento bacteriano (MUKUNDAN et al., 1986).

A microbiota predominante no pescado é determinada por fatores intrínsecos, como o pH *post-mortem* da carne, presença de OTMA e compostos nitrogenados não proteicos, assim como por fatores extrínsecos, como o habitat, temperatura, higiene na manipulação e atmosfera da embalagem (CARDOSO et al., 2003). Entre os principais gêneros responsáveis pelas alterações sensoriais e que fazem parte da microbiota natural do pescado, podem ser citados *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Aeromonas* e *Alteromonas*. Estes microrganismos possuem a capacidade de utilizar aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não proteicas como fonte de nutrientes, por isso, após o término do *rigor mortis* originam compostos como TMA, ésteres, gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) e outras substâncias com aroma desagradável e pronunciado. Este é o processo que resume a deterioração de origem bacteriana (FRANCO; LANDGRAF, 1996; CHYTIRI, 2004).

A classificação dos microrganismos pode ser de acordo com a temperatura ideal de multiplicação. O grupo dos mesófilos é o que tem a temperatura ótima de multiplicação entre 25°C e 40°C, mínima entre 5°C e 25°C e máxima entre 40°C e 50°C. A contagem de mesófilos é geralmente utilizada para avaliar a qualidade sanitária dos alimentos, podendo indicar deficiência durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura. Alta contagem de microrganismos mesófilos significa, portanto, que houve condições favoráveis para multiplicação (FRANCO; LANGRAF, 1996).

O grupo dos psicotróficos apresenta temperatura ótima de multiplicação entre 0°C e 7°C, portanto, a contagem desses microrganismos permite avaliar o grau de deterioração de alimentos refrigerados. No entanto, existem bactérias mesofílicas capazes de se adaptar às baixas temperaturas e assumirem características psicotróficas (GOU et al., 2010). A maioria dos alimentos apresenta alterações sensoriais detectáveis com contagens de mesófilos e/ou psicotróficos superiores a  $10^6$  UFC/g, sendo que para alguns são necessários  $10^7$  ou  $10^8$  UFC/g (FRANCO; LANGRAF, 1996).

As bactérias psicotróficas, especialmente do gênero *Alteromonas* e *Flavobacterium* produzem a enzima óxido de trimetilamina redutase, que reduz o OTMA à TMA, sendo este um dos principais componentes relacionados ao odor característico de pescado em deterioração. Entretanto, a quantidade significativa de TMA é produzida somente quando as bactérias atingem a fase de multiplicação, que coincide com o fim do *rigor mortis* (OGAWA; MAIA, 1999; SIVERTSVIK et al., 2002).

Nos estágios finais de deterioração do pescado, bactérias do gênero *Pseudomonas*, *Alteromas*, entre outros, decompõem aminoácidos sulfurados como a metionina, cistina e cisteína, resultando na formação de compostos como o gás sulfídrico ( $H_2S$ ) e metilmercaptana ( $CH_3SH$ ), que alteram as características sensoriais do pescado (OGAWA; MAIA, 1999; SIVERTSVIK et al., 2002).

Importante ressaltar que a carcinicultura apresenta uma grande vantagem em relação à pesca que é a possibilidade do monitoramento da qualidade da água, não somente em relação aos microrganismos, mas também no controle de outros contaminantes como elementos traços e pesticidas (SOCCOL; OETTERER, 2003).

### **2.2.3 Parâmetros sensoriais**

Nas décadas de 1940 e 1950, o setor alimentício forneceu os primeiros suportes a favor da análise sensorial, que se tornou reconhecida e iniciou o desenvolvimento de uma metodologia mais elaborada para medir a aceitação de alimentos e a identificação de preferências (STONE e SIDEL, 2004). Além disso, a indústria passou a ter como objetivo a obtenção de produtos de qualidade sensorial apropriada e garantir a segurança da saúde do consumidor, visando atender o mercado mais exigente e se tornar mais competitiva (CHAVES, 1993).

A avaliação sensorial de alimentos é conceituada como uma disciplina utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações dos julgadores frente às características dos alimentos e outros produtos de consumo, e da forma como são percebidos pelo sentido da visão, olfato, paladar, tato e audição, enfatizando a importância desta forma de medida e do tratamento dos dados da avaliação sensorial (CHAVES, 2001).

As primeiras alterações sensoriais no pescado, que ocorrem durante o período de armazenamento, estão relacionadas com o odor, a aparência e a textura, no entanto, variam consideravelmente com relação à espécie e método de conservação. Conforme descrevem Beirão et al. (2000), a avaliação sensorial é a mais frequente na indústria de pescado e derivados, tanto pela necessidade da rapidez do julgamento de lotes de matéria-prima e produto final, como pela facilidade de execução, sendo uma importante ferramenta na avaliação da qualidade e da validade comercial (SOARES et al., 1998).

Os testes afetivos estão inseridos nos métodos sensoriais, que buscam a opinião do consumidor, como aceitação ou preferência do produto, podendo ser analisados de forma individual ou relacionados a outros produtos. Têm como principal objetivo avaliar a resposta pessoal, preferência ou aceitação de um consumidor em potencial, ter uma ideia da aceitação ou avaliar uma característica exclusiva de um determinado produto. Dentre os testes afetivos, a Escala de Atitude e Escala Hedônica são os métodos mais utilizados para medir a aceitação de produtos (BERGARA-ALMEIDA; SILVA, 2002; CHAVES; SPROESSER, 2002).

Para mensurar a aceitação de um produto, a escala hedônica de nove pontos é o método mais usual e utilizado extensivamente com uma grande variedade de produtos e com considerável sucesso, por ser facilmente compreendido pelos julgadores, fornecer informações sobre os produtos, além de determinar a aceitação em caso de modificações na formulação, nos processamentos, matérias-primas, embalagens, condições de estocagem e no tempo de conservação (CHAVES; SPROESSER, 1996; STONE; SIDEL, 2004).

A escala hedônica é utilizada para indicar o grau de aceitabilidade ou rejeição do produto, sendo que os melhores resultados são obtidos através de escalas balanceadas, tendo número igual de categorias positivas e negativas, variando gradativamente desde “gostar” até “desgostar”. (BERGARA-ALMEIDA; SILVA,

2002). Adotando-se a escala hedônica de nove pontos, a análise pode ser dividida em etapas com a avaliação de diferentes atributos, e os provadores recebem informações suficientes para que possam avaliar cada amostra e que os resultados possam ser analisados posteriormente por testes estatísticos (SIMÕES et al., 1998).

Os testes de aceitação necessitam de equipes com um grande número de julgadores (acima de 30) que representem a população de consumidores atuais ou potenciais do produto, o que permite obter uma indicação do produto que deverá receber maior atenção pela possibilidade de se tornar comercialmente viável (GRIZOTTO; MENEZES, 2003; COSTELL et al., 2010; FERRAZ et al. 2012). No entanto, por necessitarem de elevado número de provadores, estes testes não devem ser utilizados para controle de qualidade na produção de alimentos (CHAVES, SPROESSER; 2002).

Vale ressaltar que o grau de aceitabilidade de um alimento por parte dos consumidores é altamente afetado por fatores próprios de cada indivíduo e pelo ambiente ao seu redor, como por exemplo, os hábitos e padrões culturais; os prejuízos a respeito das expectativas sobre um produto; a fidelidade a determinadas marcas, que fazem com que o consumidor não mude de produto; a higiene e o local de consumo; o tipo e o número de acompanhantes. Desta forma, as informações obtidas devem ser interpretadas em conjunto com as análises físico-químicas e microbiológicas (RUIVO, 1988; DASSO, 1999).

### 2.3 EMBALAGEM

O setor produtivo identificou a evolução e as vantagens das técnicas de acondicionamento. O setor produtivo tem interesse em embalagens racionais e econômicas e, a distribuição dos produtos requer uso de embalagens que garantam aumento da validade comercial; e os consumidores almejam a característica de assegurar a qualidade do alimento, a praticidade e que não danifique o meio ambiente. No entanto, a escolha do material é de extrema importância, visto que algum equívoco na escolha do mesmo pode trazer repercussões graves em termos econômicos (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; SILVESTRE et al., 2011).

A embalagem alimentar apresenta inúmeras funções, dentre as principais pode-se destacar: proteção do alimento a danos mecânicos; ser barreira a gases e

vapores; prevenir ou retardar as degradações físicas e biológicas; facilitar o transporte e o armazenamento; apresentar o produto de forma atraente; apresentar informações e, ser facilmente reciclável (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; SIMPSON e CAVERIC, 2004).

A estrutura de uma embalagem, independente do material polimérico utilizado, apresentará espaços, mesmo que muito pequenos. No entanto, quanto maior a rigidez entre as ligações moleculares, menor será a permeabilidade e então maior o efeito barreira. Assim como, quando há uma maior elasticidade, maior a permeabilidade e menor o efeito barreira (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; GHOLIZADEH, 2012).

Algumas variáveis afetam a permeabilidade da embalagem aos gases, podendo citar a umidade relativa, que pode aumentar a taxa de difusão dos gases na embalagem, a pressão e a temperatura, que são diretamente proporcionais à permeabilidade, e a espessura que, quanto maior, melhor sua propriedade barreira (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998; SIMPSON, 2009).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O material utilizado e os métodos adotados neste estudo serão expostos nos itens subsequentes com o intuito de esclarecer a respeito da realização do presente experimento.

#### **3.1 MATERIAL**

O material utilizado no experimento será listado a seguir, sendo dividido em equipamentos, material de consumo e vidraria, reagentes e outros.

##### **3.1.1 Equipamentos**

- Autoclave
- Estufa - Fabbe<sup>®</sup>
- Balança analítica – Modelo AM 550<sup>®</sup>
- Banho-maria - Fanem<sup>®</sup>
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência - Shimadzu<sup>®</sup> SPD – 10AV
- Contador de colônia tipo Quebc<sup>®</sup>
- Destilador - Quimis<sup>®</sup>
- Estufa - Fanem<sup>®</sup>
- Homogeneizador do tipo “Stomacher”
- Liquidificador - Osterizer<sup>®</sup>
- Peagâmetro - Digimed<sup>®</sup>



- Termoseladora – Tecmaq<sup>®</sup> Modelo AP 450
- Fogão - Brastemp<sup>®</sup>
- Agitador / aquecedor – Fanem<sup>®</sup> 258
- Refrigerador - Eletrolux<sup>®</sup>
- Placa aquecedora;
- Bloco digestor - Gerhardt<sup>®</sup>
- Destilador de Kjeldahl - Labconco<sup>®</sup>
- Aparelho de Soxhlet - Quimex<sup>®</sup>
- Concentrador de amostras
- Purificador de água (Milli-Q Pore)
- Infravermelho
- Câmara de ultravioleta

### **3.1.2 Material de consumo e vidrarias**

- Papel de filtro Whatman<sup>®</sup> nº1
- Bastões de vidro
- Provetas (25, 50, 100 e 250 mL)
- Béqueres (50, 250 e 500 mL)
- Erlenmeyer (250, 500 mL e 2L)
- Balão volumétrico (50 e 100 mL)
- Frascos Kitasato
- Funil de Buchner
- Placas de microdifusão de Conway com tampa de vidro
- Pipetas graduadas (2, 5, 10 e 20 mL)
- Gral e pistilo

- Pinças de metal
- Estantes
- Espátula
- Algodão
- Barbante
- Filme policloreto de vinila
- Embalagem Cryovac<sup>®</sup> BBL4
- Caixa isotérmica de poliestireno expandido
- Bandeja de aço inox
- Seringas para CLAE
- Gelo
- Bandeja de poliestireno expandido
- Vaselina sólida
- Buretas (5 mL e 25 mL)
- Erlenmeyer com rolha de vidro esmerilhada
- Cápsulas de porcelana
- Água destilada
- Água ultrapura
- Álcool 70% v/v
- Tubos de ensaio rosqueados
- Tubos de hidrólise para destilação
- Ponteiras Kartell<sup>®</sup> (100 e 1000  $\mu$ L)
- Eppendorf Kartell<sup>®</sup> (1,5 mL)
- Placas de Petri descartáveis 90 x 15 mm sem divisória
- Sacos esterilizados
- Bico de Bunsen

### 3.1.3 Reagentes e soluções preparadas

- Ácido bórico P.A VETEC<sup>®</sup>
- Ácido clorídrico 0,1 Mol/L MERCK<sup>®</sup>
- Ácido tricloroacético 10% P.A MERCK<sup>®</sup>
- Carbonato de potássio P.A MERCK<sup>®</sup>
- Reagente de Nessler MERCK<sup>®</sup>
- Fita de acetato de chumbo
- Indicador misto de Tashiro
- Meio de cultura Ágar Padrão para Contagem
- Solução salina peptonada 0,1%
- Água peptonada tamponada 1%
- Ágar Baird-Parker
- Caldo Fluorocult
- Ágar Salmonella
- Acetonitrila P.A MERCK<sup>®</sup>
- Éter dietílico Vetec<sup>®</sup>
- Solução de hidróxido de sódio 1 mol/L
- Padrões para histamina, cadaverina, espermina, tiramina, triptamina, agmatina MERCK<sup>®</sup>

### 3.2 MÉTODOS

Para melhor compreensão, a metodologia utilizada será detalhadamente abordada nos itens subsequentes, incluindo a apresentação do desenho experimental (Figura 1) que demonstra todas as etapas analíticas utilizadas para o desenvolvimento desta pesquisa. A metodologia será abordada em sua sequência de elaboração, tendo como início a obtenção e preparo das amostras seguindo-se para os procedimentos analíticos realizados.

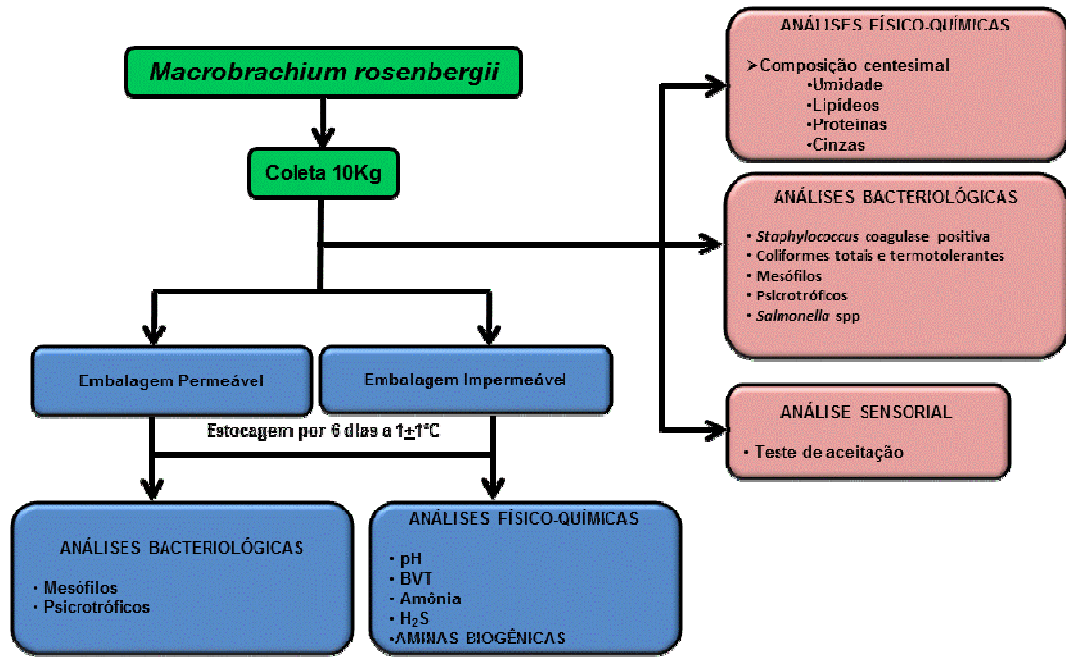


Figura 1. Desenho experimental

### 3.3 Obtenção e preparo das amostras

Para a realização deste estudo foram obtidos 10 kg de camarão da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*), na Aquicultura Santa Helena, localizada no município de Silva Jardim, Rio de Janeiro (Figura 2).



**Figura 2.** Despesca do camarão da Malásia realizada na Aquicultura Santa Helena, no município de Silva Jardim, RJ.

Imediatamente após a despesca houve a imersão dos camarões em água hiperclorada 5 ppm, seguindo o abate por hipotermia em gelo ( $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) (Figura 3), remoção do cefalotórax e exoesqueleto e o acondicionamento dos crustáceos em caixas isotérmicas de poliestireno expandido contendo gelo reciclável, mantendo a temperatura de  $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, os exemplares foram encaminhados ao Departamento de Tecnologia de Alimentos na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro.



**Figura 3.** Realização de abate por hipotermia em gelo filtrado ( $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ )

Como primeira etapa, em condições laboratoriais, separaram-se alíquotas do crustáceo para determinar a composição centesimal da espécie com parâmetros de umidade, proteína, lipídio e cinzas; determinar a qualidade bacteriológica inicial através da Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM), Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas (CBHAP), Coliformes Totais (CT), Coliformes Termotolerantes (CTT), *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp. e parte da alíquota foi congelada ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) para posterior realização da análise sensorial.

Em uma segunda etapa os crustáceos foram divididos em dois grupos distintos (Figura 4), conforme os tratamentos previstos no delineamento: T1 (bandejas de poliestireno expandido envolvidas por filme policloreto de vinila - PVC), T2 em embalagens com estrutura de capacidade de barreira multicamadas Cryovac® BBL4 armazenados sob refrigeração em temperatura controlada ( $1 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 4.** Separação dos crustáceos em grupos distintos. A embalagem da direita corresponde ao grupo T1, e a embalagem da esquerda ao grupo T2.

O preparo do T1 foi realizado de forma asséptica, sendo as bandejas de poliestireno expandido e o filme PVC higienizados com álcool a 70% v/v. Em seguida adicionou-se a alíquota do camarão e vedou com o PVC. Para o preparo de T2, a embalagem também foi higienizada com álcool a 70% v/v, adicionou-se a alíquota do crustáceo e utilizou-se a termoseladora Teqmac<sup>®</sup> AP 450 para o fechamento da embalagem de forma que não existissem falhas na vedação que pudesse interferir na mesma. Todas as amostras foram identificadas e acondicionadas sob refrigeração ( $1 \pm 1^\circ\text{C}$ ) durante todo período de estocagem.

Importante salientar que os parâmetros analíticos descritos neste tópico foram realizados no primeiro dia de análise. Entretanto, os parâmetros de CBHAM e CBHAP foram realizados durante o período de estocagem para o acompanhamento da validade comercial do *M. rosenbergii* e o intervalo entre os procedimentos analíticos foram estabelecidos conforme a evolução dos resultados de cada parâmetro.

### 3.2.2 Análises bacteriológicas

Os métodos analíticos utilizados para pesquisa de *Salmonella* spp. e o Número Mais Provável de *E. coli* serão descritos nos respectivos subitens.

Para os procedimentos analíticos bacteriológicos de *Staphylococcus* coagulase positiva, CBHAM e CBHAP utilizou-se uma alíquota de 25g, a qual foi obtida e acondicionada assepticamente em saco plástico próprio para utilização em “stomacher”. Adicionou-se 225 mL de solução salina peptonada (SSP) e realizou a homogeneização no equipamento em velocidade normal por dois minutos, obtendo-se a diluição decimal  $10^{-1}$ . Desta, 1 mL foi adicionado em 9 mL de SSP 0,1% obtendo-se a diluição  $10^{-2}$  e este procedimento foi repetido até obtenção das diluições desejadas. Em seguida, prosseguiu-se com as análises específicas (APHA, 2001).

#### 3.2.2.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas

A contagem padrão de bactérias heterotróficas aeróbias e mesófilas (CBHAM) foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade, no qual foi inoculado 1 mL da diluição e utilizou-se o Ágar Padrão para Contagem com incubação das placas invertidas a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. O resultado foi expresso em  $\log \text{UFC g}^{-1}$  de amostra (APHA, 2001).

#### 3.2.2.2 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas

Para a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (CBHAP) utilizou-se o método de plaqueamento em profundidade, no qual foi inoculado 1mL da diluição e verteu-se o Ágar Padrão para Contagem com incubação das placas invertidas a  $7^{\circ}\text{C}$  por 10 dias  $\log \text{UFC g}^{-1}$  de amostra (APHA, 2001).

#### 3.2.2.3 Contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva

Na contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva utilizou-se o método de plaqueamento em superfície, no qual inoculou-se 0,1 mL da amostra, havendo espalhamento com auxílio da alça de Drygalski estéril. As placas foram incubadas invertidas a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Após o período de incubação, as colônias típicas (circulares, pretas, lisas, convexas e rodeadas por halo transparente) foram transferidas para o Caldo Brain Heart Infusion (BHI) e novamente incubadas a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Seguiu-se então para as provas bioquímicas da catalase e



coagulase, sendo o microrganismo positivo para as mesmas. O resultado foi expresso em UFC g<sup>-1</sup> de amostra (APHA, 2001).

#### 3.2.2.4 Número Mais Provável de *Escherichia coli*

Foi realizada a Técnica de Miniaturização realizada Merck (2002) modificado por Franco e Mantilla (2004), a qual consiste em utilizar “Eppendorfs” contendo 900 µL do caldo Fluorocult e alíquotas de 100 µL de cada uma das diluições realizada em triplicata. Realizou-se a incubação a 36 ± 1°C por 48 horas. A positividade para coliformes totais foi verificada pela viragem da coloração de amarelo para esverdeado. Os microtubos que apresentaram a viragem foram colocados contra a luz ultravioleta e os que apresentaram fluorescência foram submetidos à prova bioquímica do indol. Os “eppendorfs” que apresentaram formação de anel vermelho na superfície do cultivo foram confirmados para *E. coli*.

Para obter o NMP de *E. coli* utilizou-se o cálculo a seguir:

$$\frac{\text{NMP} \times \text{FDI} \times 10}{100}$$

Onde: NMP = número mais provável

FDI = fator de diluição intermediária

#### 3.2.2.5 Pesquisa de bactérias do gênero *Salmonella* spp.

Uma alíquota de 25g da amostra foi adicionada de 225mL de água peptonada tamponada (APT) 1% e incubada a 36±1°C por 24 horas para o pré-enriquecimento do microrganismo. Após este período, realizou-se o enriquecimento seletivo, no qual se inocula 1 mL do meio pré-enriquecido no Caldo Rappaport Vassiliadis e 1 mL no Caldo Selenito-Cistina. Ambos foram incubados a 41±0,5°C. Em seguida prosseguiu-se para o isolamento, no qual ocorre inoculação do material presente nos ágaros Rambach, Hektoen e Verde Brilhante e segue para incubação 41±0,5°C. O resultado é qualitativo, baseando-se na presença ou ausência do microrganismo em 25g da amostra (APHA, 2001).

### 3.2.3 Análises físico-químicas

A seguir serão descritas as análises físico-químicas realizadas no presente estudo, cuja periodicidade foi determinada conforme a evolução de cada parâmetro analítico.

#### 3.2.3.1 Composição centesimal

Para determinação da composição centesimal foram avaliados os parâmetros de umidade, proteína, lipídio, cinzas e carboidrato. A metodologia utilizada em cada parâmetro será descrita a seguir.

##### 3.2.3.1.1 Determinação de umidade

A determinação da umidade foi realizada através do método instrumental com a utilização do equipamento de infravermelho Mettler LJ16 (IAL, 2008).

##### 3.2.3.1.2 Determinação de proteína

A quantificação de proteína foi realizada pelo Método de Micro Kjeldhal (AOAC, 2005) que se baseia na determinação de nitrogênio proteico e nitrogênio não proteico, com exceção do nitrato e nitrito, sendo denominada proteína bruta. A metodologia consiste nas etapas de digestão, destilação e titulação seguida de cálculo, conforme se segue:

$$PB\% = \frac{V \times Fc \times 14 \times 0,1 \times 50 \times 6,25 \times 100}{P \times A}$$

Onde: V = volume de HCl gasto na titulação

Fc = fator de correção do HCl

14 = peso molecular do nitrogênio

0,1 = normalidade do HCl

50 = volume do balão usado

6,25 = fator de proteína para carnes

### 3.2.3.1.3 Determinação de lipídio

A determinação de lipídio foi realizada conforme metodologia descrita pela “Association of Analytical Communities” – AOAC (2005).

A partir da análise de umidade, foi removido com auxílio de pinça e algodão desengordurado embebido em éter, o extrato seco e depositado juntamente com o algodão no cartucho de extração. Colocar o cartucho no extrator de Soxhlet e encaixar o balão previamente preparado (estufa 105°C por 1 hora, pesado e adicionado de éter acima da metade do seu volume). Após aproximadamente 6 horas, recuperar o excesso de éter e levar o balão em banho-maria até evaporação completa do éter. Em seguida levar à estufa a 105°C por 1 hora até obtenção de peso constante.

$$\% \text{gordura} = \frac{\text{perda de peso (g) (peso inicial - peso final)}}{\text{peso amostra em gramas}}$$

### 3.2.3.1.4 Determinação de cinzas

A análise de resíduo mineral fixo foi realizada conforme metodologia descrita pela AOAC (2005) em duas etapas: carbonização e incineração até obtenção de cinzas brancas. Esfriou-se em dessecador e pesou-se em balança analítica até obtenção de peso constante, prosseguindo-se com o cálculo:

$$\% \text{ cinzas} = \frac{100 \times p}{p'}$$

Onde: p = peso das cinzas em gramas

p' = peso da amostra em gramas

### 3.2.3.1.5 Determinação de carboidrato

A determinação de carboidratos foi obtida pela diferença dos componentes quantificados (IAL, 2008), conforme cálculo:

$$\text{CHO} = 100 - (\text{U} + \text{Lip} + \text{Ptn} + \text{Cnz})$$

Onde: U = umidade

Lip = lipídeo

Ptn = proteína

Cnz = cinzas

### 3.2.3.2 pH

A análise de pH foi realizada pelo método potenciométrico que se baseia na determinação instrumental do pH (AOAC, 2005).

### 3.2.3.3 Bases voláteis totais

Para a determinação das bases voláteis totais, utilizou-se o método de microdifusão de Conway, segundo metodologia descrita pela AOAC (2005). Após a realização das análises, utilizou-se a fórmula a seguir para realizar cálculo do valor das bases voláteis totais.

$$\text{mg de N-BVT/100g} = \frac{V \times N \times 14 \times 100 \times (T + U)}{V_a \times P}$$

Onde: V = mL de ácido clorídrico gastos na diluição;

N = normalidade da solução de ácido clorídrico;

T = mL de ácido tricloroacético utilizado;

U = umidade da amostra;

V<sub>a</sub> = volume da alíquota analisada;

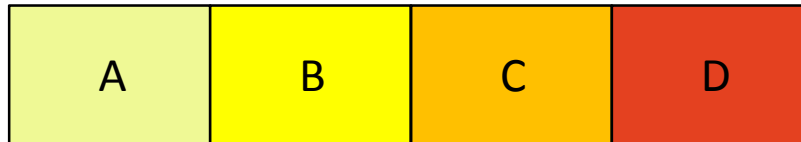
P = peso da amostra utilizada no preparo do extrato

### 3.2.3.4 Amônia (NH<sub>3</sub>)

A avaliação de amônia foi realizada pela Prova de Nessler baseada na metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz – IAL (2008) com modificações realizadas no Laboratório de Controle Químico da Faculdade de Veterinária da UFF, que serão descritas a seguir.

Ao macerar as amostras, ocorre exposição dos sítios ativos das moléculas de NH<sub>3</sub> presentes na matriz alimentar após ter ocorrido a desaminação dos

aminoácidos e desfosforilação de nucleotídeos. As moléculas de  $\text{NH}_3$  são capazes de se complexar com tetraiodomercurato de potássio presente no Reagente de Nessler, produzindo um complexo colorimétrico de diferentes graduações, variável com o grau de positividade. A partir da figura 5, pode-se observar as variações colorimétricas desde a coloração do reagente até reação fortemente positiva.



**Figura 5.** Escala colorimétrica da Prova de Nessler. A - coloração do Reagente de Nessler; B - reação negativa; C - reação positiva; D - reação fortemente positiva

#### 3.2.3.5 Gás sulfídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ )

A avaliação qualitativa da presença de gás sulfídrico foi realizada conforme metodologia descrita pela AOAC (2005). Adicionou-se em um erlenmeyer com tampa esmerilhada 10g da amostra macerada. Adicionou-se água destilada em quantidade suficiente para cobrir a amostra e acrescentou uma fita impregnada de acetato de chumbo, de forma que a mesma ficasse exposta aos vapores que foram desprendidos. Aqueceu em bloco aquecedor até iniciar o processo de ebulição. Esperou esfriar e observou a coloração formada na fita. A positividade é definida quando ocorre a reação do gás sulfídrico com o acetato de chumbo produzindo coloração marrom-enegrecida.

#### 3.2.3.6 Identificação e quantificação de aminas biogênicas pelo Método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

As amostras foram analisadas segundo método proposto por Conte-Junior et al. (2006). A primeira etapa consiste na extração, na qual se utilizou alíquota de 5g de amostra homogeneizada e pesada em tubos cônicos pré identificados. Em cada um adicionou-se 5 mL de solução de ácido perclórico a 5% (v/p), e, no período de uma hora, mantidos sob refrigeração ( $4\pm 2^\circ\text{C}$ ) foram submetidos a 30 segundos de homogeneização em vórtex, com intervalos de 10 minutos.

Prosseguiu-se para centrifugação a 3.000 rpm, com temperatura a  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ , durante 10 minutos (RODRÍGUEZ et al., 2001). A seguir, realizou-se a primeira filtragem em papel filtro Whatman<sup>®</sup> n<sup>o</sup> 1 em funis e tubos identificados. Ao finalizar a filtragem, adicionou-se quantidade suficiente de NaOH (2M) até atingir pH igual ou superior a 12,0. Seguiu-se para banho de gelo por 20 minutos e depois, submeteu-se à segunda filtragem sob as mesmas condições.

Na segunda etapa, a derivatização, acrescentou-se a cada tubo 40  $\mu\text{L}$  de cloreto de benzoíla, homogeneizou em vórtex durante 15 segundos e deixou em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente (MEI, 1994). Após este período, adicionou-se 1 mL de éter dietílico aproveitando-se a fase etérea (sobrenadante) e acondicionando em novo tubo. A adição do éter foi repetido e novamente acondicionado com objetivo de resgatar substâncias apolares.

Evaporou-se o éter com auxílio de corrente de fluxo contínuo de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ). Nos próprios tubos com éter evaporado, adicionou-se com 500 $\mu\text{L}$  de acetonitrila e posteriormente 500 $\mu\text{L}$  água MILLI-Q, com o objetivo de ressuspender as aminas biogênicas presentes nas amostras.

As condições analíticas utilizadas para a CLAE foram: Cromatógrafo Shimadzu LC/10 AS, equipado com coluna Teknokroma Tracer Extrasil ODS2 (15 x 0,46 cm, id. 5 $\mu\text{m}$ ), coluna guarda Ascentis C18 (2 x 0,40 cm, id. 5 $\mu\text{m}$ ) da Supelco, detector UV SPD/10 AV utilizando-se o comprimento de onda de 198 nm, volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$  com fluxo de 1 mL/min e separação isocrática com fase móvel de acetonitrila:água 42:58 (v:v).

A presença das aminas biogênicas nas amostras foi observada no cromatograma a partir do tempo de retenção de cada amina em comparação com o cromatograma dos padrões específicos de cada amina. As concentrações foram obtidas a partir de um cálculo realizado da área do cromatograma.

### **3.2.4 Avaliação sensorial**

Para a avaliação sensorial foi oferecido a 50 julgadores não treinados uma ficha de avaliação sensorial contendo o teste de aceitação em escala hedônica de 9 pontos e de atitude com escala de intenção (Anexo, f. 80) de compra de acordo com a metodologia proposta por Stone e Sidel (2004).

As amostras foram cozidas por 4 minutos em água contendo 1% de cloreto de sódio e foram apresentadas aos julgadores em copo descartável identificado com três números aleatórios. Os atributos avaliados foram aparência, cor, sabor, aroma, textura, suculência e impressão global. Foi disponibilizado um copo descartável contendo água e biscoito cream-cracker para que os julgadores pudessem remover algum sabor residual. Para verificar o odor, a amostra foi colocada em um béquer tampado com um vidro de relógio. Os julgadores indicaram o grau de aceitação do produto utilizando uma escala hedônica numerada de 1 a 9 (1- desgostei muitíssimo, 9- gostei muitíssimo) e foi solicitado que marcassem o termo que condizia com a sensação perante a amostra.

Para os atributos de cor, maciez e suculência utilizou-se a escala do ideal, estruturada de 9 pontos (1- extremamente menos que o ideal, 9- extremamente mais que o ideal) que permitiu julgar o quão próximo ao ideal se encontravam estes atributos.

Utilizou-se ainda a intenção de compra com escala estruturada de 5 pontos (1- certamente não compraria, 5- certamente compraria). Foi solicitado aos provadores que marcassem a alternativa que melhor refletisse seu julgamento em relação à compra do produto.

### **3.2.5 Tratamento estatístico dos resultados**

O tratamento estatístico dos resultados físico-químicos foi realizado através da análise de regressão polinomial do 2º grau. As curvas de crescimento dos microrganismos foram ajustadas conforme modelo proposto por Baranyi and Roberts (1994) utilizando o DMFit 2.0 (IFR, Norwich, United Kingdom. Os resultados bacteriológicos foram tratados por análise de regressão linear pelo método de Baranyi e Roberts (1994). Para o teste de aceitação utilizaram-se os valores médios e desvio padrão para considerar valores inferiores ou iguais a 5 indicativos de rejeição. A identificação das diferenças entre as aminas biogênicas foi realizada através do ANOVA two-way com nível de confiança de 0,05. Para a interpretação dos dados foi realizada a divisão em três períodos: Período 1 (P1) – análises no período de 0 a 50 horas de estocagem; Período 2 (P2) – análises entre 51 e 100 horas de estocagem; Período 3 (P3) – análises no período de 101 a 150 horas de estocagem. Os resultados foram avaliados utilizando um software comercial de

análise estatística (GraphPad Prism versão 140 5.00 para Windows, GraphPad Software, San Diego, Calif., USA).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 QUALIDADE REFERENTE À MATÉRIA-PRIMA

Em uma primeira etapa analítica foram obtidos resultados referentes à matéria-prima com o intuito de assegurar a qualidade microbiológica, nutricional e sensorial.

#### 4.1.1 Qualidade microbiológica

Considerando os parâmetros bacteriológicos, nos resultados referentes à amostra controle não foi observado crescimento de *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC g<sup>-1</sup>) e *Salmonella* spp. em 25g de amostra, fato pontuado por Downes e Ito (2001) para pescado e produtos da pesca, mas não especificamente para camarão dulcícola. Estes resultados confirmam que houve adequação eficiente das Boas Práticas de Manipulação (BPM) e assepsia na coleta e manipulação das alíquotas amostrais.

A técnica analítica através de Número Mais Provável (NMP) para Coliformes Totais (CT) e Coliformes Termotolerantes (CTT) apresentou valores de 110 NMP g<sup>-1</sup> e 2,3 NMP g<sup>-1</sup>, respectivamente. O limite utilizado como referência de qualidade foi estabelecido pela Comunidade Europeia através da “Commission Decision” (1992), o qual limita o índice de CTT em camarão em 100 NMP g<sup>-1</sup>. Apesar de não ter ultrapassado o limite preconizado, é importante salientar que a ocorrência dessas bactérias está diretamente relacionada com a qualidade da água no tanque de criação (TALLON et al., 2005; HACHICH et al., 2012).

#### 4.1.2 Qualidade nutricional

Os resultados relativos à composição centesimal do camarão da Malásia estão apresentados na tabela 1. As amostras apresentaram valores médios de 75,7% ( $\pm 0,94$ ) para umidade, 21,40% ( $\pm 1,11$ ) para proteína, 1,45% ( $\pm 0,10$ ) referente aos lipídios, 0,36% ( $\pm 0,06$ ) para carboidratos e 1,02% ( $\pm 0,01$ ) para cinzas. As variações encontradas nas concentrações de umidade, proteína, lipídio e cinzas entre diferentes estudos podem ser atribuídas a diversos fatores como a disponibilidade e tipo de alimento, criação zootécnica, regiões do corpo do animal que foram analisadas, entre outros (FURUYA et al., 2006).

**Tabela 1.** Resultados referentes à composição centesimal média (%) do camarão da Malásia (*M. rosenbergii*)

Componentes	Valores Médios $\pm$ DP
Umidade	75,70 $\pm$ 0,94
Proteína	21,40 $\pm$ 1,11
Lipídio	1,45 $\pm$ 0,10
Carboidrato	0,36 $\pm$ 0,06
Cinzas	1,02 $\pm$ 0,01

\* Todas as análises foram realizadas em duplicata

Estudos realizados por Silva et al. (2010) e Begum et al (2012) com camarões da Malásia *in natura* demonstraram teor de umidade de 78,20% e 78,80%, respectivamente. Corroborando os estudos supracitados, o presente estudo demonstrou teor de umidade de 75,70% para camarões da Malásia *in natura*. Araujo et al. (2012), estudando camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* encontrou teor de 74,10%. A partir destes estudos é possível inferir que há semelhança neste parâmetro com camarões de outras espécies e, que, fatores extrínsecos parecem ser os que apresentam maior influência nesta variabilidade (BRAGAGNOLO e RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

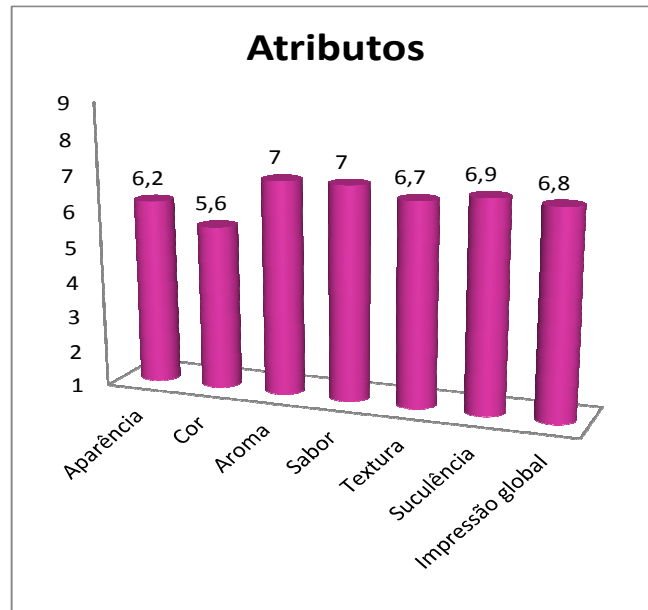
Os teores de proteína bruta, lipídios totais e cinzas descritos por Silva et al. (2010) para esta espécie foram de 16,80%, 0,30% e 0,89%, respectivamente, e corroboram com os descritos por Kirschnik et al. (2006) de 18,59%, 0,29% e 1,35%. Entretanto, algum fator de relevância resultou na observação de maior porcentagem de proteína (21,40%) e lipídio (1,45%) nas amostras objeto deste estudo e valor

semelhante de cinzas (1,02%). A variação na composição centesimal entre as pesquisas supracitadas e o presente estudo pode ser explicada por variáveis relacionadas ao tipo de criação, aspectos geográficos, composição da ração, e outros fatores extrínsecos que possam interferir diretamente na matriz alimentar (FURUYA et al., 2006).

Quando se compara, por dados descritos na literatura, a composição do camarão dulcícola com o marinho (*Litopenaeus vannamei*), oriundo de carcinicultura da região Nordeste, Araujo et al. (2012), observaram valores semelhantes aos do presente estudo [umidade (74,10%), proteína (21,90%) e cinzas (1,50%)], confirmando a importância destas análises para avaliar nutricionalmente e sensorialmente as diferentes espécies de camarão.

#### **4.1.3 Qualidade sensorial**

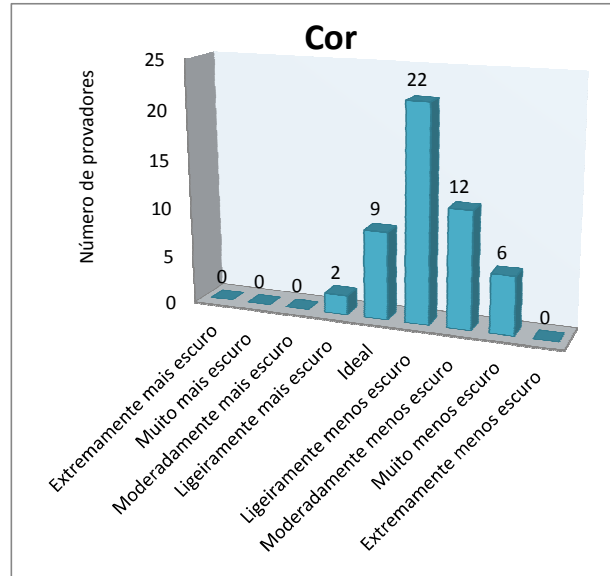
Os parâmetros sensoriais obtidos pelo teste de aceitação estão representados na figura 6 que demonstra a aceitabilidade do camarão da Malásia frente aos consumidores. Com relação ao atributo impressão global observou-se valor médio de 6,80 ( $\pm 1,42$ ), classificando-o entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”. Dentre os atributos avaliados, a cor foi o que apresentou menor valor médio de 5,60 ( $\pm 1,67$ ) sem, no entanto, o classificar como rejeitado pelo consumidor. Os atributos mais representativos foram o aroma e sabor 7,00 ( $\pm 1,30$ ) e 7,00 ( $\pm 1,71$ ), respectivamente, correspondendo à classificação de “gostei moderadamente”.



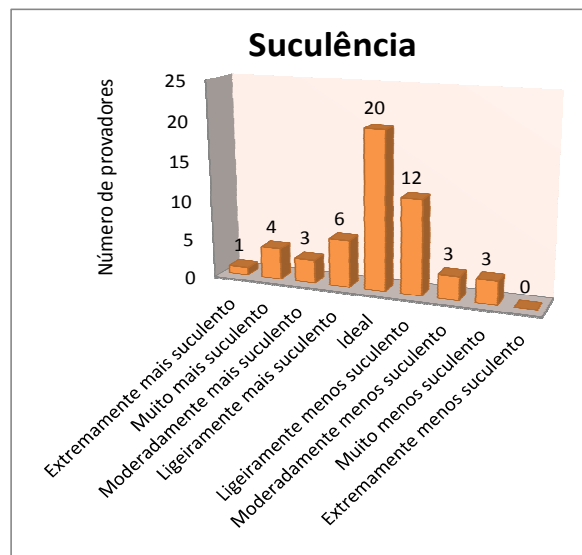
**Figura 6.** Resultado do teste de aceitação realizado com o camarão da Malásia (*M. rosenbergii*) nos diferentes atributos avaliados.

Sriket et al. 2012 realizaram o teste de aceitação com *M. rosenbergii* e obtiveram valor médio de 8,0 para os atributos textura e impressão global. Este resultado corrobora com outro trabalho deste grupo que avaliou a aceitabilidade em *M. rosenbergii* antes e após a desova das fêmeas armazenadas em gelo e verificaram-se valores médios de 7,5, independente da característica fisiológica (Sriket et al. 2010).

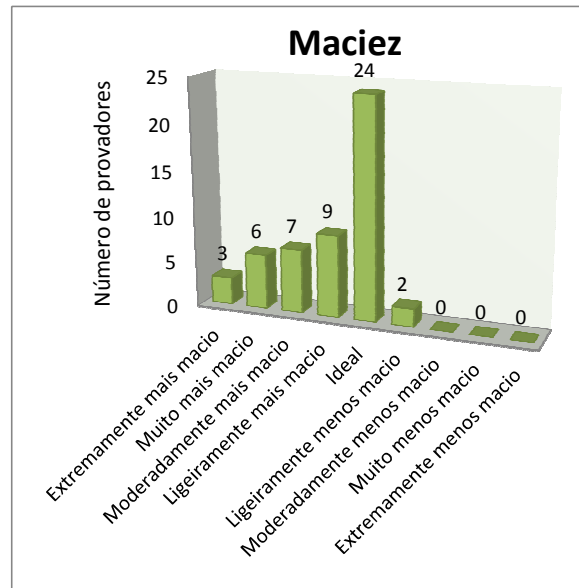
A escala do ideal estruturada de 9 pontos foi aplicada avaliando a cor (Figura 7), suculência (Figura 8) e maciez (Figura 9) da matriz alimentar, considerando-se como ideal apenas o termo “ideal”, e foram obtidos valores percentuais na frequência entre os provadores de 18%, 40% e 48%, respectivamente. Observou-se, a partir dos resultados que a cor, assim como verificou-se no teste de aceitação, foi o atributo que mais se afastou do ideal para os julgadores.



**Figura 7.** Resultado da Escala do ideal estruturada em nove pontos para o atributo cor.



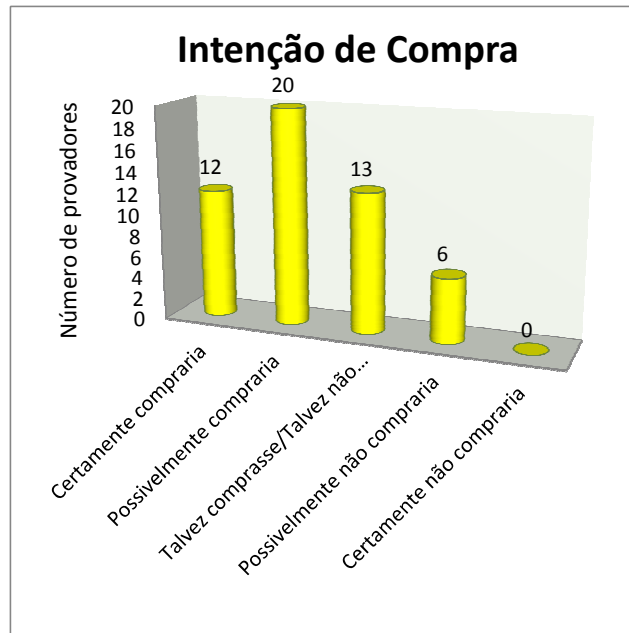
**Figura 8.** Resultado da Escala do ideal estruturada em nove pontos para o atributo suculência.



**Figura 9.** Resultado da Escala do ideal estruturada em nove pontos para o atributo maciez.

Com relação à intenção de compra do produto (Figura 10), os termos “certamente compraria” e “possivelmente compraria” somaram 64% de frequência, o termo “talvez compraria ou não” foi apontado com 24%, “possivelmente não compraria” abrangeu 12% de frequência e o item “certamente não compraria” não foi escolhido pelos julgadores, possibilitando inferir sobre a boa aceitabilidade do produto.

Liao e Smith (1981) estudaram a aceitação de mercado do *M. rosenbergii* nos Estados Unidos e verificaram que a maioria dos consumidores (89%) avaliaram que o camarão dulcícola se assemelha ao camarão marinho e se interessaram na compra do produto.



**Figura 10.** Resultado do Teste de Intenção de Compra em escala estruturada de cinco pontos.

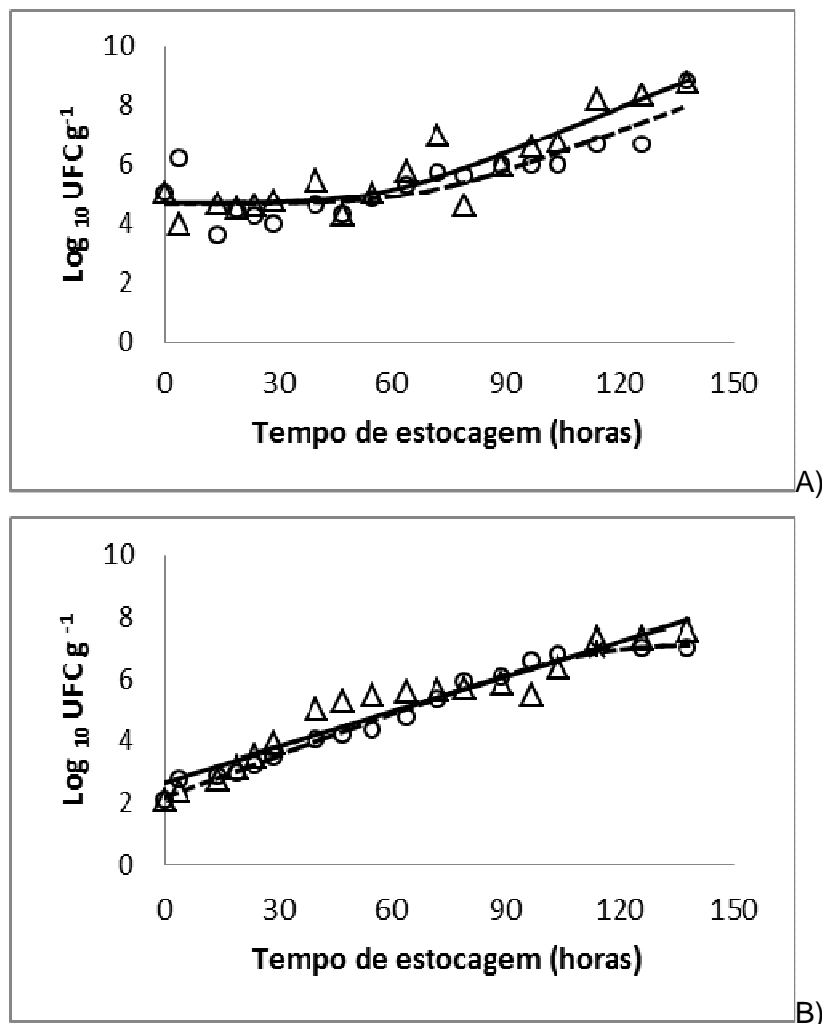
## 4.2 VALIDADE COMERCIAL

Para estabelecer a validade comercial do camarão da Malásia adotou-se a diretriz internacional estabelecida por “National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods” (NACMCF, 1990) e “International Commission on Microbiological Specification for Foods” (ICMSF, 1988) que sugere o valor de 7 Log UFC g<sup>-1</sup> para contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicrotróficas como um critério microbiológico para assegurar a perda de qualidade da matriz alimentar.

### 4.2.1 Parâmetros bacteriológicos

Considerando o parâmetro bacteriológico estabelecido, observou-se que no grupo controle, a contagem inicial de mesófilos foi de 4,7 Log UFC g<sup>-1</sup> e, psicrotróficos, de 2,1 Log UCF g<sup>-1</sup>. Após 150 horas de estocagem, observou-se contagem final de mesófilos de 8,8 Log UFC g<sup>-1</sup> para o tratamento T1 e 8,7 Log UFC g<sup>-1</sup> no tratamento T2, estabelecendo, portanto, este período como a validade comercial do produto. Apresentou-se, ao final da estocagem, um limite de 7,9 Log UFC g<sup>-1</sup> no T1 e de 7,1 Log UFC g<sup>-1</sup> no T2 para o grupo dos psicrotróficos.

A partir da figura 12 verificam-se as curvas de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (A) e psicrotróficas (B). Comparando-se as figuras 1A e 1B, pode-se verificar que a contagem de mesófilos inicialmente foi superior a de psicrotróficos em ambos os tratamentos. No entanto, às 25 horas de estocagem obteve-se o número de psicrotróficos semelhante à contagem de mesófilos no mesmo período de tempo, sugerindo a ocorrência da adaptação da microbiota às condições de refrigeração sob as quais a matriz foi submetida, como citaram Begum et al. (2012), que explicam a capacidade das bactérias psicrotróficas de se adaptarem às condições de resfriamento e atingirem semelhante contagem de mesófilos.



**Figura 11.** Regressão linear da curva de crescimento de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (a) e psicrotróficas (b), demonstrando o comportamento bacteriano em valores reais de T1 ( $\Delta$ ); valores ajustados de T1 por DMFit 2.0 (—); valores reais de T2 (O) e valores ajustados de T2 por DMFit 2.0 (---).



A partir do desenvolvimento bacteriano, observou-se que, considerando os tratamentos, não houve diferença no período de validade comercial visto que ambos atingiram o limite de 7 Log UFC g<sup>-1</sup> na contagem de mesófilos em 150 horas de estocagem.

Begum et al. 2012 determinou o período de validade comercial para o *M. rosenbergii* estocado em gelo de 12 dias, no entanto, a contagem bacteriana total entre o 6º e 8º dia de estocagem apresenta uma repetibilidade com valores de 10<sup>7</sup> UFC g<sup>-1</sup>, podendo inferir que os microrganismos presentes atingiram a fase estacionária, o que determina a validade comercial com período de estocagem semelhante ao do presente estudo.

Na tabela 2 visualizam-se os parâmetros de crescimento (fase lag, fase log e o número de colônias bacterianas na fase estacionária) de mesófilos e de psicrotróficos nos tratamentos propostos.

**Tabela 2.** Parâmetros de crescimento de mesófilos e psicrotróficos em amostras de camarão da espécie *M. rosenbergii* armazenadas em embalagens permeável e impermeável ao gás oxigênio mantidas em temperatura de 1±1°C.

Tratamento	Parâmetro	Mesófilos	Psicrotróficos
T1	Lag	48,6	0,02
	Log	6,72	7,31
	NC	4,67	2,56
T2	Lag	49,5	6,61
	Log	8,32	6,58
	NC	4,55	2,41

Lag – Fase lag (horas)

Log – Fase log (horas)

NC – Número de colônias na fase estacionária (log UFC g<sup>-1</sup>)

O período de latência (fase lag) na contagem de mesófilos e de psicrotróficos foi menor no grupo T1 quando comparado ao grupo T2. Entre T1 e T2 não foi observada diferença significativa no grupo dos mesófilos. No entanto, pode-se constatar acentuada diferença nesta fase nos psicrotróficos, considerando os tratamentos. Uma possível explicação foi apontada por Mano, Ordóñez e Fernando (2002), que descreveram que diversos fatores podem influenciar no período de latência, aplicando-se no caso deste estudo, o tipo de atmosfera que, quanto mais seletiva, maior é a fase lag.

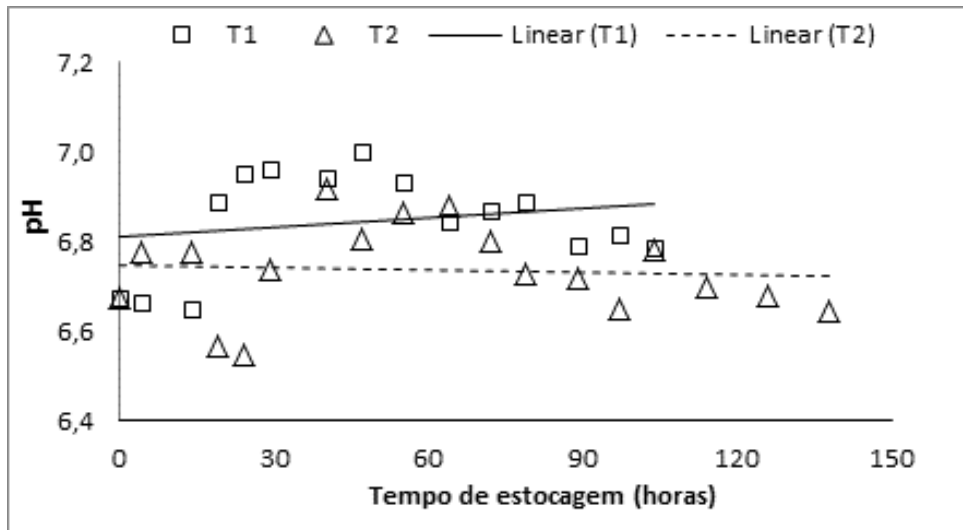
A contagem inicial de todas as amostras foi semelhante, entretanto, durante o período de estocagem, observaram-se diferentes adaptações da microbiota frente aos tratamentos utilizados. Sob este aspecto é relevante observar a existência de gêneros de psicotróficos que são aeróbios estritos em pescado e se desenvolvem melhor em atmosfera rica em O<sub>2</sub> (GRAM e HUSS, 1996), limitante no grupo T2, no qual o tipo de embalagem não permitiu a troca gasosa com o ar atmosférico, ocasionando maior concentração interna de CO<sub>2</sub>.

No grupo T2, os mesófilos se comportaram com maior duração na fase de duplicação, sendo este o comportamento esperado de um grupo amostral quando embalado em atmosfera seletiva. Com relação aos psicotróficos, demonstrou-se no T1, maior período de multiplicação, podendo este fator ser atribuído ao tipo de embalagem, às condições de refrigeração e às características intrínsecas dos microrganismos que favorecem a adaptação microbiana (Conte Junior et al, 2006).

O número de células na fase estacionária foi menor no grupo T2 devido à seletividade da atmosfera que, em alguns casos, pode ocasionar o prolongamento da validade comercial. Entretanto, no presente estudo, observou-se que apesar dos efeitos da seletividade da embalagem não houve aumento no período de estocagem, possivelmente pela ausência de CO<sub>2</sub> que favoreceria esse prolongamento (MANO, ORDÓÑEZ, FERNANDO, 2002).

#### **4.2.2 Parâmetros físico-químicos**

A partir da figura 13, observa-se o comportamento do pH durante o período de estocagem, verificando que o T1 apresentou tendência crescente e o T2, tendência linear. Conforme aumento no período de estocagem, há intensa ação bacteriana sobre a matriz alimentar, ocorrendo maior liberação de compostos alcalinos como a amônia, bases voláteis totais e aminas biogênicas, que irão culminar com a elevação do pH.

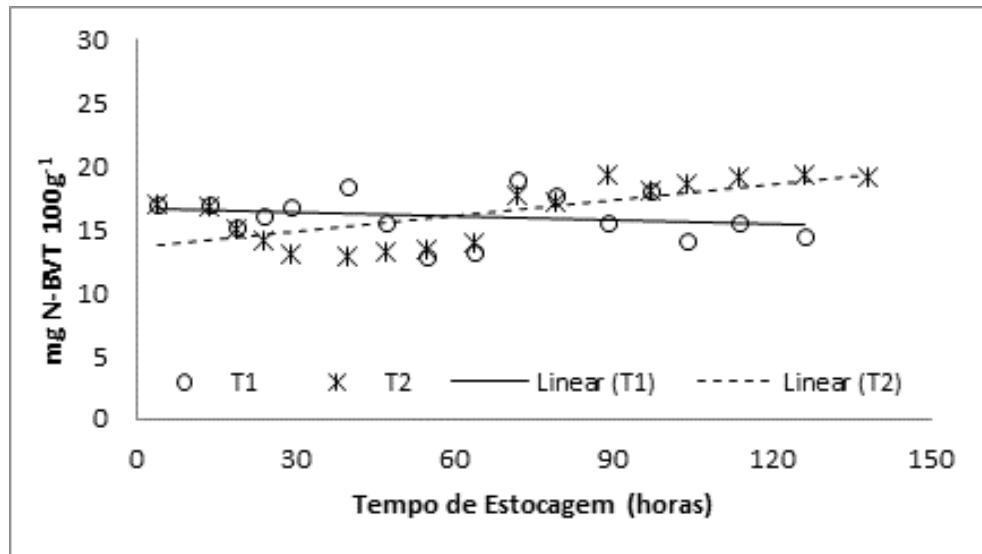


**Figura 12.** Valores de pH em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*) em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) ao O<sub>2</sub> armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 140 horas .

Sugere-se que o pH em T2 não tenha apresentado aumento significativo devido à impossibilidade de trocas gasosas com o ambiente, gerando acúmulo de gás carbônico no meio e, posteriormente, produção de ácido carbônico ao se solubilizar na parte aquosa do alimento. Outra possibilidade que respalda os resultados é o possível desenvolvimento de bactérias acidificantes (TEODORO, ANDRADE e MANO, 2007; CONTE-JUNIOR et al., 2010).

Shamshad et al. (1990) afirmaram que quando o pH atinge valores acima de 7,5 o camarão pode ser considerado impróprio para consumo. No entanto, Bakar et al. (2008) verificaram que, independente da temperatura de estocagem, valores abaixo de 7,5 caracterizam impropriedade para consumo. Este fator foi observado no presente estudo, cujo valor máximo durante o período de estocagem foi de 7,0 quando se consolidou a perda de qualidade, considerando outros parâmetros, o que reforça a importância da avaliação conjunta com outros parâmetros para determinar a qualidade do camarão da Malásia.

O valor mínimo e máximo observado para produção de N-BVT (Figura 3) foi de 17,01 mg N/100 g e 19,15 mg N/100 g de amostra. Entretanto, estes valores não variaram com o tempo de estocagem e oscilaram de forma heterogênea, o que nos permite inferir que, apesar da possível variação entre alíquotas amostrais e fatores como sexo, idade, tipo de alimentação e ciclo de reprodutivo (BEGUM et al., 2012), este não deve ser o parâmetro de escolha para determinar a qualidade desta matriz alimentar.



**Figura 13.** Valores de N-BVT (mg/100g) em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) ao O<sub>2</sub> armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 6 dias.

Silva et al. (2008) otimizaram e padronizaram o uso da metodologia oficial para determinação de N-BVT em camarões da espécie *Xyphopeneaeus kroyeri* em adiantado grau de deterioração. Considerando todas as variáveis daquele estudo, o limite máximo observado foi de 30 mg/100g no avançado estado de deterioração. Entretanto, os autores não correlacionaram este parâmetro com procedimentos analíticos físico-químicos ou sensoriais, o que permitiria maior sensibilidade na adequação de um valor de referência, considerado em nosso estudo como inadequado para avaliação da qualidade.

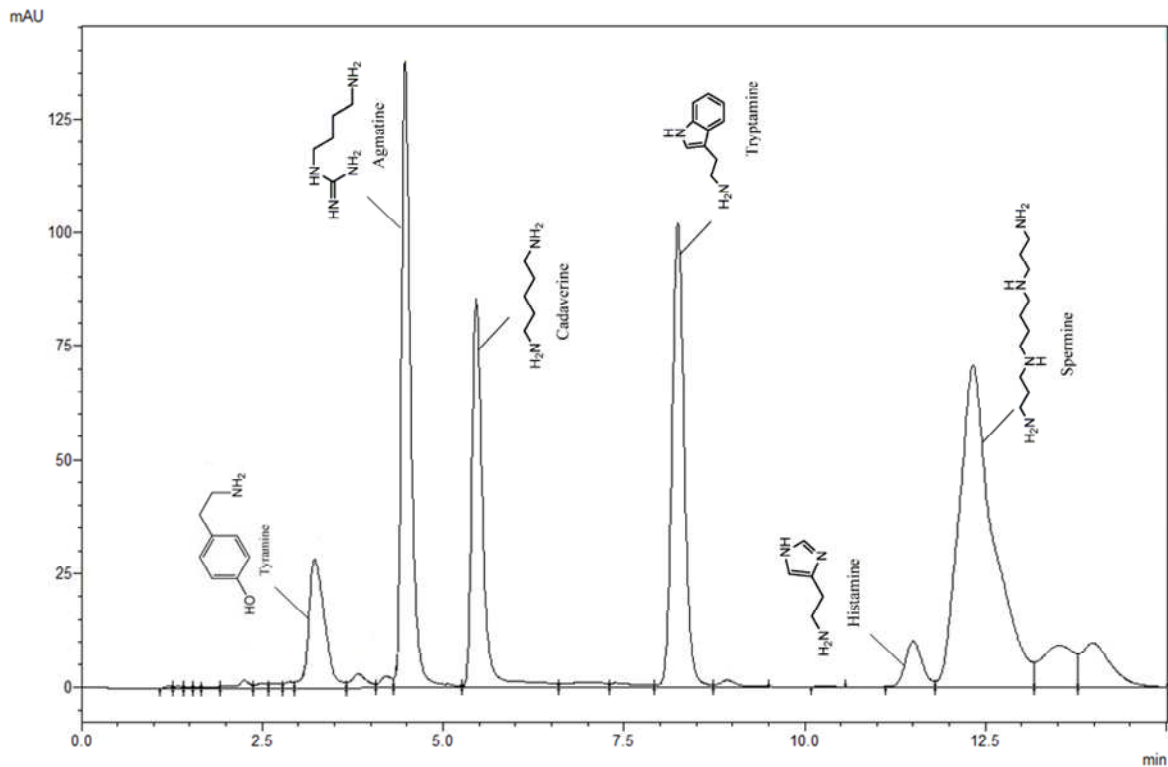
Importante ressaltar que existem estudos com *Macrobrachium rosenbergii*, como a pesquisa de Bakar et al. (2008) que descreveram variações na temperatura e período de estocagem, (28°C/20 horas, 10°C/10 dias e 0°C/16 dias) e consideraram o aumento progressivo de N-BVT até um limite de 30 mg/100g, preconizado como referência máxima para camarão dulcícola por Cobb and Vanderzant (1975). Desta maneira, pode-se inferir que havendo falhas na cadeia de frio, o N-BVT pode ser um bom parâmetro, no entanto, no presente estudo com controle de temperatura a 1±1°C, este comportamento não foi observado.

Os resultados relativos à produção de amônia foram semelhantes nos dois tratamentos, com negatividade até 47 horas e positividade a partir de 97 horas de estocagem, quando enzimas autolíticas e microbianas apresentam maior atuação

sobre a matriz com consequente desaminação de aminoácidos e produção de amônia (PIVARNIK et al., 2011).

Quanto à presença de gás sulfídrico, no grupo T1 observou-se positividade a partir de 89 horas e no grupo T2 a partir de 79 horas de estocagem. A degradação de compostos sulfurados ocorre principalmente por ação de bactérias com características psicrotóficas (GRAM e HUSS, 1996), sendo possível sugerir que a presença de gás sulfídrico se tornou mais evidente à medida que as bactérias psicrotóficas se desenvolveram e atuaram sobre a matriz alimentar. Entretanto, Lanzarin et al. (2011) descreveram em filé de pintado, negatividade para H<sub>2</sub>S até o 31º dia de estocagem, com parâmetros bacteriológicos e sensoriais compatíveis com perda de qualidade, inferindo que este parâmetro não deve ser utilizado isoladamente para avaliar validade comercial de pescado.

A avaliação da produção de aminas biogênicas é de grande importância não só pelo aspecto de toxicidade, mas como indicador do grau de frescor relacionado com as condições sanitárias durante o processamento (GALGANO et al., 2009). Durante o período de estocagem foi avaliada, nos dois tratamentos propostos, a identificação e quantificação das aminas biogênicas tiramina, agmatina, cadaverina, triptamina, histamina e espermina por cromatografia líquida de alta eficiência (figura 14).



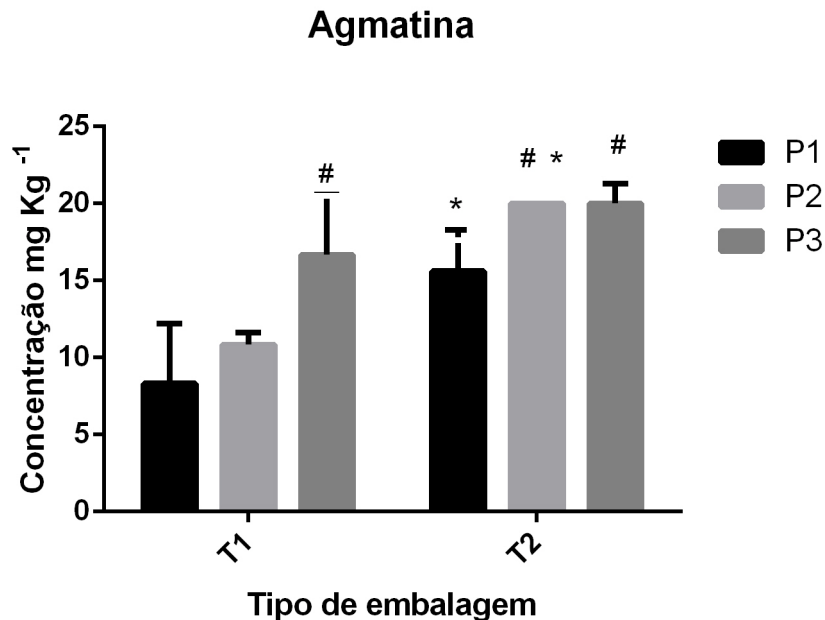
**Figura 14.** Cromatograma referente ao padrão das aminas biogênicas tiramina, agmatina, cadaverina, triptamina, histamina e espermina.

A partir das figuras 16, 17 e 18 observa-se o comportamento das aminas biogênicas que demonstraram maior relevância no presente estudo. A concentração mínima de agmatina no T1 foi  $5,7 \text{ mg kg}^{-1}$  e, máxima, de  $23,2 \text{ mg kg}^{-1}$ . Os valores observados para T2 variaram de  $11,9 \text{ mg kg}^{-1}$  a de  $21,7 \text{ mg kg}^{-1}$ . Para histamina o valor mais baixo no T1 foi  $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$  e, o máximo em 6 dias de estocagem, de  $0,14 \text{ mg kg}^{-1}$  e, no T2 a variação foi de  $0,0007$  a  $0,089 \text{ mg kg}^{-1}$ . Com relação à triptamina, os valores iniciais no T1 e o T2 foram de  $0,0028 \text{ mg kg}^{-1}$ , sendo a concentração final em T1 de  $0,0031 \text{ mg kg}^{-1}$  e em T2 de  $0,0030 \text{ mg kg}^{-1}$ .

O T1 não demonstrou diferença significativa entre P1 e P2 para as concentrações de agmatina, mas o P3 apresentou-se diferente estatisticamente ( $p < 0,0001$ ) quando comparado aos períodos anteriores. O grupo T2 apresentou diferença significativa entre P1 e P2 ( $p < 0,0001$ ), no entanto o P3 apresentou-se semelhante ao P2. Entre os tipos de tratamentos utilizados, os períodos P1 e P2 apresentaram-se diferentes estatisticamente ( $p < 0,0001$ ), entretanto o P3 apresentou semelhança estatística nos dois tratamentos.

A partir dos resultados pode-se inferir que a agmatina demonstrou ser um bom parâmetro para o índice de qualidade nas condições deste estudo

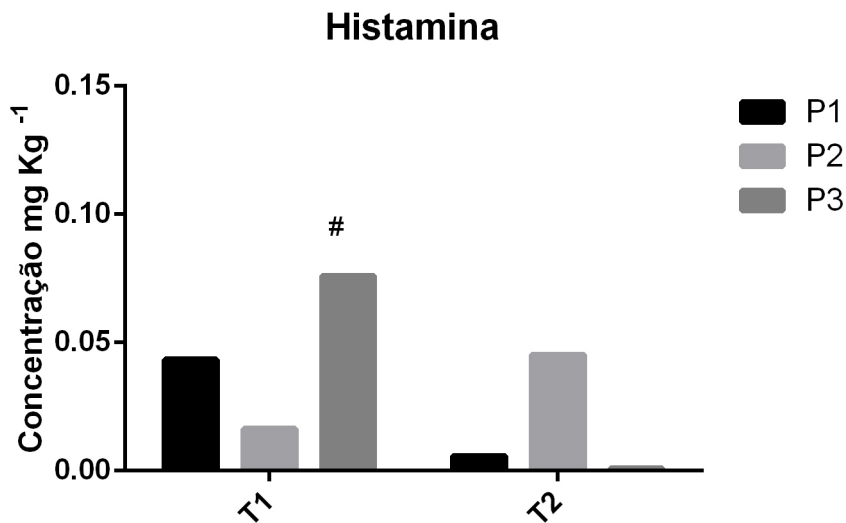
considerando seu aumento gradativo durante o período de estocagem. Além disso, a análise obtida através de P3 entre os períodos antecedentes está de acordo com os parâmetros de bactérias mesófilas, uma vez que a contagem de mesófilos atingiu a fase estacionária no período de 150 horas, independente do tratamento utilizado.



**Figura 15.** Concentração de agmatina em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) ao O<sub>2</sub> armazenados sob refrigeração (1±1°C) por 150 horas. O símbolo “#” indica diferença significativa no mesmo tratamento em diferentes tempos. O símbolo “\*” corresponde à diferença significativa entre os tratamentos no mesmo tempo.

Realizando a comparação entre P1, P2 e P3 nos tratamentos T1 e T2, observa-se a diferença estatística no P3 com os períodos anteriores ( $p < 0,01$ ). A partir da comparação entre T1 e T2 observa-se que não houve diferença significativa entre P1 e P2, porém o P3 apresentou-se diferente estatisticamente ( $p < 0,01$ ).

Apesar de terem sido encontrados valores abaixo do limite máximo estabelecido (BRASIL, 1997), os resultados referentes à histamina apresentam relevância considerando a potencialidade desta amina em causar intoxicação em humanos.



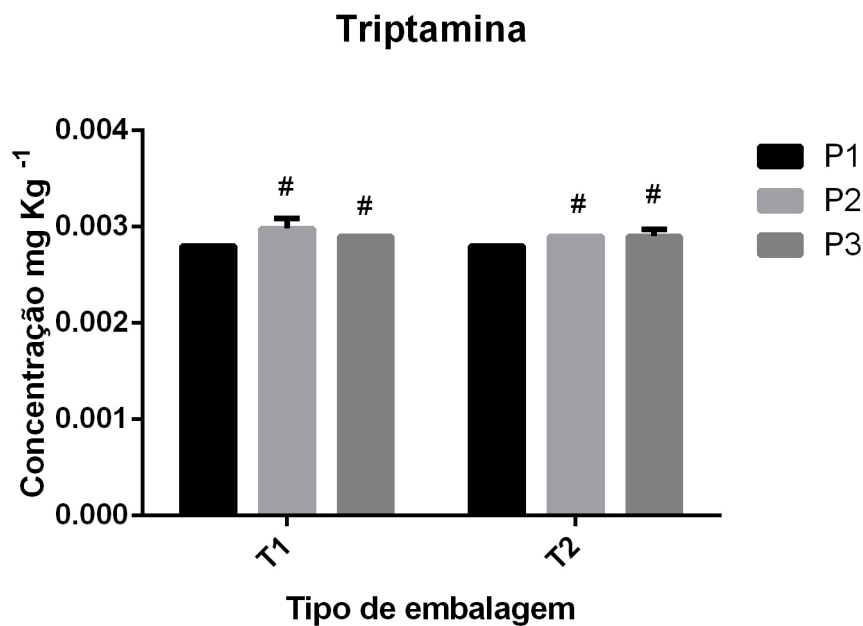
### Tipo de embalagem

**Figura 16.** Concentração de histamina em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) armazenados sob refrigeração ( $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) por 150 horas. O símbolo “#” indica diferença significativa no mesmo tratamento em diferentes tempos. O símbolo “\*\*” corresponde à diferença significativa entre os tratamentos no mesmo tempo.

Com relação aos períodos, houve diferença significativa no P1 quando comparado ao P2 e P3 ( $p < 0,0001$ ). No entanto, comparando-se os tratamentos T1 e T2, não houve diferença significativa entre eles ( $p < 0,0001$ ).

A triptamina apresentou crescente aumento na concentração principalmente nos períodos finais de estocagem (P2 e P3), permitindo inferir que esta amina é um índice de qualidade importante para ser avaliado nesta matriz alimentar.





**Figura 17.** Concentração de triptamina em amostras de camarão da Malásia (*M. rosenbergii*), em embalagem permeável (T1) e impermeável (T2) armazenados sob refrigeração ( $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) por 150 horas. O símbolo “#” indica diferença significativa no mesmo tratamento em diferentes tempos. O símbolo “\*” corresponde à diferença significativa entre os tratamentos no mesmo tempo.

A partir desses parâmetros é possível observar que a concentração de agmatina é consideravelmente mais elevada, seguida de histamina e posteriormente de triptamina. Estes resultados estão conforme o esperado, devido a estas aminas serem, respectivamente, provenientes dos aminoácidos arginina, histidina e triptofano, moléculas presentes em concentração decrescente na musculatura dos crustáceos (OUJIFARD, 2012).

De forma geral foi observada uma tendência de aumento na concentração das aminas estudadas, independente do tratamento utilizado (T1 e T2), com destaque para o T1 com concentrações mais elevadas para histamina e triptamina, e T2 com valor mais elevado de agmatina. Esta diferença pode ser explicada pela possível diferença entre a microbiota predominante em cada tratamento. Elevadas concentrações de aminas biogênicas como a agmatina, histamina e tiramina são de relevância pelo efeito tóxico e como indicador de deterioração associado a inadequadas Boas Práticas de Manipulação (BPM) durante o processamento (GALGANO et al., 2009).

Na Food and Drug Administration – FDA (1996) foi estabelecido o limite de histamina em pescado de  $50 \text{ mg kg}^{-1}$ . Confrontando este limite com o encontrado no presente estudo ( $0,15 \text{ mg kg}^{-1}$ ), observou-se que o valor esteve abaixo do preconizado pela FDA. No entanto, não há limite para demais aminas biogênicas, sendo importante ressaltar que à presença de demais aminas bioativas na matriz alimentar pode potencializar o efeito de toxicidade da histamina (NAYLA et al., 2010).

Bueno-Solano et al. (2011) apresentaram a partir de estudo com subprodutos de camarão submetidos a tratamentos térmicos, que elevadas temperaturas não foram capazes de inativar as moléculas de aminas biogênicas e quantificou concentrações de  $5830 \text{ mg kg}^{-1}$  de tiramina e  $1470 \text{ mg kg}^{-1}$  de histamina, sugerindo que as BPM são as principais medidas para se obter um produto com parâmetros adequados de qualidade microbiológica, físico-química e sensorial.

## 5 CONCLUSÕES

De acordo com o estudo desenvolvido observou-se que o *M. rosenbergii* apresenta composição centesimal que o caracteriza como alimento de elevado valor nutricional. A aceitabilidade deste produto possui atributos próximos ao ideal e boa intenção de compra. Pode-se concluir ainda que a validade comercial do camarão da Malásia armazenado sob refrigeração ( $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) foi de seis dias, sendo a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas o principal parâmetro para determinar a perda de qualidade. Sugere-se que o pH e BVT não sejam utilizados de forma isolados para avaliar a deterioração desta matriz alimentar. Entretanto, as aminos biogênicas agmatina e triptamina apresentam potencial como parâmetro de qualidade desta matriz ainda que outros estudos devam relacionar a microbiota predominante com aminos específicas. Além disso, a permeabilidade da embalagem ao  $\text{O}_2$  não interferiu de forma decisiva nos parâmetros bacteriológicos e físico-químicos. A partir dos resultados obtidos, sugerem-se estudos mais aprofundados sobre esta matriz por ser um produto com potencial para expansão nos mercados nacional e internacional devido às qualidades nutricional e sensorial, além de características zootécnicas que ocasionam baixo impacto ambiental.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. *Official methods of analysis of the Association of Analytical Communities*. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.

APHA. DOWNES, F.P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 4. ed. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C., 2001. 335 p.

ARAUJO, D. F. S.; SILVESTRE D. D.; DAMASCENO K. S. F. S. C.; PEDROSA, L. F. C.; SEABRA, L. M. J. Composição centesimal e teor de colesterol do camarão branco do Pacífico. *Ciência Rural*. v.42, n.6., p.1130-1133, Santa Maria, 2012.

ARAÚJO, J. M. A. *Química de Alimentos: Teoria e Prática*. 4ª ed. Viçosa: UFV, 2008. 596 p.

AZAM, K.; ALAM, S. M. N.; NAHER, S. S. Quality assessment of farmed black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in supply chain: organoleptic evaluation. *Journal of Food Processing and Preservation*. vol 34, n.1, p. 164–175, 2010.

BAKAR, A. F.; SALLEH, A. B.; RAZAK, C. N. A.; BASRI, M.; CHING, M. K.; SON, R. Biochemical changes of fresh and preserved freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) during storage. *International Food Research Journal* , v. 15, n. 2, p. 181-191, 2008.

BARANYI, J.; ROBERTS, T.A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, v. 23, n. 3-4, p. 277-294, 1994.

BARDÓCZ, S. Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science and Technology*, v. 6, p. 341-346, 1995.

BARROS, G. C. Perda de qualidade do pescado, deterioração e putrefação. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*. n. 30, p. 59-64, ano 9. Set./Dez., 2003.

BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. *Fundamentos de tecnologia de alimentos*. 1. ed. vol. 3. São Paulo Atheneu, 1998.

BEGUM, M.; KHALEQUE, M. A.; WAHED, M. A.; HAFIZ, F. Quality assessment of shrimp (*Macrobrachium rosenbergii* De Man, 1879) during Storage in ice. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, v. 47, n. 1, p. 93-98. 2012.

BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M. *Processamento e industrialização de moluscos*. In: Seminário e Workshop “Tecnologia para Aproveitamento Industrial de pescado”, Campinas, Resumos, Campinas, ITAL, p. 38-84, 2000.

BERGARA-ALMEIDA, S.; SILVA, A. P. Hedonic scale with reference: performance in obtaining predictive models. *Food Quality and Preference*. v. 13, n.1, p. 57-64, 2002.

BRAGAGNOLO, N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Total Lipid, Cholesterol, and Fatty Acids of Farmed Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii* ) and Wild Marine Shrimp (*Penaeus brasiliensis*, *Penaeus schimitti*, *Xiphopenaeus kroyeri* ) *Journal of Food Composition and Analysis*. vol. 14, n. 4, p. 359-369, 2001.

BRANDÃO WN. *Beneficiamento de camarões marinhos*. Rede de tecnologia da Bahia RETEC/BA, 2007. 25 pp.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto nº30.691 de 29 de Março de 1952. *Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal*. Diário Oficial da União. Brasília, DF, jul 1952.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria no. 456 de 10 de setembro de 2010. *Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Camarão Fresco*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 2010.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 185 de 13 de maio de 1997. *Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado)*. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 1997.

BUENO-SOLANO, C.; LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N. HPCL determination of histamine, tyramine and amino acids in shrimp by-products *J. Braz. Chem. Soc.* v.23, n.1, 2012.

CARDOSO, N. L. C.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; SERAFINI, A. B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia, GO. *Revista Higiene Alimentar*, v. 17, n. 109, p. 81-87, jun. 2003.

CHAVES, J. B. P. *Análise sensorial: Histórico e Desenvolvimento*. Universidade Federal de Viçosa. Imprensa Universitária. 1993. 31 p.

CHAVES, J. B. P. Caderno didático 33: *Métodos de Diferença em Avaliação Sensorial de Alimentos e Bebidas*. Viçosa: UFV, 2001. 91 p.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. *Caderno didático 60: Prática de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas*. Viçosa: UFV, 1996, 81p.

- CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. *Caderno didático 66: Prática de Laboratório e Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas*. Viçosa: UFV, 2002, 81p.
- CHURCH, N. Feature MAP fish and crustaceans-sensory enhancement. *Food Science and Technology Today*. v. 12, n. 2, p. 73-82, 1998.
- CHYTIRI, S.; CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, N.; KONTOMINAS, M. G. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*. v. 21, n. 2, p. 157-165, 2004.
- CINQUINA, A. L.; CALI, A.; LONGO, F.; SANTIS, L.; SEVERONI, A.; ABBALLE, F. Determination of biogenic amines in fish tissues by ion-exchange chromatography with conductivity detection. *J. Chromatogr. A*. 2004, 1032, p. 73-77.
- CINTRA, I. H. A.; OGAWA, N. B. P.; SOUZA, M. R.; DINIZ, F. M.; OGAWA, M. Decomposition of trimethylamine oxide related to the use of sulfites in shrimp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas: SBCTA, v. 19, n. 3, 1999.
- COBB, B.F. VANDERZANT, C. Development of a chemical test for shrimp quality. *Journal of Food Science*. v. 40, p. 121-126. 1975.
- COMUNIDADE EUROPEIA. Regulamento (CE) n° 2073 da Comissão, de 15 de novembro de 2005. Relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Europeia*. 22 de dezembro de 2005.
- CONTE JUNIOR, C. A.; PEIXOTO, B.T.M.; LOPES, M. M.; FRANCO, R. M.; FREITAS, M.Q.; FERNÁNDEZ, M.; MANO, S.B. Effect of modified atmosphere packaging on the growth/survival of *Yersinia enterocolitica* and natural flora on fresh poultry sausage. In: A. Méndez Vilas. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Badajoz: Formatex, 2010, v. 2, p. 1217-1223.
- CONTE JUNIOR, C.A.; HIERRO, E.; ALVAREZ, M. F. Estudio de la producción de poliaminas por bacterias comensales aisladas de leche humano. In: *Congreso Español de Microbiología de los Alimentos*, 15, 2006, Ourense. *Anais...* Ourense: Sociedad Española de Microbiología, 2006. p. 75.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. *Bioquímica de Pescados e Derivados*. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409 p.
- COSTELL, E.; T'ARREGA, A.; BAYARRI, S. Food acceptance: the role of consumer perception and attitudes. *Chem Percep*. v. 3, p. 42-50, 2010.
- DASSO, I. Qué ponemos em juego al degustar um alimento? *La Alimentación Latinoamericana*. v. 33, n. 229, p. 34-36, 1999.
- DAVIS, H.K. Modified atmosphere packaging (MAP) of fish and seafood products. In: *Modified Atmosphere Packaging (MAP) and Related Technologies*. Gloucestershire, 1995. Proceedings. Gloucestershire: Campden and Chorleywood Food Research Association, 1995. p. 1-13.

DOWNES F. P.; ITO K. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. American Public Health Association. 4 ed. p.159-166, Washington, 2001. 676p.

DU, W. X.; LIN, C. M.; PHU, A. T.; CORNELL, J. A. MARSHALL, M. R.; WEI, C. I. Development of biogenic amines in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*): effect of storage and correlation with descarboxylase-positive bacterial flora. *Food Microbiology and Safety*. v. 16, n. 1, p. 292-301, 2002.

DYER, W. J. Amines in fish muscle. I. Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate salt. *Journal of the fish research board of Canada*. v. 6, p. 351-358, 1945.

EILERT, S. J. New packaging technologies for the 21st century. *Meat Science*, Barking, v. 71, n. 1, p. 122-127, 2005.

EMBORG, J.; LAURSEN B. G.; DALGAARD P. Significant histamine formation in tuna (*Thunnus albacores*) at 2°C effect of vacuum- and modified atmosphere-packaging on psychrotolerant bacteria. *Int J Food Microbiol*. v. 101, p. 263-279, 2005.

ESAIASSEN, M.; NILSEN, H.; JOENSEN, S.; SKJERDAL, T.; EILERTSEN, G.; GUNDERSEN, B.; ELVEVOLL, E. Effects of catching methods on quality changes during storage of cod (*Gadus morhua*). *LWT – Food Science and Technology*, v. 37, p. 643-648, 2004.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State and World Fisheries and Aquaculture*. 218 p. Roma, 2010. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/sofia/en>> Acesso em 30 Abr. 2012.

\_\_\_\_\_. Food and Agriculture Organization of United Nations. *Farming freshwater prawns: A manual for the culture of the giant river prawn (Macrobrachium rosenbergii)*. FAO Fisheries Technical Paper: Rome 2002.

\_\_\_\_\_. Food and Agriculture Organization of United Nations. *Health management and biosecurity maintenance in white shrimp (Penaeus vannamei) hatcheries in Latin America*. FAO Fisheries Technical Paper: Rome, n. 450, 2003, 62p.

FDA. Food and Drug Administration. 1998. *Fish e Fisheries Products Hazards e Controls Guide*. 2nd ed. Washington, D.C.: FDA, Office of Seafood. 276 p.

FDA. Food and Drug Administration. *Scombrototoxina (Histamina) Formação (A Chemical Hazard)*. In: \_\_\_\_\_. *Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance*. 3 ed. 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood/FishandFisheriesProductsHazardsandControlsGuide/ucm091910.htm>. Acesso em 25 de agosto de 2012.

FERRAZ, J. L.; CRUZ, A. G.; CADENA, R. S.; FREITAS, M. Q.; PINTO, U. M.; CARVALHO, C. C.; FARIA, J. A. F.; BOLINI, H. M. A. Sensory Acceptance and

Survival of Probiotic Bacteria in Ice Cream Produced with Different Overrun Levels. v. 77, n. 1, 2012.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996. 174 p.

FURUYA, W. M.; HAY, C. H., SILVA, A. B. M. da; SANTOS JÚNIOR, O. de O. ; SOUZA, N. E. de; MATSUSHITA, M.; VISENTAINER, J. V. Composição centesimal e perfil de ácidos graxos do camarão-d'água-doce. *R. Bras. Zootec.*, v.35, n.4, p.1577-1580, 2006.

GALGANO, F.; FAVATI, F., BONADIO, M.; LORUSSO, V.; ROMANO, P. Role of biogenic amines as index of freshness in beef meat packed with different biopolymeric material. *Food Research International*.v.42, n 8, p. 1147-1152, Itália, 2009.

GHOLIZADEH, M. Effect of Polymer (PE–EVA–PVC) Structure on Gas Permission Properties. *Arab J Sci Eng*. v. 37, p. 889-896, 2012.

GOU, J.; CHOI, K-P.; HE, X.; AHN, J. Dimethylamine, trimethylamine, and biogenic amine formation in high-pressure processed semidried squid (*Todarodes pacificus*) during Refrigerated Storage. *Journal of Food Science*. v. 75, n. 7, 2010.

GRAM, L.; HUSS, H. H. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*. v. 33, n.1, p. 121-137, Denmark, 1996.

GRIZOTTO, R. K.; MENEZES, H. C. Avaliação da aceitação de “chips” de mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, n. 23, p. 79-86, Dez. 2003.

HACHICH, E. M.; BARI, M. D.; CHRIST, A. P. G.; LAMPARELLI, C. C.; RAMOS, S. S.; SATO, M. I. Z. Comparison of thermotolerant coliforms and *Escherichia coli* densities in freshwater bodies. *Brazilian Journal of Microbiology*. vol. 43, n. 2 p. 675-681, 2012.

HALÁSZ, A.; BARATH, A.; SIMON-SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*. vol. 5, n.2, p. 42-49, 1994.

HUSS, H. H. *Garantia da Qualidade dos Produtos da Pesca*. FAO – Documento Técnico sobre as Pescas n. 334. Roma, Itália, FAO, 1997. 176p.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020 p.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods: Vol. 4. *Application of hazard analysis critical point (HACCP) system to ensure microbiological safety and quality*. Blackwell, London, p. 41. 1988

JAY, J. M. Frutos do Mar. In: JAY J.M. editor. *Microbiologia de Alimentos*. 6ª ed. Porto Alegre: Arned, p.119-28, 2005.



JEYA S. R.; VASUNDHARA, T. S.; KUMUDAVALLY, K. V. A comparison of the TLC-densitometry and HPLC method for the determination of biogenic amines in fish and fishery products. *Food Chem.* 2001, 75, p. 255-259.

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

KIRSCHBAUM, J.; LUCKAS, B.; BEINERT, W. D.; Pre-column derivatization of biogenic amines and amino acids with 9-fluorenylmethyl chloroformate and heptylamine *J. Chromatogr., A*, v. 661, 193-199 p. 1994.

KIRSCHNIK, P. G. ; VI EGAS , E. M. M.; VAL ENTE, W. C.; OLIVEIRA, C. A. F. Shelf-life of tail meat of the Giant River Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, Stored on Ice. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. v. 15, n. 2, p. 57-71, 2006.

KOUTSOUMANIS, K. P.; STAMATIOU, A. P.; DROSINOSC, E. H.; NYCHAS, G. J. E. Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self developed modified atmosphere induced by respiratory activity of meat microbiota. *Food Microbiology*, v. 25, p. 915-921, 2008.

KUBITZA, F. *Tilápia (Oreochromis sp.): tecnologia e planejamento na produção comercial*. Divisão de Biblioteca e Documentação, Jundiaí, São Paulo, 2000, 285 p.

KYRANA, V. R.; LOUGOVOIS, V. P.; VALSAMIS, D. S. Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *Int. J. Food Sci. Technol.*, v. 32, p. 339–347, 1997.

LANZARIN, M.; ALMEIDA FILHO E.S.; RITTES, D.O.; MELLO, C.A.; CORRÊA, G.S.S.; IGNÁCIO, C.M.S. Ocorrência de *Aeromonas* sp. e microorganismos psicrotóxicos e estimativa do prazo de validade comercial de filé de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*) mantidos sob refrigeração. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.6, p.1541-1546, 2011.

LEHANE, L.; OLLEY, J. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*, v. 58, p. 1-37, 2000.

LIA, T.; LIA, J.; HUB, W.; ZHANGA, X.; LIC, X.; ZHAOA, J. Shelf-life extension of crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. *Food Chemistry*. v. 135, n. 1, p. 140-145, 2012.

LIAO, D. S., SMITH, T. I. J. Test marketing of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*, in South Carolina. *Aquaculture*. vol 23, n. 1-4, 1981, p. 373-379

LI-QIONG, C.; YONG, H. Influencing factors on determination of ammonia nitrogen in water by Nessler's reagent spectrophotometry. *Water Resource and Environmental Protection*. v. 2, p. 1173 – 1176, 2011.

LOPES, M. M.; MÁRSICO, E. T.; SOBREIRO, L. G.; SILVA, L. P.; CONTE JUNIOR, C. A.; PARDI, H. S.; MANO, S. B. Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. Portugal, v. 99, p. 207-210, 2004.

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

LOZANOV, V.; PETROV, S.; MITEV, V.; Simultaneous analysis of amino acid and biogenic polyamines by high-performance liquid chromatography after pre-column derivatization with N-(9-fluorenylmethoxycarbonyloxy) succinimide *J. Chromatogr., A* 2004, v. 1025, n. 2 p. 201-208.

LU, F.; LIU, D.; YE, X.; WEI, F. Alginate–calcium coating incorporating nisin and edta maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 89, n. 5, p. 848–854, 2009.

MADRID, R. M. M. 1998. Características intrínsecas e tratamento pós- colheita. In: W.C. Valenti, *Carcinicultura de água doce: Tecnologia para produção de camarões*. Brasília. p. 279-307.

MANO, S. B.; ORDÓÑEZ, J. A.; FERNANDO, G. D. G. Aumento da vida útil e microbiologia da carne suína embalada em atmosfera modificada. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v. 22, n. 1, p.1-10, Campinas, 2002.

MÁRSICO, E. T.; MANO, S. B. Tópicos em Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal (Apostila). *Controle Físico-Químico de Pescado Fresco, Resfriado ou Congelado*. Cap. XII, p. 77-85, 2008.

MAVROMATIS, P.; QUANTICK, P. Modification of Niven’s Medium for enumeration of histamine-forming bacteria and discussion of the parameters associated with its use. *J Food Prot.* v. 65, n. 3, p. 546-551 2002.

MEI, Y.H. A sensitive and fast method for the determination of polyamines in biological samples. Benzoyl chloride pre-column derivatization high-performance liquid chromatography. *Journal of Liquid Chromatography*. v. 17, n. 11, p. 2413-2418, 1994.

MONTEIRO, M. L. G.; MÁRSICO, E. T.; TEIXEIRA, C. E.; MANO, S. B.; CONTE JÚNIOR, C. A., VITAL, H. C. Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. *Ciência Rural*. vol. 42, nº. 4, p. 737-743. 2012.

MORAES-RIODADES, P.M.C.; VALENTI, W.C. Freshwater Prawn Farming in Brazilian Shows Potential for economic and Social Development. *Global Aquaculture Advocate*. v.4, n.5, p.73-74, 2001.

MORENO, R. B.; TORRES, E. F. S.; NETO, J. M. M. Avaliação dos níveis de histamina em sardinhas frescas comercializadas na CEAGESP de São Paulo. *REVENET DTA*. v. 3, n. 5, p. 151-159, 2003.

MORET, S.; CONTE, L. S. High-performance liquid chromatographic evaluation of biogenic amines in foods: An analysis of different methods of sample preparation in relation to food characteristics. *J. Chromatogr. A* 1996, 729, 363-369.

MUKUNDAN, M. K.; ANTONY, P. D.; NAIR, N. R. A review of autolysis in fish. *Fisheries Research*. Amsterdam, v. 4, p. 259-269, 1986.

NACMCF. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. Recommendation for Cooked Ready-to-Eat Shrimp and Ready-to-Eat Crabmeat Executive Secretariat, *Food Safety and Inspection Services*, US Department of Agriculture, Washington, DC. 1990.

NETTO, F. M. *Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo*. Campinas, 1984. 148 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da UNICAMP, Campinas, 1984.

NEW, M. B.; D'ABRAMO, L.R.; VALENTI, W.C.; SINGHOLKA, S. 2000. Sustainability of freshwater prawn culture. Páginas 429-434 In: M. B. New e W. C. Valenti, editores. *Freshwater prawn farming. The farming of Macrobrachium rosenbergii*. Osney Mead, Oxford, USA. 443 p.

NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J. H.; D'ABRAMO, L. R.; KUTTY, M. N. *Freshwater prawns: Biology and farming*. 1ed, Wiley-Blackwell, Oxford, 2010.

NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J. H.; D'ABRAMO, L. R.; KUTTY, M. N. *Freshwater prawns: Biology and Farming*. 1. ed. Oxford: Wiley-blackwell, 2010, 560p.

NEW, M.B.; D'ABRAMO, L.R.; VALENTI, W.C. e SINGHOLKA,S. Sustainability of freshwater prawn culture. In: NEW, M.B. e VALENTI, W.C. *Freshwater prawn culture: the farming of Macrobrachium rosenbergii*. Oxford, Blackwell Science. p. 429-443. 2000.

OGAWA, M.; MAIA, E. *Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia de Pescados*. São Paulo: Livraria Varela, 1999, 430 p.

OJAGH, S. M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S. H.; HOSSEINI, S. M. H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*. v. 120, p. 193–198, 2010.

OLIVEIRA, E. R. N. Deterioração do frescor. Apostila da disciplina da qualidade do pescado, Toledo, 2004.

PACQUIT, A.; FRISBY, J.; DIAMOND, D.; Lau, K.T.; FARRELL, A.; QUILTY, B. Development of a smart packaging for the monitoring of fish spoilage. *Food Chemistry*. v. 102, n. 2, p. 466-470, 2007.

PARRY, R. T. *Envasado de los alimentos em atmosfera modificada*. Madrid (España): A Madrid Vicent, p.13-31, 1993.

REZA, S.; MOHAMMAD, A. J.; BAPARY, C. T.; ISLAM, N. Shelf life of several marine fish species of Bangladesh during ice storage. *International Journal of Food Science and Technology*. v. 44, p. 1485-1494, 2009.

- RODRIGUES, T. P. Estudo de critérios para avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), cultivada, eviscerada e estocada em gelo. Niterói, 2008. 116 f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), universidade Federal Fluminense, Niterói, 2008.
- RODRÍGUEZ, S.C.; LÓPEZ, B.; CHAVES, A.R. Effect of different treatments on the evolution of polyamines during refrigerated storage of eggplants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 49, n. 10, p. 4700-4705, 2001.
- RUIVO, E. U. A. A análise sensorial na avaliação da qualidade do pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, 1988, Santos – São Paulo. Anais... Santos: Leopoldianum, p. 69-80, 1988.
- SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*. vol. 39, n. 7, p.675-690, 1996.
- SHAMSHAD, S.I; KHER-UM-NISA, M.; RIAZ, R.; ZUBERI, R. B. Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperatures. *Journal of Food Science*, v. 55, p. 1201-1206. 1990.
- SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A.; BURT, J. R. Posthaverst biochemical and microbial changes. In: SIKORSKI, Z. E. *Seafood: resources, nutritional, composition and preservation*. Boca Raton: CRC Press, p. 55-73, 1994.
- SILLAS-SANTOS, M. H. Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. v. 29, p. 213-231, 1996.
- SILVA, A.F; GODOY, L.C; FRANCO, M. L. S.; ASSIS, M. F.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Avaliação sensorial e composição proximal de camarões de água doce *Macrobrachium rosenbergii* defumados. *Cienc. Anim. Bras.*, v. 11, n. 4, p. 770-774, Goiânia, 2010.
- SILVA, S. C.; FERNANDEZ, S. Y.; FONSECA, M. J.; MÁRSICO, E. T.; SÃO CEMENTE, S. C. *Aminas biogênicas nos alimentos: revisão de literatura*. Higiene alimentar, vol. 5, no. 200/201, p. 45-50, 2011.
- SILVEIRA, N. F. A.; LEITÃO, M. F. F.; BALDINI, V. L. S.; TEIXEIRA FILHO, A. R. Bactérias produtoras de histamina e potencial para sua formação em peixes de origem fluvial ou lacustre. *Braz J Food Technol*. v. 4, p. 19-25, 2001.
- SIMÕES, D. R. S.; PEDROSO, M. A. W.; RUIZ, A.; ALMEIDA, T. L. Hambúrgueres formulados com base proteica de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, Out./Dez. 1998.
- SIQUEIRA, A. A. Z. C. *Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (Oreochromis niloticus)*. 2001, 154 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W.; ROSNES, T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fisherie products – significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology*. n. 37, 2002.

SOARES, V. F. M.; VALE, S. R.; GLÓRIA, M. B. A.; JUNQUEIRA, R. G. Teores de histamina e qualidade físico-química e sensorial do filé de peixe congelado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 18, n. 4, p. 462-467, 1998.

SOCOL, M. C. H.; OETTERER, M. Use of modified atmosphere in seafood preservation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. v. 46, n. 4, p. 569-580, December, 2003.

SRIKET, C.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Post-mortem changes of muscle from fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) as influenced by spawning stages. *Food Science and Technology*. vol. 43, no. 4, p. 608–616, 2010.

SRIKET, C.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; HARA, K.; YOSHIDA, A. Retardation of post-mortem changes of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored in ice by legume seed extracts. *Food Chemistry*. vol. 135, n.2, p. 571–579, 2012.

STONE, H.; SIDEL, J. L. *Sensory evaluation practices*. 3 ed. Inglaterra: Elsevier. 408 p. 2004.

TALLON, P.; MAGAJNA, B.; LOFRANCO, C.; LEUNG, K.T. Microbial indicators of faecal contamination in water: a current perspective. *Water, Air, Soil Pollut.* vol. 166, n. 1-4, p. 139-166, 2005.

TANCREDI, R. C. P.; FERES, R. S. R.; SILVA, Y. Avaliação das condições higiênico-sanitárias na comercialização de pescados do Rio de Janeiro. Resumo apresentado no 6º Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos. In: *Revista Higiene Alimentar*. v. 15, n. 80-81, p.103, 2001.

TEJADA, M.; HUIDOBRO, A. Quality of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage related to the slaughter method and gutting. *Eur. Food Res. Technol.*, v. 215, p. 1–7, 2002.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B. de; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 27, n. 1, p. 158-161, Campinas, 2007.

TIMM, M.; JORGENSEN, B. M. Simultaneous determination of ammonia, dimethylamine, trimethylamine and trimethylamine-n-oxide in fish extracts by capillary electrophoresis with indirect UV-detection. *Food Chemistry*. Denmark, v. 76, n. 4, 2002, p. 509-518

TSAI, Y-H.; LIN, C-Y.; CHANG, S-C.; CHEN, H-C.; KUNG H-F.; WEI, C-I. Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan. *Food Microbiol*. v. 22, p. 461-467, 2005.

VALENTI, W. C. Freshwater prawn culture in Brazil. *J World Aquac Soc.* Baton Rouge, v 24, p.29-34. 1993.

VALENTI, W. C. *Criação de camarões em águas interiores*. Jaboticabal: Funep. 81 p. 1996.

VALENTI, W. C. Sistemas de produção na fase de crescimento final. Páginas 165-178 In: Valenti, W.C. *Carcinicultura de água doce: Tecnologia para a produção de camarões*. IBAMA/FAPESP, 1998. 383 p. 1998.

VALENTI, W. C. A modernização da carcinicultura de água doce. *Revista da Associação Brasileira dos Criadores de Camarões*. ano III, nº 1, abril de 2001. p.56-58. 2001.

VIEIRA, R. H. S. F.; RODRIGUES, D. P.; BARRETO, N. S. E.; SOUSA, O. V.; TÔRRES, R. C. O.; RIBEIRO, R. V.; SAKER-SAMPAIO, S.; NASCIMENTO, S. M. M. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática*. São Paulo: Livraria Varela, 2003.

VINAGRE, C.; MADEIRA, D.; NARCISO, L.; CABRAL, H. N.; DINIZ, M. Effect of temperature on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Ecological Indicators*. v. 23, 274-279 p. 2012.

YEH, C.-Y.; LIN, S.-J.; HWANG, D.-F. Biogenic amines, histamine and label of dressed fish meat products in Taiwan. *Food Control*. 2006, 17, p. 423-428.

YOKOYAMA, V. A. *Qualidade do camarão da espécie *Xyphopenaeus kroyeri* mediante a ação dos agentes antimelanócitos*. [Dissertação]. Piracicaba, São Paulo: Universidade de São Paulo, 2007. 124 p.

ZHAO, Q-X.; XU, C.; XUE, C-H.; SHENG, W-J; GAO, R-C.; XUE, Y.; LI, Z-J. Determination of biogenic amines in squid and white prawn by high performance liquid chromatography with postcolumn derivatization. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. v.55, n.8, p. 3083-3088, 2007.

ZHU, J. LI, J.; JIA J. Effects of thermal processing and various chemical substances on formaldehyde and dimethylamine formation in squid *Dosidicus gigas*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 92, n. 12, 2012.

## **7 APÊNDICES**

### **7.1 ARTIGO SUBMETIDO A PERIÓDICO**

**SIMÕES JS**, MÁRSICO ET, LÁZARO CA, MANO SB, FRANCO RM, SANTOS LFL, CONTE JUNIOR CA. Nutritional and sensory evaluation of freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and permeability influence of packaging in its shelf life. Journal of Food Science, 2012 (Em avaliação).

### **7.2 PROJETO CONTEMPLADO POR ÓRGÃO DE FOMENTO**

O projeto intitulado “Estudo comparativo da qualidade do camarão marinho (*Litopenaeus* sp.) e camarão da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) e efeito da atmosfera modificada na validade comercial” foi contemplado pela Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ através do programa de Auxílio à Pesquisa (APQ1) – Edição 2012/1.

## 8 ANEXO

### Ficha de Avaliação Sensorial

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

- 1) Quanto você gostou ou desgostou da amostra? **De modo geral, por favor indique o quanto você gostou ou desgostou, utilizando a escala hedônica abaixo:**

- 9 - Gostei extremamente (Adorei)
- 8 - Gostei muito
- 7 - Gostei moderadamente
- 6 - Gostei ligeiramente
- 5 - Nem gostei/Nem desgostei
- 4 - Desgostei ligeiramente
- 3 - Desgostei moderadamente
- 2 - Desgostei muito
- 1 - Desgostei extremamente (detestei)

Aparência	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Suculência	Impressão Global

- 2) Para os atributos de cor, maciez e suculência, utilize as respectivas escalas.

**2.1 Cor** – Observe a amostra e, utilizando a escala, indique o quão ideal se encontra a **COR:**

- ( ) 9 – extremamente mais escuro que o ideal
- ( ) 8 – muito mais escuro que o ideal
- ( ) 7 – moderadamente mais escuro que o ideal
- ( ) 6 – ligeiramente mais escuro que o ideal
- ( ) 5 – ideal
- ( ) 4 – ligeiramente menos escuro que o ideal
- ( ) 3 – moderadamente menos escuro que o ideal
- ( ) 2 – muito menos escuro que o ideal
- ( ) 1 – extremamente menos escuro que o ideal

**2.2 Suculência** – Prove a amostra e, utilizando a escala, indique o quão ideal se encontra a **INTENSIDADE DA SUCULÊNCIA.**

- ( ) 9 – extremamente mais suculento que o ideal
- ( ) 8 – muito mais suculento que o ideal
- ( ) 7 – moderadamente mais suculento que o ideal
- ( ) 6 – ligeiramente mais suculento que o ideal
- ( ) 5 – ideal
- ( ) 4 – ligeiramente menos suculento que o ideal
- ( ) 3 – moderadamente menos suculento que o ideal
- ( ) 2 – muito menos suculento que o ideal
- ( ) 1 – extremamente menos suculento que o ideal



**2.3 Maciez** – Prove a amostra e, utilizando a escala, indique o quão ideal se encontra a **MACIEZ**.

- 9 – extremamente mais macio que o ideal
- 8 – muito mais macio que o ideal
- 7 – moderadamente mais macio que o ideal
- 6 – ligeiramente mais macio
- 5 – ideal
- 4 – ligeiramente menos macio que o ideal
- 3 – moderadamente menos macio que o ideal
- 2 – muito menos macio que o ideal
- 1 – extremamente menos macio que o ideal

**3.** Suponha que você esteja no supermercado e que esteja diante desse produto. Você compraria este produto?

- certamente compraria
- possivelmente compraria
- talvez comprasse / talvez não comprasse
- possivelmente não compraria
- certamente não compraria