

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

DANIELLA CRISTINA BERNARDI

**MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE (MIQ) DESENVOLVIDO PARA A
ESPÉCIE MARINHA PEIXE-SAPO (*Lophius gastrophysus*)
EVISCERADA E ESTOCADA EM GELO**

**UNIVERSIDADE
FEDERAL
FLUMINENSE**

**NITERÓI
2012**

DANIELLA CRISTINA BERNARDI

**MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE (MIQ) DESENVOLVIDO PARA A ESPÉCIE
MARINHA PEIXE-SAPO (*Lophius gastrophysus*) EVISCERADA E ESTOCADA
EM GELO**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. MÔNICA QUEIROZ DE FREITAS

Co-orientadores: Prof^a. Dr^a. ELIANE TEIXEIRA MÁRSICO

Prof. Dr. ROBSON MAIA FRANCO

**Niterói
2012**

B523

Bernardi, Daniella Cristina

Método do índice de qualidade (MIQ) desenvolvido para a espécie marinha peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) eviscerada e estocada em gelo / Daniela Cristina Bernardi; orientadora Mônica Queiroz de Freitas. - 2012

102f.

Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal)—Universidade Federal Fluminense, 2012.

Orientadora: Mônica Queiroz de Freitas

1. Qualidade do pescado. 2. Análise sensorial. 3. Análise físico-química. 4. Conservação de alimento. 5. Prazo de validade de produtos. 6. Peixe-sapo. I. Título.

CDD 664.94

*Dedico este trabalho à minha querida e
amada família, pelo incentivo, pelos
ensinamentos e, principalmente,
pelos milhares momentos
de alegria e amor.*

AGRADECIMENTOS

Às minhas orientadora e co-orientadora, Professoras Dra. Mônica Queiroz de Freitas e Dra. Eliane Teixeira Mársico pelo auxílio, sugestões e orientação.

Ao Professor Dr. Robson Maia Franco pelas sugestões, empréstimo de material de pesquisa, ensinamentos teóricos e práticos e momentos de descontração no Laboratório de Microbiologia de Alimentos.

Ao professor Dr. Carlos Adam Conte Junior pelos ensinamentos estatísticos.

À médica veterinária Cláudia da Empresa Pesqueira de Barra de São João pelo fornecimento de peixes utilizados na primeira fase desse experimento.

Ao senhor Luis José de Araújo Neto chefe do Controle de Qualidade da Empresa Pesqueira Da Hora pelo fornecimento do primeiro lote de peixes utilizados no experimento e pela atenção dedicada no momento da visita.

Aos julgadores das Análises Sensoriais, especialmente a equipe treinada do MIQ pela inestimável ajuda, sem os quais a realização desse trabalho não teria sido possível: Alexandre, Érica, Hugo, Bianca, Mariana, Thayssa, Ana Paula, Pâmela, Patrícia, Vinícius, Stefany, Juliana, Thaís, Marilu e Daniel.

Aos alunos de pós-graduação e estagiários do Laboratório de Controle Físico-Químico que me auxiliaram com seu conhecimento e na realização das análises que fizeram parte desse experimento: Michele, Maria Lúcia, César, Fernanda, Cecília, Carlinha, Marion, Hugo, Filipe, Carol, Sântila, Gabi, Luis Felipe, Rose e Laís.

A todo o corpo docente da Pós Graduação em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal da UFF pelos ensinamentos, e aos colegas pela companhia, troca de experiências no decorrer do curso e amizade, que espero cultivar por toda a vida.

Às amigas construídas em Niterói durante esses dois anos de mestrado que de alguma forma contribuíram para meu crescimento e bem-estar pessoal.

Ao meu namorado Luiz Carlos Cotovicz Junior pelo carinho, os bons momentos juntos, o auxílio, a companhia e o empréstimo do carro em todas as vezes que

precisei buscar os peixes-sapos, tanto em Cabo Frio, como na Ilha da Conceição em Niterói.

Aos meus queridos irmãos Caroline, Gustavo e Fabiano e minha cunhada Michele que mesmo de longe sempre me acompanharam e torceram por mim.

Aos meus pais Valdir e Lúcia e avós Luis e Lucinda por serem pessoas muito especiais e pelo exemplo de vida, humildade e união.

Ao CNPQ e CAPES pelo apoio financeiro.

Muito Obrigada!!

RESUMO

Considerando as exigências do mercado internacional por qualidade, a importância do grau de frescor dos produtos da pesca e o destaque da espécie marinha *Lophius gastrophysus* como fonte de alimento e renda para o país, nesse estudo objetivou-se estabelecer critérios de qualidade sensorial para a espécie em questão eviscerada e estocada em gelo e, associando-os às análises físico-químicas e bacteriológicas, estimar a validade comercial. Para tal, procedeu-se a avaliação do peixe cru eviscerado, durante 18 dias de estocagem com nove julgadores treinados utilizando-se o Método do Índice de Qualidade (MIQ) e, realizou-se teste de aceitação com a carne cozida do peixe-sapo após 0 e 4 dias de estocagem com 100 julgadores não treinados. As análises físico-químicas consistiram de Bases Voláteis Totais (N-BVT), Trimetilamina (TMA), pH, histamina (HI), cadaverina (CA) e putrescina (PU), pesquisa de amônia (NH₃) e gás sulfídrico (H₂S); e as bacteriológicas de Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) e Psicrotróficas (CBHAP). No teste de aceitação foi revelada diferença significativa (P < 0,05) entre as amostras para os atributos aparência, sabor, textura e impressão global e para a intenção de compra, observando-se melhor aceitação para a amostra do dia 0, sem, contudo haver rejeição dos consumidores pelas amostras do dia 4. Para o MIQ, foi estabelecido um protocolo de qualidade com 13 atributos e Índice de Qualidade (IQ) variando entre 0 e 28. Os valores de N-BVT, TMA e pH variaram de 8,57 a 37,17mgN/100g, 0,38 a 21,63 mgN/100g e 6,15 a 6,96, respectivamente, atingindo o limite estabelecido pela legislação após o 14^o dia de estocagem para N-BVT e após o 4^o dia para TMA e pH. Com relação às aminas biogênicas, foram encontrados valores inferiores a 2 mg/100g para HI, e entre 2 e 5 mg/100g para CA, não sendo detectada PU. Resultados positivos para NH₃ e H₂S foram observados a partir do 7^o dia de estocagem. Nas análises bacteriológicas, o limite de 7 log UFC/g foi ultrapassado após o 14^o dia para CBHAM e já no 2^o dia para CBHAP. Com base nesses resultados determinou-se a validade comercial desta espécie em quatro dias sugerindo um potencial para comercialização no mercado interno, apesar do inexpressivo consumo atual, em detrimento do grande volume exportado. Sugere-se a realização de outras pesquisas utilizando-se forma de captura menos agressiva.

Palavras chave: qualidade, análise sensorial, pescado, frescor, QIM

ABSTRACT

Considering the international market demands for quality, the importance of fish products freshness and the prominence of marine species *Lophius gastrophysus* as food and income for the country, this study aimed to establish sensory quality criteria for the species, eviscerated and stored in ice and, linking them to physical-chemical and bacteriological analyses, estimate the commercial validity. For this purpose, raw samples were evaluated during 18 days of storage with nine trained judges using the Quality Index Method (QIM) and it was realized acceptance test of cooked fish samples in day 0 and 4 of storage with 100 untrained panelists. The physical-chemical analysis consisted of total volatile bases (TVB), trimethylamine (TMA), pH, histamine (HI), cadaverine (CA) and putrescine (PU), research on ammonia (NH₃) and hydrogen sulfide (H₂S) and the bacteriological count of mesophilic heterotrophic bacteria (CBHAM) and psychrotrophic (CBHAP). The acceptance test revealed significant differences ($P < 0.05$) between samples for the attributes appearance, flavor, texture and overall impression and purchase intention, showing a greater acceptance for the sample of day 0, however consumers have not rejected the samples from day 4. For QIM, a protocol was established with 13 quality attributes and a quality index (IQ) ranging between 0 and 28. The values of TVB, TMA and pH ranged from 8.57 to 37.17 mgN/100g, 0.38 to 21.63 mgN/100g and 6.15 to 6.96, respectively, reaching the limit established by law after the 14th day of storage for TVB and after the 4th day for TMA and pH. With respect to biogenic amines, were found below 2 mg/100 g for HI, and between 2 and 5 mg/100g for CA, not being detected PU. Positive results for NH₃ and H₂S were observed from the 7th day of storage. In the bacteriological tests, the limit of 7 log CFU/g CBHAM was exceeded after the 14th day and already on day 2 to CBHAP. Based on these results it was determined a shelf life of four days for this species suggesting a potential for the domestic market, although the unexpressive current consumption. It is suggested to carry out further research using less aggressive form of capture.

Keywords: quality, sensory analysis, fish, freshness, QIM

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Fig. 1 (A e B) Peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*): formato triangular na parte anterior e parte posterior sub-cilíndrica, terminando em cauda achatada (A); pedúnculo terminando numa espécie de flâmula, sendo por isso conhecido como peixe pescador (B), p. 23
- Fig. 2 Produção anual do peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*), no período de 1999 a 2007 (NETO, 2010), p. 26
- Fig. 3 (A, B, C, D) Exemplos de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) acondicionados em recipiente isotérmicos de poliestireno expandido com gelo em escama para transporte (A e B); e em recipientes isotérmicos de polipropileno contendo gelo do tipo reciclável para armazenamento durante o período de 18 dias de estocagem (C e D), p. 50
- Fig. 4 (A e B) Treinamento da equipe sensorial para desenvolvimento do protocolo MIQ para o peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado, com interação entre os julgadores, p. 51
- Fig. 5 Protocolo de análise sensorial MIQ (Método do Índice de Qualidade) desenvolvido para peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e refrigerado, com observação das brânquias, p. 53
- Fig. 6 Protocolo de análise sensorial MIQ (Método do Índice de Qualidade) desenvolvido para peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e refrigerado, sem observação das brânquias, p. 54
- Fig. 7 Apresentação das amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) aos julgadores não treinados utilizando copos descartáveis de fundo claro e béquer de vidro tampado com vidro de relógio, juntamente com água e a ficha de avaliação sensorial para elaboração do teste de aceitação, p. 56
- Fig. 8 Ficha utilizada no teste de aceitação em amostras cozidas de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) com julgadores não treinados, p. 57
- Fig. 9 Determinação de pH em amostra de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo, p. 60

- Fig. 10 Prova de Nessler para amônia em amostra de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo, com resultado negativo (esq.) e positivo (dir.), p. 62
- Fig. 11 Representação gráfica da evolução das médias dos escores obtidos para peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo a partir da avaliação pelo MIQ, p. 65
- Fig. 12 Escores médios por julgador obtidos na avaliação MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 66
- Fig. 13 Evolução dos escores médios de cada atributo de qualidade avaliado no protocolo MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 67
- Fig. 14 Evolução de alguns atributos de qualidade avaliados no protocolo MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 70
- Fig. 15 Histogramas de freqüência dos valores hedônicos obtidos no teste de aceitação das amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) nos dias 0 e 4 de estocagem em gelo. OBS: A distribuição percentual corresponde ao número de respostas dos julgadores obtidas para cada valor hedônico. Os valores hedônicos correspondem a: 1 = desgostei extremamente; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei extremamente, p. 75
- Fig. 16 Representação gráfica dos valores médios obtidos para as análises de Bases Voláteis Totais (N-BVT) e Trimetilamina (TMA) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 79
- Fig. 17 Representação gráfica dos valores médios obtidos para as análises de pH realizadas em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) mantidas sob refrigeração durante 18 dias, p. 80
- Fig. 18 Evolução dos resultados referentes às Contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) e Psicrotróficas (CBHAP) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerados e estocados em gelo por 18 dias, p. 85

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Escores médios obtidos a partir da realização do MIQ em peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 65
- TABELA 2 - Evolução dos escores médios de cada atributo de qualidade avaliado no protocolo MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 68
- TABELA 3 - Modelos de equação de regressão linear dos escores médios de cada atributo de qualidade avaliado, do Índice de Qualidade total (IQ total) e do Índice de Qualidade sem a observação das brânquias (IQ total – IQ brânquias) em função do tempo de estocagem de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) e níveis de probabilidade (Prob), p. 71
- TABELA 4 - Perfil dos julgadores participantes do teste de aceitação de amostras cozidas de peixe-sapo (*L. gastrophysus*), p. 73
- TABELA 5 - Média dos valores atribuídos pelos julgadores às amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) no dia da captura (dia 0) e após quatro dias de estocagem em gelo (dia 4) utilizando a escala hedônica de 9 pontos, p. 74
- TABELA 6 - Média dos valores atribuídos pelos julgadores aos atributos cor, suculência e maciez de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) no dia da captura (dia 0) e após quatro dias de estocagem em gelo (dia 4) utilizando a escala do ideal de 5 pontos, p. 76
- TABELA 7 - Valores médios obtidos para as análises de Bases Voláteis Totais (N-BVT), Trimetilamina (TMA) e pH em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 78
- TABELA 8 - Modelos de equação de regressão linear dos valores médios de Bases Voláteis Totais (N-BVT) e Trimetilamina (TMA) em função do tempo de estocagem de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) e níveis de probabilidade (Prob), p. 79

- TABELA 9 - Resultados de amins biogênicas (histamina, cadaverina e putrescina) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias, p. 81
- TABELA 10 - Resultados relativos à produção amônia (NH₃) e gás sulfídrico (H₂S) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por um período de 18 dias, p. 83
- TABELA 11 - Resultados referentes às contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) e psicotróficas (CBHAP) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerados e estocados em gelo por 18 dias separados por lotes (1, 2 e 3), p. 85
- TABELA 12 - Modelos de equação de regressão, coeficientes de determinação (R²) e níveis de probabilidade (Prob) referentes às contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) e psicotróficas (CBHAP) em função do tempo de estocagem em gelo de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*), p.87

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------------|--|
| APC | Ágar Padrão para Contagem |
| ATP | Adenosina Trifosfato |
| BVT | Bases Voláteis Totais |
| CA | Cadaverina |
| CBHAM | Contagem de Bactérias Heterotróficas Mesófilas |
| CBHAP | Contagem de Bactérias Heterotróficas Psicrotróficas |
| CCD | Cromatografia em Camada Delgada |
| DAO | Diamino Oxidase |
| FDA | “Food and Drug Administration” |
| H ₂ S | Gás Sulfídrico |
| HI | Histamina |
| HMT | N-metil-transferase |
| ICMSF | “International Commission on Microbiological Specifications for Foods” |
| IQ | Índice de Qualidade |
| IMAO | Inibidoras de Monoamina Oxidase |
| LANARA | Laboratório Nacional de Referência Animal |
| MAO | Monoamino Oxidase |
| MAPA | Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento |
| MIQ | Método do Índice de Qualidade |
| NH ₃ | Amônia |
| OTMA | Óxido de Trimetilamina |
| PAO | Poliaminoxidase |
| PU | Putrescina |
| QIM | “Quality Index Method” |

RIISPOA Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

TMA Trimetilamina

UFC Unidade Formadora de Colônias

ZEE Zona Econômica Exclusiva

SUMÁRIO

RESUMO, p. 6

ABSTRACT, p.7

LISTA DE FIGURAS, p. 8

LISTA DE TABELAS, p. 10

LISTA DE ABREVIATURAS, p. 12

1 INTRODUÇÃO, p. 16

2 OBJETIVOS, p. 19

2.1 OBJETIVO GERAL, p. 19

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS, p. 19

3 REVISÃO DE LITERATURA, p. 21

3.1 PEIXE-SAPO, p. 21

3.1.1 Biologia e Ecologia, p. 22

3.1.2 Hábitos Alimentares, p. 23

3.1.3 Características Pesqueiras, p.24

3.1.4 Métodos de Captura, p. 26

3.2 CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO PESCADO FRESCO, p. 27

3.2.1 Fatores que influenciam na qualidade, p. 29

3.2.2 Alterações de qualidade em pescado, p. 30

3.3 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DO FRESCOR DO PESCADO, p. 34

3.3.1 Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ), p. 35

3.3.2 Análise sensorial pelo Teste de Consumidor, p. 36

3.3.3 Determinação das Bases Voláteis Totais (N-BVT), Trimetilamina (TMA), p.

38

3.3.4 Determinação do pH, p. 41

3.3.5 Pesquisa de Aminas Biogênicas, p. 42

3.3.6 Pesquisa de H₂S e NH₃, p. 46

3.3.7 Análises Bacteriológicas, p. 46

4 MATERIAL E MÉTODOS, p. 49

4.1 OBTENÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS, p. 49

4.2 ANÁLISES SENSORIAIS, p. 50

4.2.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ), p. 51

4.2.2 Teste de Consumidor, p. 55

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, p. 58

4.3.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (N-BVT), Trimetilamina (TMA), p. 58

4.3.2 Determinação de pH, p. 59

4.3.3 Determinação de histamina, cadaverina e putrescina por CCD, p. 60

4.3.4 Produção de H₂S, p. 61

4.3.5 Produção de NH₃, p. 61

4.4 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS, p. 62

4.5 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS, p. 63

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO, p. 64

5.1 ANÁLISES SENSORIAIS, p. 64

5.1.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ), p. 64

5.1.2 Teste de Consumidor, p. 72

5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, p. 77

5.2.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (N-BVT), Trimetilamina (TMA) e pH, p. 77

5.2.2 Determinação de histamina, cadaverina e putrescina por CCD, p. 81

5.2.3 Produção de H₂S e NH₃, p. 83

5.3 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS, p. 84

6 CONCLUSÕES, p. 88

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, p. 89

1 INTRODUÇÃO

Os peixes e demais frutos do mar, logo após a captura ou a despesca, apresentam rápida deterioração como consequência de alterações bioquímicas e microbiológicas, embora a perda da qualidade dependa também de outros fatores, como da espécie e das condições de manuseio e estocagem (RODRÍGUEZ et al., 2004).

Segundo Almeida Filho et al. (2002), o produto de qualidade indesejável que chega ao consumidor com uma carga microbiana elevada, caracterizada por microrganismos deteriorantes e patogênicos, deve-se a falta de medidas que priorizem a qualidade do pescado por parte de pescadores e empresários, desde a obtenção até a exposição do produto em nível do comércio, uma vez que o pescado é um alimento altamente perecível.

Na indústria de pescado a qualidade pode ser avaliada por métodos microbiológicos, físico-químicos e sensoriais. A maioria dos métodos químicos ou instrumentais, de acordo com as considerações descritas por Huss (1995), deve ser correlacionada com a análise sensorial, pois fazem parte dos atributos empiricamente utilizados pelos consumidores para obtenção e consumo de produtos marinhos.

A análise sensorial descritiva muito utilizada na Europa emprega o Método do Índice de Qualidade (MIQ), um sistema de gradação para estimar o frescor e a qualidade do pescado, o qual tem demonstrado ser rápido e eficiente para muitas espécies de peixes, sendo aplicado de forma espécie-específica, sugerindo uma possível estimativa da validade comercial do pescado (PORTELA, 2009).

Dalgaard (2000) ainda que tenha descrito a importância dos métodos sensoriais afirmou que é essencial a utilização de métodos instrumentais como forma de avaliação complementar tendo em vista que os primeiros podem

apresentar custo elevado, demandar maior tempo, principalmente quando se utilizam julgadores treinados, e possuir dificuldade de padronização.

Em alguns casos, o consumo de pescado estocado em refrigeração pode não ser seguro para a saúde dos consumidores, pela possibilidade de apresentar compostos tóxicos, como a histamina e outras aminas biogênicas, mesmo em condições microbiológicas e sensoriais favoráveis ao consumo e outras, mesmo contendo níveis desses compostos compatíveis com a legislação, oferecem condições desfavoráveis ao consumo (TAHA, 1988).

Com os avanços que vem ocorrendo na legislação relativa a alimentos e no mercado das matrizes alimentares, as relações comerciais exigem cada vez mais uma série de informações relativas à qualidade do pescado e à rastreabilidade dos produtos. A obtenção de informações relevantes, inclusive de parâmetros que descrevam a qualidade do pescado é, portanto, necessária (OLAFSDÓTTIR et al., 2005).

O peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) é uma espécie marinha que apresenta importante valor comercial no Brasil, principalmente para a exportação. Os trabalhos existentes a respeito dessa espécie estão relacionados à estrutura e dinâmica da pescaria (BOTELHO, 2009; PEREZ et al., 2002a) e captura (PEREZ; WAHRLICH, 2004), aos aspectos da tecnologia da pesca (WAHRLICH; PERES; LOPES, 2004), aos aspectos ambientais e biologia pesqueira de populações naturais (VALENTIM; CARAMASCHI; VIANNA, 2007), à determinação das espécies de cestóides da ordem Trypanorhyncha que parasitam o peixe-sapo (SÃO CLEMENTE, 2007) e à caracterização sensorial e análise bacteriológica desse peixe refrigerado e irradiado (ABREU et al., 2008), não havendo estudos referentes às características de qualidade dessa espécie.

Associada a essa deficiência, pode-se inferir sobre a inadequação dos critérios estabelecidos pela legislação brasileira para peixe fresco, os quais se referem de forma geral a todas as espécies de peixe destinadas ao consumo humano. Dessa forma, torna-se necessária a realização de estudos visando determinar as características de frescor do peixe-sapo, relacionando-as com o tempo de estocagem, através do acompanhamento das alterações deste produto quando mantido sob refrigeração até completa deterioração.

É de grande importância a avaliação de características físico-químicas, em função da variação entre as espécies, além do acompanhamento das alterações

microbiológicas deste produto ao longo do período de estocagem. A partir dessas informações, será possível indicar a validade comercial sob as condições do estudo, procurando oferecer subsídios às empresas exportadoras dessa espécie para a oferta de um produto com qualidade, fato de fundamental importância na conquista de novos mercados. Possivelmente esses dados poderão auxiliar as autoridades sanitárias para uma readequação da legislação, de forma a torná-los mais condizentes com a realidade brasileira.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer critérios específicos para a avaliação da qualidade e frescor da espécie marinha Peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) eviscerada e estocada em gelo, associando o Método do Índice de Qualidade (MIQ) e o teste de aceitação às análises físico-químicas e bacteriológicas ao longo do período de estocagem.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) A partir do Método do Índice de Qualidade (MIQ), o qual pontua características de aparência e odor, desenvolver um protocolo de qualidade sensorial para a espécie marinha Peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerada e estocada em gelo (0°C);

b) Realizar teste de aceitação com julgadores não treinados, utilizando escala hedônica, com o peixe em estudo fresco (dia 0) e após ser estocado em gelo, até o limite estabelecido como próprio para o consumo humano;

c) Determinar o pH, a produção de gás sulfídrico (H₂S), aminas biogênicas (histamina, putrescina e cadaverina), de amônia, e de bases voláteis totais (N-BVT) e Trimetilamina (TMA), após estocagem em gelo por 0, 02, 04, 07, 09, 11, 14, 16 e 18 dias;

d) Realizar contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotólicas na musculatura da espécie estudada, nos períodos de estocagem em gelo (0 °C) de 0, 02, 04, 07, 09, 11, 14, 16 e 18 dias;

e) Estimar a validade comercial do Peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo;

3 REVISÃO DE LITERATURA

Com elevado valor econômico no mercado internacional e, devido a crescentes oportunidades de exportação para países europeus e asiáticos, o peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*), que desde a década de 1990 constituía-se apenas em fauna acompanhante de interesse comercial para a frota camaroneira, passou em 2001, a ser alvo das operações de embarcações de arrasto, desencadeando o rápido desenvolvimento de uma pescaria dirigida no Brasil, tanto por embarcações nacionais quanto arrendadas, e uma ampla e inédita ocupação das áreas de pesca do talude entre o norte do Rio de Janeiro e o sul do Rio Grande do Sul (PEREZ et al., 2002a; RAMELLA et al., 2005).

3.1 PEIXE-SAPO

Dentre os representantes da família *Lophiidae*, as espécies do gênero *Lophius* sp. são consideradas de grande importância econômica, pela consistência atrativa de sua carne para consumo humano (CARUSO et al., 2005), a qual assemelha-se muito à carne da lagosta (RICHARDSON, 2010). Explorados como recursos em diferentes regiões do oceano Atlântico (LESLIE; GRANT, 1990) tornaram-se bastante populares nas últimas décadas nos mercados americano, europeu e japonês. Na Ásia, por exemplo, especialmente no Japão, o fígado de *Lophius* é considerado uma iguaria (YONEDA et al., 1997), podendo ser comercializado por 10 a 15 euros uma libra (453,6 g) (RICHARDSON, 2010).

A crescente exploração desse recurso induziu estudos dos aspectos reprodutivos, alimentares e pesqueiros das espécies européias e de *Lophius americanus*. Contudo, *Lophius gastrophysus*, a única espécie do gênero *Lophius* sp. que ocorre no Atlântico Sul, habitando as costas sul e sudeste do Brasil, conhecida

localmente como 'peixe-sapo' ou 'tamboril' é, ainda, muito pouco estudada (VALENTIM; CARAMASCHI; VIANNA, 2007).

Sabe-se que possui, assim como as demais espécies, hábitos bentônicos com forte associação com o substrato. Essas características comportamentais motivaram o desenvolvimento da pesca, no Sudeste e Sul do Brasil, em regiões de quebra de plataforma e talude continental, em profundidades oscilando entre 100 e 600 m, gerando uma produção de cerca de 8.648 t desembarcadas e de uma movimentação anual aproximada de mais de US\$ 20.000.000,00, montante que posicionou, em apenas um ano, recursos expressivos no país, os quais, à época igualaram-se aos produzidos na pesca da lagosta e dos tunídeos da região Nordeste (GORDON, 2001; PEREZ et al., 2001).

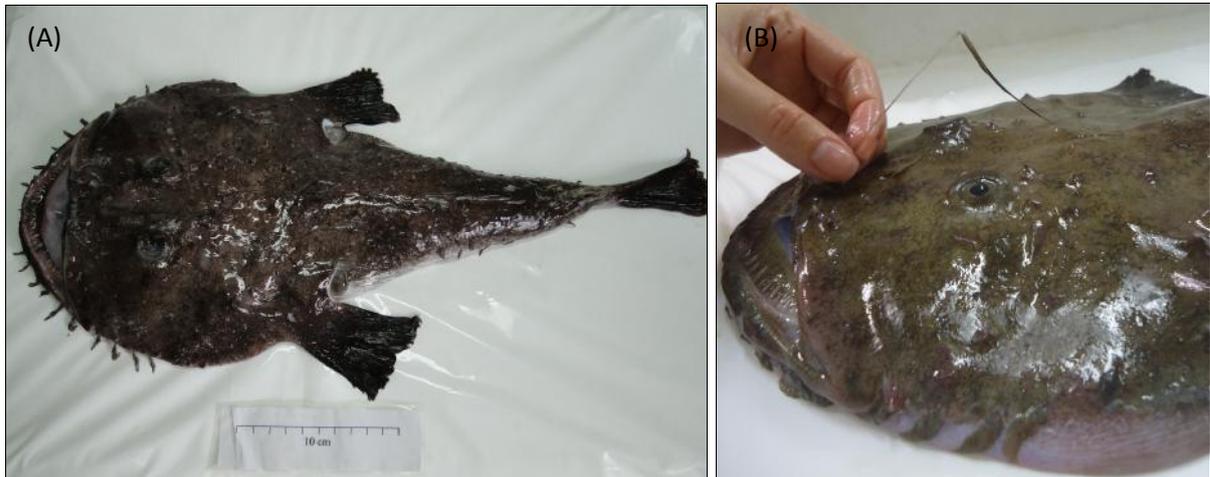
Esse fato culminou com o aumento do esforço e da captura deste recurso e, como consequência, depleção dos estoques em função da exploração (YONEDA et al., 1997).

3.1.1 Biologia e ecologia

O peixe-sapo pode medir até dois metros de comprimento. Possui formato triangular, assemelhando-se a um sapo, na parte anterior e sua parte posterior é sub-cilíndrica, terminando em cauda achatada (Figura 1A). Apresenta coloração cinzenta marmoreada de preto na parte dorsal e esbranquiçada na parte ventral. Possui pedúnculo no focinho terminando numa espécie de flâmula, por isso é também conhecido como peixe pescador (Figura 1B). A dimensão do seu estômago está relacionada com a enormidade da sua abertura bucal, podendo ingerir animais quase tão grandes quanto o comprimento e a largura de seu próprio corpo. As nadadeiras ventrais são verdadeiros pés na forma e na função. Sendo um peixe de profundidade, vive no fundo em contato com a areia ou sedimento, onde anda como qualquer quadrúpede (SANTOS, 1992). Vianna e Almeida (2005) também apontaram a ocorrência de *L. gastrophysus* sempre associada a fundos inconsolidados e águas frias.

Estudos referentes ao crescimento da espécie *L. gastrophysus*, ainda são incipientes, destacando-se o trabalho de Lopes (2005), que evidenciou, na análise dos otólitos, crescimento diferenciado entre os sexos, sendo que as fêmeas

alcançam maiores tamanhos que os machos e apresentam maior longevidade. A interpretação aceita para esse dimorfismo sexual segundo Maartens e Booth (2004) tem sido a de potencializar maior fecundidade tendo em vista que o maior tamanho das fêmeas permitiria a acomodação de maior número de ovos.



Figuras 1 (A e B) – Peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*): formato triangular na parte anterior e parte posterior sub-cilíndrica, terminando em cauda achatada (A); pedúnculo terminando numa espécie de flâmula, sendo por isso conhecido como peixe pescador (B).

Com relação ao comportamento reprodutivo, as fêmeas liberam seus ovos de forma agregada imersos numa tira gelatinosa flutuante, semelhante à desova de alguns anfíbios. Os ovos e as larvas são pelágicos e os indivíduos juvenis são demersais, passando a ocupar áreas mais profundas quando adultos (VALENTIM; CARAMASCHI; VIANNA, 2007).

As espécies de *Lophius* passaram a ser apreciadas na culinária pela textura e sabor de sua carne, o que aumentou sua exploração comercial como recurso pesqueiro valorizado nos mercados europeu, americano e japonês (ibid.).

3.1.2 Hábitos Alimentares

Os lofiídeos são conhecidos mundialmente como “peixes-pescadores” pela forma característica de atrair presas para alimentação, através da movimentação do ilício (primeiro raio da nadadeira dorsal modificada), localizado no topo do focinho. Em observações subaquáticas recentes, no entanto, verificou-se que o balançar do ilício em *Lophius piscatorius* precede o ataque imediato, quando a presa já não pode

escapar do raio de ação do predador, e que as nadadeiras peitorais e pélvicas são importantes auxiliares para o peixe enterrar-se quando adota o comportamento de senta-espera. As espécies foram descritas como predadoras piscívoras e oportunistas, em virtude da ampla variedade de peixes em seu conteúdo estomacal (VALENTIM; CARAMASCHI; VIANNA, 2007).

Laurenson et al. (2004) verificaram que *in situ* o comportamento alimentar da espécie é muito mais complexo. Os autores observaram, por exemplo, que os indivíduos podem ‘caminhar’ pelo fundo usando as nadadeiras pélvicas e peitorais; podem cavar depressões onde ficam escondidos em postura de senta-e-espera. Podem, ainda, responder à presença de presas situadas entre cinco e um metro de distância, elevando alguns raios cefálicos da nadadeira dorsal à medida que a presa se aproxima, devido à detecção de vibrações da água causada pelo movimento de natação das presas. Os autores observaram também que *L. piscatorius* balança o ilício apenas quando a presa se posiciona exatamente a sua frente, em posição adequada para um ataque bem sucedido. O investimento no comportamento de se enterrar parece maximizar o sucesso na captura para esse estrategista de senta-e-espera, uma vez que não há gasto de energia na perseguição das presas.

3.1.1 Características Pesqueiras

Com o passar dos anos 90 desenvolveu-se a percepção de que as pescarias de profundidade poderiam ser uma importante alternativa para a necessária redução do esforço pesqueiro sobre a plataforma continental (PEREZ et al., 2003). Como efeito, foi lançado em 1998 o programa para o desenvolvimento da pesca de profundidade pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) baseado no arrendamento de embarcações estrangeiras por empresas nacionais, com objetivo de melhorar o conhecimento sobre recursos pesqueiros potenciais e a ocupação racional da Zona Econômica Exclusiva (ZEE) Brasileira.

O referido programa foi implementado na região sul a partir de 2000, quando as embarcações arrendadas começaram a operar em profundidades de 200 a 900 m, utilizando covos, espinhéis, redes de emalhe e arrasto de fundo e revelaram, como uma das principais espécies-alvo dessas pescarias, o peixe-sapo, *Lophius gastrophysus* (PEREZ et al., 2002a; 2003), em virtude do seu elevado valor no

mercado internacional. Estes autores alertaram sobre os perigos da expansão desordenada das áreas de pesca e a necessidade de subsídios científicos para seu devido ordenamento.

A partir de 2001, observou-se o processo explosivo de expansão pesqueira estabelecido tanto pela atuação exploratória da pesca de arrasto nacional, quanto através do Programa de Ocupação da ZEE Brasileira (WAHRLICH; PERES; LOPES, 2004).

Nos anos subsequentes, além das embarcações internacionais atuando na captura de *L. gastrophysus*, também as embarcações nacionais deslocaram-se para áreas profundas, acarretando um aumento acentuado no esforço pesqueiro. Neste contexto, em menos de cinco anos *L. gastrophysus* passou do estado de sub-explotado para ameaça de sobre-exploração, pois à medida que os estoques entram em depleção, o poder de pesca tende a aumentar para fazer frente à redução das capturas e manter os rendimentos (VALENTIM; CARAMASCHI; VIANNA, 2007).

Embora indícios de interesse econômico já tivessem sido identificados em 1999/2000 (PEREZ et al., 2001), foi em 2001 que, apesar do total desconhecimento biológico de *L. gastrophysus* e em virtude da forte pressão pesqueira sobre a mesma, iniciou-se o processo de ordenamento da pesca direcionada a esta espécie nas regiões sudeste-sul do Brasil, a fim de tentar evitar uma rápida depleção do estoque (VALENTIM; CARAMASCHI; VIANNA, 2007).

Em 2002 foi criado um Grupo Técnico de Trabalho para a indicação de medidas de ordenamento da pesca do peixe-sapo, o qual recomendou uma captura máxima de 1.500 t em 2003 (BOTELHO, 2009). No ano de 2005, através da Instrução Normativa Nº 23 (BRASIL, 2005) foi estabelecida uma série de critérios e procedimentos para o ordenamento da pescaria de *L. gastrophysus* e regulamentados aspectos como: nacionalidade das embarcações (brasileira); número máximo de embarcações permitidas; método de pesca (apenas rede de espera do tipo fixa no fundo); limite máximo de redes transportadas por embarcações (mil redes); limite máximo anual permitido de captura (1500 toneladas de peso eviscerado) entre outros.

As descargas da espécie entre Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul passaram de 793 t em 1999 para 7.094 em 2001, decaindo com essas medidas, para 5.129 t em 2002 e 2.433 t em 2004 (Figura 2). Nos últimos anos, a captura foi reduzindo até não ser significativamente diferente dos valores da década de 90. Esta variação

ocorreu em decorrência de fatores como a diminuição do estoque, a limitação de porcentagem de captura, a não aceitação de indivíduos de tamanho reduzido (imaturos) e provenientes da pesca de arrasto-duplo pelo mercado europeu e por não se tratar de uma pescaria sustentável, caracterizando fatores que podem ter contribuído para a diminuição do direcionamento da frota de arrasto-duplo nos últimos anos (BOTELHO, 2009).

Na análise da exportação deste recurso pesqueiro, o autor supracitado observou que grande porcentagem das capturas desembarcadas é destinada principalmente para o mercado externo e que variáveis como o preço do dólar, barreiras sanitárias e o padrão de consumo dos países importadores determinam em grande parte a sustentabilidade da cadeia produtiva desta pescaria.

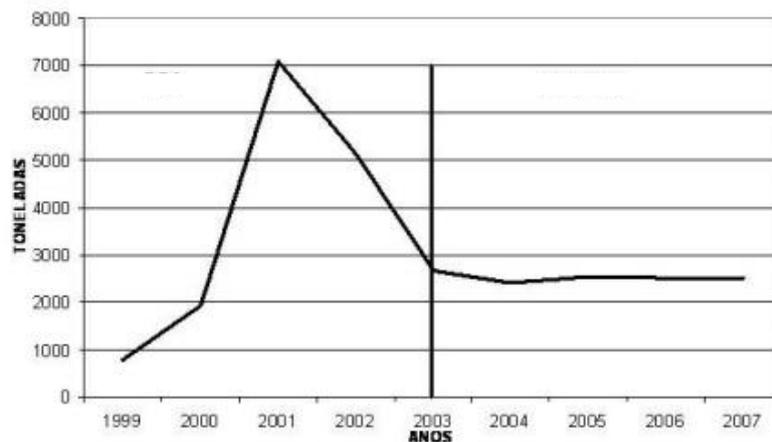


Figura 2 – Produção anual do peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*), no período de 1999 a 2007 (NETO, 2010).

3.1.4 Métodos de Captura

No barco, a captura é realizada por dois tipos de pesca, redes de arrasto e redes de emalhe. A pesca por redes de arrasto é feita com redes de malha fina, tracionadas por motores, que revolvem o fundo do oceano e capturam espécies em fase de desenvolvimento e a flora marítima, sem qualquer seleção (OHARA, 2007). A pesca por rede de emalhe constitui-se por redes de forma retangular, mantidas verticalmente na água por meio de pesos colocados na extremidade inferior e de flutuadores na oposta, onde os peixes ficam presos (PEREZ et al., 2002a).

Segundo Nunes (2002), há uma grande diferença entre esses métodos de pesca com relação à qualidade da matéria-prima. A pesca por rede de emalhe garante um peixe com alta qualidade, pelo fato de chegar ainda vivo ao convés do barco. Após a captura, é realizada a seleção das espécies e o peixe-sapo é colocado em um tanque com água salgada (do mar) e gelo, ocorrendo uma morte lenta que diminuiu o estresse sofrido pelo peixe.

Na pesca de arrasto, o peixe apresenta qualidade inferior, pois permanece arrastando no fundo do mar por um período que varia de duas a quatro horas e chega morto ao convés do barco. Esse fato ainda origina um lote de peixes com qualidades diferentes, pois o peixe com quatro horas de arrasto apresentará uma carne com mais hematomas e machucados com relação ao peixe de 15 a 20 minutos de arrasto. Além disso, a forma anatômica do peixe-sapo (boca com grande abertura) facilita a entrada de sedimento e/ou areia durante o arraste, favorecendo a contaminação (NUNES, 2002).

Em 2002, o maior volume capturado era predominante da pesca de arrasto. Em 2009, o número de desembarques e de embarcações da frota de arrasto duplo bem como a produção deste recurso apresentaram redução (BOTELHO, 2009). Além de envolver menores custos, a pesca de emalhe é mais seletiva do que o arrasto na captura de peixe-sapo, preservando os indivíduos juvenis (PEREZ et al., 2002b).

Com relação ao tempo de pesca, os barcos brasileiros de médio e grande porte permanecem atualmente de dez a 18 dias pescando em alto mar. Sabe-se que o tempo ideal de acondicionamento, do peixe no barco com gelo, não deve ser superior a quatro dias para manter uma qualidade alta. A grande dificuldade em diminuir esse tempo está no custo de manutenção do barco (há a necessidade de um grande volume capturado para minimizar as despesas da viagem) e na adaptação dos barcos para congelamento a bordo (NUNES, 2002).

3.2 CARACTERÍSTICAS DE QUALIDADE DO PEIXE FRESCO

Em pescado, o termo qualidade refere-se geralmente à aparência e frescor, ou ao grau de deterioração dos produtos da pesca, podendo ainda estar relacionado

com aspectos de segurança, como ausência de bactérias patogênicas, parasitas ou compostos químicos (HUSS, 1995).

Para Olafsdottir et al. (2004), a qualidade do pescado depende de uma série de fatores onde o frescor é considerado essencial. Esteves e Anibal (2007) também descreveram que a qualidade dos produtos da pesca e aquicultura é, em grande parte, determinada pelo grau de frescor. Esses autores ainda afirmaram que, no âmbito dos sistemas de garantia da qualidade, este parâmetro deve ser alvo de monitorização ao longo da cadeia de produção.

Comprovando a importância dessa característica de qualidade, Chebet (2010) afirmou que em muitas ocasiões, o valor dos peixes a serem comercializados é atribuído com base em critérios de frescor. O peixe é desembarcado e classificado em diferentes grupos pelo inspetor através de características sensoriais.

Baseando-se em conceito estabelecido pela legislação nacional, no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1952), considera-se fresco aquele pescado dado ao consumo sem ter sofrido qualquer processo de conservação a não ser a ação do gelo. Além disso, deve apresentar as seguintes características: superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico; olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando completamente as órbitas; brânquias róseas ou vermelhas, úmidas e brilhantes com odor natural, próprio e suave; ventre roliço, firme, não deixando impressão duradoura à pressão dos dedos; escamas brilhantes, bem aderentes à pele e nadadeiras apresentando certa resistência aos movimentos provocados; carne firme, consistência elástica, de cor própria à espécie; vísceras íntegras, perfeitamente diferenciadas; ânus fechado, cheiro específico.

Outra definição, apresentada na Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997 do MAPA (BRASIL, 1997) considera o peixe fresco como produto obtido de espécimes saudáveis e de qualidade adequada ao consumo humano, convenientemente lavado e que seja conservado somente pelo resfriamento a uma temperatura próxima ao ponto de fusão do gelo.

Silva Junior (2001) também descreveu algumas características de qualidade do peixe fresco incluindo a consistência firme da carne, não amolecida e sem muco na superfície. Em relação aos atributos cor e odor, o autor afirmou que devem ser característicos, geralmente branca ou rósea. No peixe inteiro a carne deve estar

presa à espinha com o ventre íntegro, as escamas bem aderidas e brilhantes, brânquias úmidas e intactas, olhos brilhantes e salientes, sem muco na superfície.

Entretanto, no período após a captura até o processamento ou comercialização, os peixes ficam sujeitos a perdas de qualidade, as quais podem variar influenciadas por fatores diretamente relacionados aos produtos da pesca (intrínsecos) bem como por fatores externos, envolvendo os períodos anteriores e após captura (OGAWA; MAIA, 1999).

3.2.1 Fatores que influenciam na qualidade

Dentre os fatores intrínsecos que tornam o pescado altamente susceptível aos processos de deterioração podem ser descritos a elevada atividade de água, a composição química, teores elevados de lipídios insaturados facilmente oxidáveis, pH próximo da normalidade (FRANCO; LANDGRAF, 2008), presença de compostos voláteis de baixo peso molecular, o tipo de proteínas e o baixo teor de tecido conjuntivo, bem como a natureza psicrófila da microbiota bacteriana (NUNES; BATISTA; CARDOSO, 2007).

A composição química, por sua vez, pode variar entre as espécies e na mesma espécie dependendo de fatores como idade e tamanho (peixes mais jovens e menores possuem maior quantidade de água e menor de gordura), o grau de maturação gonadal, sexo, parte do corpo analisada (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994), e ainda com as estações do ano, o tipo de alimentação e o local de captura (ABABOUC et al., 1996; MOUCHREK-FILHO et al., 2003).

Aliadas a todas essas características, as ações humanas durante o manejo e captura do pescado, também podem interferir na velocidade de deterioração *post-mortem* (HUSS, 1994). Fatores como diferentes métodos de captura, tempo de arraste e áreas de pesca determinam as condições do pescado no momento da captura, uma vez que a agonia prolongada provoca maior consumo de glicogênio, e diminuição acelerada do aparecimento de fenômenos de alteração e o tipo de microbiota contaminante (PONS-SANCHEZ-CASCADO, 2005).

O peixe quando é capturado com rede de arrasto, como é o caso do peixe-sapo, normalmente carrega uma carga microbiana de 10 a 100 vezes maior do que aquele capturado por outros métodos. Este aumento é atribuído ao fato de os peixes

serem arrastados pelo fundo do mar, agitando o sedimento que geralmente contém grandes quantidades de bactérias, contaminando o produto. Além disso, durante o arraste, o peixe pode apresentar vísceras rompidas com extravasamento do conteúdo intestinal (EIROA, 1980).

Em outros métodos de captura o rompimento das vísceras pode ocorrer em função da pressão a que os peixes são submetidos, e o seu conteúdo intestinal pode vir a contaminar a pele dos outros que o rodeiam. No pescado de águas profundas, o conteúdo intestinal pode prolapsar pela pressão que exerce a expansão repentina da bexiga natatória. Em ambos os casos, os microrganismos que possam existir no intestino dos peixes, se espalharão por toda a carga capturada (ibid.).

O tempo de exposição no convés, o resfriamento inadequado ou insuficiente de matéria-prima e o grau de higiene do porão, são outros fatores que influenciam o grau de conservação e frescor da matéria-prima que será desembarcada nas fábricas e entrepostos de pesca (RUIVO, 1988) contribuindo para depreciação do produto com conseqüente aumento das perdas pós-captura.

Práticas artesanais e/ou industriais inadequadas de preservação e processamento originam produtos de qualidade inferior e, até mesmo, completa deterioração com conseqüente aumento de perdas. A cadeia de comercialização do pescado fresco até o consumidor final, também contribui decisivamente para a perda da qualidade e o grau de deterioração do pescado fresco disponível ao consumidor em feiras livres, mercados, peixarias e supermercados do país. A indústria também é prejudicada pelo recebimento de matéria-prima de qualidade inferior a desejável (SANTOS, 2006).

3.2.2 Alterações de qualidade em pescado

A deterioração é um processo complexo, definido por Huss (1994;1995) como sendo a perda de qualidade, indicada pela perda progressiva de características como cor, sabor, odor ou textura, obtida a partir de diferentes mecanismos que variam consideravelmente dependendo da espécie e do método de armazenamento utilizado.

Em pescado, esse processo pode ser indicado por sinais evidentes como a detecção de odores e sabores desagradáveis, formação de muco, produção de gás,

coloração anormal e alterações na textura (CONNEL, 1995; HUSS, 1994). Beraquet e Lindo (1985) e Nunes, Batista e Cardoso (2007) citaram ainda outras perdas sensoriais, como escamas opacas que soltam facilmente, olhos turvos com pupilas branco-leitosas, brânquias pálidas ou escuras, carne amolecida, cinzenta, sem brilho e sem elasticidade e odor desagradável de amônia.

O desenvolvimento destes sinais se dá devido a um conjunto de fenômenos autolíticos, microbiológicos e físico-químicos sendo que a perda inicial de qualidade ocorre basicamente por alterações autolíticas (CONNEL, 1995; HUSS, 1994).

Após a captura, o pescado sofre uma série de complexas transformações bioquímicas associadas com a degradação de ATP e conseqüente ocorrência do *rigor-mortis* e abaixamento do pH do músculo. As condições criadas pela queda do pH podem ocasionar o rompimento das paredes dos lisossomas das células do tecido muscular, liberando enzimas e iniciando o processo de autólise, o qual causa profundas alterações estruturais no músculo do pescado, tornando-o amolecido pela quebra dos tecidos conjuntivos. Esse amolecimento do tecido muscular facilita a penetração de microrganismos e os produtos resultantes das reações de autólise formam substrato ideal para desenvolvimento de bactérias (BERAQUET; LINDO, 1985).

Notou-se que a deterioração bacteriana não se inicia até o término do *rigor mortis*. Logo, quanto mais prolongada for essa fase, maior será o tempo de conservação do pescado. O *rigor mortis* pode ser abreviado pela exaustão do pescado, falta de oxigênio e temperaturas elevadas, sendo prolongado pela redução do pH e resfriamento adequado (CONNEL, 1995).

Assim, a primeira fase da deterioração do pescado é caracterizada pela ação de enzimas endógenas, enquanto a flora bacteriana presente nas vísceras, brânquias e pele não se adapta às alterações das condições ambientais. Num estado asséptico, o músculo estéril permanece com ligeiras alterações depois de atingir uma fase neutra, sem sabor, quando a maioria dos hidratos de carbono e nucleotídeos presentes no músculo foi degradada por enzimas endógenas. A partir deste ponto, a maioria dos odores e outros sinais de deterioração surgem como resultado do metabolismo microbiano. O tempo de deterioração depende principalmente da temperatura de conservação e da espécie em questão (HUSS, 1995).

Tanto as atividades enzimáticas como as bacterianas ocorridas durante o armazenamento do pescado, dão origem a um conjunto de alterações físicas e à formação de múltiplos compostos cuja quantificação pode permitir avaliar as alterações ocorridas e, por conseguinte, relacionar com o grau de frescor (NUNES; BATISTA; CARDOSO, 2007).

Dentre esses compostos, o conjunto que compõe as Bases Voláteis Totais (N-BVT) revestem-se de grande importância, pois conferem odores anormais amoniacais e desagradáveis (forte a peixe), típicos de pescado deteriorado (HUSS, 1995). A trimetilamina (TMA), originada do óxido de trimetilamina (OTMA), é um dos principais constituintes da fração total das N-BVTs, juntamente com a amônia e outras aminas voláteis (HOWGATE, 2009).

Segundo Ogawa e Maia (1999), no início do processo degradativo, a base volátil mais representativa é a amônia originária dos produtos da desaminação dos derivados do ATP. Posteriormente, a amônia proveniente da degradação de outros compostos nitrogenados, como os aminoácidos, juntamente com a trimetilamina, vai incorporando-se ao conjunto dos compostos voláteis de baixo peso molecular que constituem as N-BVT. Contreras-Guzmán (1994) observaram que, além da amônia e TMA as bases voláteis totais incluem dimetilamina e, provavelmente, traços de monometilamina e propilamina, que se formam em etapas mais avançadas da decomposição.

O OTMA é um composto que ocorre naturalmente no ambiente marinho e de água doce, apresenta pH neutro, não é tóxico e a sua principal função parece ser a de osmoregulação, sendo utilizado pelos peixes para evitar a desidratação dos tecidos em ambientes marinhos e o encharcamento em água doce, cuja concentração varia entre 1 e 5 % (em peso seco) nas espécies marinhas (HUSS, 1995). Inicialmente a redução de OTMA deve-se à ação de enzimas endógenas, que cessa quando o fornecimento de oxigênio termina. No decorrer da conservação em gelo, a redução de OTMA a TMA deve-se à ação bacteriana em estágios mais avançados de deterioração em muitos peixes marinhos, geralmente associada às espécies *Shewanella putrefaciens* e *Photobacterium phosphoreum*, e aos gêneros *Aeromonas* spp., *Enterobacteriaceae* spp. e *Vibrio* spp. Em razão disso, os níveis de TMA são universalmente utilizados para determinar a deterioração microbiana em pescado (GRAM; DALGAARD, 2002).

A amônia também é gerada como produto do catabolismo bacteriano dos constituintes do pescado (aminoácidos) e, da mesma forma, pode ser utilizada como indicador de deterioração microbiana (FRASER; SUMAR, 1998). Com o acúmulo de compostos alcalinos, como amônia e TMA, há um aumento do pH indicando um processo de deterioração. Dessa forma, o conhecimento do valor de pH no músculo do peixe pode fornecer informação importante acerca da sua condição (GONÇALVES, 2010).

As bactérias, como a *Shewanella putrefaciens* e as Enterobacteriáceas, são também responsáveis pela degradação dos aminoácidos sulfurados cisteína, originada pela redução da cistina, e metionina, que é precursora da cisteína. A decomposição bacteriana desses aminoácidos na carne de pescado libera enxofre que, em meio ácido transforma-se em sulfeto de hidrogênio ou gás sulfídrico (H_2S), composto volátil, de odor pútrido que pode ser detectado mesmo em concentrações muito baixas. A formação de H_2S com a deteriora do pescado ocorre também através da hidrólise química e enzimática desses aminoácidos (HUSS, 1994; TAVARES et al., 1988). Segundo Tavares et al., (1988) a presença significativa de gás sulfídrico nas amostras de pescado indica estágio avançado de deterioração.

Na decomposição natural, a formação de H_2S e trimetilamina (TMA) ocorrem principalmente em vísceras e áreas adjacentes. A presença destes compostos odoríferos pode estar associada à formação de outras substâncias de toxidade considerável como as aminas biogênicas, em especial a histamina (HUSS, 1995).

As aminas biogênicas presentes em pescado são quase totalmente provenientes da ação exógena de enzimas liberadas pelos vários microrganismos associados aos produtos marinhos, embora enzimas endógenas (ocorrência natural no tecido) também possam contribuir para sua produção, tendo em vista que esses compostos exercem atividade biológica importante nos organismos (MENDES, 2009).

A formação das aminas ocorre por hidrólise de compostos nitrogenados, decomposição térmica ou descarboxilação de aminoácidos livres por remoção do grupo α -carboxil do aminoácido sendo a última a principal via de formação (BARDÓCZ, 1995), e está condicionada à disponibilidade de aminoácidos livres, presença de microrganismo descarboxilase positivo e, também, às condições favoráveis para o crescimento bacteriano, e síntese e ação de enzimas descarboxilantes (SHALABY, 1996).

Os microrganismos com atividade descarboxilante podem fazer parte da flora inicial do produto ou ser introduzidos por contaminação, durante a conservação e/ou processamento. São vários os grupos de bactérias produtoras de enzimas descarboxilases, designadamente *Enterobacteriaceae*, gêneros *Clostridium* e *Lactobacillus*, entre outros (MENDES, 2009). Espécies de *Enterobacteriaceae* produzem histamina, tiramina, putrescina e cadaverina (MARINO et al., 2000).

Todas essas substâncias e compostos, formados por ação microbiana, podem ser utilizados para análises de determinação do frescor ou deterioração do pescado (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). Deste modo, têm sido propostos vários métodos sensoriais, físico-químicos e microbiológicos para avaliação do grau do frescor (OLAFSDÓTTIR et al., 2004).

3.3 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DO FRESCOR DO PESCADO

O grau de frescor é um dos atributos de qualidade mais importantes do pescado. Por possuir um conceito amplo, pode ser caracterizado por diversos parâmetros e avaliado através de diferentes métodos analíticos, os quais podem ser divididos em duas categorias: métodos sensoriais e métodos instrumentais (CHEBET, 2010).

Segundo Olafsdóttir et al. (1997), os métodos sensoriais são confiáveis e de fácil aplicação. Nielsen (1997) afirmou que mesmo que se desenvolvam métodos instrumentais de fácil aplicação, a análise sensorial continua a ser essencial, por fornecer informações mais completas sobre o estado de conservação do pescado.

Baixas-Nogueras et al. (2001; 2002) consideraram os métodos sensoriais de grande importância, tendo em vista que são os métodos utilizado pelos consumidores e os mais usado pelos Fiscais Sanitários. Entretanto, admitem sua subjetividade, citando que os métodos químicos têm sido utilizados para avaliar o frescor dos peixes, já que determinam a quantidade dos produtos de degradação derivados de atividade bacteriana ou endógena enzimática.

Para a avaliação da qualidade do pescado os métodos físico-químicos são mais confiáveis e precisos, pois eliminam opiniões pessoais a respeito da qualidade do produto (HUSS, 1995).

Borges et al. (2007) descreveram que a qualidade e o grau de frescor não devem ser determinados por um único parâmetro, pois são muitos os fatores que devem ser considerados, fato corroborado por Ogawa e Maia (1999) que fazem referência à complexidade do processo de decomposição do pescado, caracterizando a inviabilidade do uso de apenas um método para avaliar a qualidade.

Huss (1995) e Chebet (2010) afirmaram que os métodos sensoriais, químicos e microbiológicos devem ser associados, complementando-se, tendo em vista que cada um possui sua limitação operacional.

3.3.1 Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ)

Entre as opções de métodos de análise sensorial, Sykes et al. (2009) citaram as metodologias de índice de qualidade como sendo de grande importância.

Um teste sensorial descritivo muito utilizado na Europa é o Método do Índice de Qualidade (MIQ) ou, do inglês *Quality Index Method* (QIM), desenvolvido originariamente pela *Tasmanian Food Research Unit* (BRANCH; VAIL, 1985; BREMNER, 1985).

Nesse método é utilizado um sistema prático de qualificação, específico para cada espécie, no qual os atributos de qualidade do pescado cru como aparência, textura, odor, olhos, brânquias e abdome são inspecionados e os deméritos correspondentes são registrados. A cada atributo é dado um escore, que varia de zero a três, ou de zero a dois (de acordo com o seu grau de importância), sendo considerado zero como o melhor e dois ou três como o pior escore. As pontuações obtidas em cada característica somam-se para dar uma pontuação sensorial total, o denominado Índice de Qualidade (IQ). Quanto mais próximo o IQ estiver de zero, mais fresco o pescado estará (SVEINSDOTTIR et al., 2002; 2003).

A principal vantagem do MIQ é o fato de apresentar correlação linear entre o IQ e o tempo de estocagem, oferecendo possível estimativa do restante da vida útil. Outra vantagem é a menor necessidade de preparo da amostra, bem como a menor exigência de treinamento dos avaliadores, quando comparado com outros métodos sensoriais (MARTINSDÓTTIR et al., 2001). Sveinsdottir et al. (2002) também afirmaram que o MIQ apresenta algumas vantagens únicas como a estimativa do

tempo em gelo e a predição do tempo futuro durante o qual o pescado armazenado em gelo pode apresentar condições de consumo.

O protocolo obtido ao se desenvolver o Método do Índice de Qualidade fornece uma ferramenta importante para indústria do pescado e mercado consumidor. Considerando que o consumidor é o último a julgar a qualidade, o protocolo MIQ permite avaliar a qualidade do pescado *in natura*, conservado em gelo, de maneira prática, rápida e segura (PORTELA, 2009).

Como o pescado desenvolve características particulares de alterações ao longo do período de estocagem, o MIQ deve ser específico para cada espécie (ibid.). O desenvolvimento do MIQ para uma espécie em particular ou espécies de peixes envolve a seleção de atributos próprios e mais apropriados na ordem de observar um aumento linear no IQ com o tempo de estocagem em gelo (SVEINSDOTTIR et al., 2002).

O MIQ já foi desenvolvido para variadas espécies: filé de bacalhau congelado - *Gadus morhua* (WARM et al., 1998), perca - *Sparus aurata* (HUIDOBRO et al., 2000), pescada congelada - *M. capensis* e *M. paradoxus* (HERRERO et al., 2003), salmão - *Salmo salar* (SVEINSDOTTIR et al., 2003), pescada-branca - *Merluccius merluccius* (BAIXAS-NOGUERAS, 2003), polvo - *Octopus vulgaris* (BARBOSA; VAZ-PIRES, 2004), choco - *Sepia officinalis* e lula - *Illex coindetii* (VAZ-PIRES; SEIXAS, 2006), filé de bacalhau fresco (BONILLA et al., 2007), percas - *Morone saxatilis* e *M. chrysops* (NIELSEN; GREEN, 2007), tilápia do Nilo - *Oreochromis niloticus* (RODRIGUES, 2008), camarão - *Litopenaeus vannamei* (OLIVEIRA et al., 2009), choco - *Sepia officinalis* (SYKES et al., 2009), corvina - *Micropogonias furnieri* (TEIXEIRA, 2009), sardinhas brasileira e boca-torta - *Sardinella brasiliensis* e *Cetengraulis edentulus* (SILVA, 2010) e goraz - *Pagellus bogaraveo* (SANT'ANA et al., 2011), entre outros.

3.3.2 Análise sensorial pelo Teste de Consumidor

Segundo Martinsdóttir et al. (2001) a avaliação sensorial envolve métodos fundamentais para caracterizar o grau de frescor, sendo amplamente utilizado por indústrias do setor de pescado, para avaliar a qualidade dos produtos da pesca, à

medida que são rápidos, precisos e capazes de fornecer informações fundamentais sobre o estado de conservação desses alimentos.

Os métodos sensoriais são divididos em três categorias: testes discriminativos, que simplesmente indicam as diferenças entre os produtos; os afetivos que buscam a opinião do consumidor e os descritivos, que identificam e mensuram a intensidade das características dos produtos (PORTELA, 2009).

A determinação da aceitação pelo consumidor é parte crucial no processo de desenvolvimento ou melhoramento de produtos. Pode ser considerada uma ferramenta imprescindível para a indústria alimentícia, a qual auxilia na determinação da qualidade de um determinado produto, avaliação da percepção e reação humana diante dos atributos de um alimento, desenvolvimento de novos produtos, reformulação dos produtos já estabelecidos no mercado, estudo de validade comercial, determinação das diferenças e similaridades apresentadas entre produtos concorrentes, identificação das preferências dos consumidores por um determinado produto e, finalmente determinar as características sensoriais do produto como atributos de sabor, textura, cor, odor e intensidade (GULARTE, 2002).

Nos testes afetivos são utilizados os órgãos dos sentidos humanos para realização de medidas multidimensionais integradas que objetivam determinar a aceitação de um produto por parte do consumidor e sua qualidade, de acordo com as propriedades sensoriais (GULARTE, 2002; HERNANDES et al., 2007). Esses testes requerem equipe com grande número de participantes e que representem a população de consumidores atuais e/ou potenciais do produto (STONE et al., 2012), os quais não passam por treinamento prévio à degustação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Entre os métodos mais empregados na medida de aceitação em alimentos está a escala hedônica, em que o consumidor expressa sua aceitação pelo produto seguindo uma escala previamente estabelecida que varia gradativamente com base nos termos gostar e desgostar (STONE et al., 2012). Segundo Stone e Sidel (1993), a escala hedônica estruturada de nove pontos constitui o método mais aplicado pela confiabilidade dos resultados e pela simplicidade.

Martinsdóttir et al. (2009) relataram que os dados gerados a partir desse método podem ser influenciados por fatores como intervalos desiguais das categorias na escala e a tendência dos consumidores em evitar valores extremos na

escala e marcar próximo ao ponto médio. Apesar desses fatores, o método e suas variações são recomendáveis para estimar a qualidade do pescado.

Nesse tipo de avaliação, podem ser medidos, tanto fatores intrínsecos (como a aparência e o aroma), como fatores extrínsecos (como embalagem, informações no rótulo, etc.). Ao se avaliar a aparência, por exemplo, investiga-se um amplo conjunto de características distintas, como a cor (considerada o fator de maior relevância na aparência); dimensões do produto; tipos de corte; etc. Com relação ao aroma, avalia-se o conjunto de compostos aromáticos voláteis que são naturalmente liberados pelo produto. Os processos de deterioração, tanto os endógenos enzimáticos como os provocados por enzimas bacterianas, podem liberar compostos aromáticos característicos que são facilmente detectáveis pelo olfato (HERNANDES et al., 2007).

Entre os métodos sensoriais afetivos, há ainda aqueles capazes de medir a quantidade ideal de um determinado componente a ser adicionado ou avaliar com maior intensidade um atributo de qualidade considerado importante na aceitação do produto. A escala do ideal é um método afetivo muito aplicado, tanto devido à confiabilidade e validade de seus resultados como à simplicidade em ser utilizada pela equipe. Nesta análise, a equipe de provadores avalia as amostras e registra suas respostas em escala específica, o quão ideal estas amostras encontram-se, em relação ao atributo que se deseja avaliar (por exemplo, cor, suculência, maciez e outros) (LAWLESS; HEYMANN, 1999; STONE et al., 2012).

Com a aplicação da análise de aceitação com a escala do ideal, é possível transformar dados subjetivos em objetivos e obter informações importantes sobre a preferência do consumidor com relação a um atributo específico de qualidade do produto (ibid.).

3.3.3 Determinação das Bases Voláteis Totais (N-BVT) e Trimetilamina (TMA)

O conteúdo de Bases Voláteis Totais (N-BVT) e de metilaminas individuais, especialmente a trimetilamina (TMA), apresentam uma longa história de utilização como medidas de frescor/deterioração do pescado e de utilização no controle e garantia de qualidade destes produtos como critérios de deterioração (HOWGATE, 2010).

Isso se deve ao fato de que a concentração de N-BVT e TMA no tecido muscular de peixes estocados em gelo, aumenta exponencialmente com o tempo de armazenamento, devido a transformações enzimáticas e bacterianas, sendo responsáveis pela formação de odores desagradáveis no pescado deteriorado (GRAM; DALGAARD, 2002).

Outra razão para as análises de N-BVT e TMA serem amplamente utilizadas como parâmetro de degradação de produtos da pesca é que, diferentemente de outros métodos tradicionais, tratam-se de procedimentos analíticos simples, os quais exigem poucos recursos (humanos e de laboratório) para sua realização (HOWGATE, 2009).

Apesar dessas vantagens, tem sido observado que esta análise apresenta aumentos consistentes apenas quando o pescado está próximo da rejeição, de modo que não se aplicaria para os primeiros dias de estocagem, porém, teria utilidade como indicador do período máximo de comercialização (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; HUSS, 1995).

Outro ponto negativo, segundo Howgate (2009), é a dificuldade encontrada pelos pesquisadores em desenvolver um procedimento padronizado para avaliar esses compostos voláteis tendo em vista que o músculo do peixe e, conseqüentemente seu extrato, possuem outras substâncias nitrogenadas as quais, dependendo das condições de realização da análise, podem decompor-se produzindo amônia, que contribuiria para o aumento da concentração de N-BVT.

Outro aspecto relevante nesse contexto é a variação da concentração de OTMA entre as espécies e dentro da mesma espécie, tendo em vista que esse composto pode ser proveniente da dieta ou ainda sofrer influência de efeitos sazonais (HOWGATE, 2010).

Contreras-Guzmán (1994), também afirmou que há diferentes concentrações de OTMA para cada espécie de peixe, principalmente entre os elasmobrânquios e os teleósteos. Segundo suas pesquisas, o teor de OTMA entre as espécies pode ser classificado como ausente, baixo, intermediário, alto ou muito alto. Essas diferenças dos resultados entre várias espécies de peixes confirmam que a produção de TMA e de N-BVT não pode ser utilizada como indicadores universais de qualidade, como um padrão específico para todas as espécies.

Dessa forma, critérios estabelecidos pela legislação os quais envolvem todos os tipos de peixes, parecem não ser adequados tendo em vista essas diferenças.

Segundo Taha (1988), algumas espécies apresentam níveis de N-BVT acima do padrão permitido, mas demonstram estar em condições microbiológicas e sensoriais favoráveis ao consumo. Da mesma forma, outros tipos de peixes mesmo contendo níveis de N-BVT compatíveis com a legislação, oferecem condições desfavoráveis ao consumo.

Consta no RIISPOA (BRASIL, 1952) que o limite preconizado para o pescado ser considerado aceitável é de 30 mg de N/100g de carne, limite também adotado em outros países como Japão, Austrália, Argentina e Alemanha, pois este valor parece ser compatível com os limites de aceitação sensorial e contagem de microrganismos de muitas espécies. Porém, de acordo com Contreras-Gúzman (1994), este limite foi e ainda é motivo de controvérsia, tendo sido feitas sugestões desde 20 até 60mg de N/100g de carne.

Segundo Ruiz-Capillas e Moral (2001) o limite legal para a TMA adotado pela Espanha é de no máximo 12 mg N de TMA/100g do produto. Na legislação brasileira (BRASIL, 1952) o valor a ser adotado como limite de aceitação para a concentração de TMA na porção muscular dos peixes é de 4 mg N de TMA/100g de amostra.

Alguns autores consideraram que, no caso da TMA, os limites máximos de aceitabilidade são de 10-15 mg N/100g de pescado e que um peixe com parâmetros físico-químicos desejáveis deve conter níveis de TMA menores que 1,5 mg N/100g de amostra (ABABOUCHE et al., 1996; FRASER; SUMAR, 1998).

Oliveira et al. (2009) ao avaliar a qualidade da espécie *Litopenaeus vannamei* armazenada em gelo por 22 dias encontraram valores de N-BVT variando de 14,57 a 38,85 mg de N/100g para o camarão inteiro e de 14,57 a 42,49 mg de N/100g para o descabeçado. Apenas no vigésimo segundo dia de estocagem, os valores foram superiores ao limite estabelecido pela legislação brasileira, que é de 30mg de N/100g de carne. Segundo os autores, esses valores sugerem que os limites estabelecidos para pescado pela legislação brasileira devem ser revistos.

Rodrigues (2008) observou durante a Análise Descritiva Quantitativa de amostras cozidas de tilápia do Nilo que a rejeição por parte dos julgadores começou a ocorrer com 15 dias de estocagem, que correspondeu a um valor de 22,36 e 2,27 mg N/100g respectivamente para N-BVT e TMA, demonstrando também para esta espécie a necessidade de uma reavaliação do limite aceitável deste parâmetro legal.

3.3.4 Determinação do pH

A determinação do pH pode fornecer um dado valioso na apreciação do estado de conservação de pescado e derivados. O processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera o pH (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005). Gonçalves (2010) afirmou que o acúmulo de compostos alcalinos, como amônia e TMA, provoca um aumento do pH indicando um processo de deterioração. Dessa forma, o conhecimento do valor de pH no músculo do peixe pode fornecer informação importante acerca do seu estado de conservação.

Entretanto, um ponto a ser considerado é que esse parâmetro isoladamente não é um bom indicador do estado de frescor, pois o mesmo pode variar entre as espécies, bem como em relação ao método de captura. A captura pode provocar estresse no animal, o que afetaria o *rigor mortis* ocasionando pH muito alto (>6,4) ou muito baixo (<5,4) (CHAGAS et al., 2010).

Huss (1995) também considerou que a variação do pH depende de vários fatores como a espécie do peixe, método de captura, alimentação, entre outros, o que torna a determinação do pH um índice de frescor questionável em algumas situações. Howgate (2009) afirmou que também o estado nutricional, a condição física (exercício) e o stress anterior à morte têm efeito nos níveis de glicogênio armazenado e, conseqüentemente, no pH final do músculo. Após a morte, pela formação anaeróbia de ácido lático, o pH diminui. Durante as modificações *post-mortem* o pH se mantém constante ou aumenta ligeiramente devido à formação de compostos básicos e aminas voláteis por ação de enzimas tissulares e degradação por microrganismos (HUSS, 1995).

Dessa forma, para a avaliação mais segura torna-se também necessária a realização de análises microbiológica, química e sensorial (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

No RIISPOA (BRASIL, 1952) consta que o pescado considerado fresco é aquele que apresenta pH da carne externa inferior a 6,8 e da carne interna inferior a 6,5. Segundo o Laboratório Nacional de Referência Animal - LANARA (BRASIL, 1981) amostra com pH de 5,8 a 6,2 indicam carne boa para consumo; pH 6,4: apenas para consumo imediato (limite crítico para consumo) e pH acima de 6,4: início de decomposição.

3.3.5 Pesquisa de Aminas Biogênicas

A síntese das aminas biogênicas pode ocorrer por hidrólise de compostos nitrogenados, decomposição térmica e, principalmente, por descarboxilação de aminoácidos precursores, a partir dos quais a maioria foi nomeada: a histamina, que é originada da histidina, a tiramina da tirosina, a triptamina do triptofano, e assim por diante. Os nomes cadaverina (derivada da lisina) e putrescina (da ornitina), no entanto, estão associados à decomposição e putrefação, assim como espermina e espermidina com fluidos seminais onde as aminas bioativas foram encontradas pela primeira vez (GLÓRIA, 2005; GLÓRIA; VIEIRA, 2007).

Em alimentos, as aminas podem estar naturalmente presentes, ou serem formadas a partir da ação de enzimas de microrganismos adicionados intencionalmente (culturas iniciadoras) ou provenientes de microbiota contaminante, introduzida devido a condições higiênico-sanitárias inadequadas (GLÓRIA, 2005).

Na medida em que é aceito o fato de que são majoritariamente de origem bacteriana, e considerando que a concentração destes compostos pode aumentar com o tempo de estocagem, sua quantificação tem sido utilizada como um critério para a avaliação do grau de frescor do pescado, refletindo a qualidade da matéria-prima e/ou das condições higiênico-sanitárias durante a fabricação de certos produtos (ÖZOGUL et al., 2006).

Segundo Lima e Glória (1999), uma vantagem do uso de aminas como critério de qualidade reside no fato de serem termoestáveis, permanecendo no alimento mesmo após tratamento térmico. A desvantagem é que a ausência desses compostos não necessariamente indica um produto de qualidade.

As bactérias produtoras de aminas biogênicas não fazem parte da microbiota normal intestinal, da pele ou brânquias dos peixes marinhos recém-capturados e, na maioria dos casos, se origina a partir da contaminação por práticas inadequadas de higiene durante a captura ou estão associadas ao ambiente marinho. Bactérias como *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Proteus* sp., *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, são capazes de produzir a enzima histidina descarboxilase que, ao atuar sobre a histidina livre, a transformam em histamina (CASTRO; MÁRSICO; SÃO CLEMENTE, 2003).

Baruffaldi e Oliveira (1998) citaram que as bactérias formadoras de histamina podem ser desativadas com o congelamento e tanto a enzima, quanto as bactérias

podem ser inativadas com o cozimento. Huss (1995) por sua vez, relatou que uma vez que a histamina é formada, não pode ser eliminada mesmo que o peixe seja enlatado, cozido ou tenha recebido qualquer outro tratamento térmico como o calor ou congelamento. Isso se confirma com o resultado obtido por Castro, Mársico e São Clemente (2003), que descrevem que no atum enlatado, foi encontrado nível de 12,5mg/100g através do método quantitativo fluorimétrico. Por esta razão, para que ocorra formação de histamina adicional é necessário que aconteça uma recontaminação dos peixes com as bactérias formadoras de enzima. Isto faz com que o desenvolvimento da histamina seja mais provável em peixes crus.

Huss (1995) demonstrou que o armazenamento a 0°C ou a temperaturas inferiores, limita a níveis pouco significativos a formação de histamina e outras aminas. Brinker et al. (2002) afirmaram que, embora o crescimento bacteriano seja inibido a temperaturas entre 0 e 5°C, a atividade enzimática não cessa, continuando assim a formação de aminas.

Borges et al. (2007), ao avaliarem amostras de corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada durante 28 dias de estocagem a 0°C, observaram uma variação na formação de histamina de 1,0 mg/100g, no dia zero, até 5,0 mg/100g no 28º dia. A baixa produção foi justificada pelo armazenamento a 0°C, sendo este um fator desfavorável para a produção dessa amina.

Silva (2010) também atribuiu a baixa concentração de aminas biogênicas à manutenção do pescado em temperaturas baixas (0±2°C) em amostras de Sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) e sardinha boca-torta (*Cetengraulis edentulus*) durante 18 dias de estocagem, encontrando conteúdo de histamina, cadaverina e putrescina inferior a 2,0 mg/100g para as duas espécies.

A respeito da manutenção de baixas temperaturas em toda cadeia produtiva, Mendes (2009) afirmou que essa prática apresenta efeito fundamental para inibir a produção de aminas biogênicas e garantir a qualidade das amostras, já que o pescado armazenado sob refrigeração em temperaturas entre 2 e 5°C apresenta a produção de histamina inibida pelas bactérias mesófilas. No entanto, bactérias psicrófilas podem produzir concentrações tóxicas dessa amina sob condições como essas.

Além da importância em estimar a concentração de aminas biogênicas para a qualidade dos produtos da pesca, apresenta relevância toxicológica em função da possibilidade de ocasionar intoxicações em humanos quando encontradas em

concentrações elevadas em pescado. Essa intoxicação pode ocorrer especialmente em conjunto com fatores potencializantes como fármacos inibidores de monoamina oxidase (IMAO), disfunções gastrintestinais e a presença simultânea de outras aminas (ÖZOGUL, 2010).

A mais freqüente intoxicação causada por aminas biogênicas em alimentos envolve a histamina (CINQUINA et al., 2004), caracterizando a intoxicação histamínica ou histaminose que resulta da ingestão de alimentos que contêm altos teores de histamina. Os principais sintomas incluem erupções na pele, náuseas, dor de cabeça, palpitações, vômitos, dores abdominais, distúrbios respiratórios e taquicardia (GLÓRIA, 2005) e, em casos mais severos, pode ocorrer edema de glote e óbito (CINQUINA et al., 2004). Essa sintomatologia pode ser mais severa em indivíduos sensíveis, com atividade reduzida das enzimas monoaminoxidases (MAO), diaminoxidases (DAO) e poliaminoxidase (PAO) responsáveis pela metabolização das aminas em indivíduos saudáveis (GLÓRIA, 2005; ÖZOGUL, 2010). Este mecanismo de proteção é eliminado se a ingestão de histamina e/ou outras aminas biogênicas for muito elevada ou ainda se as enzimas forem bloqueadas por outros compostos (HUSS, 1995).

A histamina pode ser catabolizada por diferentes reações entre as quais, as duas principais são a oxidação a imidazol-acetaldeído, pela DAO e metilação a 1,4-metilhistamina, pela histamina N-metil-transferase (HMT). Em mamíferos, 60 a 80% dos metabólitos de histamina são derivados da desaminação oxidativa. As aminoxidases estão envolvidas em ambas as rotas; convertem 1,4-metil-histamina ao aldeído correspondente e têm um menor papel na conversão de histamina a imidazol-acetaldeído. Inibidores da MAO podem interferir em qualquer destes estágios, embora o metabolismo da 1,4-metil-histamina seja um dos mais afetados, já que a DAO está primariamente envolvida na conversão de histamina a imidazol-acetaldeído. Esses metabólitos apresentam pouca ou nenhuma atividade e são excretados na urina (FOGEL; LEWINSKIT; JOCHEM, 2007; GLÓRIA, 2005).

A tiramina, em uma escala toxicológica, é a segunda amina envolvida em intoxicações alimentares apresentando ação vasoconstritora devido ao fato de liberar noradrenalina, a qual aumenta a pressão arterial. Outros sintomas relatados incluem dilatação das pupilas, lacrimejamento, salivação, febre, vômito, dor de cabeça e aumento na freqüência respiratória e no teor de glicose do sangue. Quando alimentos ricos em tiramina são consumidos, aproximadamente 30% dos

indivíduos com enxaqueca clássica podem apresentar crise (GLÓRIA; VIEIRA, 2007). A feniletilamina, de forma similar à tiramina, é vasoconstritora e provoca uma elevação na pressão sanguínea, mas neste caso deve-se à liberação de norefedrina (ANCÍN-AZPILICUETA et al., 2008).

A triptamina apresenta ação farmacológica similar à tiramina (vasoconstritoras). Altos níveis desse composto podem exercer efeitos diretos na musculatura lisa, causar dor de cabeça e aumentar a pressão sanguínea pela constrição do sistema vascular. A putrescina e a cadaverina têm menor atividade farmacológica que as aminas aromáticas, podendo, no entanto, potencializar o efeito tóxico da histamina, tiramina e feniletilamina (GLÓRIA, 2005). Estas aminas podem ainda reagir com nitrito para formar N-nitrosaminas, as quais possuem propriedades carcinogênicas (ELIASSEN et al., 2002; HALÁSZ et al., 1994).

Os principais alimentos envolvidos nesta intoxicação são peixes das famílias *Scombridae* (atum, bonito, cavala, listrado), *Scomberesocidae* (tiravira) e *Clupeidae* (arenque, sardinha) (CINQUINA et al., 2004). Além do peixe, altos níveis de aminas biogênicas têm sido apontados em produtos resultantes de fermentação (embutidos fermentados, queijo e bebidas alcoólicas fermentadas como os vinhos) (GLÓRIA; VIEIRA, 2007; LATORRE-MORATALLA et al., 2010; LORET et al., 2005). A tiramina tem sido reportada como a amina mais abundante nos produtos cárneos fermentados (FERREIRA et al., 2007)

As aminas putrescina e cadaverina podem potencializar o efeito tóxico da histamina, por inibir as enzimas DAO, aumentando o transporte através da parede gastrointestinal (TAYLOR, 1986). A presença destas substâncias potencializadoras pode explicar porque, em alguns casos, peixes deteriorados e queijos maturados são mais tóxicos que a mesma quantidade de histamina quando ingerida isoladamente (GLÓRIA, 2005).

Para assegurar a proteção à saúde do consumidor, o *Food and Drug Administration* (FDA) (1995) estabeleceu que o peixe pode ser considerado em decomposição quando o nível de histamina atinge 50 mg/kg, para pescado no porto, e 100 mg/kg para produto enlatado. Para a União Européia, um nível aceitável de 100 mg/kg foi estabelecido para histamina em atum e outros peixes pertencentes às famílias *Scombridae* e *Scomberesocidae* (CE, 1991). Segundo esta diretiva, para exportação aos países da União Européia, a cada nove amostras analisadas de um mesmo lote, duas podem conter histamina em níveis de 100 a 200 mg/kg. Caso os

valores excedam esta faixa, o lote será rejeitado, uma vez que representará riscos à saúde do consumidor.

O limite preconizado pela legislação brasileira é de 100 ppm (10mg/100g) para histamina, descrito no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco Resfriado e Congelado, Portaria nº185 (BRASIL, 1997).

3.3.6 Pesquisa de H₂S e NH₃

A Reação de Éber, utilizada para pesquisa de H₂S, fundamenta-se na degradação de aminoácidos sulfurados, sendo um dos métodos indicados para avaliar o estado de conservação do pescado fresco e de outros produtos de origem animal já que, de acordo com Tavares et al. (1988), a presença indica estágio avançado de deterioração. A técnica fundamenta-se na combinação do gás sulfídrico com acetato de chumbo, produzindo enegrecimento do papel de filtro (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2005).

Como já abordado anteriormente, a formação de amônia, durante o processo de deterioração da carne, está relacionada com diversos processos enzimáticos autolíticos e/ou microbianos, que, por sua vez, dependem das condições e do tempo de armazenamento e originam sabores e odores desagradáveis, justificando assim a importância em monitorar os níveis desse metabólito nos alimentos, utilizando-se métodos como a Prova de Nessler.

3.3.7 Análises Bacteriológicas

A atividade microbiana, segundo Huss (1994; 1995), é o principal fator limitante para a validade comercial do pescado. De acordo com Jay (2005) e Lyhs (2009), considerando-se que, a microbiota dos produtos da pesca é composta por microrganismos intrínsecos, geralmente encontrados no muco interno, brânquias e intestino, somados aos presentes no hábitat e no ambiente de processamento e ainda, que os tecidos internos de um peixe saudável são estéreis, qualquer manipulação desde a captura até o consumo, apresenta o potencial de contribuir para a microbiota do produto final e conseqüentemente influenciar a validade comercial.

Peixes, como organismos pecilotérmicos, possuem uma microbiota influenciada pela temperatura da água e pela microbiota dominante do sedimento da área de captura. Aqueles capturados na superfície podem apresentar menor contagem bacteriana que os capturados por rede de arrasto (NYCHAS; DROSINOS, 2010), como é o caso do peixe-sapo.

Franco e Landgraf (2008) relataram que a microbiota do pescado é influenciada pelo seu habitat, e afirmam que um dos principais fatores de seleção é a temperatura, uma vez que raramente ultrapassa 20°C ao longo do ano, propiciando condições mais favoráveis ao desenvolvimento de uma microbiota psicotrófica do que a uma estritamente mesófila.

Da mesma forma, para peixes em condições inadequadas de conservação, a deterioração é resultado de bactérias mesófilas, em sua maioria Gram-negativas, enquanto que para aqueles armazenados sob condições de refrigeração, predomina a deterioração por microrganismos psicotróficos, tais como *Pseudomonas* spp. e *Shewanella* spp., por exemplo (GRAM; DALGAARD, 2002).

A qualidade no pescado fresco pode também ser influenciada diretamente pelos hábitos higiênicos dos manipuladores, pelas superfícies de contato contaminadas ou ainda pelos utensílios incorretamente higienizados, o que faz desse alimento uma fonte potencial de contaminação para os seres humanos (SANTOS et al., 2008).

Nesse sentido, as análises microbiológicas, apesar de não fornecerem informações acerca do frescor desses produtos, permitem detectar a presença de bactérias de importância em saúde pública e fornecer uma impressão das condições higiênico-sanitárias às quais o pescado foi submetido, ou de eventuais práticas de manipulação deficientes incluindo abusos de temperatura e falta de higiene durante manipulação e processamento (HUSS, 1994).

A contagem total de microrganismos é utilizada como um padrão em normas, diretrizes e especificações, e como índice de qualidade objetivo para a determinação do tempo de conservação do pescado refrigerado (GRAM; DALGAARD, 2002; LYHS, 2009), tendo em vista que representa o número de bactérias capazes de formar colônias visíveis em um meio de cultura, a uma dada temperatura de incubação (HUSS, 1995).

Essas análises podem ser úteis para avaliar as condições da matéria-prima, a eficiência de procedimentos, como o tratamento térmico, as condições higiênicas

durante o processamento, as condições sanitárias de equipamentos e utensílios e, ainda, o binômio tempo x temperatura durante a armazenagem e distribuição. No entanto, para correta interpretação dos resultados, é essencial um conhecimento das condições de manipulação e processamento antes da amostragem (HUSS, 1994).

Morton (2001) afirmou que as contagens de microrganismos aeróbios não necessariamente estão correlacionadas com a presença de patógenos e/ou toxinas. A existência de uma baixa contagem não demonstra um produto ou ingrediente livres de patógenos e/ou toxinas. Apesar disso, segundo o autor, os produtos ou ingredientes com altas contagens podem ser potencialmente perigosos à saúde.

Pelos padrões estabelecidos pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* - ICMSF (1986) na enumeração de aeróbios totais, cujo método mais comum é *Standard Plate Count*, permite-se uma contagem máxima de 10^7 UFC/g para pescado refrigerado.

A legislação brasileira, no regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2001) estabelece para pescado *in natura*, resfriado ou congelado, limites de tolerância para os microrganismos *Staphylococcus* coagulase positiva (10^3 UFC/g) e *Salmonella* sp. (ausência em 25 g), não determinando, contudo limite sobre contagem total de bactérias heterotróficas aeróbicas psicrotróficas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS

Os peixes utilizados na primeira etapa da pesquisa foram adquiridos na Empresa Pesqueira Da Hora, situada no município de Cabo Frio, RJ, em um lote constituído de dez unidades amostrais, no mês de setembro de 2011. Nas duas etapas seguintes, foram obtidos diretamente de um barco de pesca de arrasto que aportou na Ilha da Conceição, localizada no município de Niterói, sendo adquiridos um lote de dez unidades amostrais no mês de outubro e lotes semanais no mês de novembro de 2011, divididos em dois lotes de dez peixes e lotes menores de três ou quatro peixes.

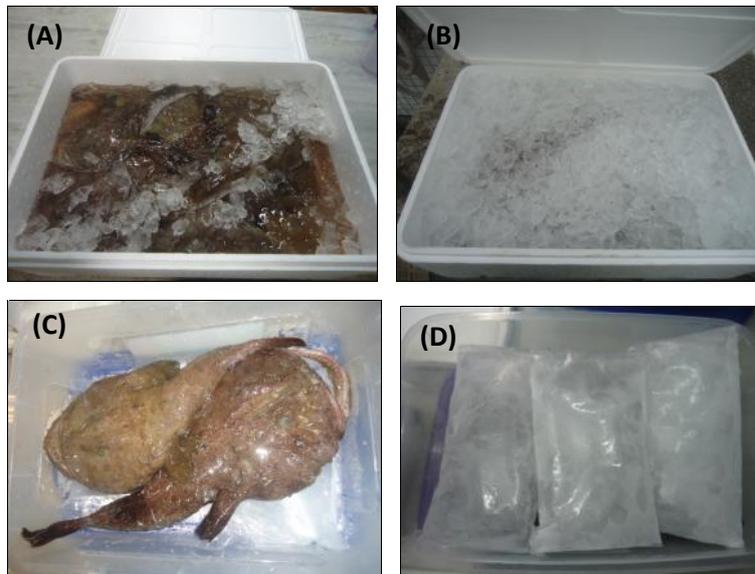
Para garantir uma melhor qualidade das amostras, tendo em vista que a embarcação de arrasto permanece em alto mar por aproximadamente 12 dias, solicitou-se ao mestre das embarcações que os exemplares adquiridos fossem provenientes do último ponto de captura, de forma minimizar possíveis alterações.

Logo após a recepção dos peixes, eviscerados ainda no barco de pesca, e da realização do procedimento de lavagem, os exemplares foram acondicionados em recipiente isotérmico de poliestireno expandido e transportados, por via terrestre, sem qualquer outro tratamento, a não ser a adição de gelo em escamas (Figuras 3A e 3B), até a Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense no município de Niterói. O tempo de transporte foi de aproximadamente 1 hora e 30 minutos para as unidades amostrais provenientes do município de Cabo Frio, e de cerca de 20 minutos para aquelas oriundas da Ilha da Conceição no município de Niterói.

Imediatamente após a recepção, os peixes foram lavados em condições laboratoriais e separados em três grupos para os procedimentos analíticos

microbiológicos (um exemplar por lote, do qual foram utilizados para análise 90g, totalizando 270g analisadas), físico-químicos (seis exemplares, sendo utilizadas 424g por lote, totalizando 1272g analisadas) e sensorial (MIQ) (três exemplares), com exceção de um lote de dez unidades amostrais, que foi dividido em dois grupos (cinco exemplares cada) para realização do teste de aceitação. Os lotes menores consistiam de três unidades amostrais, e destinaram-se a análise sensorial do MIQ.

Cada grupo foi transferido para recipientes isotérmicos de polipropileno contendo gelo do tipo reciclável (Figuras 3C e 3D) e, em seguida, estocado em refrigerador doméstico em temperatura controlada ($0^{\circ}\text{C} \pm 1$) onde permaneceram por um período de 18 dias de estocagem, até completa deterioração. Os recipientes foram reabastecidos com gelo quando necessário.



Figuras 3 (A, B, C, D) – Exemplares de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) acondicionados em recipiente isotérmicos de poliestireno expandido com gelo em escama para transporte (A e B); e em recipientes isotérmicos de polipropileno contendo gelo do tipo reciclável para armazenamento durante o período de 18 dias de estocagem (C e D).

4.2 ANÁLISES SENSORIAIS

Foram aplicados dois métodos sensoriais com distintos objetivos, que são descritos a seguir.

4.2.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ)

O desenvolvimento do protocolo sensorial MIQ para o peixe-sapo eviscerado foi realizado no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, baseado em metodologia descrita por Sveinsdottir et al. (2003).

Durante a fase de treinamento da equipe sensorial a observação dos peixes foi realizada em condições laboratoriais padronizadas, sob luz fluorescente branca e em recipiente com fundo de cor clara, onde os exemplares foram acomodados cerca de 15 minutos antes de cada sessão. Em cada uma das duas etapas do treinamento, os peixes foram observados em sessões com intervalos regulares entre si, por um período de dezoito dias de estocagem, até a completa deterioração, com interação entre os nove julgadores participantes sob a orientação de um líder (Figuras 4 A e B).



Figuras 4 (A e B) – Treinamento da equipe sensorial para desenvolvimento do protocolo MIQ (Método do Índice de Qualidade) para o peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado, com interação entre os julgadores.

O primeiro treinamento permitiu a observação do mesmo lote de três peixes nos dias 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16 e 18 de estocagem, totalizando 4 horas, sendo informado aos julgadores o tempo exato de armazenamento até aquele momento.

O segundo treinamento foi dividido em etapas semanais, de acordo com a recepção de novos exemplares: na primeira semana foram apresentados 3 peixes com o mesmo período de estocagem (nos dias 0 e 5); na segunda, a cada dia apresentaram-se seis peixes, sendo divididos em dois lotes de 3 com períodos

distintos de estocagem (0 e 7; 2 e 9; 4 e 11); nas duas semanas seguintes, aumentou-se para nove o número de peixes apresentados, sendo cada 3 de períodos de estocagem distintos (2, 9 e 16; 4, 11 e 18; 2, 9 e 16; e 4, 11 e 18). Nessa fase o tempo de armazenamento em refrigeração não foi informado de forma que os julgadores conseguissem relacionar os atributos com o estado de conservação do peixe.

As alterações observadas na aparência, textura e odor foram listadas por consenso da equipe. Os atributos considerados relevantes na avaliação de frescor do peixe-sapo e que caracterizavam as alterações sensoriais durante o período de estocagem foram: aspecto geral incluindo presença de muco e firmeza muscular, opacidade da córnea e proeminência dos olhos nas órbitas, odor e muco da boca e o aspecto geral do peritônio e da carne.

As alterações ocorridas nas brânquias também foram avaliadas, porém, no caso específico da espécie *Lophius gastrophysus*, a qual apresenta difícil acesso a esse órgão da respiração, foi necessária a realização de um corte de aproximadamente 8 cm para facilitar a visualização e percepção do odor. Desta forma, a observação das alterações pelos julgadores no aspecto das brânquias, acompanhavam de forma adequada as alterações observadas nos outros parâmetros.

Considerando-se a sugestão de Martinsdóttir (2002) a respeito do desenvolvimento do protocolo, que descreveu que alguns parâmetros devem ser removidos se forem destrutivos para o exemplar avaliado, e ainda o fato de que, para a espécie em estudo, é comum a comercialização na forma filetada além do peixe inteiro, optou-se por incluir o aspecto das brânquias no protocolo final MIQ para esses casos (Figura 5). No caso de comercialização do peixe inteiro, um protocolo sem o atributo das brânquias seria utilizado, já que um corte de 8 cm comprometeria a integridade do peixe e consequentemente sua comercialização (Figura 6).

| PARÂMETROS | | CARACTERÍSTICAS | pt | |
|-------------------------|---------------------|--|-----------|---|
| ASPECTO GERAL | Pele | Lisa | 0 | |
| | | Ligeiramente áspera | 1 | |
| | | Áspera | 2 | |
| | Brilho | Presença | 0 | |
| | | Perda de brilho | 1 | |
| | Muco | Ausente | 0 | |
| | | Límpido a branco leitoso, gelatinoso | 1 | |
| | | Amarelado em pequena quantidade (principalmente nas extremidades) | 2 | |
| | | Amarelado ou creme em grande quantidade | 3 | |
| | Firmeza da Carne | Firme | 0 | |
| | | Levemente amolecida | 1 | |
| | | Muito amolecida | 2 | |
| OLHOS | Córnea | Límpida | 0 | |
| | | Ligeiramente opaca | 1 | |
| | | Opaca | 2 | |
| | Brilho | Com brilho, bordo dourado em torno da pupila nítido | 0 | |
| | | Brilho menos intenso, bordo dourado em torno da pupila sem nitidez | 1 | |
| | | Fosco | 2 | |
| | Forma | Protuberante, convexa | 0 | |
| | | Achatada, plana | 1 | |
| | | Côncava, afundada | 2 | |
| BOCA | Odor | Caract. de peixe de água salgada, algas | 0 | |
| | | Neutro, levemente amoniacal | 1 | |
| | | Amoniacal | 2 | |
| | | Pútrido | 3 | |
| | Muco | Límpido a branco leitoso, fluido | 0 | |
| | | Amarelado e gelatinoso | 1 | |
| | Amarelado e líquido | 2 | | |
| BRÂNKUIAS | Cor | Vermelho (de claro a escuro) | 0 | |
| | | Ligeiramente desbotada | 1 | |
| | | Castanha, inteiramente desbotada | 2 | |
| | Odor | Caract. de peixe de água salgada, a Algas | 0 | |
| | | Neutro, levemente amoniacal | 1 | |
| | | Amoniacal | 2 | |
| | | Pútrido | 3 | |
| | PERITÔNIO | Aspecto | Liso | 0 |
| Áspero em algumas áreas | | | 1 | |
| Inteiramente áspero | | | 2 | |
| CARNE | Cor | Branca, clara e com brilho | 0 | |
| | | Ligeiramente amarela com perda de brilho | 1 | |
| | | Amarelada, com perda de brilho e áspera | 2 | |
| TOTAL | | | 28 | |

Figura 5 – Protocolo de análise sensorial MIQ (Método do Índice de Qualidade) desenvolvido para peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e refrigerado, com observação das brânquias.

| PARÂMETROS | | CARACTERÍSTICAS | pt | |
|---------------|------------------|--|-----------|--|
| ASPECTO GERAL | Pele | Lisa | 0 | |
| | | Ligeiramente áspera | 1 | |
| | | Áspera | 2 | |
| | Brilho | Presença | 0 | |
| | | Perda de brilho | 1 | |
| | Muco | Ausente | 0 | |
| | | Límpido a branco leitoso, gelatinoso | 1 | |
| | | Amarelado em pequena quantidade (principalmente nas extremidades) | 2 | |
| | | Amarelado ou creme em grande quantidade | 3 | |
| | Firmeza da Carne | Firme | 0 | |
| | | Levemente amolecida | 1 | |
| | | Muito amolecida | 2 | |
| OLHOS | Córnea | Límpida | 0 | |
| | | Ligeiramente opaca | 1 | |
| | | Opaca | 2 | |
| | Brilho | Com brilho, bordo dourado em torno da pupila nítido | 0 | |
| | | Brilho menos intenso, bordo dourado em torno da pupila sem nitidez | 1 | |
| | | Fosco | 2 | |
| | Forma | Protuberante, convexa | 0 | |
| | | Achatada, plana | 1 | |
| | | Côncava, afundada | 2 | |
| BOCA | Odor | Caract. de peixe de água salgada, algas | 0 | |
| | | Neutro, levemente amoniacal | 1 | |
| | | Amoniacal | 2 | |
| | | Pútrido | 3 | |
| | Muco | Límpido a branco leitoso, fluido | 0 | |
| | | Amarelado e gelatinoso | 1 | |
| PERITÔNIO | Aspecto | Amarelado e líquido | 2 | |
| | | Liso | 0 | |
| | | Áspero em algumas áreas | 1 | |
| CARNE | Cor | Inteiramente áspero | 2 | |
| | | Branca, clara e com brilho | 0 | |
| | | Ligeiramente amarela com perda de brilho | 1 | |
| | | Amarelada, com perda de brilho e áspera | 2 | |
| TOTAL | | | 23 | |

Figura 6 – Protocolo de análise sensorial MIQ (Método do Índice de Qualidade) desenvolvido para peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e refrigerado, sem observação das brânquias.

Para montagem do esquema final do MIQ, foi preparada pela líder da equipe uma lista contendo os atributos selecionados com os respectivos escores de qualidade, variando de 0 a 2 ou 0 a 3, de acordo com o grau de importância, sendo considerado zero como o melhor e dois ou três como o pior escore (Figuras 5 e 6).

Para a aplicação do protocolo MIQ, os nove julgadores treinados, sob condições laboratoriais padronizadas, avaliaram individualmente três exemplares de peixe-sapo para cada um dos nove períodos de estocagem em gelo (0, 7 e 14; 2, 9 e 16; e 4, 11 e 18 dias), utilizando o protocolo sensorial previamente elaborado. As sessões foram realizadas em três dias não consecutivos, sendo que para cada dia foram apresentados peixes de três períodos diferentes de estocagem, provenientes do último lote, os quais foram dispostos em recipientes com fundo de cor clara, e identificados com números randomizados de três dígitos. Os pontos atribuídos para cada parâmetro de qualidade foram somados gerando o Índice de Qualidade (IQ), o qual aumenta linearmente de acordo com o período de estocagem em gelo.

4.2.2 Teste de Consumidor

O teste de mercado consumidor incluiu o teste afetivo de aceitação e de intenção de consumo, além do teste de escala do ideal, os quais foram conduzidos no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, baseado em metodologia descrita por Stone e Sidel (1993) e Stone et al. (2012), respectivamente.

Para realização deste teste foram utilizados dez exemplares, sendo cinco analisados no primeiro dia (dia 0) e os demais após quatro dias de armazenamento (dia 4). A etapa de preparo das amostras consistiu na retirada da pele e da cabeça dos peixes, com separação da porção muscular que foi envolvida em papel alumínio, sem adição de sal, e assada em forno elétrico automático (modelo Firenze, fabricante Nardelli) a 300°C por uma hora. Até o momento de serem apresentadas aos julgadores, as amostras foram mantidas em banho-maria a 50°C para que se mantivessem aquecidas.

Após o preparo, as amostras foram apresentadas em cabines individuais, a julgadores não treinados, em copos descartáveis de fundo claro, para avaliação dos atributos aparência, cor, sabor, textura, suculência, maciez e impressão global e, em béquer de vidro tampado com vidro de relógio, para avaliação do aroma (Figura 7). Esses atributos foram escolhidos, por apresentarem modificações durante o período de estocagem.



Figura 7 – Apresentação das amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) aos julgadores não treinados utilizando copos descartáveis de fundo claro e béquer de vidro tampado com vidro de relógio, juntamente com água e a ficha de avaliação sensorial para elaboração do teste de aceitação.

Acompanhando a amostra, serviu-se água para limpeza bucal e apresentou-se a ficha de avaliação sensorial (Figura 8) contendo uma escala hedônica estruturada com extremos de 01 a 09, onde 01 correspondia a “desgostei muitíssimo” e 09 “gostei muitíssimo” (LAWLESS; HEYMANN, 1999); três escalas do ideal para avaliação dos atributos intensidade da cor, suculência e maciez (ibid.) e ainda, um questionamento a respeito da intenção de compra avaliada por meio de escala de cinco pontos variando de certamente não compraria a certamente compraria (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). As amostras foram apresentadas aos julgadores de forma monádica, em ordem aleatorizada e codificadas com números randomizados de três dígitos.

O teste de consumidor foi procedido em duas etapas constituídas por 50 julgadores cada, totalizando dessa forma 100 julgadores não treinados, 50 indivíduos na etapa de avaliação das amostras cozidas no dia 0 de estocagem e 50 após quatro dias de estocagem em gelo, sendo 61 do sexo feminino e 39 do sexo masculino. O único parâmetro que se levou em conta no processo de seleção dos julgadores foi o de serem consumidores habituais de peixe.

| 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) | <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="padding: 2px;">Aparência</th> <th style="padding: 2px;">Cor</th> <th style="padding: 2px;">Aroma</th> <th style="padding: 2px;">Sabor</th> <th style="padding: 2px;">Textura</th> <th style="padding: 2px;">Suculência</th> <th style="padding: 2px;">Impressão Global</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="height: 20px;"></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | Aparência | Cor | Aroma | Sabor | Textura | Suculência | Impressão Global | | | | | | | | | | | | |
| 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 : | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> 9 – extremamente mais escuro que o ideal <input type="checkbox"/> 8 – muito mais escuro que o ideal <input type="checkbox"/> 7 – moderadamente mais escuro que o ideal <input type="checkbox"/> 6 – ligeiramente mais escuro que o ideal <input type="checkbox"/> 5 – ideal <input type="checkbox"/> 4 – ligeiramente menos escuro que o ideal <input type="checkbox"/> 3 – moderadamente menos escuro que o ideal <input type="checkbox"/> 2 – muito menos escuro que o ideal <input type="checkbox"/> 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 . | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> 9 – extremamente mais suculento que o ideal <input type="checkbox"/> 8 – muito mais suculento que o ideal <input type="checkbox"/> 7 – moderadamente mais suculento que o ideal <input type="checkbox"/> 6 – ligeiramente mais suculento que o ideal <input type="checkbox"/> 5 – ideal <input type="checkbox"/> 4 – ligeiramente menos suculento que o ideal <input type="checkbox"/> 3 – moderadamente menos suculento que o ideal <input type="checkbox"/> 2 – muito menos suculento que o ideal <input type="checkbox"/> 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 . | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> 9 – extremamente mais macio que o ideal <input type="checkbox"/> 8 – muito mais macio que o ideal <input type="checkbox"/> 7 – moderadamente mais macio que o ideal <input type="checkbox"/> 6 – ligeiramente mais macio <input type="checkbox"/> 5 – ideal <input type="checkbox"/> 4 – ligeiramente menos macio que o ideal <input type="checkbox"/> 3 – moderadamente menos macio que o ideal <input type="checkbox"/> 2 – muito menos macio que o ideal <input type="checkbox"/> 1 – extremamente menos macio que o ideal | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3. Suponha que você esteja no supermercado e que esteja diante desse produto. Você compraria este produto? | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <input type="checkbox"/> certamente compraria <input type="checkbox"/> possivelmente compraria <input type="checkbox"/> talvez comprasse / talvez não comprasse <input type="checkbox"/> possivelmente não compraria <input type="checkbox"/> certamente não compraria | | | Justifique: _____ _____ | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Figura 8 – Ficha utilizada no teste de aceitação de amostras cozidas de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) com julgadores não treinados.

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Controle Físico-Químico da Faculdade de Medicina Veterinária – UFF.

Foram utilizados seis exemplares de cada lote, totalizando 18 unidades amostrais em três repetições. Para cada lote porções musculares foram retiradas, em intervalos regulares, de diferentes pontos da musculatura, e homogeneizadas com auxílio de pistilo e gral para obtenção de uma massa homogênea (“pool” amostral). Em seguida, porções foram pesadas em balança de precisão, devidamente embaladas e identificadas de acordo com o lote e período de estocagem, e mantidas sob congelamento para posterior elaboração dos procedimentos analíticos propostos para o estudo. No caso exclusivo da análise de pH, não houve o congelamento das amostras, sendo realizada no dia da obtenção do “pool” amostral.

4.3.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (N-BVT) e Trimetilamina (TMA)

Utilizou-se o método oficial de microdifusão em Placas de Conway, descrito no Manual do LANARA (BRASIL, 1981), cujo princípio fundamenta-se na extração e liberação das N-BVTs da amostra, obtendo-se um extrato de pescado por filtração à vácuo em funil de Büchner, que foi transferido para o compartimento externo da placa de microdifusão, adicionando-se solução de carbonato de potássio, para liberar o nitrogênio volátil. No compartimento interno adicionou-se solução de ácido bórico de Conway. As bases contidas na amostra se difundem no interior da placa fechada com tampa de vidro fixando-se na solução de ácido bórico, sendo titulado posteriormente com ácido clorídrico. Quando adicionado formol ao extrato, antes da adição do álcali, este reage com a amônia originando hexametenotetramina, permitindo assim a difusão apenas da trimetilamina pelo ar.

Feita a titulação aplicou-se o seguinte cálculo para a obtenção do resultado final:

$$\text{mg de N - BVT 1100g} = \frac{V \times N \times 14 \times 100 \times (T + U)}{V_a \times P}$$

Onde:

V = mL de solução de HCl 0,01N gastos na titulação de N-BVT;

N = normalidade da solução de ácido clorídrico 0,01N;

14 = equivalente grama do nitrogênio;

T = volume da solução de ácido tricloroacético usado;

U = umidade da amostra em gramas (cerca de 8g);

Va = volume da alíquota analisada;

P = peso da amostra utilizada no preparo do extrato.

Para a determinação de TMA os procedimentos realizados foram os mesmos utilizados para a determinação das N-BVT diferenciando apenas a adição de 20 gotas de formol a 35%, no compartimento externo, antes da adição da solução de carbonato de potássio. Utilizou-se a mesma fórmula anteriormente citada para o cálculo de TMA.

4.3.2 Determinação de pH

A determinação de pH foi realizada de acordo com o método potenciométrico, técnica descrita no Manual do LANARA (BRASIL, 1981), que fundamenta-se na medida da concentração de íons hidrogênio na amostra utilizando-se uma alíquota de 50 g da amostra homogeneizada, com auxílio de bastão de vidro, com 20 mL de água destilada. Em seguida, procedeu-se a leitura, com o eletrodo do potenciômetro diretamente sobre a amostra (Figura 9). A leitura foi realizada em triplicata para garantir a repetibilidade dos valores.

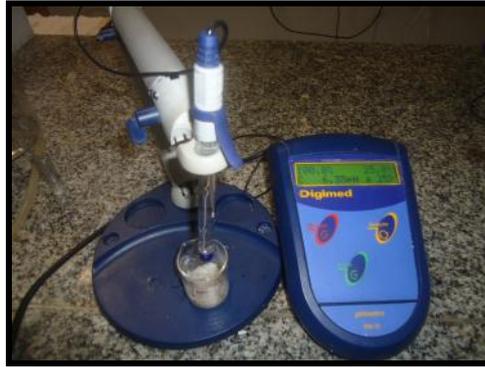


Figura 9 – Determinação de pH em amostra de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo.

4.3.3 Determinação de histamina, cadaverina e putrescina por CCD

A presença das aminas biogênicas histamina, cadaverina e putrescina foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), de acordo com a metodologia descrita por Schutz, Chang e Bjeldanes (1976).

Para o procedimento analítico pesou-se 1g de cada amostra em tubos de ensaio e adicionou-se 2 mL de metanol para extração das aminas, sendo esse conteúdo homogeneizado em agitador tipo Vortex com auxílio de uma espátula, aquecido em banho-maria a 100°C até completa coagulação das proteínas e liberação das aminas biogênicas no metanol e, posteriormente, colocado na centrífuga a 3000 rpm por dois minutos para obtenção do sobrenadante.

As placas de alumínio com sílica gel foram preparadas obtendo-se placas de 10x10 cm e, a 1cm da borda inferior, marcaram-se pontos com intervalos de 1 cm, para aplicação das soluções padrão de histamina, cadaverina ou putrescina nos volumes de 2 μ L, 5 μ L e 10 μ L com o auxílio de uma microsseringa Hamilton®, bem como 10 μ L do sobrenadante de cada amostra com auxílio de um pipetador automático. Cada microlitro de solução padrão correspondeu a 1mg/100g de histamina.

Para o preparo da cuba de cromatografia, adicionou-se uma mistura de solventes constituída por acetona e hidróxido de amônia na proporção de 20:1 v/v. A placa de sílica gel já preparada foi inserida verticalmente na cuba cromatográfica para a corrida, ao término da qual, a placa foi secada em fluxo de ar quente e contínuo por um período de 20 minutos e em estufa a 36°C por uma hora, para a eliminação do excesso de hidróxido de amônia.

Após este procedimento aspergiu-se uniformemente na placa solução a 0,3% de ninhidrina em metanol para revelação, seguida de novo fluxo de ar quente até a obtenção de uma boa visualização das manchas correspondentes aos padrões e às amostras. A interpretação dos resultados foi realizada de acordo com a migração e a intensidade das manchas sobre a camada de sílica, comparando-se as amostras com os padrões.

4.3.4 Produção de H₂S

A produção de H₂S foi determinada pela Prova de Éber descrita no Manual LANARA (BRASIL, 1981), cuja técnica fundamenta-se na decomposição dos aminoácidos sulfurados com liberação de enxofre. Este, em meio ácido, se transforma em gás sulfídrico, que combinado com acetato de chumbo produz sulfeto de chumbo que enegrece o papel.

Pesou-se 20 g da amostra homogeneizada em um erlenmeyer de 250 mL com tampa de vidro esmerilhada ao qual se adicionou 25 mL de água. Ao fechar o erlenmeyer, inseriu-se uma fita impregnada com acetato de chumbo, a qual ficou presa à tampa, sem entrar diretamente em contato com a amostra. Levou-se ao banho-maria em temperatura máxima de 70 °C e, após 15 minutos observou-se a coloração da fita, sendo que o enegrecimento indica a presença de gás sulfídrico, proveniente da degradação de proteínas.

4.3.5 Produção de NH₃

A metodologia utilizada foi a Prova de Nessler para Amônia (BARTELS et al., 1971).

Pesou-se 10g da amostra homogeneizada em uma cápsula de porcelana, e adicionou-se 2mL do reagente de Nessler, observando em seguida sua coloração. Considerou-se resultado negativo a cor amarela esverdeada e resultado positivo quando houve alteração da coloração para amarelo avermelhado (Figura 10).



Figura 10 – Prova de Nessler para amônia em amostra de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo, com resultado negativo (esq.) e positivo (dir.)

4.4 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

As análises bacteriológicas foram realizadas no Laboratório de Controle Microbiológico de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFF. Consistiram na contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotólicas realizadas nos dias 0, 02, 04, 07, 09, 11, 14, 16 e 18 de estocagem, segundo a metodologia recomendada por Morton (2001), e Cousin, Jay, Vasavada, (2001), respectivamente.

As análises foram realizadas em duplicata, sendo analisado um peixe para cada um dos três lotes.

A manipulação das amostras ocorreu em câmara fechada, submetida à luz ultravioleta por 15 minutos, com bancada previamente sanitizada com álcool a 70% e sempre na zona de segurança, próxima ao bico de Bunsen.

Após a remoção da pele, foram pesados em embalagem plástica estéril 10 gramas da porção muscular de cada peixe, em balança previamente calibrada, e adicionados de 90 mL de Solução Salina Peptonada (SSP) 0,1%, os quais foram homogeneizados em “Stomacher” (SEWARD – Stomacher 80) em velocidade média por dois minutos para o preparo da diluição 10^{-1} .

Em seguida, foram preparadas as demais diluições colocando-se 1 mL da diluição 10^{-1} em tubo de ensaio contendo 9 mL de Solução Salina Peptonada a 0,1% em igual concentração e homogeneizando-se. Repetiu-se sucessivamente essa ação, até a obtenção da diluição desejada. Aumentou-se a diluição utilizada, à medida que aumentavam os dias de estocagem das amostras.

Após essa etapa, foi inoculado 0,1mL de cada diluição em Ágar Padrão para Contagem (APC) (Marca Himedia, Cód. M091-500G) com plaqueamento “pour plate” e incubação das placas invertidas em estufa bacteriológica a 35-37°C por 48 horas no caso dos microrganismos mesófilos e, 7°C por dez dias para os microrganismos psicotróficos.

Passado o período de incubação, verificou-se o surgimento de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de coloração branco amareladas. Foram selecionadas para contagem as placas contendo entre 30 e 300 UFC, e o resultado obtido foi corrigido, tendo em vista que a técnica utilizada foi a de miniaturização, multiplicando-o pelo fator de correção 10. Os resultados foram expressos em log UFC/g da amostra.

4.5 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A análise estatística dos resultados do teste de consumidor foi realizada a partir da análise de variância em delineamento inteiramente casualizado e posterior teste de Tukey ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$) através do programa estatístico *Statistical Analysis Systems* – SAS (Fabricante: *SAS Institute*). Os dados hedônicos foram representados em histogramas de frequência.

Para os resultados do MIQ e das análises físico-químicas e bacteriológicas foram requeridas análises de regressão em modelo linear com a utilização do programa SAS (MIQ e análises bacteriológicas) e *GraphPad Prism 5* (Fabricante: *GraphPad Software*)(análises físico-químicas). Nas representações gráficas apresentadas, o eixo das abscissas (x) corresponde aos diferentes períodos de estocagem, enquanto no eixo das ordenadas são demonstrados os valores correspondes às variáveis avaliadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Optou-se neste capítulo, por seguir a mesma sequência do capítulo anterior, separando os resultados em análises sensoriais, físico-químicas e microbiológicas.

5.1 ANÁLISES SENSORIAIS

5.1.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ)

O protocolo de análise sensorial MIQ desenvolvido pontuou 13 atributos de qualidade e estabeleceu um IQ variando de 0 (máximo frescor) a 28 (limite de aceitabilidade) pontos de demérito, para descrição do peixe-sapo eviscerado e estocado em gelo por 0, 2, 4, 7, 9, 11, 14, 16 e 18 dias.

Os escores médios obtidos a partir da análise sensorial pelo MIQ, realizada por nove julgadores treinados nos diferentes tempos de estocagem, apresentaram um aumento linear, variando de $0,15 \pm 0,29$ a $27,55 \pm 0,66$, como se pode observar na Tabela 1 e na Figura 11 apresentadas a seguir.

Tabela 1: Escores médios obtidos a partir da realização do MIQ em peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

| Dia de estocagem | Escores | |
|------------------|---------|---------------|
| | Média | Desvio Padrão |
| 0 | 0,15 | 0,29 |
| 2 | 1,03 | 0,82 |
| 4 | 3,02 | 1,17 |
| 7 | 6,74 | 1,85 |
| 9 | 11,52 | 2,08 |
| 11 | 15,22 | 2,74 |
| 14 | 23,11 | 2,41 |
| 16 | 26,54 | 1,09 |
| 18 | 27,55 | 0,66 |

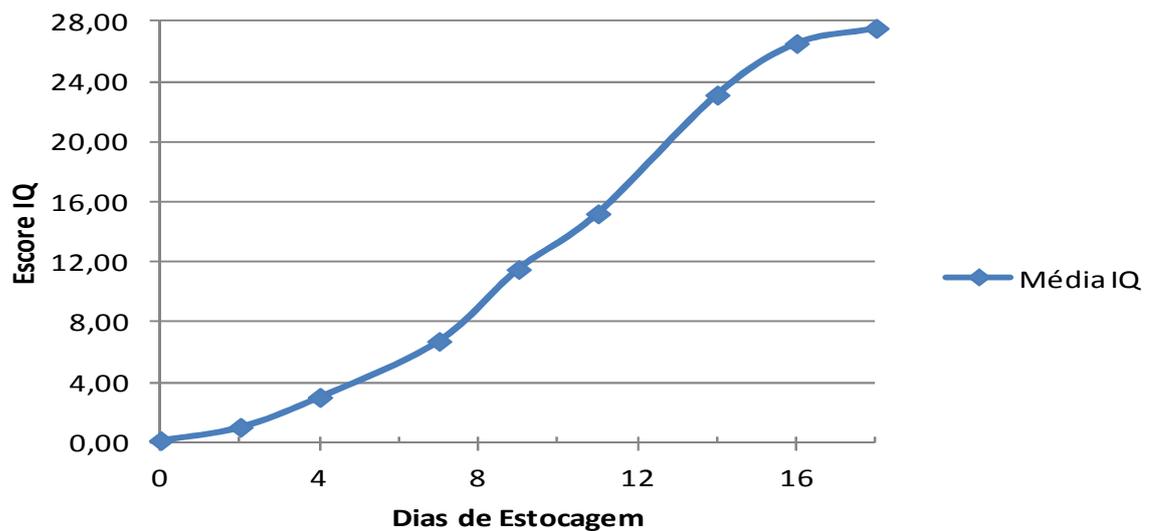


Figura 11 – Representação gráfica da evolução das médias dos escores obtidos para peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo após avaliação pelo MIQ.

Demonstra-se na representação gráfica na Figura 12 a avaliação individual dos julgadores, onde se pode verificar o aumento dos escores com o aumento do tempo de estocagem em gelo, atingindo valores próximos ao escore máximo para todos os atributos de qualidade no 18º dia de estocagem.

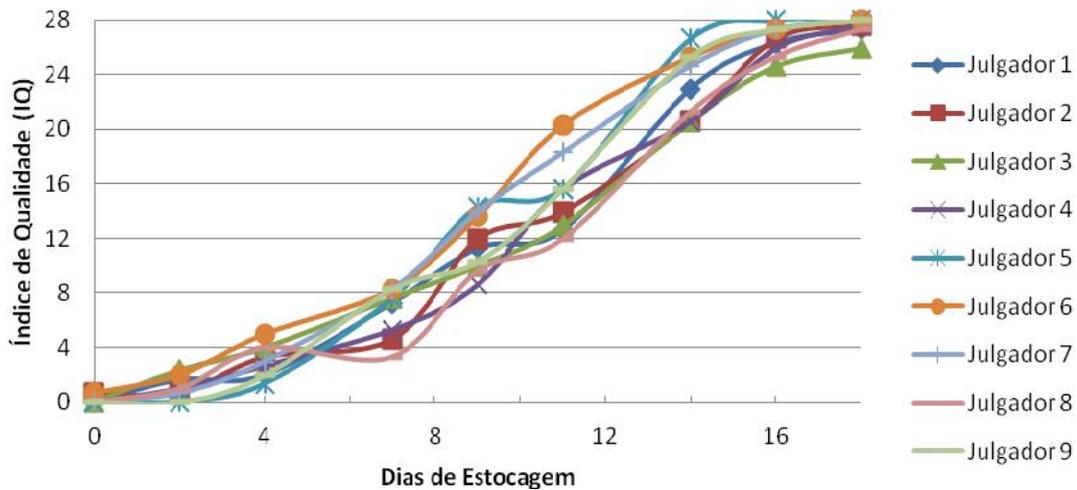


Figura 12 – Escores médios por julgador obtidos na avaliação MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

Ainda na figura acima, observa-se que as avaliações dos diferentes julgadores mostraram-se muito próximas nos primeiros e últimos dias de estocagem, havendo uma variação maior nos dias 11 e 14. Resultado semelhante foi observado por Oliveira et al. (2009) onde os Índices de Qualidade por julgador foram mais próximos no primeiro e último dias do período de estocagem de camarões brancos do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), havendo uma variação maior nos dias 8 e 14 de avaliação, o que os autores consideraram o período intermediário entre o aceitável e o inaceitável.

Na Figura 13 e Tabela 2 está ilustrada a evolução de cada atributo de qualidade durante o período de estocagem em gelo. A Figura 14 permite a visualização da evolução de alguns atributos avaliados nos dias 0, 9 e 18.

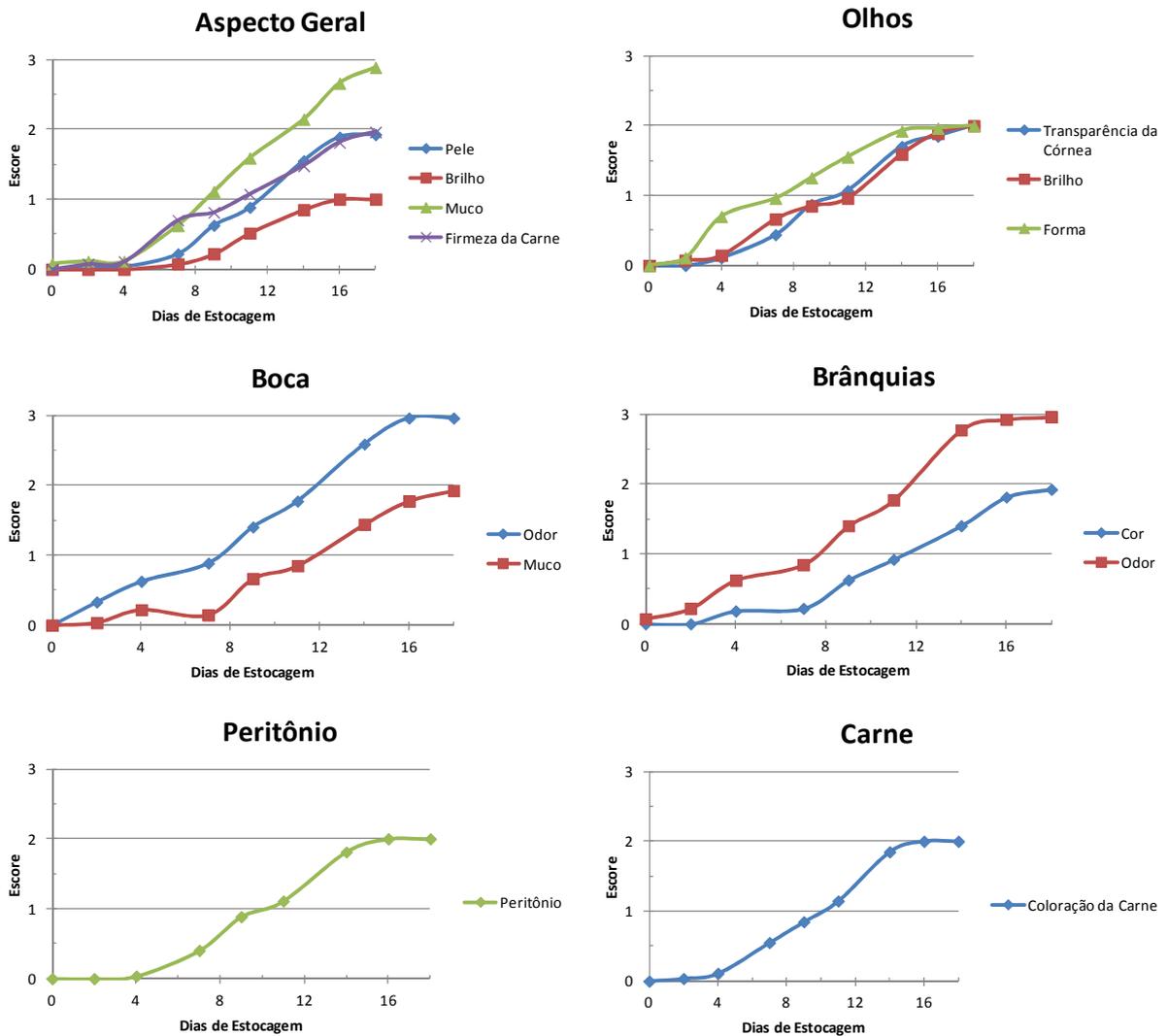


Figura 13 – Evolução dos escores médios de cada atributo de qualidade avaliado no protocolo MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

Os quatro atributos de qualidade relacionados ao aspecto geral do peixe-sapo (pele, brilho, muco e firmeza da carne) mantiveram-se praticamente sem alterações até o 4º dia de armazenamento em gelo, quando passaram a evoluir conforme o processo normal de autólise. Para o atributo pele, a evolução desse processo foi percebida com a formação progressiva de pequenos grânulos, que a tornaram áspera com o tempo. A perda de brilho tornou-se mais evidenciada a partir do 7º dia e foi o único dos quatro atributos a atingir o IQ máximo possível, alcançado já no 16º dia (Figura 15).

Tabela 2 – Evolução dos escores médios de cada atributo de qualidade avaliado no protocolo MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

| Critério de qualidade | Dias de Estocagem em Gelo | | | | | | | | |
|-----------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 0 | 2 | 4 | 7 | 9 | 11 | 14 | 16 | 18 |
| Aspecto Geral | | | | | | | | | |
| Pele | 0,00±0,00 | 0,04±0,11 | 0,04±0,11 | 0,22±0,17 | 0,63±0,31 | 0,88±0,41 | 1,55±0,41 | 1,89±0,17 | 1,92±0,15 |
| Brilho | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,07±0,15 | 0,22±0,23 | 0,52±0,38 | 0,85±0,24 | 1,00±0,00 | 1,00±0,00 |
| Muco | 0,07±0,22 | 0,11±0,33 | 0,11±0,33 | 0,63±0,48 | 1,11±0,29 | 1,59±0,36 | 2,14±0,48 | 2,66±0,17 | 2,89±0,17 |
| Firmeza da Carne | 0,00±0,00 | 0,07±0,15 | 0,11±0,17 | 0,70±0,31 | 0,81±0,38 | 1,07±0,32 | 1,48±0,34 | 1,81±0,24 | 1,96±0,11 |
| Olhos | | | | | | | | | |
| Transp. da Córnea | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,11±0,17 | 0,44±0,23 | 0,87±0,18 | 1,07±0,32 | 1,70±0,31 | 1,85±0,24 | 2,00±0,00 |
| Brilho da Córnea | 0,00±0,00 | 0,07±0,15 | 0,15±0,24 | 0,66±0,33 | 0,85±0,24 | 0,96±0,31 | 1,59±0,36 | 1,89±0,24 | 2,00±0,00 |
| Forma | 0,00±0,00 | 0,11±0,17 | 0,70±0,35 | 0,96±0,26 | 1,26±0,32 | 1,55±0,29 | 1,92±0,15 | 1,96±0,11 | 2,00±0,00 |
| Boca | | | | | | | | | |
| Odor | 0,00±0,00 | 0,33±0,33 | 0,63±0,31 | 0,89±0,47 | 1,40±0,47 | 1,77±0,37 | 2,59±0,40 | 2,96±0,11 | 2,96±0,11 |
| Muco | 0,00±0,00 | 0,04±0,11 | 0,22±0,23 | 0,15±0,24 | 0,66±0,37 | 0,85±0,30 | 1,44±0,50 | 1,78±0,29 | 1,92±0,15 |
| Brânquias | | | | | | | | | |
| Cor | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,18±0,34 | 0,22±0,33 | 0,63±0,35 | 0,92±0,37 | 1,40±0,60 | 1,81±0,30 | 1,92±0,15 |
| Odor | 0,07±0,22 | 0,22±0,33 | 0,63±0,48 | 0,85±0,30 | 1,40±0,55 | 1,77±0,37 | 2,77±0,24 | 2,93±0,22 | 2,96±0,11 |
| Peritônio | | | | | | | | | |
| | 0,00±0,00 | 0,00±0,00 | 0,04±0,11 | 0,40±0,28 | 0,89±0,24 | 1,11±0,23 | 1,81±0,24 | 2,00±0,00 | 2,00±0,00 |
| Carne | | | | | | | | | |
| | 0,00±0,00 | 0,04±0,11 | 0,11±0,17 | 0,55±0,24 | 0,85±0,18 | 1,15±0,24 | 1,85±0,24 | 2,00±0,00 | 2,00±0,00 |

Com relação aos olhos, diferentemente, os três atributos relacionados atingiram o IQ máximo após 18 dias de estocagem. A transparência da córnea e o brilho mantiveram-se até o 4º dia quando se iniciaram a opacidade e a perda de nitidez do bordo dourado em torno da pupila; a forma apresentou maior variação entre os dias 2 e 4 tornando-se plana e posteriormente côncava (Figura 14).

Um critério singular para avaliação do frescor foi incluído no protocolo de análise sensorial MIQ para peixe-sapo. Devido à sua anatomia diferenciada, onde a cabeça ocupa mais de um terço do seu comprimento total, considerou-se de grande importância avaliar a boca dessa espécie. Para tal, analisaram-se dois atributos: a presença e coloração do muco e o odor. O muco, a princípio de coloração límpida a branco leitosa e consistência fluida, apresentou leve alteração entre o 4º e o 7º dia (Figura 13 e Tabela 2), provavelmente devido à variação individual entre espécimes, alterando para amarelado e de consistência gelatinosa e, finalmente mantendo a cor amarelada e tornando-se líquido (Figura 14). O odor, que ao início do período de estocagem foi descrito como “característico de peixe de água salgada e algas”, tornou-se neutro e, a partir do dia 9, foi descrito como amoniacal, evoluindo

gradativamente até o último dia de estocagem, quando foi caracterizada a perda total de qualidade.

Para avaliação das brânquias foram utilizados os atributos cor e odor, sendo que esse último apresentou a mesma evolução já descrita para o odor da boca (Figura 13 e Tabela 2). A cor inicial das brânquias no peixe-sapo fresco variou do vermelho claro ao vermelho escuro. Essa coloração manteve-se inalterada até o 2º dia de estocagem em gelo, alterando levemente entre os dias 2 e 4, permanecendo inalterada novamente entre os dias 4 e 7, quando voltou a evoluir, tornando-se desbotadas ou castanhas.

Os parâmetros peritônio e coloração da carne apresentaram evolução muito semelhante, ambos atingindo a pontuação máxima no 16º dia de estocagem em gelo. Da mesma forma que na pele, o peritônio apresentou a formação progressiva de pequenos grânulos, que o tornaram áspero ao final do armazenamento. A coloração da carne evoluiu de forma regular passando de clara a amarelada apresentando também perda de brilho (Figura 14).



Figura 14 – Evolução de alguns atributos de qualidade avaliados no protocolo MIQ de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

Na Tabela 3 podem ser observados os modelos de equação de regressão linear que melhor ajustaram-se à avaliação sensorial das amostras a partir do protocolo MIQ em função do tempo de estocagem, o qual influenciou

significativamente ($P < 0,05$) as alterações ocorridas nos atributos de qualidade avaliados.

Tabela 3 – Modelos de equação de regressão linear dos escores médios de cada atributo de qualidade avaliado, do Índice de Qualidade total (IQ total) e do Índice de Qualidade sem a observação das brânquias (IQ total – IQ brânquias) em função do tempo de estocagem de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) e níveis de probabilidade (Prob).

| Atributos de Qualidade | | Modelo de regressão | R^2 | Prob> F |
|--------------------------------|-------------------|----------------------|-------|---------|
| Aspecto Geral | Pele | $Y = -0,31 + 0,12.X$ | 0,93 | 0,0001 |
| | Brilho | $Y = -0,19 + 0,66.X$ | 0,90 | 0,0001 |
| | Muco | $Y = -0,31 + 0,17.X$ | 0,96 | 0,0001 |
| | Firmeza da Carne | $Y = -0,17 + 0,12.X$ | 0,98 | 0,0001 |
| Olhos | Transp. da Córnea | $Y = -0,24 + 0,12.X$ | 0,97 | 0,0001 |
| | Brilho da Córnea | $Y = -0,18 + 0,12.X$ | 0,97 | 0,0001 |
| | Forma | $Y = 0,08 + 0,12.X$ | 0,96 | 0,0001 |
| Boca | Odor | $Y = -0,10 + 0,18.X$ | 0,98 | 0,0001 |
| | Muco | $Y = -0,26 + 0,12.X$ | 0,93 | 0,0001 |
| Brânquias | Cor | $Y = -0,27 + 0,12.X$ | 0,94 | 0,0001 |
| | Odor | $Y = -0,12 + 0,18.X$ | 0,97 | 0,0001 |
| Peritônio | Aspecto | $Y = -0,28 + 0,13.X$ | 0,95 | 0,0001 |
| Carne | Cor | $Y = -0,23 + 0,13.X$ | 0,96 | 0,0001 |
| IQ total | | $Y = -2,59 + 1,70.X$ | 0,97 | 0,0001 |
| IQ total - IQ brânquias | | $Y = -2,19 + 1,40.X$ | 0,97 | 0,0001 |

Sant'ana et al. (2011) ao desenvolverem um protocolo de qualidade MIQ para o peixe goraz (*Pagellus bogaraveo*) armazenado em gelo obtiveram escores que variaram de 0 a 30, descrevendo seis parâmetros de qualidade, com um total de 14 atributos avaliados e observaram rejeição das unidades amostrais ocorrendo entre o 12º e 13º dias de estocagem, principalmente, devido à presença de odores desagradáveis. O protocolo final desenvolvido para peixe-sapo apresentou variação dos escores entre 0 e 28, incluindo também seis atributos de qualidade mas avaliação de apenas 13 parâmetros. Odores amoniacais foram notados pelos julgadores entre o 7º e 9º dias de estocagem em gelo, provavelmente por apresentar contagem bacteriana mais alta que a espécie acima citada.

Silva (2010) demonstrou que o MIQ pode ser utilizado para avaliação do grau de frescor de sardinhas brasileira e boca-torta - *Sardinella brasiliensis* e *Cetengraulis*

edentulus, sugerindo um IQ variando de 0 a 19 para as amostras de sardinha verdadeira e, para as amostras de sardinha boca-torta, uma variação de IQ de 0 a 23. De acordo com a autora, os parâmetros que apresentaram maiores variações no decorrer do período de armazenamento, foram odor das brânquias e aspecto da pele e abdômen, nas duas espécies estudadas. Para a espécie marinha peixe sapo, o odor das brânquias e da boca também foram os atributos de qualidade que mais se alteraram pelo armazenamento em gelo.

O MIQ desenvolvido por Oliveira et al. (2009) recomendou índices de qualidade variando entre 0 e 10 para camarão cru inteiro e entre 0 e 8 para camarão cru descabeçado. Com base nos resultados obtidos, os autores indicaram o prazo de validade comercial de doze dias para o camarão inteiro e de quatorze dias para o camarão descabeçado estocado em gelo.

Teixeira et al. (2009) avaliaram as características sensoriais da corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada e estocada em gelo através do MIQ e observaram que os peixes obtiveram escores médios de 0,3 no dia da captura e de 6,8, 11,4, 15,5 e 19,4 nos dias 4, 7, 10 e 14 de estocagem, respectivamente, de um total possível de 22, sendo estabelecido um limite de até 14 dias de estocagem sem oferecer riscos à saúde humana. Os escores obtidos para peixe-sapo foram 0,15; 3,02; 6,74; e 23,11, respectivamente nos dias 0, 4,7 e 14 de estocagem em gelo, de um total possível de 28.

5.1.2 Teste de Consumidor

Participaram desse teste um total de 100 julgadores não treinados, sendo 50 na avaliação da amostra cozida de peixe-sapo no dia 0 de estocagem e 50 após 4 dias de estocagem em gelo.

O perfil dos consumidores participantes é exibido na Tabela 4, onde se pode verificar que a maioria dos julgadores foi do sexo feminino (61%) e da faixa etária entre 21 e 30 anos de idade (48%).

Para avaliar os efeitos do tempo de estocagem em gelo em carne de peixe-sapo, capazes de influenciar na aceitação dos consumidores, os escores obtidos para cada atributo, foram submetidos à ANOVA, para detectar diferenças entre as amostras, seguida de Teste de médias de Tukey ao nível de 5% de significância.

Tabela 4: Perfil dos julgadores participantes do teste de aceitação de amostras cozidas de peixe-sapo (*L. gastrophysus*).

| Faixa etária | Homens | | | Mulheres | | |
|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Dia 0 | Dia 4 | Total | Dia 0 | Dia 4 | Total |
| 21-30 | 10 | 13 | 23 | 24 | 24 | 48 |
| 31-40 | 6 | 4 | 10 | 4 | 5 | 9 |
| 41-50 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 3 |
| 51-60 | 3 | 1 | 4 | 0 | 1 | 1 |
| TOTAL | 20 | 19 | 39 | 30 | 31 | 61 |

Na análise de variância foi encontrada diferença significativa ($p < 0,05$) ao nível de 5% entre as amostras para os atributos aparência, sabor, textura e impressão global (Tabela 5), sendo caracterizada melhor aceitação para a amostra do dia 0.

Em relação à aparência, as amostras do dia 0 obtiveram média de 7,94, aproximando-se do termo hedônico “gostei muito”, enquanto aquelas armazenadas por quatro dias em condições de refrigeração obtiveram média de 7,46, entre os termos hedônicos “gostei muito” e “gostei moderadamente” dado que demonstra que o tempo de estocagem teve influência negativa sobre a aparência do produto. Quanto ao sabor, textura e impressão global, as médias para o dia zero foram 7,70, 7,80 e 7,80 e, para o quarto dia de estocagem, 6,94, 6,82 e 7,10, respectivamente, observando-se também uma aceitação menor em relação aos atributos das amostras com maior tempo de estocagem em gelo. No quarto dia de estocagem os atributos sabor, textura e impressão global declinaram do termo hedônico próximo a “gostei muito” para próximo do termo “gostei moderadamente”. Ressalta-se que, mesmo tendo ocorrido um declínio da aceitação, não foi observada rejeição dos consumidores pelas amostras testadas.

Os atributos cor, aroma e suculência não apresentaram diferença significativa entre as amostras com valores médios variando de 7,82, 7,60 e 7,28 no dia 0 para 7,42, 7,32 e 6,72 no dia 4, respectivamente (Tabela 5). Os julgadores consideraram que a carne de peixe-sapo se apresentou com as características de cor e aroma entre os termos hedônicos “gostei muito” e “gostei moderadamente” e, com relação à suculência, entre os termos “gostei muito” e “gostei ligeiramente”, não havendo rejeição das amostras testadas.

Tabela 5 – Média dos valores atribuídos pelos julgadores às amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) no dia da captura (dia 0) e após quatro dias de estocagem em gelo (dia 4) utilizando a escala hedônica de 9 pontos.

| Amostra | Aparência | Cor | Aroma | Sabor | Textura | Suculência | Impressão Global |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dia 0 | 7,94 ^a | 7,82 ^a | 7,60 ^a | 7,70 ^a | 7,80 ^a | 7,28 ^a | 7,80 ^a |
| Dia 4 | 7,46 ^b | 7,42 ^a | 7,32 ^a | 6,94 ^b | 6,82 ^b | 6,72 ^a | 7,10 ^b |
| MDS* | 0,47 | 0,53 | 0,57 | 0,48 | 0,58 | 0,61 | 0,37 |

*MDS = Mínima Diferença Significativa do Teste de Tukey ao nível de de 5%; médias na mesma coluna, acompanhadas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey

Resultados diferentes foram obtidos por Rodrigues (2008), que ao realizar o teste de aceitação pelo método da escala hedônica estruturada de nove pontos em amostras cozidas de tilápia do Nilo previamente estocadas em gelo por 01, 08 e 15 dias, com um grupo de 240 consumidores do produto (julgadores não treinados), observou que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) nos três períodos de estocagem analisados. Baseando-se nos resultados desse teste, o autor concluiu que a tilápia do Nilo teria boa recepção no mercado consumidor por até 15 dias de estocagem em gelo. Entretanto, vale ressaltar que peixes marinhos e dulcícolas apresentam processos de degradação distintos em função de diferenças fisiológicas inerentes a cada espécie.

Nesse estudo não foi possível aumentar o intervalo de estocagem entre uma amostra e outra, ou mesmo comparar três amostras diferentes ao invés de apenas duas, devido à alta contagem de microrganismos psicrotrofos encontradas nos exemplares de peixe-sapo utilizados, limitando o prazo para consumo da espécie em questão. Esse assunto será abordado mais detalhadamente adiante, em tópico específico.

Entretanto, apesar de obter médias menores quando comparada à amostra do dia 0, a amostra do dia 4 foi julgada com boa aceitação já que, para todos os atributos avaliados, as maiores frequências de notas ocorreram na faixa de aceitação da escala hedônica (a qual varia de 6 a 9), como se pode observar nos histogramas exibidos na Figura 15. Para as amostras do dia 0 e 4, a aceitação foi respectivamente, de 96 e 94% para o atributo aparência, 98 e 88% para o sabor, 98 e 90% para impressão global, 94 e 88% para cor e 92 e 80% para suculência, sendo que para o aroma o índice foi de 92% para ambas as amostras.

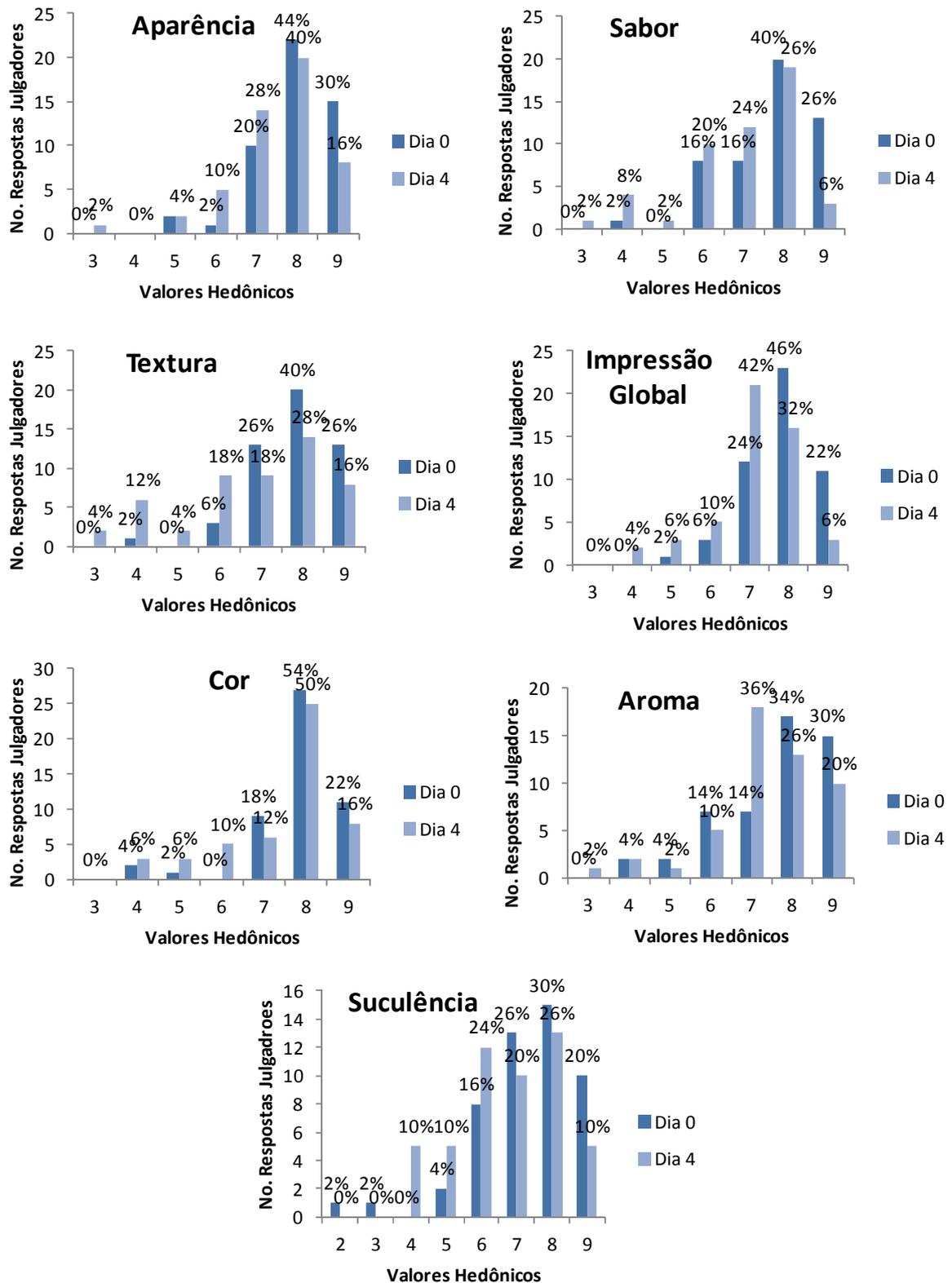


Figura 15 - Histogramas de frequência dos valores hedônicos obtidos no teste de aceitação das amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) nos dias 0 e 4 de estocagem em gelo. OBS: A distribuição percentual corresponde ao número de respostas dos julgadores obtidas para cada valor hedônico. Os valores hedônicos correspondem a: 1 = desgostei extremamente; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 6 = gostei ligeiramente; 7 = gostei moderadamente; 8 = gostei muito; 9 = gostei extremamente.

Verifica-se ainda nessa figura que, para os atributos aparência, sabor, textura, cor e suculência, as médias das notas atribuídas concentraram-se no valor 8 da escala hedônica para ambas as amostras, o qual corresponde a “gostei muito”. Para os atributos impressão global e aroma a maior concentração ocorreu no valor 8 da escala para a amostra do dia 0 e no valor hedônico 7 para a amostra do dia 4, valor que corresponde a “gostei moderadamente”.

Na Tabela 6 estão representadas as médias das intensidades de cor, suculência e maciez obtidas para as duas amostras, avaliadas pela escala do ideal, onde a intensidade do atributo avaliado considerada ideal correspondia ao valor 5.

Observou-se uma variação das médias dos valores hedônicos de 5,12 a 5,04, para o atributo cor, de 4,70 a 4,28 para suculência e de 5,60 a 5,32 para maciez, respectivamente nos dias 0 e 4. Dessa forma, nota-se que os atributos cor e maciez foram considerados ideais, tendo em vista que se mantiveram na faixa de nota 5 enquanto a suculência manteve-se com nota 4, que corresponde ao item “ligeiramente menos suculento que o ideal” na escala. Não houve diferença significativa ao nível de 5% entre as amostras do dia 0 e dia 4, observando-se que o tempo de estocagem de quatro dias não influenciou o julgamento do consumidor com relação a qualidade dos atributos avaliados.

Tabela 6 – Média dos valores atribuídos pelos julgadores aos atributos cor, suculência e maciez de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) no dia da captura (dia 0) e após quatro dias de estocagem em gelo (dia 4) utilizando a escala do ideal de 5 pontos.

| Amostra | Cor | Suculência | Maciez |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Dia 0 | 5,12 ^a | 4,70 ^a | 5,60 ^a |
| Dia 4 | 5,04 ^a | 4,28 ^a | 5,32 ^a |
| MDS* | 0,34 | 0,54 | 0,49 |

*MDS = Mínima Diferença Significativa do Teste de Tukey ao nível de de 5%; médias na mesma coluna, acompanhadas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Com relação à intenção de compra, verificou-se média de 4,24 para a amostra do dia 0, que corresponde ao item “possivelmente compraria” e 3,78 para a amostra do dia 4, que indica na escala “talvez comprasse/talvez não comprasse”, revelando diferença significativa ao nível de 5% entre as médias obtidas.

Percebe-se dessa forma, que para a amostra do dia 0 foram obtidas melhores médias de aceitação quanto à intenção de compra, certamente influenciada pelos atributos aparência, sabor, textura e impressão global, os quais também se mostraram influenciados negativamente, de forma perceptível ao consumidor, após quatro dias de estocagem em gelo.

Através dos dados obtidos pode-se demonstrar que, embora a espécie peixe-sapo seja desconhecida para o consumidor brasileiro, esta possui grande potencial para ser comercializada no mercado interno, incrementando a alimentação da população e alterando os dados comerciais que apontam um índice de praticamente 100% de exportação para esse peixe capturado no litoral brasileiro.

Um fator que deve ser considerado importante na comercialização do peixe-sapo é a forma de apresentação do produto aos consumidores. Quatro julgadores do teste de aceitação afirmaram, em sua justificativa referente à intenção de compra, que a aquisição do produto dependeria da forma de apresentação pelo fato de já conhecerem e não aprovarem as características externas do peixe. Tendo em vista sua aparência não muito agradável, o ideal seria apresentá-lo na forma de filés ou sem cabeça.

5.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

5.2.1 Determinação de Bases Voláteis Totais (N-BVT), Trimetilamina (TMA) e pH

Para avaliar os parâmetros físico-químicos de qualidade nos exemplares de peixe-sapo estocados em condições controladas de temperatura foram realizadas, durante um período de 18 dias, análises para acompanhar a degradação de aminoácidos, nucleotídeos e óxido de trimetilamina cujos valores médios podem ser observados na Tabela 7.

Observou-se nos valores referentes à produção de N-BVT um aumento contínuo até o último dia de estocagem, atingindo o limite máximo estabelecido pela legislação nacional (30mg N/100g) após o 14^o dia de estocagem em gelo, quando alcançou o valor de 29,40mg N/100g.

Howgate (2009), considera que as concentrações de N-BVT e TMA na carne de peixes estocados em gelo demonstram aumento exponencial durante período de

armazenamento devido a transformações enzimáticas e bacterianas, até ser considerado impróprio para consumo, fato que pode ser observado nos resultados obtidos nesse estudo; a partir desse momento, há uma tendência de queda desses valores, fato que pode ser devido à degradação das moléculas.

Tabela 7 – Valores médios obtidos para as análises de Bases Voláteis Torais (N-BVT), Trimetilamina (TMA) e pH em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

| Dia de estocagem | BVT (mg N/100g) | TMA (mg N/100g) | pH |
|------------------|--------------------|--------------------|------|
| 0 | 8,57 | 0,38 | 6,15 |
| 2 | 7,54 | 1,07 | 6,27 |
| 4 | 9,14 | 1,66 | 6,38 |
| 7 | 13,08 | 5,15 | 6,50 |
| 9 | 20,22 | 9,01 | 6,60 |
| 11 | 24,78 | 12,66 | 6,67 |
| 14 | 29,40 | 16,80 | 6,77 |
| 16 | 32,76 | 17,22 | 6,85 |
| 18 | 37,17 | 21,63 | 6,96 |

A tendência de queda nos valores de N-BVT e TMA não foi observada nesse estudo. Entretanto, o aumento desses valores diretamente relacionado com o tempo de estocagem em gelo pode ser observado na Figura 16 e comprovado através dos modelos de regressão linear dispostos na Tabela 8, onde se pode observar que a influência do tempo foi significativa ($P < 0,05$) para o aumento de N-BVT e TMA.

Com relação aos valores de TMA, verifica-se na Tabela 7 um aumento gradual do início ao fim da estocagem variando de 0,38 a 21,63 mgN/100g, sendo que o limite estabelecido pela legislação (4 mgN/100g) foi ultrapassado após o 4º dia de estocagem em gelo.

Considerando-se os dados obtidos por Howgate (2010), o aumento de TMA durante a deterioração representa quase que inteiramente o aumento de N-BVT, já que as outras bases voláteis encontram-se em quantidades menores. Essa relação pode ser observada na Figura 16 e foi confirmada através de análise de correlação, a qual se apresentou significativa ($p < 0,0001$) e deu origem a um coeficiente de determinação R^2 equivalente a 0,99.

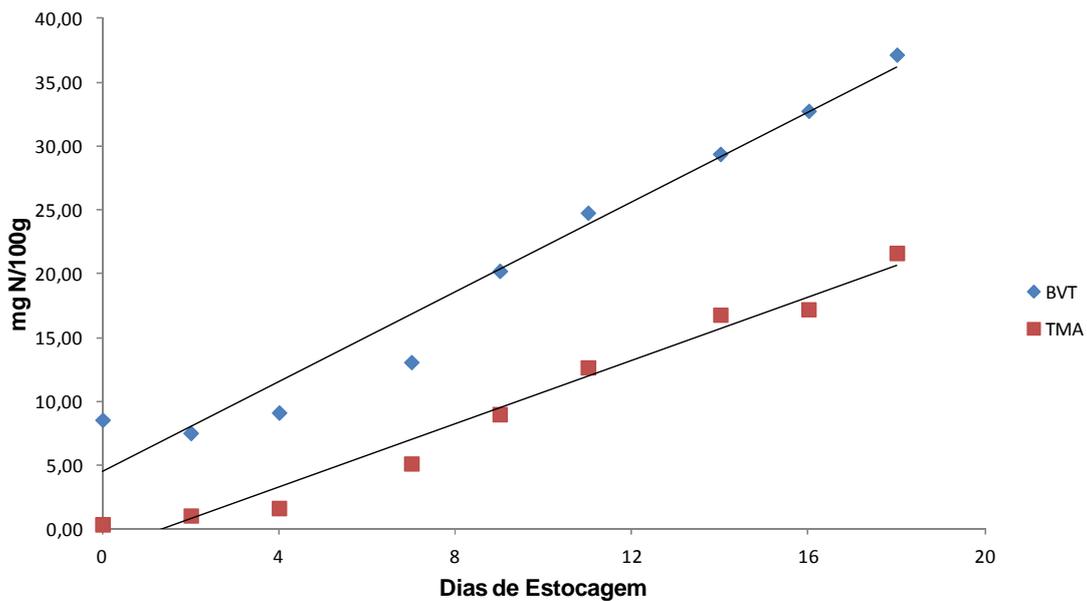


Figura 16 – Representação gráfica dos valores médios obtidos para as análises de Bases Voláteis Totais (N-BVT) e Trimetilamina (TMA) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

Tabela 8 - Modelos de equação de regressão linear dos valores médios de Bases Voláteis Totais (N-BVT) e Trimetilamina (TMA) em função do tempo de estocagem de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) e níveis de probabilidade (Prob).

| Análises | Modelo de regressão | R^2 | Prob> F |
|----------|---------------------|-------|---------|
| BVT | $Y=4,48+1,76.X$ | 0,96 | 0,0001 |
| TMA | $Y=1,67+1,24.X$ | 0,97 | 0,0001 |
| pH | $Y=6,19 +0,04.X$ | 0,99 | <0,0001 |

Resultados semelhantes aos obtidos nesse estudo para TMA foram encontrados por Rey et al. (2011) em *Lophius piscatorius*, espécie da mesma família do peixe-sapo, mas de origem europeia. Os autores mantiveram o peixe estocado em gelo e realizaram as análises nos dias 1, 5, 8 e 12 obtendo respectivamente os valores de 2,62; 4,80; 9,83 e 11,76 mgN/100g, verificando que no 5º dia o limite de 4 mgN/100g já havia sido ultrapassado.

Pivarnik et al. (2006) descreveram resultados com valores menores para *Lophius americanus* tanto para N-BVT, cujo valor superior ao limite de 30 mgN/100g foi obtido apenas após o 16º dia de estocagem em gelo, como para TMA, cujo limite de 4 mgN/100g foi ultrapassado apenas após o 6º dia. Essa diferença pode ser

justificada possivelmente por uma carga bacteriana inferior nas amostras avaliadas por esse autor.

Um aumento progressivo também foi observado nos valores encontrados para pH, no decorrer do período de armazenamento em gelo, como se pode observar na Figura 17. Conforme disposto na Tabela 7, a variação do pH para as amostras de peixe-sapo foi de 6,15 a 6,96 nos dias 0 e 18 de estocagem em gelo, respectivamente, o que pode ser consequência da multiplicação de microrganismos e degradação dos compostos com produção de radicais alcalinos, conforme descrito por Ogawa e Maia (1999).

Deve-se ressaltar que o limite de 6,4 estabelecido pela legislação foi ultrapassado após o 4º dia de estocagem, quando foi alcançado um pH de 6,38.

Na Tabela 8 observa-se que houve aumento significativo do valor do pH em relação ao tempo de estocagem em gelo ($p < 0,05$).

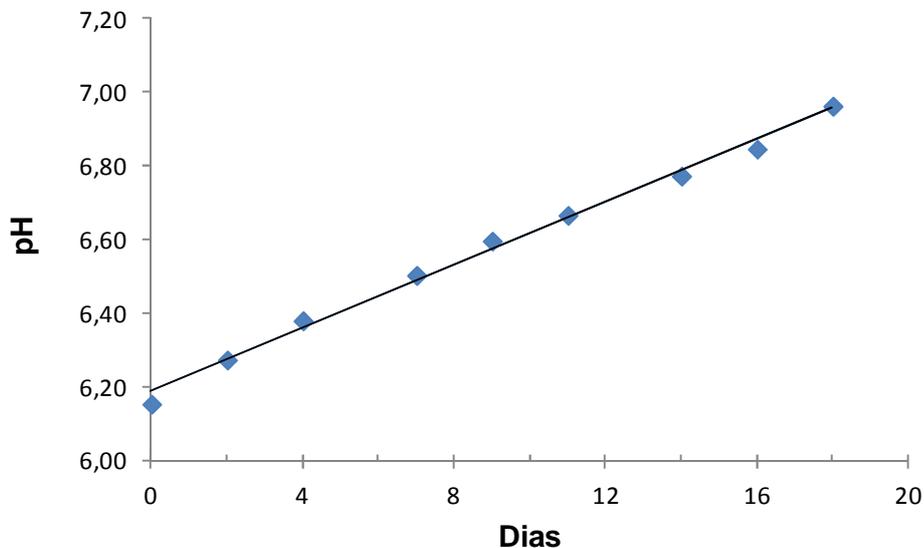


Figura 17 – Representação gráfica dos valores médios obtidos para as análises de pH realizadas em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) mantidas sob refrigeração durante 18 dias.

Rey et al. (2011) relataram para *Lophius piscatorius* pH de 6,2 para o 1º dia de estocagem e, acima de 6,4, para o 5º dia de estocagem em gelo, resultados muito semelhantes aos apresentados nesse estudo.

A correlação entre as variáveis N-BVT e TMA com pH demonstrou influência significativa entre as mesmas, com coeficientes de determinação R^2 de 0,94 e 0,95

respectivamente para N-BVT x pH e TMA x pH, e níveis de probabilidade de $P < 0,0001$ para ambas as correlações.

É relevante observar que todos esses parâmetros são influenciados pela quantidade de microrganismos e seus metabólitos, conforme descrito por Howgate (2010) e Ogawa e Maia (1999), sendo os seus resultados corroborados pelos obtidos nesse estudo.

5.2.2 Determinação de histamina, cadaverina e putrescina por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Os valores observados para histamina, cadaverina e putrescina em três lotes distintos de amostras de peixe-sapo mantidas em refrigeração durante 18 dias podem ser observados na Tabela 9.

Tabela 9 – Resultados de aminas biogênicas (histamina, cadaverina e putrescina) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por 18 dias.

| Dias de estocagem | Histamina (mg/100g) | | | Cadaverina (mg/100g) | | | Putrescina (mg/100g) (Lotes 1,2 e 3) |
|-------------------|---------------------|--------|--------|----------------------|--------|--------|---|
| | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | |
| 0 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 2 | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| 4 | ND | ND | ND | ND | ND | <1 | ND |
| 7 | ND | <2 | <1 | ND | 3,5 | <2 | ND |
| 9 | ND | <2 | <2 | ND | 3,5 | <2 | ND |
| 11 | <2 | <2 | <2 | ND | 3,5 | <2 | ND |
| 14 | <2 | <1 | <2 | ND | 3,5 | 3,5 | ND |
| 16 | <2 | <1 | <2 | ND | 3,5 | 3,5 | ND |
| 18 | <2 | <1 | <2 | ND | 3,5 | 3,5 | ND |

ND: Não Detectável por Cromatografia em Camada Delgada

Verifica-se a partir dos dados apresentados na tabela acima uma variação no conteúdo de histamina entre os três lotes analisados, não tendo sido detectada a presença dessa amina biogênica até o 9º dia de estocagem no lote 1, e aparecendo em baixas e diferentes quantidades já no 7º dia para os lotes 2 (<2 mg/100g) e 3 (<1 mg/100g). Destaca-se ainda que, a partir do 11º dia, a quantidade detectada manteve-se estável para os lotes 1 e 3 (<2 mg/100g), apresentando pequena queda

no lote 2 (de <2 para <1 mg/100g) a partir do dia 14, mantendo-se estável nos dias 16 e 18 de estocagem em gelo.

Tanto a diferença entre lotes como a queda no conteúdo de histamina observada no mesmo lote (2) podem ser explicadas pelo fato de o procedimento analítico ter sido realizado a partir de um “pool” constituído de seis unidades amostrais e ainda, pela variação da produção em um mesmo exemplar, em função da porção muscular analisada e da microbiota.

Os resultados acima expostos foram corroborados por Yoshinaga e Frank (1982), que estudaram a evolução do teor de histamina durante a deterioração do bonito (*Katsuwonus pelamis*), concluíram que a sua formação foi homogênea nas porções de um mesmo espécime, diminuindo da parte anterior (cabeça) para a parte posterior (cauda). Esta diferença foi atribuída ao padrão de distribuição dos microrganismos responsáveis pela formação de histamina, visto que a distribuição de histidina era homogênea ao longo do peixe. A maior concentração de microrganismos descarboxilase positivos nas brânquias e nos intestinos, segundo esses autores, justifica a predominância de histamina nestas partes supracitadas.

Apesar da diferença de produção de histamina entre as diversas porções de cada espécime, nenhum dos lotes ultrapassou o limite estabelecido pela legislação de 10mg/100g até o último dia de estocagem em gelo.

Perfil semelhante foi também observado para cadaverina, amina resultante da descarboxilação do aminoácido lisina que não foi detectada no lote 1, observada em quantidades entre 2 e 5 mg/100g no 7º dia de estocagem do lote 2 e, já no 4º dia de estocagem em quantidades inferiores a 1 mg/100g no lote 3, aumentando sua concentração para quantidades entre 2 e 5 mg/100g nos dias 14, 16 e 18 de estocagem em gelo.

A putrescina, originada do aminoácido ornitina, não foi detectada em nenhum dos lotes analisados.

A produção de cadaverina e putrescina durante o processo de deterioração do pescado deve-se, presumivelmente, a enzimas bacterianas não envolvidas no processo de descarboxilação da histidina. A predominância de aminas biogênicas no pescado varia de espécie para espécie, de espécime para espécime, sendo que de uma forma geral a concentração após a captura é vestigial podendo ser fomentada pelas condições inadequadas de captura, armazenamento e processamento (SHALABY, 1996; GLÓRIA, 2005).

As aminas putrescina e cadaverina, como já citado anteriormente, podem potencializar o efeito tóxico da histamina, caracterizando a importância de estudos de detecção dessas aminas biogênicas.

5.2.3 Produção de H₂S e NH₃

A presença (+) ou ausência (-) de amônia (NH₃) e gás sulfídrico (H₂S) detectadas em amostras de três lotes distintos de peixe-sapo eviscerado e estocado em gelo por um período de 18 dias está inserida na Tabela 10.

Tanto para NH₃ como para H₂S, verificou-se diferença entre os lotes, sendo a mais expressiva detectada na análise de NH₃, onde a presença desse metabólito foi detectada no 7º dia de estocagem para o lote 2, enquanto para os lotes 1 e 3, respectivamente, o resultado positivo ocorreu apenas a partir dos dias 14 e 16. Estes achados caracterizam uma qualidade inferior das amostras referentes ao lote 2 as quais, possivelmente permaneceram armazenadas na embarcação pesqueira por um período maior.

Para a produção de H₂S, notou-se diferença apenas no lote 3, cujos resultados demonstraram positividade no 7º dia de estocagem em gelo. Para os lotes 1 e 2, esse resultado foi encontrado apenas a partir do 9º dia.

Tabela 10 – Resultados relativos à produção de amônia (NH₃) e gás sulfídrico (H₂S) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerado e estocado em gelo por um período de 18 dias.

| Dia de estocagem | Amonia | | | H ₂ S | | |
|------------------|--------|--------|--------|------------------|--------|--------|
| | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 | Lote 1 | Lote 2 | Lote 3 |
| 0 | - | - | - | - | - | - |
| 2 | - | - | - | - | - | - |
| 4 | - | - | - | - | - | - |
| 7 | - | + | - | - | - | + |
| 9 | - | + | - | + | + | + |
| 11 | - | + | - | + | + | + |
| 14 | + | + | - | + | + | + |
| 16 | + | + | + | + | + | + |
| 18 | + | + | + | + | + | + |

(+) = presença; (-) = ausência.

Como ambos os metabólitos pesquisados são gerados a partir do catabolismo bacteriano dos constituintes do pescado, as diferenças observadas podem ser atribuídas, ao fato de a alíquota amostral ser relativa a um “pool” de seis unidades amostrais, e pela variação existente em um mesmo exemplar, em função da porção muscular analisada.

Não foram encontrados na literatura dados passíveis de comparação com os obtidos nesse estudo.

5.3 ANÁLISES BACTERIOLÓGICAS

Os resultados obtidos nas Contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicotróficas (CBHAP) para as amostras de peixes-sapos eviscerados e estocados em gelo por um período de 18 dias estão dispostos na Tabela 11 e a evolução de cada um encontra-se ilustrada na Figura 18.

Verifica-se na tabela e figura apresentadas que a CBHAM iniciou de forma muito semelhante entre os três lotes analisados, com valores de 3,78, 3,90 e 3,64 log UFC/g respectivamente, para os lotes 1, 2 e 3. No entanto, uma variação de comportamento entre os lotes pode ser notada ao longo do período de estocagem, sendo observada diferença maior no lote 2, o qual apresentou crescimento da carga microbiana mais irregular que os demais lotes (excluindo-se o último dia de estocagem para o lote 1).

Diferentemente, na evolução da CBHAP ocorreu variação nas contagens iniciais entre os lotes, sendo 4,51log UFC/g para o lote 1, 5,61 log UFC/g para o lote 2 e 4,21 log UFC/g para o lote 3 e, a partir do 7^o dia de estocagem em gelo, os valores se aproximaram e assim mantiveram-se até o último dia de estocagem.

Diferenças de comportamento como essas eram esperadas conforme os achados de Eiroa (1980), tendo em vista que o grau de deterioração de um produto é determinado, principalmente, pela carga bacteriana inicial, e esta por sua vez, é influenciada pelo tempo decorrido após a morte do peixe, pela temperatura a que é mantido, e pelas práticas sanitárias adotadas.

Tabela 11 – Resultados referentes às Contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) e Psicotróficas (CBHAP) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerados e estocados em gelo por 18 dias separados por lotes (1, 2 e 3).

| Dia de estocagem | CBHAM (log) | | | CBHAP (log) | | |
|------------------|-------------|------|------|-------------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| 0 | 3,78 | 3,90 | 3,64 | 4,51 | 5,61 | 5,21 |
| 2 | 4,58 | 4,99 | 4,02 | 5,32 | 6,71 | 7,24 |
| 4 | 5,26 | 6,07 | 4,36 | 6,92 | 8,29 | 5,85 |
| 7 | 6,00 | 5,95 | 5,03 | 8,05 | 8,29 | 7,65 |
| 9 | 6,22 | 6,20 | 5,78 | 8,95 | 9,33 | 8,65 |
| 11 | 6,55 | 5,57 | 5,77 | 9,08 | 9,36 | 8,73 |
| 14 | 6,44 | 6,03 | 6,40 | 8,98 | 8,90 | 9,14 |
| 16 | 7,65 | 8,00 | 6,84 | 9,85 | 9,75 | 9,17 |
| 18 | 6,44 | 7,54 | 7,54 | 10,06 | 9,10 | 9,75 |

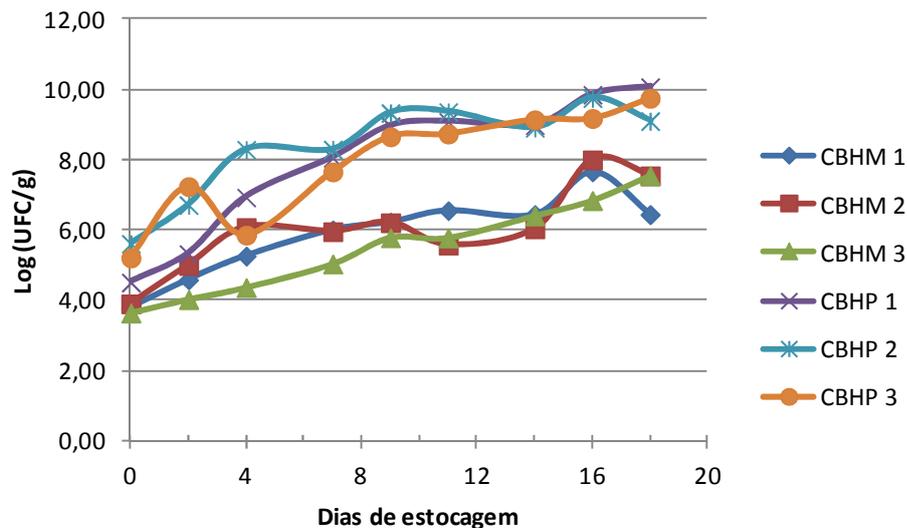


Figura 18 – Evolução dos resultados referentes às Contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) e Psicotróficas (CBHAP) em amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*) eviscerados e estocados em gelo por 18 dias.

No caso específico dos peixes avaliados nesse experimento, desses três fatores acima citados por Eiroa (1980), capazes de influenciar o crescimento bacteriano, pôde-se controlar apenas a temperatura de refrigeração em que foram mantidos após recepção no porto, não havendo informações seguras a respeito do tempo decorrido após a morte e das práticas de manipulação adotadas no barco, o que pode justificar essas alterações encontradas.

Outra justificativa encontra-se no fato de que, além da quantidade de bactérias presentes, a decomposição e alteração do pescado dependem ainda da espécie das bactérias deteriorantes presentes, uma vez que há grande variação no comportamento destas no que diz respeito às capacidades de causar deterioração, conforme descrito por Eiroa (1980).

Levando em consideração a afirmação acima, somada à definição de Jay (2005) de microrganismos psicotróficos como sendo aqueles capazes de se desenvolver a 7°C ou menos, independente da temperatura ótima de crescimento, sendo esse grupo de extrema importância em produtos que são conservados ou armazenados em condições de refrigeração, explica-se outro fato observado na Tabela 11 e Figura 18 onde, para todos os lotes, CBHAP foi maior que a CBHAM.

Franco e Landgraf (2008) ainda justificam a predominância de microrganismos psicotróficos pelo fato de a microbiota do pescado ser influenciada pelo seu habitat, principalmente sua temperatura, e propiciar condições mais favoráveis ao desenvolvimento de uma microbiota psicotrófica. Considerando-se os relatos de Santos (1992) e Vianna e Almeida (2005) o peixe-sapo possui hábitos demersais, sendo comumente encontrado em locais profundos, onde a temperatura é mais baixa, o que provavelmente ocasiona a seleção da microbiota predominante.

Ainda na Tabela 11, nota-se que para a CBHAM, as amostras dos três lotes apresentaram-se dentro dos limites recomendados pela ICMSF (1986) de 10^7 UFC/g até o 14º dia de estocagem (6,44; 6,03 e 6,40 log UFC/g respectivamente para os lotes 1, 2 e 3), sendo que a amostra do lote 3 ainda manteve-se dentro desse padrão até o 16º dia quando alcançou o valor de 6,84 log UFC/g. Para CBHAP, não foi encontrado um padrão entre os lotes, sendo esse limite ultrapassado já no 2º dia de estocagem no lote 3, no 4º dia no lote 2 e no 7º dia com 7,24; 8,29 e 8,05 log UFC/g, respectivamente.

Apesar das diferenças encontradas entre os lotes, tanto para CBHAM como para CBHAP, todos apresentaram aumento significativo do crescimento bacteriano em função do tempo de estocagem ($P < 0,05$), como se pode observar na Tabela 12.

Abreu et al. (2008), com o objetivo de avaliar o efeito da radiação gama, nas dosagens de 3, 5 e 7kGy sobre a CBHAP de amostras de peixe-sapo no período inicial e em diferentes tempos de estocagem também encontraram alta contagem desse grupo de microrganismos na amostra controle (não irradiada). Para o dia zero estes autores encontraram 6,88 log UFC/g, sendo que o limite estabelecido de 10^7

foi ultrapassado no 2º dia de estocagem, com valor superior ao encontrado nesse estudo de 10,11 log UFC/g.

Baseados nos resultados obtidos, os autores sugeriram a dosagem de radiação gama de 5kGy como a mais eficiente na manutenção da qualidade bacteriológica de filé de peixe-sapo refrigerado. Esta informação reveste-se de grande importância para as indústrias pesqueiras, tendo em vista que tal processo reduziu significativamente a carga inicial e manteve o produto dentro dos padrões bacteriológicos, levando ao aumento da vida útil até o 18º dia de estocagem.

Tabela 12 – Modelos de equação de regressão, coeficientes de determinação (R^2) e níveis de probabilidade (Prob) referentes às Contagens de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) e Psicotróficas (CBHAP) em função do tempo de estocagem em gelo de amostras de peixe-sapo (*L. gastrophysus*).

| Amostras | Modelo de regressão | R^2 | Prob> F |
|----------------|---------------------|-------|---------|
| CBHAM 1 | Y=3,98+0,38.X | 0,80 | 0,0012 |
| CBHAM 2 | Y=4,10+0,38.X | 0,74 | 0,0029 |
| CBHAM 3 | Y=3,08+0,48.X | 0,99 | 0,0001 |
| CBHAP 1 | Y=4,56+0,68.X | 0,89 | 0,0001 |
| CBHAP 2 | Y=6,26+0,42.X | 0,71 | 0,0041 |
| CBHAP 3 | Y=5,30+0,52.X | 0,84 | 0,0005 |

Resultados diferentes foram encontrados para CBHAP por Rey et al. (2011) que, avaliando a influência de ácidos orgânicos adicionados ao gelo na redução de microrganismos mesófilos e psicotróficos em espécie europeia da família Lophius (*Lophius psicatorius*), encontraram na amostra controle valores bem menores que os obtidos nesse estudo, variando de 3 log UFC/g no dia 1 a valores menores que 7 log UFC/g no 12º dia de estocagem. Para CBHAM os valores mantiveram-se nesse mesmo intervalo, apresentando-se semelhantes aos obtidos para *Lophius gastrophysus*. Nesse estudo, não foi citada a forma de captura do *Lophius psicatorius*. Os autores concluíram que contagens significativamente mais baixas ($P < 0.05$) foram obtidas para microrganismos mesófilos e psicotróficos utilizando-se o gelo com uma mistura de ácidos orgânicos de 800mg/kg.

6 CONCLUSÕES

A carne da espécie marinha peixe-sapo obteve boa aceitação e elevado índice de aprovação quanto à intenção de compra mesmo após quatro dias de estocagem em gelo, mostrando grande potencial para ser comercializada no mercado interno, apesar de ainda desconhecida do consumidor brasileiro.

O protocolo de análise sensorial MIQ desenvolvido estabeleceu um IQ variando de 0 (máximo frescor) a 28 (limite de aceitabilidade) pontos de demérito, para descrição do peixe-sapo eviscerado e estocado em gelo.

Os resultados das análises físico-químicas e bacteriológicas mostraram um aumento significativo em função do período de estocagem e alcançaram o limite de aceitabilidade após o 4^o dia de estocagem para os parâmetros TMA, pH e CBHAP. As pesquisas de aminas biogênicas, amônia e gás sulfídrico não se mostraram eficientes para avaliar o frescor do peixe-sapo quando realizadas isoladamente.

O prazo comercial estabelecido é um dado importante a ser considerado pelos órgãos de fiscalização, pois alerta a respeito da necessidade de maior controle sobre a pesca da espécie em questão, bem como pelas indústrias pesqueiras, as quais obtêm o produto nas mesmas condições do estudo. Entretanto, outras pesquisas devem ser realizadas a fim de se conhecer a validade comercial dessa espécie, utilizando-se forma de captura menos agressiva e reduzindo-se o tempo de espera no barco.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABABOUC, L. H.; SOUIBRI, L.; RHALIBY, K.; OUAHDI, O.; BATTAL, M.; BUSTA, F. F. Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. *Food Microbiology*, v. 13, p. 123-132, 1996.

ABREU, M. G.; FREITAS, M. Q.; JESUS, E. F. O.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FRANCO, R. M.; BORGES, A. Caracterização sensorial e análise bacteriológica do peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) refrigerado e irradiado. *Revista Ciência Rural*, v.38, n.2, p. 498-503, mar/apr. 2008.

ALMEIDA FILHO, E. S.; SIGARINI, C. O.; DELMONDES, E. C.; STELATTO, E.; ARAUJO Jr, A. Características microbiológicas do pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feiras-livres no município de Cuiabá-MT. *Higiene Alimentar*. v.16, n.99, p.84-88, 2002.

ANCIN-AZPILICUETA, M.; GONZALEZ-MARCO, A.; JIMENEZ-MORENO, N. Current knowledge about the presence of amine in wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, n. 48, p. 257-275, 2008.

BAIXAS-NOGUERAS, S.; BOVER-CID, S.; VIDAL-CAROU, M.C. et al. Trimethylamine and total volatile basic nitrogen determination by flow injection/gas diffusion in mediterranean hake (*Merluccius merluccius*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.49, p.1681-1686, 2001.

BAIXAS-NOGUERAS, S.; BOVER-CID, S.; VECIANA-NOGUÉS, M.T.; IDALCAROU, M.C. Chemical and sensory changes in Mediterranean hake (*Merluccius merluccius*) under refrigeration (6-8°C) and stored ice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 50, p. 6504-6510, 2002.

BAIXAS-NOGUERAS, S.; BOVER-CID, S.; VECIANA-NOGUÉS, T.; NUNES, M. L.; VIDAL-CAROU, M. C. Development of a Quality Index Method to Evaluate Freshness in Mediterranean Hake (*Merluccius merluccius*). *Journal of Food Science*, v.68, n. 3, p. 1067–1071, 2003.

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

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

BARTELS, H. *Inspeccion veterinaria de la carne*. Zaragoza : Acriba, 1971. 481p.

BARUFFALDI, R. J.; OLIVEIRA, M. N de. *Fundamentos de tecnologia de alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1998. p. 63-82.

BERAQUET, N.J.; LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas “*post mortem*” em pescado. *Boletim do ITAL*, Campinas, v. 22, p. 169-192, 1985.

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

BORGES, A.; TEIXEIRA, M. S.; FREITAS, M. Q.; FRANCO, R. M.; MÁRSICO, E. T.; SÃO CLEMENTE, S. C de. Qualidade da *corvina* (*Micropogonias furnieri*) eviscerada em diferentes períodos de estocagem à 0°C. *Ciência Rural*, v.37, n.1, p.259-264, jan-fev, 2007.

BOTELHO, M. L. L. A; ÁVILA-DA-SILVA, A. O.; BASTOS, G.C. C. A evolução da pesca paulista de *Lophius gastrophysus* (Miranda-ribeiro, 1915) na margem continental da costa brasileira entre 22° e 28°s. *Boletim Instituto da Pesca*, São Paulo, v.35, n.3, p.413 – 427, 2009.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). Métodos analíticos oficiais para o controle de Produtos de Origem Animal e seus ingredientes. II - Métodos físicos e químicos. LANARA, Brasília, DF, p.123, 1981.

_____. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Decreto n.30.691 de 29 de Março de 1952, alterado pelo decreto n.1255 de 25 de Junho de 1962, n.1.236 de 02 de setembro de 1994, n.1.812 de 08 de fevereiro de 1996, n. 2.244 de 04 de junho de 1997 e n. 6.385 de 27 de fevereiro de 2008. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - R.I.I.S.P.O.A. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 1952.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº185, 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, p.6, 1997.

_____. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF. 2001.

_____. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa, nº 23, de 4 de Julho de 2005. Dispõe sobre critérios e procedimentos para o ordenamento da pesca do peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) nas águas jurisdicionais brasileiras das regiões Sudeste-Sul, entre o paralelo 21°00' S e limite Sul da Zona Econômica exclusiva brasileira (ZEE) e dá outras providências. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, Seção 1, p. 128. 2005.

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

BRINKER, C.; KERR, M.; RAYNER, C. Investigation of biogenic amines in fish and fish products. *Victorian Government Department of Human Services*. Edition 1. p.17, 2002.

CARUSO, J.H.; PIETSCH, T.W.; KENALEY, C.P. *Lophiidae. Goosefishes, monkfishes*. 2005. Disponível em: <http://tolweb.org/Lophiidae/21990>. Acesso em: 18 jul. 2010.

CASTRO, R. R. T. de; MÁRSICO, E. T.; SÃO CLEMENTE, S.C. de. Teores de histamina em conservas de Atum importado e comercializado no mercado varejista. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária do Rio de Janeiro*, v. 25, n. 4, p. 170-173, 2003.

CE (Conformite Europeene). Directiva de 22 de Julio de 1991 por la que se fijan las normas aplicables a la producción y puesta en el Mercado de los productos pesqueros (91/439/EEC). *Diario Oficial de la Comunidades Europeas*, v. 286, p. 15-34, 1991.

CHAGAS, V.R.S.; GASPAR, A.; RAMOS, G.D.M.; SANTOS, R.R.; PAULA, L.C.de. Qualidade Física e Química de Sardinhas em Pré e Pós Processamento. *Revista de Ciências da Vida*. Seropédica v. 30, n. 2, p. 25-36, 2010.

CHEBET, L. "Rapid" (alternative) methods for evaluation of fish freshness and quality. Akureyri, 2010. 66 f. Thesis (Masters of Science in Natural Resource Science - Fisheries Science). University of Akureyri, Akureyri, 2010.

CINQUINA, A.L.; CALI, A.; LONGO, F.; DE SANTIS, L.; SEVERONI, A.; ABBALE, F. Determination of biogenic amines in fish tissues by ion-exchange chromatography with conductivity detection. *Journal of Chromatography A*, v. 1032, p. 73-77, 2004

CONNELL, J. J. *Control of fish quality*. Fishing News Books. Oxford,U.K., 1995.

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

COUSIN, M. A.; JAY, J. M.; VASAVADA, P. C. Psychrotrophic microorganisms. In: DOWENS, F. P.; ITO, K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods*. 4^o ed. American Public Health Association (APHA) Washington, cap. 13, p. 159- 164, 2001.

DALGAARD, P. Freshness, quality and safety in seafoods. *Danish Institute for Fisheries Research Technical Manual*, Lyngby, Denmark, p.31, 2000.

EIROA, M. N. U. Aspectos microbiológicos relacionados à conservação e ao consumo de pescado. *Boletim da Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 54 p. 9-37, 1980.

ELIASSEN, K.A.; REISTAD, R.; RISOEN, U.; RONNING, H.F. Dietary polyamines. *Food Chemistry*, v. 78, p. 273-280. 2002.

ESTEVEES. E.; ANÍBAL,J. Quality Index Method (QIM): utilização da Análise Sensorial para determinação da qualidade do pescado. *Anais do 13^o Congresso do Algarve, Racal-Clube*, Lagos, p. 365-373, 2007.

FDA - Food and Drug Administration. Decomposition and histamine – raw frozen tuna and mahi-mahi; canned tuna; and related species; availability of revised compliance policy guide. *Federal Registration*, v. 149, p. 39754-39756, 1995.

FERREIRA, V.; BARBOSA, J.; SILVA, J.; FELICIO, M.; MENA, C.; HOGG, T.; GIBBS, P; TEIXEIRA, P. Characterisation of alheiras, traditional sausages produced in the North of Portugal with respect to their microbiological safety. *Food Control*, v.18, p.436-440, 2007.

FOGEL, W.A.; LEWINSKI, A.; JOCHEM, J. Histamine in food: is there anything to worry about? *Biochemical Society Transactions*, v.35, p.349–352, 2007

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

FRASER, O.P.; SUMAR, S. Compositional changes and spoilage in fish (Parte II) Microbiological induced deterioration. *Nutrition and Food Service*, n. 6, p. 325-329, nov-dez. 1998.

GILBERT, R. J.; HOBBS, G.; MURRAY, C. K.; CRUICKSHANK, J. G.; YOUNG, S. Scombrotoxic fish poisoning: features of the first 50 incidents to be reported in Britain (1976-9). *British Medical Journal*, v. 281, n. 6233, p. 71-72, 1980.

GLÓRIA, M.B.A. Bioactive amines. In: HUI, H.; NOLLET, L.L. *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*. Ed. Marcel Dekker, v.4, p.1-38, 2005.

GLÓRIA, M.B.A.; VIEIRA, S.M. Technological and toxicological significance of bioactive amines in grapes and wines. *Food*, v.1, p. 258-270, 2007.

GONÇALVES, A.C. *Qualidade e valorização em aquacultura: Propriedades sensoriais e período de conservação útil de peixe e bivalves*. 2010. 141f. Tese (Doutoramento em Farmácia). Universidade de Lisboa, 2010.

GORDON, J. D. Deep-water fisheries at the Atlantic frontier. *Continental Shelf Research*, v.21, p.987-1003, 2001.

GRAM, L; DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria problems and solutions. *Current Opinion Biotechnology*, v.13, p.262-266, 2002.

GULARTE, M.A. *Manual de análise sensorial de alimentos*. Pelotas: Edigraf UFPel, 2002. 59 p.

- HALÁSZ, A.; BARÁTH, A.; SIMON-SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, v. 5, p. 42-49, 1994.
- HERNANDES, N. K.; CONEGLIAN, R.C.C.; GODOY, R.L.O.; VITAL, H.C.; FREIRE JUNIOR, M. Testes sensoriais de aceitação da beterraba vermelha (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris* L.), cv. Early Wonder, minimamente processada e irradiada. *Revista de Ciências Tecnologia Alimentos*, Campinas, vol. 27, p. 64-68, ago, 2007.
- HERRERO, A.M.; HUIDOBRO, A.; CARRCHIE, M. Development of Quality INdex Method for frozen hake (*M.capensis* and *M. paradoxus*). *Journal of Food Science*, v.68, n.3, p. 1086-1092, 2003.
- HOWGATE, P. Traditional methods. In: REHBEIN, H.; OEHLENSCHLÄGER, J. *Fishery products: quality, safety and authenticity*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. p.19-41.
- HOWGATE, P. A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 2: Formation of bases, and application in quality assurance. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, v. 9, n.1, p.58-88, 2010.
- HUIDOBRO, A.; PASTOR, A.; TEJADA, M. Quality Index Method developed for raw gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Journal of Food Science*, v.65, n.7, p.1202-1205, 2000.
- HUSS, H. H. Assurance of seafood quality. Food and Agriculture Organization of United Nations, *Fisheries Technical Paper*, n.334, 176p. 1994.
- HUSS, H.H. Quality and quality changes in fresh fish. Food and Agriculture Organization of United Nations, *Fisheries Technical Paper*, n.348, 195p. 1995.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1020p. Disponível em: < http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=com_remository&Itemid=0&func=select&orderby=1 >. Acesso em: 11 jun. 2010.
- ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods.2. *Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*. 2 Ed. Blackwell Scientific Publications, 1986.
- JAY, J.M. Microbiologia de Alimentos. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 579p.

LATORRE-MORATALLA, M.L.; BOVER-CID, S.; TALON, M.; GARRIGA, M.; ZANARDI, E.; IANIERI, A.; FRAQUEZA, M.J.; ELIAS, M.; DROSINOS, E.; VIDAL-CAROU, M. C. Strategies to reduce biogenic amine accumulation in traditional sausage manufacturing. *Food Science and Technology*, v.43, p.20-25, 2010.

LAURENSEN, C.H.; HUDSON, I. R.; JONES, D.O.B.; PRIEDE, I.G. Deep water observations of anglerfish (*Lophius piscatorius* L.) in the north-eastern Atlantic Ocean by means of remotely operated vehicle. *Journal Fish Biology*, v.65, p.947-960, 2004.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Gaithersburg: Aspen Publishers, 1999. 827p.

LESLIE, R.W.; GRANT, W.S. Lack of congruence between genetic and morphological stock structure of the southern African anglerfish *Lophius vomerinus*. *African Journal of Marine Science*, v.9, p.379-398, 1990.

LIMA, A.S.; GLÓRIA, M.B.A. Aminas bioativas em alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 33, p. 70-79. 1999.

LOPES, F.R.A. *Reprodução, idade de crescimento do peixe-sapo (Lophius gastrophysus) (Ribeiro, 1915) na região sudeste e sul do Brasil*. Itajaí, 2005. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental). Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2005.

LORET, S.; DELOYER, P.; DANDRIFOSSE, G. Levels of biogenic amines as a measure of the quality of the beer fermentation process: data from Belgian samples. *Food Chemistry*, v. 89, n. 4, p. 519-525, 2005.

LYHS, U. Microbiological methods. In: REHBEIN, H.; OEHLenschLÄGER, J. *Fishery products: quality, safety and authenticity*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. p. 318-348.

MAARTENS, L.; BOOTH, A.J. Aspects of the reproductive biology of monkfish *Lophius vomerinus* off Namibia. *African Journal of Marine Science*. v.27, p.01-06, 2004.

MARINO, M.; MAIFRENI, M.; MORET, S.; RONDININI, G. The capacity of enterobacteriaceae species to produce biogenic amines in cheese. *Letters of Applied Microbiology*, v. 31, p. 169-173, 2000.

MARTINSDÓTTIR, E. Quality management of stored fish. In: BREMNER, A. *Safety and quality issues in fish processing*. Ed. Woodhead Publishing Ltd. 2002. p. 360-378.

MARTINSDÓTTIR, E.; SCHELVIS, R.; HYLDIG, G.; SVEINSDÓTTIR, K. *Sensory evaluation of seafood: general principles and guidelines*. In: REHBEIN, H.; OEHLENSCHLÄGER, J. *Fishery products: quality, safety and authenticity*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. p. 411-424.

MARTINSDÓTTIR, E.; SVEINSDÓTTIR, K.; LUTEN, J.B.; SCHELVIS-SMIT, R.; HYLDIG, G. *Reference manual for the fish sector. Sensory evaluation of fish freshness*. The Netherlands: QIM Eurofish, 2001.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. *Sensory evaluation techniques*. 3 ed. New York: CRC, 1999. 281 p.

MENDES, R. Biogenic amines. In: REHBEIN, H.; OEHLENSCHLÄGER, J. *Fishery products: quality, safety and authenticity*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. p. 41-67.

MORTON, R. D. *Aerobic Plate Count*. In: APHA. American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4 Ed. Washington – DC: APHA, Cap. 7, p. 63-67, 2001.

MOUCHREK-FILHO, V.E.; NASCIMENTO, A.R.; MOUCHREK-FILHO, J.E.; SANTOS, A.A.dos; MARINHO, S.C.; MARTINS, A.G.L. de A.; GARCIA JÚNIOR, A.V.; CHAAR, J.S. Avaliação da qualidade microbiológica e bromatológica do Pirarucu (*Arapaima gigas*) salgado-seco, comercializado nas Feiras-Livres da Cidade de Manaus-AM. *Higiene Alimentar*, v.17, p.66-72, 2003.

NETO, J.D. Pesca no Brasil e seus aspectos institucionais - um registro para o futuro. *Revista CEPSUL - Biodiversidade e Conservação Marinha*, v.1, n.1, p. 66-80, 2010.

NIELSEN, J. Sensory analysis of fish. In: The final meeting of the concerted action – evaluation of fish freshness, 1997, Nantes. *Anais...* Nantes, 1997. p.279-286.

NIELSEN, D. GREEN, D. Developing a Quality Index grading tool for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *Morone chrysops*) based on the Quality Index Method. *International Journal of Food Science and Technology*, v.42, n.1, p.86-94, 2007.

NUNES, M.L.; BATISTA, I.; CARDOSO, C. Aplicação do Índice de Qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. *Publicações Avulsas do IPIMAR*, n.15, 51p. 2007.

NUNES, S.B. *Estabelecimento de um plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para peixe-sapo (Lophius piscatorius) eviscerado e congelado*. Florianópolis, 2002. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2002.

NYCHAS, G.E.; DROSINOS, E.H. Detection of Fish Spoilage. In: NOLLET, L.M.L.; TOLDRÁ, F. *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, 2010. p.537-555.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. *Manual de pesca*. São Paulo: Ed. Varela., 1999. 430p.

OHARA, C. Pesca de arrasto ameaça espécies no Litoral do Paraná. *Gazeta do Povo*, Curitiba, 24 set. 2007. Disponível em: <http://www.gazetadopovo.com.br/parana/conteudo.phtml?id=698872>. Acesso em: nov. 2011.

OLAFSDÓTTIR, G.; MARTINSDÓTTIR, E.; OEHLENSCHLAGER, P.; DALGAARD, P.; JENSEN, B.; UNDELAND, I.; MACKIE, I.M.; HENEHAN, G.; NIELSEN, J.; NIELSEN, H. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology*, v.8, p.258-265, 1997.

OLAFSDÓTTIR, G.; NESVADBA, P.; DI NATALE, C.; CARECHE, M.; OEHLENSCHLÄGER, J.; TRYGGVADÓTTIR, S.V.; SCHBRING, R.; KROEGER, M.; HEIA, K.; ESAIASSEN, M.; MACAGNMO, A.; JORGENSEN, B. Multisensor for fish quality determination. *Trends in Food Science and Technology*, v.15, p. 86-93, 2004.

OLAFSDÓTTIR, G.; NESVADBA, P.; DI NATALE, C.; CARECHE, M.; OEHLENSCHLÄGER, J.; TRYGGVADÓTTIR, S.V.; SCHUBRING, R.; KROEGER, M.; HEIA, K.; ESAIASSEN, M.; MACAGNANO, A.; JØRGENSEN, B.M. Multisensor for fish quality determination. *Trends in Food Science and Technology*, v.15, p. 86-93, 2005.

OLIVEIRA, V.M. de; FREITAS, M. Q.; CLEMENTE, S.C. de S. ; MÁRSICO, E.T. Método do Índice de Qualidade (MIQ) desenvolvido para camarão (*Litopenaeus vannamei*) cultivado. *Revista Universidade Rural*. Série Ciências da Vida, v. 29, p. 60-71, 2009.

ÖZOGUL, Y. Methods for Freshness Quality and Deterioration In: NOLLET, L.M.L.; TOLDRÁ, F. *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, 2010. p.189-214.

ÖZOGUL, Y.; ÖZOGUL, F.; KULEY, E.; SERHAT ÖZKUTUK, A.; GÖKBULUT, C.; KÖSE, S. Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the Black Sea, during chilled storage. *Food Chemistry*, v.99, p.752-758, 2006.

PARKIN, K. L.; HULTING, H. O. Some facts influencing the production of dimethylamine and formaldehyde in minced and intact red hake muscle. *Journal of Food Processing and Preservation*, v. 6, p. 73-97, 1982.

PEREZ, J.A.A.; PEZZUTO, P.R.; VALE, W.G.; RIBAS, T.M.; SOARES, G.S. Padrões espaciais e temporais de pesca da frota camaroneira industrial de Santa Catarina: implicações na exploração da fauna acompanhante e no ordenamento. *Notas Técnicas FACIMAR*, v.5, p. 35-58, 2001.

PEREZ, J.A.A.; WAHRLICH, R.; PEZZUTO, P.R.; LOPES, F.R.A. Estrutura e dinâmica da pescaria do peixe-sapo *Lophius gastrophysus* no sudeste e sul do Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*. v.28, n.2, p. 205-230, 2002a.

PEREZ, J. A. A.; PEZZUTO, P.R.; ANDRADE, H.A.; SCHWINGEL, P.R.; RODRIGUES-RIBEIRO; M., WAHRLICH R. O ordenamento de uma nova pescaria direcionada ao peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) no Sudeste e Sul do Brasil. *Notas Técnicas da FACIMAR*, v.6, p.65-83, 2002b.

PEREZ, J.A.A.; WAHRLICH, R.; PEZZUTO, P.R.; SCHWINGEL, P.R.; LOPES, F.R.A.; RODRIGUES-RIBEIRO, M. Deep-sea fishery off southern Brazil: recent trends of the Brazilian fishing industry. *Journal Northwest Atlantic Fisheries Science*, v.31, p.1-18, 2003.

PEREZ, J.A.A.; WAHRLICH, R. A bycatch assessment of the gillnet monkfish *Lophius gastrophysus* fishery off southern Brazil. *Fishery Research*. v. 72, p. 81-95, 2004.

PIVARNIK, L.; ELLIS, P.; WANG, X.; REILLY, T. Standardization of the Ammonia Electrode Method for evaluating seafood quality by correlation to sensory analysis. *Journal of Food Science*. v. 66, n. 7. p. 945-952, 2006.

PONS-SÁNCHEZ-CASCADO, S.; VIDAL-CAROU, M. C.; MARINÉ-FONT, A. et al. Influence of the freshness grade of raw fish on the formation of volatile and biogenic amines during the manufacture and storage of vinegar-marinated anchovies. *Journal of Agriculture Food Chemistry.*, v.53, p.8586-8592, 2005.

PORTELA, C.D.G. *Tecnologia pós-despesca dos camarões de água doce Macrobrachium rosenbergii e Macrobrachium amazonicum*. Jaboticabal, 2009. 72f. Tese (Doutorado em Aquicultura). Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2009.

RAMELLA, M.S.; KROTH, M.A.; TAGLIARI, C.; ARISI, A.N.M. Optimization of random amplified polymorph DNA protocol for molecular identification of *Lophius gastrophysus*. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 25, n. 4, p. 733-735, 2005.

REY, M. S.; GARCIA-SOTO, B; FUERTES-GAMUNDI, J.R.; AUBOURG, S.; BARROS-VELÁZQUEZ, J. Effect of a natural organic acid-icing system on the microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *LWT - Food Science and Technology* , p. 1-7, out. 2011.

RICHARDSON, J. Monkfish: Hard to look at, yes, but worth watching Scientists move to protect the valuable species. *Maine Sunday Telegram*, Portland, 26 fev. 2010. Disponível em: http://www.pressherald.com/archive/monkfish_2010-02-05.html. Acesso em: 23 nov. 2011.

RODRIGUES, T.P. *Estudo de critérios para avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) cultivada; eviscerada e estocada em gelo*. Niterói, 2008. 116f. Dissertação (Mestrado em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2008.

RODRÍGUEZ, O.; LOSADA, V.; AUBOURG, S.P.; BARROS-VELÁZQUEZ, J. Enhanced shelf -life of chilled European hake (*Merluccius merluccius*) stored in slurry ice as determined by sensory analysis and assessment of microbiological activity. *Food Research International*, v. 37, p. 749-757, 2004.

RUIVO, E.U. A análise sensorial na avaliação da qualidade do pescado. SEMINÁRIO SOBRE CONTROLE DE QUALIDADE DO PESCADO. Santos, 1988. *Anais...* Santos: Editora Leopoldina/Edições Loyola, 1988. p.69-80.

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

SANT'ANA, L. S. ; SOARES, S. M. ; VAZ-PIRES, P. . Development of a Quality index Method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie / Food Science Technology*, v. 44, p. 2253-2259, 2011.

SANTOS, C.A.M.L. *A qualidade do pescado e a segurança dos alimentos*. II SIMCOPE - SIMPÓSIO DE CONTROLE DO PESCADO. São Vicente, 2006. *Anais...* São Vicente, 2006. Disponível em: ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/qualidade_pescado.pdf. Acesso em: nov. 2011.

SANTOS, E. *Nossos peixes marinhos: vida e costume dos peixes do Brasil*. Belo Horizonte – Rio de Janeiro: Villa Rica Editoras Reunidas Limitadas, 1992. 265p.

SANTOS, T. M.; MARTINS, R. T.; SANTOS, W.L.M; MARTINS, N. E Inspeção visual e avaliações bacteriológica e físico-química da carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*) congelada. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.6, Belo Horizonte, 2008.

SÃO CLEMENTE, S. C. et al. Cestóides Trypanorhyncha parasitos de peixe sapo-pescador, *Lophius gastrophysus* Miranda Ribeiro, 1915 comercializados no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 1, p. 37-42, 2007.

SCHUTZ, D. E.; CHANG, G. W.; BJELDANES, L. F. Rapid thin layer chromatographic method for the detection of histamine in fish products. *Journal of the AOAC*. v. 59, n.6, p. 1224-1225, 1976.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, v. 29, p. 675-690, 1996.

SILVA, S. da C. *Validade comercial de sardinhas inteiras e refrigeradas avaliadas por análises físico-químicas, bacteriológicas e sensorial*. Niterói, 2010. 108f. Dissertação (Mestrado em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2010.

SILVA JUNIOR, E. A. da. *Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos*. 4ª edição Revisada e Ampliada. São Paulo: Editora Varela. 2001.

STONE, H.; BLEIBAUM, R. N.; THOMAS H. A. *Sensory Evaluation Practices*. 4 Ed. Food Science and Technology, International Series. San Diego, CA: Elsevier, 2012. 438p.

STONE, H. S.; SIDEL J. L. *Sensory Evaluation Practices*. 2 Ed. San Diego, CA: Academic Press, 1993. 337p.

SVEINSDÓTTIR, K.; MARTINSDÓTTIR, G; HYLDIG, B. et al. Application of quality index method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, v.67, n.4, p.1570-1579, 2002.

SVEINSDÓTTIR, K.; HYLDIG, G.; MARTINSDÓTTIR, E.; JORGENSEN, B.; KRISTBERGSSON, K. Quality Index Method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Food Quality Preference*, v.14, p.237-245, 2003.

SYKES, A.V.; OLIVEIRA, A.R.; DOMINGUES, P.M.; CARDOSO, C.M.; ANDRADE, J.P.; NUNES, M.L. Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods. *Food Science and Technology*, v.42, p.424-432, 2009.

TAHA, P. Microbiologia e deterioração do pescado exercido pela WEG – Penha Pescados S.A. In: SEMINÁRIO SOBRE CONTROLE DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE PESCADO, Santos1988. *Anais...* Santos: Leopoldianum, 1988. p. 210-216.

TAVARES, M.; AUED. S.; BACETTI, L.B.; ZAMBONI, C.Q. Métodos sensoriais, físicos e químicos para análise de pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U.E. *Controle de Qualidade do Pescado*. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 117-133.

TAYLOR, S. L. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. *Critical Reviews in Toxicology*, v. 17, p. 91-128, 1986.

TEIXEIRA, M. S.; BORGES, A.; FRANCO, R. M.; MÁRSICO, E. T.; SÃO CLEMENTE, S. C de; FREITAS, M. Q.; Método de Índice de Qualidade (MIQ): desenvolvimento de um protocolo sensorial para *corvina* (*Micropogonias furnieri*). *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v.16, n.2, p.83-88, 2009.

VALENTIM, M. F. M.; CARAMASCHI, E. P.; VIANNA, M. Biologia e ecologia de peixes do gênero *Lophius* (lophiidae, lophiiformes), com ênfase em *Lophius gastrophysus*. *Oecologia Brasiliensis*. v.11, n. 4, p. 503-520, 2007.

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

VIANNA, M.; ALMEIDA, T. Bony fish bycatch in the southern Brazil pink shrimp (*Farfantepenaeus brasiliensis* and *F. paulensis*) fishery. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.48, n.4, p.611-623, 2005.

VICENTE, C. P. Avaliação da qualidade do pescado fresco comercializado no comércio varejista no município de São Gonçalo – RJ. Niterói, 2005. 66 f. Dissertação (Mestrado em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal). Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2005.

WAHRLICH, R.; PEREZ, J.A.A.; LOPES, F.R.A. Aspectos tecnológicos da pesca do peixe-sapo (*Lophius gastrophysus*) com rede de emalhar no sudeste e sul do Brasil. *Boletins do Instituto de Pesca*, n.30, p. 87-98. 2004.

WARM, K.; BOKNAES, N.; NIELSEN, J. Development of Quality Index Method for evaluation of frozen cod (*Gadus morhua*) and Cod Fillets. *Journal of Aquatic Food and Products Technology*, v.7, p. 45-59, 1998.

YAMAGATA, M.; HORIMOTO, K.; NAGAOKA, C. Assessment of green tuna: determining Trimethylamine Oxide and its distribution in tuna muscles. *Journal of Food Science*, v. 34, p. 156-159, 1969.

YONEDA, M.; TOKIMURA, M.; FUJITA, H.; TAKESHITA, N. Age and growth of anglerfish *Lophius litulon* in the East China Sea and Yellow Sea. *Fisheries Science*, n.63, p. 887-892, 1997.

YOSHINAGA, D.H., FRANK, H. Histamine-producing bacteria in decomposing skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). *Applied and Environmental Microbiology*, v.44, p.447-452, 1982.