



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS PALMAS-TO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

REGINA GONÇALVES BARBOSA

**INFLUÊNCIA DE SISTEMAS DE CULTIVO SOBRE
PARÂMETROS DE QUALIDADE DO TAMBAQUI
(*COLOSSOMA MACROPOMUM*)**

Palmas - TO

2020

REGINA GONÇALVES BARBOSA

**INFLUÊNCIA DE SISTEMAS DE CULTIVO SOBRE
PARÂMETROS DE QUALIDADE DO TAMBAQUI
(*COLOSSOMA MACROPOMUM*)**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins – UFT campus Palmas, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Linha de Pesquisa: Controle de qualidade e segurança alimentar

Orientadora: Claudia C. Auler do A. Santos

Palmas - TO

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

B238i Barbosa, Regina Gonçalves Barbosa.
Influência de sistemas de cultivo sobre parâmetros de qualidade do
Tambaqui (*Colossoma macropomum*). / Regina Gonçalves Barbosa Barbosa. –
Palmas, TO, 2020.
73 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em
Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2020.

Orientadora : Claudia C. Auler do A. Santos Santos

1. Tambaqui. 2. Qualidade. 3. Colorimetria. 4. Tipos de cultivo. I. Título

CDD 664

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DE ALIMENTOS

REGINA GONÇALVES BARBOSA

**INFLUÊNCIA DE SISTEMAS DE CULTIVO SOBRE
PARÂMETROS DE QUALIDADE DO TAMBAQUI
(*COLOSSOMA MACROPOMUM*)**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 28 de dezembro de 2020
pela Banca Examinadora constituída pelos membros:



Dr. Leandro Kanamaru Freitas de Lima
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa



Prof. Dr. Caroline Roberta Freitas Pires
Universidade Federal do Tocantins - UFT



Prof. Dr. Claudia Cristina Auler do Amaral Santos
Orientadora – Universidade Federal do Tocantins - UFT

AGRADECIMENTOS

A Deus, que deixou toda a sua glória e veio ao mundo como homem para nos salvar e nos mostrar o verdadeiro sentido de amar e viver.

À minha mãe, pelo amor, companheirismo, paciência, dedicação, cuidado e cumplicidade.

À minha filha Yasmin, essa criatura que me emprestaram para um curso intensivo de como amar alguém além de nós mesmo e pela companheira compreensiva que tem sido em todo tempo.

Ao meu pai (exemplo de otimismo e persistência) e irmãs, pelo incentivo e amor que sempre demonstram e me fazem acreditar que valores familiares, união, amizade e companheirismo valem a pena sempre.

Aos meus sobrinhos, por sempre tornarem nossa casa mais alegre e pelo carinho que têm comigo.

Um agradecimento muito especial aos professores e funcionária do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins.

À minha orientadora, Prof^ª. Dra. Cláudia Auler, pelo incentivo, “cobranças”, pelos ensinamentos e pela profissional que é.

Ao Msc. Flávio Silva (Laboratório de Tecnologia e Processamento de Frutas) e Fabriele, pelas orientações, apoio e motivação.

Aos colegas Rose, Fellyphe e Katrinne, pelo auxílio, de grande valor para terminar este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia de alimentos (LMA) pelo companheirismo, amizade, momentos de descontração e auxílio.

Aos amigos da Agência de Defesa Agropecuária (ADAPEC), pelo apoio e amizade, em especial ao Adílson, Elias, João Eduardo, Marne e Raydleno.

À Universidade Federal do Tocantins (UFT), instituição que tenho a oportunidade de crescer na formação acadêmica e em conhecimento, essa que sempre me deu oportunidades, desde a graduação.

Aos gestores da Agência de Defesa Agropecuária do estado do Tocantins (ADAPEC/TO) e ao meu coordenador, Sérgio Armando, pela compreensão e apoio no período que me liberavam para as atividades do mestrado.

A todos aqueles que contribuíram para a realização desse trabalho. Mais especificamente ao professor Leonardo Atta, pela ajuda no tratamento dos dados da pesquisa; Douglas pelo apoio na realização das análises físico-químicas (LANA); Alana, auxílio na realização das avaliações colorimétricas; Patrícia Chicrala (Embrapa), pelo apoio, incentivo e sugestões; Aos participantes das bancas; Eduardo pelo fornecimento de alguns materiais utilizados durante o experimento (Laboratório de Tecnologia de Carnes); Matheus e equipe do Laboratório de Biologia molecular do curso de medicina humana, pelo fornecimento de gelo para conservação do pescado e aos piscicultores que permitiram a utilização dos peixes no experimento.

A todos, minha sincera gratidão.

“O aspecto mais triste da vida de hoje é que a ciência ganha em conhecimento mais rapidamente que a sociedade em sabedoria”.

Isaac Asimov

RESUMO

A grande disponibilidade hídrica, temperaturas elevadas e luminosidade durante o ano todo favorecem o desenvolvimento dos peixes no estado do Tocantins. Neste estudo objetivou-se avaliar e correlacionar as alterações físico-químicas e microbiológicas de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) inteiro, com o período de armazenamento em gelo (20 dias); cultivados em tanques-rede e viveiros escavados. Ademais, avaliou-se a variação da cor dos olhos durante o período de armazenamento por colorimetria, buscando-se identificar um padrão de cor que esteja relacionado ao frescor do pescado. Foi identificada a presença de estafilococos coagulase positivo na musculatura e no swab de pele, em ambos os tipos de cultivos, em quantidades superiores às permitidas pelas normas sanitárias (padrão para musculatura). Foram detectadas *Salmonella spp.* e coliformes a 45°C ($>1,1 \times 10^3$ NMP/g) em amostras de musculatura, água e swab da pele, oriundas de tanque-rede e escavado. Não foram identificadas colônias típicas de *Escherichia coli* na musculatura de nenhum exemplar analisado, estando presentes na água e no swab de muco da pele (tanque-rede e escavado). A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas não revelou correlação de deterioração com o tempo de armazenamento, já as psicrotróficas demonstraram crescimento bacteriano maior à medida que o tempo aumentou. Os valores médios de pH variaram de 6,80 a 7,54, para tanque-rede e para tanque escavado, ficou entre 6,15 e 6,78 e os de umidade variaram de 76,83% a 80,59%, nos dois tipos de cultivo. Não houve alterações significativas quanto aos valores de proteínas, lipídeos, apresentando um decréscimo de minerais no decorrer do tempo de armazenamento. Nas condições do presente experimento o colorímetro apresentou resultados satisfatórios que poderão subsidiar a sua utilização como um importante instrumento na avaliação de olhos para avaliação do frescor do pescado.

Palavras-chave: tambaqui, qualidade, colorimetria, tipos de cultivo

ABSTRACT

The great water availability, high temperatures and light throughout the year favor the development of fish in the state of Tocantins. This study aimed to evaluate and correlate the physical-chemical and microbiological changes of whole Tambaqui (*Colossoma macropomum*), with the storage period on ice (20 days); grown in net tanks and excavated tanks. In addition, a variation in eye color during the storage period was evaluated by colorimetry, seeking to identify a color pattern that is related to the freshness of the fish. The presence of coagulase positive Staphylococci was identified in the musculature and in the skin swab, in both types of cultures, in quantities greater than those permitted by sanitary norms (standard for musculature). *Salmonella* and coliforms were detected at 45°C ($> 1,1 \times 10^3$ NMP / g) in samples of muscle, water and skin swab, from a net and excavated tank. No typical colonies of *Escherichia coli* were identified in the musculature of any specimen analyzed, supplied in the water and in the skin mucus swab (net and excavated tanks). The total count of aerobic mesophilic bacteria did not show a correlation of deterioration with storage time, whereas psychrotrophic bacteria showed greater bacterial growth as time increased. The average pH values for net-tank ranged from 6.80 to 7.54, and for excavated tank, it was between 6.15 and 6.78, and humidity values ranged from 76.83% to 80.59%, in two types of cultivation. There were no significant changes in the values of proteins, lipids, a decrease in minerals during the storage period. Under the conditions of the present experiment, the colorimeter showed satisfactory results that may subsidize its use as an important tool in the evaluation of eyes to assess the freshness of the fish.

Keywords: round fish, quality, colorimetry, cultivation types

SUMÁRIO

	LISTADE FIGURAS.....	xii
	LISTA DE TABELAS	xiii
	LISTA DE EQUAÇÕES.....	xiv
1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	Tambaqui e sistemas de cultivo na piscicultura.....	17
2.2	Composição e benefícios do consumo de pescado.....	20
2.3	Qualidade do pescado.....	21
2.3.1	Decomposição bacteriana e alterações físico-químicas.....	23
2.3.2	Oxidação lipídica.....	24
2.3.3	Métodos físico-químicos.....	24
2.3.4	Padrões microbiológicos para pescado.....	25
2.3.5	Patógenos encontrados em pescados e principais riscos à saúde humana..	26
2.3.6	Avaliações sensoriais.....	27
2.3.7	Avaliação colorimétrica.....	28
3	OBJETIVOS.....	29
3.1	Objetivo geral.....	29
3.2	Objetivos específicos.....	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1	Aspectos Éticos.....	30
4.2	Delineamento Experimental e Coleta do Material.....	30
4.3	Preparo das Amostras e Análises Microbiológicas.....	31
4.3.1	Colheita de muco através de <i>Swab</i> de superfície.....	31
4.3.2	Abate dos peixes, transporte e armazenamento das amostras.....	32
4.3.3	Preparo e diluição das amostras para análise microbiológica, e físico-química da musculatura.....	33
4.4	Padrões microbiológicos.....	34
4.4.1	Quantificação de coliformes totais, termotolerantes a 45°C/g e confirmação da presença de <i>E. coli</i>	34
4.4.2	Contagem de <i>Estafilococos coagulase positiva</i>/g.....	36
4.4.3	Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos em placas.....	37

4.4.4	Contagem total de microrganismo aeróbios psicrotróficos em placas.....	37
4.4.5	Pesquisa de <i>Salmonella sp</i> /25g.....	37
4.5	Análises Físico-Químicas.....	42
4.5.1	Determinação de Potencial Hidrogeniônico (pH).....	42
4.5.2	Umidade (método gravimétrico)	42
4.5.3	Cinzas (método gravimétrico)	42
4.5.4	Proteína bruta (Método Kjeldahl)	43
4.5.5	Lipídeos ou extrato etéreo (Método gravimétrico)	43
4.6	Análise Colorimétrica.....	44
4.7	Análise Estatística.....	45
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1	Resultados dos Padrões Microbiológicos.....	46
5.2	Resultados das Análises Físico-Químicas.....	53
5.3	Resultados das Análises colorimétricas.....	59
6	CONCLUSÕES	64
7	REFERÊNCIAS	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Peixe redondo da espécie tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	18
Figura 2 -	Viveiros escavados utilizados no sistema semi-intensivo no cultivo de tambaqui.....	18
Figura 3 -	Tanque-rede instalado no lago de Palmas, utilizado no sistema intensivo no cultivo de peixes.	19
Figura 4 -	O papel dos organismos alimentares naturais e alimentos artificiais na nutrição de peixes e camarões em sistemas de cultivo extensivo, semi-intensivo e intensivo em tanque (Diagrama de Tacon)	19
Figura 5 -	Condição de armazenamento do peixe no momento da reposição de gelo realizada a cada 24h.	33
Figura 6 -	Peixe dissecado com realização de coleta de amostras da musculatura para análises microbiológicas e físico-químicas.	33
Figura 7 -	Esquema para análise de coliformes totais, termotolerantes a 45°C/g e confirmação da presença de <i>E. coli</i> . Pelo método APHA do Número Mais Provável (NMP).....	36
Figura 8 -	Provas bioquímicas realizadas para confirmação de <i>Salmonella</i> sp.....	40
Figura 9 -	Testes de VM-VP para <i>Salmonella</i> spp. e <i>E. coli</i>	41
Figura 10 -	Testes de Indol para <i>Salmonella</i> spp. e <i>E. coli</i>	41
Figura 11 -	Medição da área dos olhos com auxílio do Colorímetro Minolta 400 CR	44
Figura 12 -	Avaliação da correlação de parâmetros físico-químicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, para animais cultivados em tanque-rede.....	55
Figura 13 -	Avaliação da correlação de parâmetros físico-químicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, para animais cultivados em tanque escavado.....	56
Figura 14 -	Aspectos dos olhos dos Tambaquis avaliados nos diferentes dias de armazenamento em gelo.....	59
Figura 15 -	Correlação de parâmetros colorimétricos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, para peixes cultivados em tanque-rede e tanque escavado.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Resultados das análises microbiológicas realizadas nas amostras de musculatura nos diferentes dias de armazenamento para os sistemas de cultivo em tanque-rede e tanque escavado.....	46
Tabela 2 -	Resultados das análises microbiológicas realizadas nas amostras de muco do <i>swab</i> de superfície dos peixes para os sistemas de cultivo em tanque-rede e tanque escavado.....	48
Tabela 3 -	Resultados das análises microbiológicas realizadas nas amostras de água dos tanque-rede e tanque escavado onde os peixes foram capturados.....	48
Tabela 4 -	Avaliação da correlação de parâmetros microbiológicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, em relação aos peixes cultivados em tanque-rede e os em tanque escavado.....	52
Tabela 5 -	Parâmetros físico-químicos do Tambaqui armazenado em gelo durante vida de prateleira, para animais cultivados em tanque-rede e tanque escavado.	54
Tabela 6 -	Avaliação da correlação de parâmetros físico-químicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, em relação aos peixes cultivados em tanque-rede e os em tanque escavado.....	58
Tabela 7 -	Resultados das medições de cor realizadas em região dos olhos dos peixes, com auxílio de colorímetro, em diferentes dias de armazenamento e dias de coletas para os sistemas de cultivo em tanque-rede e tanque escavado.....	61
Tabela 8 -	Avaliação da correlação de atributos avaliados através de colorímetro, na região dos olhos de Tambaqui, em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) dos cultivos em tanque-rede e em tanque escavado.....	62

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - Cálculo para a determinação da umidade.....	42
Equação 2 - Cálculo para determinação de cinzas.....	43
Equação 3 - Cálculo para obtenção da porcentagem de lipídeo.....	43
Equação 4 - Cálculo para obtenção da diferença total da cor (ΔE)	45
Equação 5 - Cálculo para obtenção da Cromo (C).....	45

1 INTRODUÇÃO

Devido aos ecossistemas de água doce serem importantes fontes de peixes comestíveis, o Brasil tem grande potencial de se tornar um dos maiores produtores de pescado no mundo, chegando a exportar 63.499 toneladas de pescado e seus derivados em 2019 (BRASIL, 2020). Com o potencial de crescimento da produção de pescado, chegando em 7,5 por cento ao ano, mesmo sendo difícil estimar as perspectivas de crescimento do setor aquícola devido à pandemia de COVID-19, que tem afetado a maioria dos países do mundo com impactos severos na economia global e no setor de produção e distribuição de alimentos, incluindo os de pesca e aquicultura, a produção tem se intensificado. Novas estratégias e investimento em pesquisas na área de alimentos, seleção genética, biossegurança, sanitária e inovação digital devem ser desenvolvidas para garantir o crescimento desse setor, elevando os negócios em investimento e comércio (FAO, 2020).

O estado de Tocantins possui em seu território uma grande disponibilidade hídrica, contando com as bacias dos rios Araguaia - Tocantins e com reservatórios de hidrelétricas, apresentando um excelente potencial para a prática da piscicultura. As temperaturas elevadas e grande luminosidade durante o ano todo também são fatores que favorecem o desenvolvimento dos peixes no estado (FILHO et al., 2014). Com uma vocação natural para o agronegócio e segundo dados do anuário Peixe BR (2020), o estado produziu, em 2019, aproximadamente 13,3 mil toneladas de peixes em sistemas de piscicultura, se destacando na produção de peixes amazônicos, com a espécie tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seus híbridos. Houve um decréscimo no crescimento da produção, onde uma série de fatores influenciaram na queda da produção de pescado no estado, e no pouco crescimento da produção nos anos anteriores, podendo ser atribuído às exigências de licenças ambientais, problemas sanitários e de administração interna em grandes criatórios que vendiam pescado para outros estados, barreiras sanitárias entre outros.

O nível de produtividade e eficiência econômica dos sistemas de criação está diretamente relacionado à nutrição e à alimentação, influenciando no desempenho e na sanidade dos peixes, e conseqüentemente na qualidade nutricional de sua carne, produto principal que será fornecido ao mercado consumidor (MORÓN; ZAMORANO, 2003). De acordo com dados da Federação das Indústrias do Estado do Tocantins – FIETO (2017), os principais sistemas de cultivo utilizados no Tocantins são os de barragem e de viveiros

escavados, responsáveis por cerca de 70% e 25% da produção, respectivamente. Apenas 5% dos peixes são cultivados em tanques-rede, entretanto, este é o sistema com maior perspectiva de crescimento, uma vez que possibilita uma produtividade alta num pequeno espaço de lâmina aquática.

A produção aquícola pode ser vendida diretamente para varejistas ou encaminhada para abatedouros, sendo que na comercialização pode ser identificada a maior informalidade da cadeia (PEDROZA FILHO et al., 2014). A oferta de peixes para os frigoríficos é dificultada devido a mais da metade dos piscicultores do Tocantins não estarem licenciados, uma vez que os produtores não regularizados não podem realizar vendas para a indústria e acabam escoando suas produções para o mercado informal (PEIXE BR, 2019). E mesmo os pequenos e médios produtores licenciados, muitas vezes preferem realizar vendas diretas para os consumidores, onde os peixes são vendidos vivos ou processados de forma artesanal, devido às margens de lucro mais atraentes.

Uma grande variedade de microrganismos aeróbios e anaeróbios é identificada nos peixes, e interage em um complexo ecossistema, podendo ser seu habitat (rio, lago, represas etc.) tendo interferência pelo tempo, outros fatores externos e poluição. A composição e diversidade da microbiota nos peixes são definidas por diversos fatores e refletem principalmente a composição microbiana da água, da dieta fornecida, do estágio de desenvolvimento, do estresse sofrido durante a despesca e do ambiente em que são cultivados (SOTRATI, 2014). Dessa forma, a análise da água é um importante fator a ser realizado para a avaliação da microbiota dos peixes, pois estão em contato direto com uma grande diversidade de microrganismos, cuja composição está em constante mudança.

Os primeiros atributos avaliados no momento da compra do pescado são a cor, a aparência fresca e saudável, sendo decisivos na escolha do produto. Entretanto, há desconhecimento da maioria dos consumidores em determinar as características de frescor dos peixes; existem vários métodos de se inspecionar a qualidade do pescado como o físico-químico, sensoriais e microbiológico, dentre esses, destaca-se os métodos sensoriais, devido à eficiência, praticidade e baixo custo, devendo serem aplicadas metodologias específicas para cada espécie, diminuindo, assim, a subjetividade desta análise (LAWLESS; HEYMANN, 2010).

Métodos que facilitam as avaliações, relacionadas com algumas propriedades dos peixes para avaliação de sua qualidade, como os sentidos artificiais são amplamente aplicados na análise de alimentos para monitoramento de processos e para determinar a

qualidade e autenticidade dos alimentos, como exemplos, temos os analisadores de imagem, narizes artificiais (eltrônicos) e etc., principalmente relacionadas às alterações de cor das principais regiões deteriorantes do pescado como guelras, músculo e olhos com auxílio de colorímetros e sistema de visão computacional têm se mostrado eficientes e vêm sendo cada vez mais estudadas nas várias espécies de peixe, visando prognosticar o frescor dos pescados (GREEN-PETERSEN et al., 2017).

Avaliando o potencial de crescimento na exploração comercial do Tambaqui, o presente estudo foi proposto para avaliar parâmetros físico-químicos e microbiológicos de exemplares dessa espécie advindos da piscicultura e prognosticar o seu tempo de prateleira, armazenado inteiro, em gelo, ao longo de vinte (20) dias. Propõe-se relacionar a qualidade microbiológica e físico-química do pescado com a forma de produção, qualidade da água e o período de armazenamento, além da utilização de equipamentos no auxílio da avaliação de frescor para peixe inteiro resfriado, com o propósito de colaborar com estudos que auxiliem na determinação e no controle de qualidade de pescado amazônico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tambaqui e sistemas de cultivo na piscicultura

O tambaqui, *Colossoma Macropomum* (Cuvier, 1816), peixe nativo das bacias dos rios Amazonas e Orinoco, representa 26% do total de pescado proveniente da piscicultura continental brasileira. Com elevada aceitação no mercado latino-americano, recebe destaque devido principalmente às suas características biológicas e zootécnicas (rusticidade, adaptabilidade ao cativeiro, boa qualidade de carne, alto valor comercial, resistência, fácil treinamento alimentar e boa reprodutividade) (CAMPOS, 2015; MENDONÇA et al., 2009; BRASIL, 2013).

Devido ao formato corporal da espécie, o Tambaqui (Figura 1) faz parte do grupo conhecido como Peixes redondos da Amazônia, juntamente com o Pacu (*Piractus mesopotamicus*), Pirapitinga (*Piractus brachypomus*) e seus híbridos. Mesmo tendo uma alata acitabilidade pelos consumidores, esses peixes apresentam problemas no beneficiamento devido à presença de espinhas intramusculares em forma de “Y”, relacionado ao consumo de peixes com peso inferior a 1,5 Kg; faz-se necessário que as técnicas e equipamentos para corte e filetagem sejam bem difundidas para a retirada da fileira de espinha, o que elevará o prestígio dessas espécies no meio produtivo e comercial (MORO et al., 2013).

Figura 1. Peixe redondo da espécie tambaqui (*Colossoma macropomum*).



Fonte: Autor, 2019.

Com hábito alimentar onívoro, o tambaqui se alimenta de zooplânctons, frutos e sementes, mas aceita facilmente alimentos artificiais em cativeiro (DAIRIKI et al., 2011); podendo ser criados em sistema semi-intensivo (Figura 2) e sistema intensivo (Figura 3).

Figura 2. Viveiros escavados utilizados no sistema semi-intensivo no cultivo de tambaqui.



Fonte: Autor, 2020.

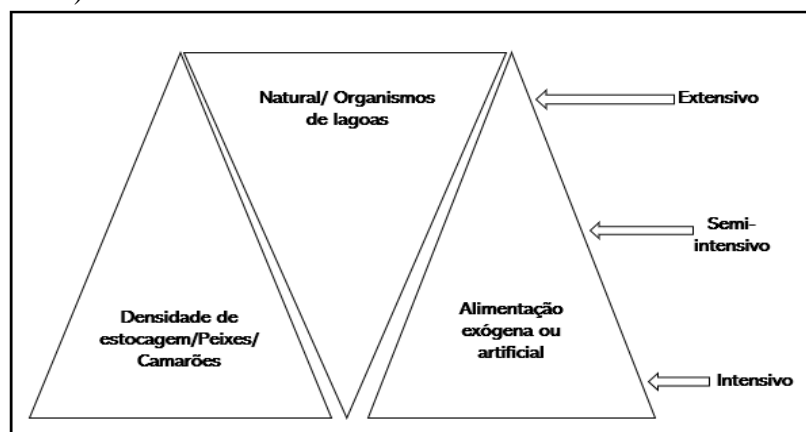
Figura 3. Tanque-rede instalado no lago de Palmas, utilizado no sistema intensivo no cultivo de peixes.



Fonte: Autor, 2019.

Além do uso de alimentos naturais para a produção aquícola, uma dieta externa também pode ser fornecida como uma fonte "suplementar" de nutrientes dietéticos para peixes em cultivo. A importância relativa dos alimentos naturais e alimentos suplementares na nutrição de peixes em sistemas de cultivo extensivo, semi-intensivo e intensivo pode ser visualizada na Figura 4 (TACON, 1987). A combinação da alimentação natural com ração balanceada em cultivos permite o uso de maiores densidades de peixes por metro cúbico, facilita o crescimento mais rápido e, conseqüentemente, resulta em maiores rendimentos e produção.

Figura 4. O papel dos organismos alimentares naturais e alimentos artificiais na nutrição de peixes e camarões em sistemas de cultivo extensivo, semi-intensivo e intensivo em tanque (Diagrama de Tacon).



Fonte: Tacon, 1987.

Assim, como em outras cadeias que envolvem a produção de animais, o modelo extensivo utiliza apenas os alimentos naturais que se apresentam em açudes, represas, lagoas, entre outros, nos quais o controle do fluxo de entrada e saída de água não é feito para fins de criação de peixe. Esse modelo muitas vezes é interpretado como pesca, porém, uma vez que o homem faz intervenções tais como erradicação de espécies daninhas, introdução de novas espécies de peixes, controle da intensidade de pesca, entre outros, ele pode ser caracterizado como piscicultura (GOMES et al., 2006; CREPALDI et al., 2006).

A piscicultura intensiva (tanques-rede, viveiros com uso de aeradores, tanques de alto fluxo, canais de irrigação e canais de igarapés), utiliza rações balanceadas, baixa disponibilidade de alimentos do ambiente natural e no modelo semiextensivo (viveiros escavados, açudes, represas) utiliza, além do alimento natural, alguma suplementação, seja com fertilização das águas ou no oferecimento de alimentos complementares (LIMA, 2013).

Existe grande diversidade de tanques e viveiros de piscicultura, conforme suas finalidades (manutenção de reprodutores, preparo de reprodutores, acasalamento, criação de pós-larvas e de alevinos, engorda etc.). Os tanques apresentam semelhança com os viveiros, porém em sua maioria são construídos e revestidos com alvenaria de tijolos, pedras, ou lonas plásticas especiais. Estruturalmente os viveiros se dividem em dois tipos: viveiro de barragem - Construído no fundo de um vale por onde corre um pequeno curso de água (córrego ou olho d'água), mediante o erguimento de uma pequena barragem ou dique; e Viveiro de derivação - escavado ou elevado no terreno natural, sendo abastecido por derivação da água a partir de uma nascente, de um curso de água principal, de um canal de irrigação etc.; de uma represa ou açude (mediante o uso de sifão, galeria etc.), sendo a água conduzida através de canais abertos ou tubulados ou, finalmente, por bombeamento a partir de um curso de água ou de um reservatório (RODRIGUES et al., 2013).

2.2 Composição e benefícios do consumo de pescado

A carne de peixe é importante fonte de lipídios e apresenta alto teor de proteína (15% a 25%), o que a torna uma fonte de proteínas de alto valor biológico, de fácil digestão. Contém aminoácidos essenciais, além de possuir ampla gama de micronutrientes como vitaminas, minerais e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) da série Ômega 3, sendo considerado um importante alimento nutracêutico (seus elementos são utilizados para fins terapêuticos) destacando seu efeito na redução dos riscos de doenças coronarianas (GONÇALVES, 2011).

O pescado apresenta todos os aminoácidos essenciais e tem elevado teor de lisina, um

aminoácido iniciador do processo digestivo e necessário na dieta brasileira à base de arroz. A digestibilidade é alta, acima de 95%, conforme a espécie, e superior à das carnes em geral e à do leite, devido à mínima quantidade de tecido conjuntivo. O valor biológico é próximo de 100, determinado pela alta absorção dos aminoácidos essenciais (OETTERER et al., 2006).

Para melhor utilização da carne de peixe como alimento humano, o conhecimento da composição corporal dos peixes é necessário, possibilitando a competição com outras fontes proteicas largamente utilizadas como a de carne bovina, suína e de aves; permite avaliar a eficiência da transferência de nutrientes do alimento para o peixe, bem como a escolha da tecnologia a ser utilizada no seu beneficiamento e conservação visto que essa composição é influenciada por vários fatores como alimentação, espécie e idade dos animais (ARBELÁEZ-ROJAS et al., 2002). Atualmente, a carne do tambaqui apresenta grande demanda no mercado nacional, pois é muito saborosa e tenra, assim como a de seus híbridos, estando o grau de aceitabilidade da carne de pescado muito associada à composição dela (CIRNE et al., 2019).

2.3 Qualidade do pescado

A qualidade de um produto pode ser medida como um conjunto de características físicas, químicas e microbiológicas, devendo estar em conformidade com especificações regulatórias, acordos ou padrões, trazendo benefícios diretos à cadeia em que está inserida (CARECHE; SÁNCHEZ-ALONSO, 2017). Os aspectos relacionados à qualidade da carne, como os sensoriais e nutricionais dependem da composição físico-química do peixe, que pode ser influenciada por inúmeros fatores que afetam sua qualidade como: espécie, idade, sexo, condições ambientais (temperatura, salinidade) e histórico alimentar, como taxa alimentar e composição da dieta (CÔRREA et al., 2013).

Em relação ao habitat dos peixes, existe uma relação direta entre a poluição ambiental e qualidade do pescado, pois o lançamento de esgotos nas águas de reservatórios, lagos, lagoas, rios, mar e tanques pode contaminar o pescado oferecendo risco para o consumidor. Nesse sentido, a Resolução do CONAMA nº 357 (BRASIL, 2005) define a quantidade de coliformes termotolerantes para águas de classe II, destinadas à aquicultura, e determina níveis toleráveis para outras classes de microrganismos. Outro ponto a ser considerado, que apesar de contribuir para o aumento da produção piscícola, é o fornecimento de matéria orgânica com a suinocultura associada, quando de forma incorreta, pode ocasionar queda na qualidade da água e prejudicar a saúde dos animais e seres humanos, com a presença de patógenos indesejáveis, causando danos à produção, além de poluição dos recursos naturais

(ZHOU et al., 1995). Diante do exposto, principalmente em virtude do crescimento da piscicultura, o monitoramento da qualidade da água nas propriedades é fundamental.

A maneira como os peixes são capturados também pode levar à contaminação durante a despesca, principalmente quando se utiliza rede de arrasto, carreando uma carga microbiana de 10 a 100 vezes maior quando comparada à captura por anzol (ASHBOLT, 2015), influenciando na qualidade do pescado, devido à queda das reservas de glicogênio. Um *rigor mortis* mais rápido e, conseqüentemente, deterioração mais acelerada e intensa ocorre se o pescado se debate tentando se libertar das redes de pesca ou morre em agonia nos barcos pesqueiros. Portanto, quanto mais glicogênio é armazenado, maior é o tempo de vida útil do produto (ORDÓÑEZ, 2005).

O músculo do peixe, logo após a morte, está totalmente relaxado e a textura elástica macia (pré-rigor) geralmente persiste por algumas horas. Então, o músculo se contrai e fica duro e rígido entrando em *rigor mortis*, que dura algumas horas; após sua recuperação o músculo se relaxa novamente e recupera a flexibilidade, porém não mais tão elástico como antes. Quando o suprimento de oxigênio cessa devido à falta de circulação sanguínea, o glicogênio é metabolizado anaerobicamente, levando ao acúmulo de ácido láctico no músculo, resultando em uma queda do pH. Ao terminar essa fase, têm início as fases de deterioração por autólise e decomposição bacteriana, onde o acúmulo de compostos alcalinos como amônia, devido à ação microbiana sobre o pescado, pode elevar o pH (OLAFSDÓTTIR et al., 1997; DELBARRE-LADRAT et al. 2006; CHENG et al. 2013).

Para a preservação do peixe por longos períodos de tempo, os armazenamentos sob congelamento ou refrigeração são os métodos eficazes, uma vez que no primeiro método o crescimento microbiano é interrompido, e a taxa de muitas reações físicas e químicas é diminuída. O gelo mais indicado é o tipo em escamas ou picado, com qualidade certificada principalmente em relação ao padrão microbiológico, devendo ser produzido a partir de água potável, pois ele poderá funcionar como um veículo de contaminação para o pescado (VIEIRA, 2003).

Metodologias padronizadas podem medir essas alterações sofridas pelo pescado após a morte, elas incluem análises sensoriais, físicas, químicas, bioquímicas, microbiológicas e métodos instrumentais (equipamentos eletrônicos mais sofisticados) e são projetados para atender vários escopos dos diferentes atores da cadeia de beneficiamento de alimentos. Devido à complexidade do processo de decomposição do pescado, torna-se impossível o uso de apenas um método para avaliar sua qualidade, sendo mais viável e seguro a utilização de

métodos combinados (GREEN-PETERSEN et al., 2017; ESTEVES; ANIBAL, 2007).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA normatiza para padrões de qualidade em pescados vários parâmetros, de acordo com sua competência, merecem destaque o Decreto nº 9.013/2017 que dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal e o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Portaria nº185/1997 e Instrução Normativa nº 21 de 31 de maio de 2017).

2.3.1 Decomposição bacteriana e alterações físico-químicas

As características do pescado, como baixo teor de tecido conjuntivo, elevada quantidade de água, tipo de proteínas e a natureza da flora bacteriana, o tornam muito perecível em comparação com outros de origem animal (NUNES; BATISTA, 2004). A ausência de defesas naturais contra a penetração de microrganismos na carne, que existiam quando o animal estava vivo, acarreta a acentuação da ação microbiana no *pos mortem* (VIEIRA, 2003), assim, a decomposição bacteriana depende da composição da microbiota, da oxidação aeróbia ou de processos de redução aeróbia (VIEIRA, 2003).

O desenvolvimento bacteriano, dentre os vários fatores que levam à autólise do pescado, tem-se mostrado ser o mais importante. A maioria dessas bactérias deteriorantes parecem ter dificuldade em crescer em camadas viscosas e em tegumentos externos, camadas essas geralmente compostas de mucopolissacarídeos, aminoácidos livres, óxido de trimetilamina, derivados de piperidinas e outros compostos (CARVALHO, 2000).

No início, o peixe fresco possui microbiota, cor e textura características, com predominância dos gêneros: *Flavobacterium*, *Moraxella* e *Acetobacter*. Já quando em refrigeração, *Pseudomonas* multiplicam-se facilmente, podendo além desses, os coliformes estarem relacionados à contaminação e à deterioração dos peixes (JAY, 2005; SOARES; GONÇALVES, 2004; MASSAGUER, 2005).

Em relação às estruturas do peixe que sofrem os primeiros sinais de deterioração, estão as brânquias e caso o pescado não seja eviscerado, as bactérias do intestino migram para as paredes e cavidades intestinais. A maioria das bactérias apresentam atividades proteolíticas e lipolíticas, contribuindo para a desintegração dos tecidos, levando a várias reações bioquímicas indesejáveis, com subsequentes formação e acúmulo de substâncias de odor desagradável, repugnantes e tóxicas (CARVALHO, 2000; JAY, 2000). No músculo, as substâncias nitrogenadas não proteicas (NNP) são as primeiras a serem atacadas pela ação bacteriana, e posteriormente ocorre o consumo de proteínas e a formação de odor

desagradável; tendo como resultado a produção de substâncias inorgânicas, hidrogênio, dióxido de carbono (CO₂), amoníaco, compostos sulfurados, ácido sulfídrico (H₂S) e mercaptanos; ácidos acéticos, propiônico, valérico, láctico e succínico. As principais alterações nos compostos nitrogenados não proteicos são: redução do óxido de trimetilamina (OTMA) a trimetilamina (TMA), descarboxilação da histidina em histamina e decomposição da ureia com liberação de amônia (ORDÓÑEZ, 2005; GONÇALVES, 2011).

2.3.2 Oxidação lipídica

O armazenamento resfriado ou congelado mantém íntegra a aparência e as propriedades nutricionais da carne de peixe minimizando os efeitos oxidativos. Porém, a presença de uma composição lipídica altamente insaturada e elevado teor de moléculas pró-oxidantes, em determinadas espécies de peixes, promovem mesmo sob baixas temperaturas o desenvolvimento progressivo de rancidez enzimática e não enzimática conforme o tempo de estocagem, promovendo alterações sensoriais como sabor, aroma, textura e cor (OETTERER, 1998; OGAWA; MAIA, 2005).

Considerada como uma das principais causas de deterioração no pescado, a oxidação lipídica está relacionada à quebra das ligações duplas nas frações fosfolipídicas das membranas celulares, que no caso dos peixes são mais suscetíveis porque possuem maior grau de insaturação, causada por compostos químicos ou espécies reativas ao oxigênio, causando a rancificação, altera sua função como barreira semipermeável devido à perda de ácidos graxos poliinsaturados essenciais (AGPI) e à formação de hidroperóxidos, aldeídos e outros produtos tóxicos secundários, resultando em odores característicos e, em alguns casos, coloração amarelada da carne. (FOGAÇA; SANT'ANA, 2009).

2.3.3 Métodos físico-químicos

No Brasil, os métodos analíticos oficiais para avaliação de pescado são estabelecidos pela Instrução Normativa MAPA nº 25, de 2 de junho de 2011, segundo a qual amostras encaminhadas às provas físico-químicas deverão estar separadas daquelas enviadas para análises microbiológicas (BRASIL, 2011a). Nas análises físico-químicas, a determinação do pH em pescado é um método muito aplicado, valores acima de 6,8 são indicativos de acúmulo de compostos alcalinos como amônia, devido à ação microbiana sobre o pescado (BRASIL, 2017). Ainda, o pH pode elevar-se por altas temperaturas de estocagem, decorrente do acúmulo de Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (NBVT) geradas por atividade bacteriana e

autolítica (TAVARES; MORENO, 2005).

O nitrogênio das BVT tem sido utilizado para estimar objetivamente o grau de frescor, porém, algumas vezes são consideradas não confiáveis para a avaliação da deterioração durante os primeiros dias de armazenamento refrigerado para várias espécies, ressaltando que os valores de NBVT dependem, em grande parte, do método de análise e não refletem o modo de deterioração, se bacteriano ou autolítico (BRASIL, 2017; JESUS, et al., 2001; HUSS, 1995).

2.3.4 Padrões microbiológicos para pescado

É de suma importância a avaliação microbiológica de alimentos, visto que as doenças transmitidas por alimentos têm sempre ocorrido em decorrência da falta de cuidados e de controle, desde a aquisição da matéria-prima até a manipulação e o beneficiamento (MARQUES, et al., 2009).

No Brasil, o que regulamenta a qualidade microbiológica aceitável para alimentos é a resolução RDC N° 12 de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a ANVISA, que foi revogada pela RDC N° 331 de 2019, junto com a Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019 que estabelece padrões microbiológicos para alimentos de venda e exportação. As bactérias sobre as quais a legislação estabelece limites são aquelas que quase não alteram a aparência do pescado, sendo sua importância relacionada à patogenicidade ao homem, e não por deteriorarem o produto. Pode-se citar o exemplo das salmonelas, que são capazes de causar danos à saúde do consumidor mesmo antes de causarem alterações de odor (odor amoniacal), razão pela qual se investiga apenas sua presença (BRASIL, 2001; VIEIRA, 2003).

Recentemente, a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) incluiu a pesquisa de *Listeria* para alimentos destinados a lactantes e contagem para alimentos prontos para o consumo. Alimento destinado ao consumo direto que não passe por tratamento térmico, ou outro processo efetivo, para a eliminação ou redução de microrganismos a níveis seguros, considerado como alimento pronto, destacamos aqui o consumo de peixe cru, principalmente na forma de sushi e sashimi. Uma vez que a *L. monocytogenes* pode sobreviver e se multiplicar em baixas temperaturas, normalmente encontradas em refrigeradores (BRASIL, 2019). A *Listeria monocytogenes*, muitas vezes com origem em produtos de origem animal prontos para o consumo, como presuntos cozidos e defumados, mortadela, salsichas cozidas, lombo cozido e defumado, paleta, queijo macio e semi macio, peixe defumado, surimi, molusco bivalve, e

camarão são oficialmente monitorados por um plano nacional de amostragem em indústrias sob Serviço de Inspeção Federal (BRASIL, 2009; CLARK et al., 2010; BRASIL, 2013).

Os psicrotróficos são os microrganismos que podem desenvolver-se a 7°C ou menos, independentes da temperatura ótima de crescimento (20°C), sendo um grupo mais expressivo em produtos que são conservados ou armazenados em condições de refrigeração por períodos relativamente longos. Os principais gêneros deteriorantes encontrados em pescados, que fazem parte desse grupo, são as espécies de *Alteromonas*, *Photobacterium* e *Vibrio* (SILVA et al., 2017). Não existe limite preconizado pela legislação para aeróbios mesófilos e psicrotróficos em peixes, porém contagens deste grupo de microrganismos são indicativas da presença desses patógenos e da qualidade sanitária deficiente do alimento em questão.

Avaliando os resultados encontrados para os parâmetros microbiológicos com referência nos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade (RTIQ) dos produtos de origem animal, de acordo com o Relatório de Gestão do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/DIPOA, as amostras de pescados analisadas no ano de 2018 (297 amostras) apresentaram um Índice de Conformidade de 98,65%, sendo uma importante ferramenta para avaliação da qualidade microbiológica de pescados comercializados a nível de Inspeção Federal no país.

2.3.5 Patógenos encontrados em pescados e principais riscos à saúde humana

Dentre os agentes bacterianos distribuídos no ecossistema aquático, os principais patógenos associados ao pescado são: *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*, *Norovirus*, *Rotavirus*, *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia*. Esses microrganismos estão entre os patógenos que emergiram nos últimos vinte anos. Além dos riscos associados aos microrganismos patogênicos, merecem destaque pela importância em saúde pública os endoparasitas e as biotoxinas (GERMANO; GERMANO, 2008).

O gênero *Staphylococcus* (Família Micrococcaceae) é composto por cocos Gram positivos, predominantemente anaeróbios facultativos e mesófilos, capazes de crescer entre 7°C a 47,8°C. Bactérias deste gênero não fazem parte da microbiota natural dos peixes e as coagulase positivas são apontadas como patogênicas para humanos, podendo causar surtos de intoxicações alimentares no mundo, devido a presença de enterotoxinas nos alimentos. As principais espécies encontradas são: *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus intermedius* e *Staphylococcus aureus* (JAY, 2005; GONÇALVES, 2011).

A importância da patogenia de *Salmonella sp.* em peixes de cultivo no Brasil ainda é desconhecida, diversas são as formas de contaminação do pescado por este microrganismo, sem relatos que esclareçam sua função como agente etiológico ou como pertencente à microbiota destes animais (GAZAL et al., 2018). Em diversos países essa bactéria é responsável por milhões de casos de salmonelose, sendo as salmonelas paratíficas as principais causadoras de doenças associadas ao consumo de peixes e crustáceos. Medidas de controle da qualidade da água e ração, higiene dos tanques e procedência de alevinos devem ser consideradas para prevenção de *Salmonella sp.* em peixes (JAS et al., 2013).

Identificada como a principal causadora de doenças diarreicas via ingestão de água e alimentos contaminados, a *Escherichia coli* é a principal bactéria representante do grupo dos coliformes termotolerantes. Esta bactéria se desenvolve no trato intestinal do homem e animais de sangue quente e, portanto, sua presença no meio indica contaminação fecal. No entanto, cepas de *E. coli* são comumente isoladas de alimentos, permitindo-se suspeitar do contato destes com material contaminado por fezes em alguma etapa da sua produção (COSTA et al., 2011).

A listeriose é infecção causada por uma bactéria gram positiva. A *Listeria monocytogenes* causa aborto, meningite e septicemia, afetando principalmente mulheres grávidas, recém-nascidos, adultos com mais de 65 anos e indivíduos com sistemas imunológicos comprometidos. Apesar da baixa incidência, o quadro clínico é grave e a taxa de mortalidade é elevada, variando entre 15% e 30% dos indivíduos afetados (RODRIGUES et al., 2017). A *Listeria* pode sobreviver e se multiplicar sob baixa temperatura, persistindo por longos períodos no solo, água, ração e fezes de animais, sendo facilmente detectada no ambiente e em produtos de pesca (TIWERI et al., 2014), fazendo-se necessário um controle sanitário rígido desde a produção da matéria-prima até o consumidor, sendo uma preocupação especial na indústria alimentícia a formação de biofilmes por *Listeria spp.* (Rodrigues et. Al, 2017).

2.3.6 Avaliações sensoriais

A avaliação do “peixe fresco”, aquele pescado que possui características sensoriais bem definidas, que proporcionam maior aceitação pelo consumidor, se dá por métodos sensoriais, sendo um método rápido e de fácil execução, características importantes na rotina da indústria em virtude da necessidade de eficiência no julgamento dos lotes de matérias-primas e do produto acabado (OETTERER, 2006; GONÇALVES, 2011). O Decreto nº 9.013/2017/MAPA e a Portaria nº185/1997/MAPA (Regulamento Técnico de Identidade e

Qualidade de Peixe Fresco) fixam requisitos para as características sensoriais do peixe fresco inteiro ou peixe eviscerado fresco, apto para consumo humano, porém não definem parâmetros de qualidade sensorial para o frescor de espécies de peixes distintas. Conforme a legislação sanitária brasileira do pescado, a avaliação deverá observar a visão, o tato e o olfato, verificando a apresentação, o aspecto, a consistência, a resistência e o odor, ou cheiro (BRASIL, 2017).

Entre os métodos de análise sensorial com pescado, o método do Índice de Qualidade (MIQ) destaca-se por ser específico para cada espécie, sendo desenvolvido, inicialmente, para peixe inteiro armazenado em refrigeração, atualmente tem sido aplicado, entre outros produtos, em filé e peixe congelado. Consiste em um sistema de graduação para estimar o frescor e a qualidade dos pescados, e baseia-se na avaliação dos atributos sensoriais considerados significativos, como aspecto e/ou textura da pele, dos olhos, e odor das brânquias/guelras, por meio de um sistema de classificação por pontos de demérito. A soma dessas classificações quantifica a falta de qualidade sensorial até um valor máximo, específico de cada espécie ou gênero, que pode determinar ser impróprio/rejeitado para consumo humano (KÄFERTEIN, et al, 1997; MARTINS DOTTIR, et al, 2001).

A legislação cita que o pescado fresco próprio para consumo deverá apresentar a superfície do corpo limpa, com relativo brilho metálico; olhos transparentes, brilhantes e salientes, ocupando completamente as órbitas; guelras róseas ou vermelhas; ventre roliço; escamas brilhantes, bem aderentes à pele, e nadadeiras apresentando certa resistência aos movimentos provocados. Relaciona características quanto à presença de muco, consistência da carne e das vísceras; e odores característicos (BRASIL, 2017).

2.3.7 Avaliação colorimétrica

Várias medições instrumentais fornecem informações sobre o frescor ou a qualidade do peixe; no entanto, são consideradas que, por si só, elas são insuficientes para fornecer uma resposta inequívoca ao frescor ou qualidade (OLAFSDOTTIR et al., 2004). O setor aquícola, embora reconheça a necessidade de medições instrumentais, não considera atributos individuais (ou seja, colorímetros, analisadores de textura, ou narizes eletrônicos) tão importantes, devido ao fato de que conceitos complexos como frescor ou qualidade não podem ser quantificados por uma única medição de atributo (JORGENSEN et al., 2003).

Com o intuito de reproduzir a visão humana, vários equipamentos são utilizados principalmente na avaliação de cor e no julgamento do frescor dos alimentos. Espectrofotômetros e colorímetros são dois exemplos que descrevem numericamente

elementos da composição de uma cor em superfícies (GONÇALEZ; JANIN; SANTORO, 2001). Visando padronizar ou normatizar a interpretação desses resultados, a *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE), em 1931, adotou métodos para medição e especificação de cor com uso de fontes de luz padronizada, disposições exatas para observação, uso de unidades matemáticas adequadas para expressão da cor e do observador; recomendando o uso da escala de cor CIE $L^*a^*b^*$, ou CIELAB, a fim de fornecer relação uniforme entre as diferenças da cor e as diferenças visuais (JIMÉNEZ e GUTIÉRREZ, 2001).

O colorímetro separa as componentes RGB (Red, Green and Blue – Vermelho, Verde e Azul), da luz, sendo capaz de fornecer coordenadas colorimétricas ($L^*a^*b^*$) universais, sob iluminantes e observadores padronizados (LOPES, 2009). Este método é representado por uma escala de cor, onde o máximo valor de L^* , referente a luminosidade, é 100, correspondente a uma perfeita reflexão difusa, e o valor mínimo é zero e constitui o preto. Os eixos a^* (varia do vermelho, $+a^*$, ao verde, $-a^*$) e b^* (varia do amarelo, $+b^*$ ao azul, $-b^*$) não apresentam limites numéricos específicos. Os valores delta (ΔL^* , Δa^* e Δb^*) indicam o quanto a amostra diferiu do padrão para L^* , a^* e b^* , e são frequentemente utilizados no controle de qualidade e ajustes de formulação, além de serem utilizados para o cálculo da diferença total de cor (ΔE^*) (HUNTERLAB, 1996).

O sistema L^*C^*h usa o mesmo diagrama que o espaço de cor $L^*a^*b^*$, mas usa coordenadas cilíndricas ao invés de coordenadas retangulares. O espaço de cor L^*C^*h , semelhante ao CIELab, é o preferido por alguns profissionais da indústria porque seu sistema se correlaciona melhor com a forma como o olho humano percebe a cor. Neste espaço de cor, L^* indica luminosidade (tendência ao claro ou escuro), C^* representa a saturação, e h é o ângulo de tonalidade (MINOLTA, 1998).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar parâmetros físico-químicos e microbiológicos do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) produzidos em tanque-rede e tanque escavado e prognosticar o seu tempo de prateleira para a espécie armazenada inteira, em gelo, por vinte (20) dias. Ademais, propõe-se relacionar a qualidade microbiológica e físico-química do pescado com a forma de cultivo, qualidade da água e o período de armazenamento, além da utilização de colorímetro na avaliação de frescor para peixe inteiro resfriado.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar análise microbiológica do muco da pele, após despesca e musculatura de Tambaqui, desde a despesca até o 20º dia de armazenamento em gelo, para detecção e quantificação de coliformes à 45°C, estafilococos coagulase positiva, e *Salmonella spp.*;
- Realizar confirmação de presença dos patógenos alimentares *E. coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.* através de provas bioquímicas;
- Realizar a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em placas, das amostras de swabs do muco da pele e musculatura do peixe armazenado em gelo;
- Determinar de coliformes totais e termotolerantes a 45°C, pesquisa de *Salmonella spp.*, e contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos e heterotróficos em amostras da água coletadas dos sistemas de cultivo em que os peixes foram capturados;
- Realizar análises de umidade, pH, proteína bruta, cinzas e lipídeos de tambaqui, inteiro e resfriado, oriundo de tanque rede e tanque escavado;
- Relacionar a qualidade microbiológica e físico-química dos peixes com as formas de produção, qualidade da água e o período de armazenamento;
- Verificar se as diferentes formas de cultivo impactam no período de armazenamento e qualidade geral do pescado;
- Utilizar colorímetro para prognosticar o frescor do peixe inteiro e armazenado em gelo, baseado na mudança de cor dos olhos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Aspectos Éticos

Este projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais da Universidade Federal do Tocantins – UFT, sendo protocolado com o número: 23.101.004.512/2019-21 em 18 de junho de 2019.

4.2 Delineamento Experimental e Coleta de Material

Foram utilizados exemplares de peixes de escamas, redondos, da espécie tambaqui (*Colossoma macropomum*) provenientes de duas formas de cultivo de peixes utilizadas no estado de Tocantins: peixes capturados com puçá e redes, em tanques-rede instalados no lago

de Palmas e com rede de arrasto em tanques escavados de piscicultura do município de Aparecida do rio Negro.

O delineamento experimental foi Inteiramente Casualizado, com três repetições em cada tipo de cultivo. Para cada tipo de sistema foi utilizado o mesmo número de amostras, sendo coletados 10 (dez) peixes por repetição.

Os peixes capturados por sistema (tanque rede e tanque escavado), tinham que ter peso vivo de no mínimo 300g e no máximo 1.500g; apresentar qualidades sensoriais de peixe fresco e saudável, pele livre de parasitas externos e lesões; escamas firmes e resistentes, de coloração translúcida e brilhante; olhos e brânquias brilhantes, firmes e com cor característica. Os 60 peixes utilizados no trabalho, foram destinados às análises microbiológicas, avaliação da cor dos olhos e análises físico-químicas, sendo os parâmetros avaliados a cada 4 dias e ou a cada 8 dias, até o 20º dia de armazenamento em gelo.

O gelo utilizado para a insensibilização e conservação dos peixes foi adquirido na fábrica de gelo potável e no laboratório de Biotecnologia de Medicina humana do laboratório da Fundação Universidade Federal do Tocantins, Campus Palmas, sendo que o comercializado apresentava registro junto à Vigilância Sanitária e o processado na Universidade estava de acordo com as normas de higiene.

As amostras de água foram coletadas manualmente a partir de águas ± 20 cm abaixo da superfície com aproximadamente 500 mL de água, em frascos estéreis. Foram coletadas no tanque em que foram capturados os peixes em cada repetição do tipo de sistema. Após coletadas, essas amostras, foram imediatamente estocadas em caixas isotérmicas, contendo gelo e abrigadas da luz e posteriormente transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do curso de Engenharia de Alimentos da UFT, Campus Palmas.

Visando a detecção e quantificação de diferentes espécies bacterianas, chegando ao laboratório, as amostras de água foram imediatamente processadas em condições assépticas, no fluxo laminar; onde foram manipuladas e separadas com diluição 1:10 (10^{-1}); 1:100(10^{-2}); 1:1000(10^{-3}). A obtenção das amostras de água e as análises microbiológicas foram realizadas segundo a *American Public Health Association* (APHA, 1998; APHA, 2001) e normas oficiais brasileiras (BRASIL, 1992).

4.3 Preparo das Amostras e Análises Microbiológicas

4.3.1 Colheita de muco através de *Swab* de superfície

Foram realizadas colheita de muco, através de *swabs* de superfície, de dois exemplares de peixes por repetição, para cada tipo de sistema de cultivo, logo após a despesca, no local/dia da captura e abate dos animais. As amostras de muco foram colhidas com dois *swabs*. Segurando um dos *swabs* pelo cabo, o algodão da ponta do *swab* foi esfregado na superfície do peixe, através de fricção das escamas, com movimentos da esquerda para direita e o outro *swab*, seguro pelo cabo, foi esfregado de baixo para cima, em uma área delimitada através de um molde metálico estéril (50cm²). O *swab* foi esfregado em movimento circular continuamente para que toda a superfície do algodão entrasse em contato com a superfície do peixe, conforme metodologia adaptada de ISO 17604 (2015).

Em seguida, os *swabs* foram armazenados em tubo específico, as duas zaragatoas foram submersas em 10 ml de solução salina peptonada, sendo que as partes manuseadas dos *swabs* foram quebradas antes de mergulhá-los na solução salina. A partir da solução de imersão foram realizadas as diluições decimais seriadas. Os tubos foram armazenados em caixa isotérmica, mantida a temperatura de 0°C-4°C. A temperatura foi monitorada com termômetro digital. As amostras foram transportadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Campus de Palmas da UFT.

4.3.2 Abate dos peixes, transporte e armazenamento das amostras

Os peixes foram insensibilizados usando uma parte de gelo para duas partes de água, sendo imediatamente acondicionados em caixas isotérmicas com gelo em escama. As amostras foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Curso de Engenharia de Alimentos da UFT, sendo então acomodadas a uma temperatura de $\pm 2^{\circ}\text{C}$ em camadas de gelo alternadas (proporção 1:1, peixe: gelo) buscando-se manter a temperatura superficial das amostras próxima à 0°C.

A temperatura foi aferida no mínimo duas vezes no dia, com termômetro digital. O gelo foi repostado a cada 24 horas, para dificultar contato direto entre o pescado e a água acumulada (Figura 5). Para assegurar que a qualidade das amostras não fosse comprometida foi estabelecido um tempo limite de 8h entre a captura e o início dos testes, exceto da avaliação da cor de olhos, referente ao tempo zero, que foi realizada imediatamente após transporte dos peixes ao Laboratório de processamento de Frutas da Universidade Federal do Tocantins.

Figura 5. Condição de armazenamento do peixe no momento da reposição de gelo realizada a cada 24h.



Fonte: Autor, 2020

4.3.3 Preparo e diluição das amostras para análise microbiológica, e físico-química da musculatura

A pele dos peixes foi lavada com álcool 70% para evitar a contaminação de seu interior. Em seguida, os peixes foram dissecados, em condições assépticas, com o auxílio de um bisturi previamente esterilizado (Figura 6).

Figura 6. Peixe dissecado com realização de coleta de amostras da musculatura para análises microbiológicas e físico-químicas.



Fonte: Autor, 2019

Para o preparo da diluição seriada, foram utilizadas 25 gramas de músculo de cada peixe, retiradas de três amostras (unidades analíticas), de diferentes regiões do peixe, buscando-se obter uma amostra mais heterogênea de um mesmo exemplar. Este material foi picado e então homogeneizado com 225 mL de solução salina peptonada (0,9%), obtendo-se

assim a diluição 10^{-1} . Aguardou-se no máximo 3 minutos para que a espuma se dispersasse, e então foram realizadas as diluições decimais seriadas subsequentes (10^{-2} e 10^{-3}). Foram retiradas amostras de musculatura, em condições assépticas para realização das análises físico-químicas.

4.4 Padrões microbiológicos

As amostras foram submetidas a métodos analíticos quantitativos: Número Mais Provável (NMP) para coliformes totais e coliformes à 45°C ; análise de Estafilococos coagulase positiva/g pelo método de contagem direta em placas, contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos, heterotróficos e psicrotróficos em placas; Método qualitativo foi utilizado para detecção de *Salmonella* sp/25g.

Para a quantificação dos microrganismos presentes no muco, através de *swabs*, foi considerado que o procedimento amostrou uma área de 50cm^2 e cada mililitro do diluente, depois de recolhidos os *swabs*, correspondeu a 5cm^2 de superfície (ISO 17604, 2015).

4.4.1 Quantificação de coliformes totais, coliformes à $45^{\circ}\text{C}/\text{g}$ e confirmação da presença de *E. coli*.

O teste presuntivo de coliformes foi realizado inoculando-se alíquotas de 1 mL das diluições decimais (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) preparadas da musculatura dos peixes e do *swab* de superfície da pele em uma série de três tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose Hexis Científica®/KASVI® (LST), por diluição. Em seguida, os tubos contendo tubos de Durham invertidos foram incubados em estufa a $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por $24\pm 2\text{h}$. Após esse período, foi observado se houve produção de gás nos tubos de Durham e turvação do meio, indicando crescimento, passando então para a prova confirmatória. Em caso negativo, os tubos foram reincubados até completar $48\pm 2\text{h}$ e repetida a leitura, passando para prova confirmatória subsequente em caso de crescimento com produção de gás.

Para a confirmação dos coliformes totais (à 35°C), uma alçada de cada tubo positivo do teste presuntivo foi transferida para tubos contendo tubos de Durham e 10 mL Verde Brilhante KASVI® (VB). A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de VB, após $24\pm 2\text{h}$ de incubação à $35,0\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ no banho-maria foi considerada positiva para presença de coliformes totais a 35°C e o resultado foi determinado com auxílio de Tabela de Número Mais Provável (NMP/g) para a musculatura, (NMP/ cm^2) para as amostras de *swab* e (NMP/mL) para as amostras de água.

Para a confirmação dos coliformes à 45°C, uma alçada de cada tubo positivo do teste presuntivo foi transferida para tubos contendo tubos de Durham e 10 mL Caldo *E. coli* KASVI® (EC). A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de EC após 24±2h de incubação à 44,5±0,2°C no banho-maria foi considerada positiva para presença de coliformes termotolerantes e o resultado expresso com auxílio de Tabela de Número Mais Provável (NMP)/g ou NMP/cm² em caso de *swab* (Figura 7)

Os tubos de EC positivos para coliformes termotolerantes foram suspeitos da presença de *E. coli*. Para a confirmação, uma alçada de cada tubo foi estriada em placas contendo Ágar Levine Eosina Azul de Metileno KASVI® (EMB) e incubadas em estufa a 35±1°C por 24±2 horas e, transcorrido esse tempo, observado o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (nucleadas, com centro preto, com ou sem brilho metálico).

Em caso de presença de colônias típicas, estas foram transferidas para placas de Ágar Nutriente KASVI® e incubadas a 35 ±1°C por 24±2 horas. A partir das culturas puras em colônias isoladas foram realizadas a coloração de Gram e submetidas às provas bioquímicas (INViC) de Indol (Reagente de Kovacs), Ágar Citrato de Simons KASVI®, solução Vermelho de Metila Synth® para teste VM, Caldo MR-vp KASVI® para teste de Voges-Proskauer (VP) e Citrato (APHA, 1998; APHA, 2001).

Para a prova de Indol, as culturas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo Ágar semi-sólido SIM (HIMEDIA®) e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse período foi observada a motilidade. Feito isso, foi adicionado ao meio de cultura de três a cinco gotas do Reagente de Kovac's para observar se havia desenvolvimento de um anel vermelho violeta na superfície do meio de cultura (teste positivo), a permanência da cor amarelada indicava teste negativo. Desenvolvimento de vários tons entre vermelho e rosa indicava teste indeterminado. A *E. coli* é indol geralmente positiva, embora também possa ser negativa.

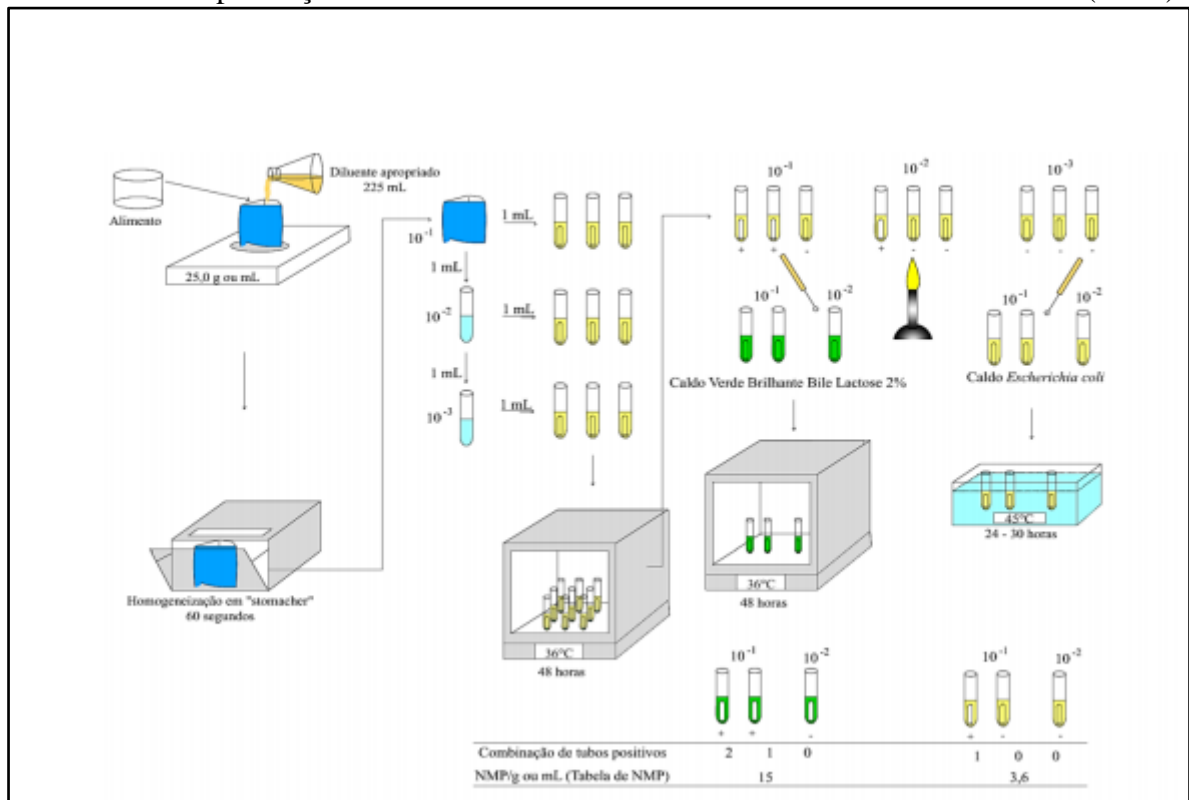
Foi transferido uma alçada da cultura de *E. coli* para tubos contendo caldo MR-vp (e então incubados a 37±1°C por 48±2 horas. Após o período de incubação foi retirado 1mL da cultura, em tubo estéril, e adicionada 3 gotas de Solução α-Naftol 5% (0,6mL) e 2 gotas (0,2mL) de Solução de KOH 40% (Hidróxido de Potássio) foram agitados os tubos entre um reagente e outro, sendo feita a leitura em 15 minutos e após uma hora a segunda leitura. O não desenvolvimento da cor rosa escuro ou vermelho no meio é considerado negativo, sendo que *E. coli* é considerada VP negativa.

Para o teste de VM, o restante da cultura foi reicunbada por mais 48h (37±1°C), totalizando 96h de incubação, sendo acrescida 4 gotas de Vermelho de Metila (0,1g de Vermelho de Metila em 300mL de álcool etílico 95% e 500mL de água destilada). O

aparecimento de um anel vermelho indicava a positividade do teste e o aparecimento de um anel amarelo indicava teste negativo. A *E. coli* é positiva para este teste.

Quando foi confirmada a presença de *E. coli*, o resultado foi determinado pelo Número Mais Provável (NMP)/g ou NMP/cm², quando *swab*, utilizando a técnica dos tubos múltiplos (série de três tubos) em relação aos tubos de EC.

Figura 7. Esquema para análise de coliformes totais, termotolerantes a 45°C/g e confirmação da presença de *E. coli*. Pelo método APHA do Número Mais Provável (NMP).



Fonte: adaptado de Guerra, 2015

4.4.2 Contagem de Estafilococos coagulase positiva/g

A contagem deste microrganismo foi realizada transferindo 0,1mL (100µL) de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) para a superfície do meio sólido em placas de Petri contendo Ágar Sal Manitol KASVI®. Este procedimento foi realizado em duplicata por diluição. O inóculo, com auxílio da alça de Drigalski, foi espalhado sobre o meio e então as placas foram incubadas em estufa à 35-37°C por 45-48 horas.

Transcorrido esse tempo, procedeu-se à contagem das colônias presuntivas nas placas que apresentaram entre 20 e 200 colônias típicas e/ou atípicas. Em seguida, foram selecionadas 5 colônias típicas e/ou atípicas, semeadas com o auxílio de uma alça de platina estéril em placas contendo Ágar Nutriente KASVI® e estas foram incubadas em estufa à 35-

37°C por 18-24 horas. Após o período de incubação, foram realizadas coloração de Gram, teste da catalase, e teste de oxidase. Foram calculados o número de UFC/g para a musculatura e UFC/cm² para amostras de *swabs* em função do número de colônias típicas contadas, diluição inoculada e percentual de colônias confirmadas.

4.4.3 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos em placas

Foi realizada a semeadura em profundidade, transferindo-se 1mL (1000µL) de cada uma das diluições para placas Petri estéreis e vazias, vertendo em cada uma 15mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA) KASVI®, previamente fundido e resfriado à 44-46°C. A amostra foi misturada com o meio de cultura nas placas realizando-se movimentos suaves em forma de oito no sentido horário e anti-horário, repetidos de oito a dez vezes, sobre uma superfície plana. As placas foram distribuídas, sem empilhar, para solidificação do meio e em seguida foram incubadas em estufa a 35±1°C por 48±2 horas.

As placas com as diluições que apresentaram melhor visualização e com 25 a 250 colônias foram selecionadas. A contagem das colônias foi realizada com o auxílio de um contador de colônias. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) por gramas da amostra foi calculado multiplicando-se o número de colônias (a média aritmética da contagem obtida em cada uma das duplicatas) pelo inverso da diluição inoculada.

4.4.4 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos em placas

Por meio da técnica de semeadura em superfície foi transferido 0,1mL (100µl) de cada uma das diluições (10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³) para placas de Petri com Ágar Padrão para Contagem KASVI®, previamente preparadas. O inóculo foi espalhado até que todo o excesso de líquido fosse absorvido, com auxílio alça de Drigalski. As placas foram incubadas à 7±1°C por 10 dias. A contagem seguiu as mesmas orientações descritas para o plaqueamento em profundidade, porém, foi multiplicado o resultado por dez, para levar em conta o volume dez vezes menor inoculado.

4.4.5 Pesquisa de *Salmonella sp*/25g

A técnica tradicional de detecção de *Salmonella* em pescado é um método cultural clássico de presença/ausência, desenvolvido com a finalidade de garantir a detecção mesmo em situações menos favoráveis, sendo um método utilizado no presente trabalho o BAM/FDA (2007): Método do *Bacteriological Analytical Manual Online da Food and Drug Administration* (ANDREWS; HAMMACK, 2007), conforme detalhado abaixo.

Para o pré-enriquecimento das amostras de musculatura, uma porção de 25g da amostra foi homogeneizada em erlenmeyer com 225mL de solução salina peptonada (diluição 10^{-1} , preparada e usada para as demais análises); para as amostras de água foram homogeneizados 25mL da amostra em erlenmeyer com 225mL de solução salina peptonada (diluição 10^{-1} , preparada e usada para as demais análises) e para as amostras de muco foram utilizados os tubos com a solução e *swabs* de muco de superfície da pele. Os frascos contendo as amostras para pré-enriquecimento foram incubados à $37\pm 1^{\circ}\text{C}/18\pm 2$ h.

Após esse período o frasco do pré-enriquecimento foi cuidadosamente agitado e realizado o enriquecimento seletivo, transferindo-se uma alíquota de 0,1mL para um tubo contendo 10 mL de caldo Rappaport Vassiliadis Soja KASVI® (RVS) e 1mL em um tubo contendo 10 mL de Caldo Tetrionato Muller Kauffmann Novobiocina Hexis Científica® (MKTTn). O caldo RVS foi colocado a $41,5\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3$ h em banho-maria e o caldo MKTTn a $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3$ h na estufa.

A etapa seguinte foi o plaqueamento diferencial, na qual estrias por esgotamento foram feitas em placas contendo Ágar Xilose Lisina Desoxicolato KASVI® (XLD), Ágar Bismuto Sulfito KASVI® (BSM) e Ágar Entérico Hektoen ACUMEDIA® (He) a partir de uma alçada nas culturas do tubo com RVS. O mesmo procedimento foi realizado com o caldo MKTTn. As placas foram incubadas a $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3$ h. Após o período de incubação foi verificado desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* sp. nos meios de plaqueamento diferencial. No ágar XLD as colônias típicas são cor de rosa escuro, com centro preto e uma zona avermelhada, levemente transparente ao redor. Cepas de *Salmonella* ácido sulfídrico fortemente positivas podem produzir colônias com centro preto grande e brilhante, ou mesmo inteiramente pretas. Cepas de *Salmonella* ácido sulfídrico fortemente negativas produzem colônias cor de rosa com centro rosa mais escuro, mas não preto. Cepas de *Salmonella* lactose positivas produzem colônias amarelas com ou sem centro preto.

Colônias típicas no Ágar Hektoen (He) a região onde a bactéria cresce se torna verde e a colônia é lisa, convexa, circular, brilhante e com coloração negra devido à produção de H_2S ; já no Ágar Bismuto Sulfito (BSM) a região onde a bactéria cresce se torna verde e a colônia é cremosa, convexa, rugosa, opaca e enegrecida devido à produção de H_2S .

De cada placa inoculada, cinco colônias típicas e/ou atípicas foram submetidas à confirmação. Por método de esgotamento por estrias foi inoculada cada colônia selecionada em placa com Ágar Nutriente KASVI® (AN) para purificação e crescimento em colônias puras, sendo as placas incubadas a $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3$ h. Após a incubação foram selecionadas cinco colônias bem isoladas de cada placa de AN para os testes de confirmação bioquímica

(Figura 8).

O teste de crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro KASVI® (TSI) foi inoculado com cada colônia isolada com auxílio de uma agulha de inoculação, através de picada e estrias na rampa e incubado a $37 \pm 1^\circ\text{C}/24 \pm 3\text{h}$, com as tampas ligeiramente frouxas, para manter condições aeróbias e prevenir produção excessiva de H₂S (Sulfeto de Hidrogênio).

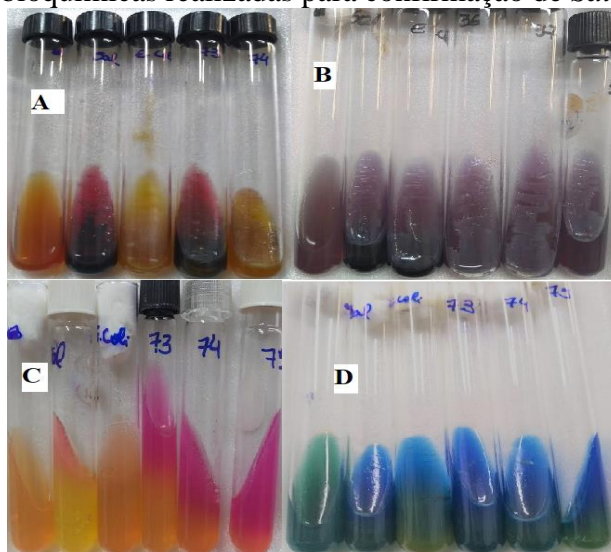
O teste de lisina descarboxilase (LIA) foi conduzido inoculando na superfície (estria) e picada (duas picadas até o final), cada cultura, em um tubo inclinado de Descarboxilase 0,5% L-lisina. Foi incubado à $37 \pm 1^\circ\text{C}/24 \pm 3\text{h}$ e em seguida observou-se a ocorrência de turvação com viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio para lilás (teste positivo) ou viragem ácida para amarelo (teste negativo).

Após esse período foi observada a ocorrência de reação típica de *Salmonella* no TSI: rampa alcalina (vermelha) e fundo ácido (amarelo), com ou sem produção de H₂S (escurecimento do ágar). Reação atípica e, TSI, que não deve ser descartada se as demais reações em LIA se apresentarem típicas: rampa e fundo ácidos (amarelos), com ou sem produção de H₂S. Reação típica de *Salmonella* sp em LIA: fundo e rampa alcalinos (púrpura, sem alteração da cor do meio), com ou sem produção de H₂S (escurecimento do meio). Reação atípica em LIA, que não deve ser descartada se as demais reações em TSI se apresentarem típicas: fundo amarelado com rampa alcalina, com ou sem produção de H₂S.

No teste de urease cada cultura foi inoculada por estrias na rampa em um tubo com Ágar Uréia de Christensen KASVI® inclinado e então, incubado à $37 \pm 1^\circ\text{C}/24 \pm 3\text{h}$. A ocorrência de viragem alcalina do indicador com alteração da cor do meio de pêssego para cor rosa escuro indicou teste positivo e a permanência do meio na cor original, teste negativo.

Foi transferido um inóculo da cultura para tubos de ensaio contendo Ágar Citrato de Simmons (HIMEDIA®) inclinado, com estrias na rampa. Os tubos foram incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 18-48 horas e observado se havia crescimento com viragem alcalina do indicador, alterando a cor do meio de verde para azul (teste positivo). A não alteração do meio indicava teste negativo. *Salmonella* é positiva para este teste.

Figura 8. Provas bioquímicas realizadas para confirmação de *Salmonella* sp.

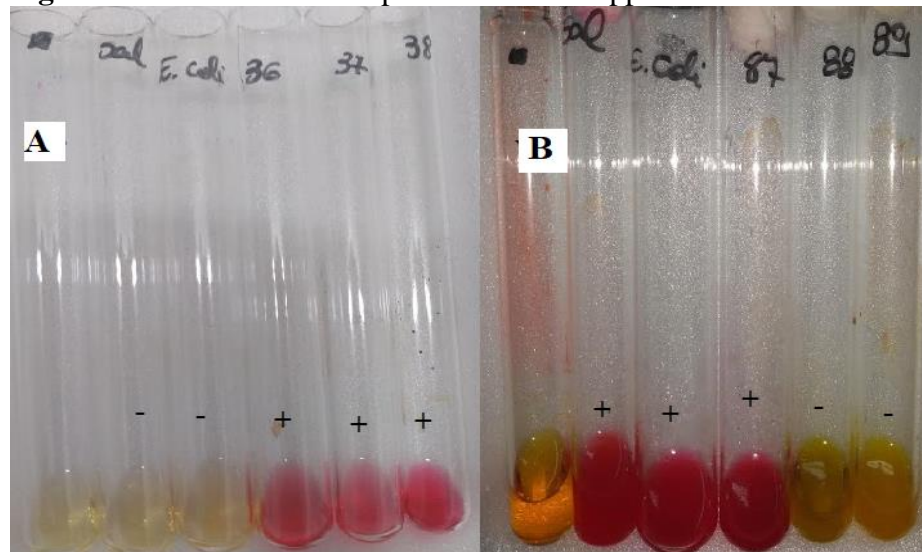


7A-teste de crescimento em Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI); 7B-teste de lisina descarboxilase (LIA); 7C- teste de urease; 7D- teste de Citrato Simmons
 Fonte: Autor, 2020

No teste de Voges-Proskauer (VP) cada cultura foi inoculada em um tubo com 3mL de caldo VM-VP e incubada a $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3\text{h}$. Após a incubação, foram adicionados aos tubos três gotas da solução α -Naftol 5% e duas gotas de solução KOH 40%, nesta sequência, agitando os tubos entre um reagente e outro. O desenvolvimento de uma cor rosa escuro ou vermelho no meio de cultura, no intervalo de 15 min, indicou teste positivo. O não desenvolvimento da cor rosa escuro ou vermelha indicou negativo.

Depois de 96h de incubação das culturas em meio caldo VM-VP KASVI® por $37\pm 1^{\circ}\text{C}$, a cada 2,0mL de cultura, foi adicionado quatro gotas de Vermelho de Metila (0,1g de Vermelho de Metila em 300mL de álcool etílico 95% e 500mL de água destilada). A reação foi positiva se uma coloração vermelha aparecesse imediatamente. A reação negativa foi indicada por uma coloração amarela sobre a superfície do meio líquido (Figura 9). Desenvolvimento de vários tons entre vermelho e rosa indicou teste indeterminado, onde continuou a incubação por quatro dias e o teste foi repetido.

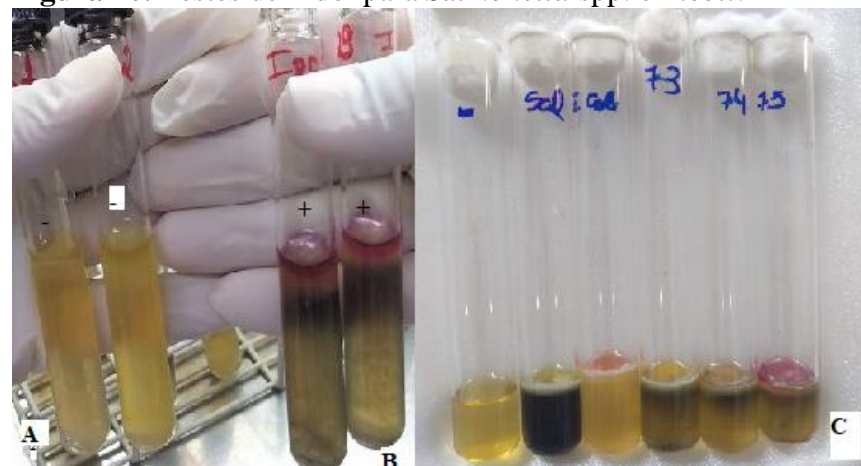
Figura 9. Testes de VM-VP para *Salmonella* spp. e *E.coli*.



8A –Voges-Proskauer (VP); 8B-Vermelho de Metila (VM)
Fonte: Autor, 2020

Para realização do teste de Indol (Figura 10) cada cultura foi inoculada em um tubo com 5 mL de Caldo Triptona 1% suplementado com 1g/L de DL-Triptofano e incubado a $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3\text{h}$. Após esse período foi adicionado 1 mL do Reagente de Kovacs, para cada 5 mL de cultura, e observado o desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura (teste positivo) ou se o anel permaneceu amarelado, cor do reagente de Kovacs (teste negativo). As cepas de *Salmonella* são Indol negativas.

Figura 10. Testes de Indol para *Salmonella* spp. e *E.coli*.



9A – Amostras negativas para o teste de Indol; 9B- amostras positivas para o teste de Indol; 9C-Reação ao teste de Indol de cepas de *E. coli* e de *Salmonella* spp.
Fonte: Autor, 2020.

4.5 Análises Físico-Químicas

Foram realizadas mensurações do pH, determinação da umidade, cinzas, proteína bruta e lipídeos. As amostras do pescado foram retiradas nos dias 01, 04, 08, 12, 16, e 20 (pH e umidade); para as análises de cinzas, proteína bruta e lipídeos - coletas ocorreram nos dias 01, 08 e 16.

4.5.1 Determinação de Potencial Hidrogeniônico (pH)

Uma amostra de 10g do peixe foi picada e homogeneizada, com 40 mL de água destilada até que todas as partículas ficassem uniformemente suspensas (GARCIA, 2017). O aparelho medidor digital de pH, MB 10 Marte® foi calibrado em soluções tampões de pH 7,0 e pH 4,0 e o eletrodo de leitura foi inserido na amostra. Após a estabilização, foi determinado o valor de pH, na temperatura ambiente, realizado em triplicata (KIRSCHNIK et al., 2013).

4.5.2 Umidade (método gravimétrico)

Para a determinação da umidade, os testes foram realizados de acordo com a *Association of Official Analytical Chemists - AOAC* (2000). Os cadinhos foram enumerados com lápis, colocados em estufa a 105 °C por 40 minutos. Os cadinhos foram, então, retirados da estufa e esfriados em dessecador por uma hora, sendo em seguida pesados em balança analítica. A balança foi tarada e pesadas aproximadamente 2,0 g de amostra da musculatura, sendo aquecida em estufa a 105 °C por 24 horas. A amostra seca foi mantida na estufa de secagem e resfriada no dessecador e pesada, até que fosse obtido um peso constante.

Cálculo para a determinação da umidade (Equação 1):

$$\% \text{ Umidade} = \frac{(\text{peso cadinho} + \text{amostra úmida}) - (\text{peso do cadinho} + \text{amostra seca})}{\text{peso da amostra úmida}} \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

O mesmo procedimento para determinar a umidade foi utilizado para a preparação da amostra seca utilizada nas análises centesimais.

4.5.3 Cinzas (método gravimétrico)

Para a determinação de resíduo mineral fixo ou cinzas por incineração, os cadinhos foram enumerados com uso de lápis e levados à estufa a 105 °C por 40 minutos. Em seguida os cadinhos foram retirados da estufa e esfriados em dessecador por uma hora. Os cadinhos foram pesados imediatamente, em balança analítica (pesadas aproximadamente 2,0 g de amostra seca). A amostra foi deixada em mufla à 550 °C até incineração completa ou

coloração cinza. As amostras esfriaram até 100 °C dentro da mufla e depois foram transferidas para o dessecador, onde a amostra permaneceu por 1 hora para esfriar, sendo pesada em balança analítica. (AOAC,2000).

Cálculo para determinação de cinzas:

$$\% \text{ Cinzas} = \left(\frac{-(\text{peso cadinho} + \text{amostra}) - (\text{peso do cadinho}) \times 100}{\text{amostra}} \right) \times \text{MS}/100, \text{ onde}$$

MS é Matéria Seca. (Eq. 2)

4.5.4 Proteína bruta (Método Kjeldahl)

A determinação de proteína foi realizada pelo método Kjeldahl utilizando 0,5 g de amostra seca e desengordurada, sendo utilizada em cada amostra 3 g da mistura catalítica de Sulfato de Zinco e Sulfato de Cobre na proporção de 1/1. Adicionado 20 mL de H₂SO₄ a 95% e transferidas para um bloco digestor MARCONI[®] modelo MA-541 a 420°C por 4 horas. Após a digestão foram adicionados 10 mL de água destilada e em um digestor de Nitrogênio modelo MA-036, MARCONI[®]; adicionou-se então, 30 mL de NaOH a 40%, acoplado ao digestor um Erlenmeyer de 250 mL com 20 mL de ácido bórico a 4% e 3 gotas do indicador Tashiro. Foi realizada titulação com solução de HCl padronizado a 0,1 N, com o fator de conversão 6,25 para o cálculo de proteína (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

4.5.5 Lipídeos ou extrato etéreo (Método gravimétrico)

Foram pesadas 2 a 5 g de amostra seca, previamente desengordurado e seco; e colocadas em cartuchos de papel filtro. Os cartuchos tiveram as bocas cobertas com algodão. Os reboilers foram numerados com caneta hidrográfica e colocados em estufa a 105 °C por 40 minutos. Os reboilers foram retirados da estufa e esfriados em dessecador por uma hora e, então foram pesados em balança analítica da marca Shimadzu, modelo Ay220.

Os cartuchos foram inseridos no aparelho extrator de Soxhlet, com hexano dentro do reboiler até cobrir o cartucho utilizando um extrator de óleos e graxas, da marca Tecnal, modelo MA 044/8/50 a 105°C por 4 horas. Secou-se o reboiler em estufa modelo 420-4D a 105°C até atingir peso constante. Os reboilers foram retirados e transportados à estufa a 105°C para volatilizar o éter residual e foi pesado até atingir peso constante (AOAC, 2000).

O cálculo para obtenção da porcentagem de lipídeo foi realizado de acordo com a equação 3:

$$\% \text{ Lipídeos} = \left(\frac{(\text{peso do reboiler} + \text{peso da amostra}) - (\text{peso do reboiler}) \times 100}{\text{peso da amostra}} \right) \times \text{MS}/100$$

onde MS é Matéria Seca.

(Eq. 3)

4.6 Análise Colorimétrica

As amostras foram mantidas nas condições de armazenamento descritas no item 4.2, camadas de gelo alternadas com os peixes, e foram analisadas no dia da despesca e a cada 4 dias, durante o período de armazenamento de 20 dias. Para prognosticar o frescor do pescado em função das mudanças da cor dos olhos foi utilizado um Colorímetro Minolta 400 CR, utilizando as recomendações do fabricante - KONICA, MINOLTA, todos os dias de teste foram utilizadas as mesmas amostras (pareadas), para cada repetição de cada tipo de sistema.

Foi realizado registro fotográfico dos olhos, e no mínimo três medições da área definida dos olhos direito e esquerdo foram efetuadas (Figura 11). A realização de três medições de cada área foi para eliminar os erros devido esta operação ser realizada de forma manual.

Figura 11. Medição da área dos olhos com auxílio do Colorímetro Minolta 400 CR.



Fonte: Autor, 2019

Os resultados da medição da cor dos olhos dos peixes foram expressos pela leitura direta de reflectância dos parâmetros L^* a^* b^* , utilizando iluminante D65. Antes de realizar a medição, o instrumento foi calibrado utilizando um disco branco, utilizando iluminante D65, com uma temperatura de cor de 6504K e um índice de reprodução cromática de 95%. Com os valores médios de L^* , a^* e b^* também foram calculados a variação total da cor e o valor cromático.

A diferença total da cor (ΔE) foi usada para comparar a magnitude da mudança da cor sobre o armazenamento e estimar a variação total da cor sobre o tempo de armazenamento encontrado nos valores iniciais de L^* , a^* e b^* determinados na etapa inicial do armazenamento.

As equações utilizadas para calcular a diferença total da cor (ΔE) e a croma (C) (Equações 4 e 5) são as propostas pela *National Bureau of Standards* (NBS) (VÁSQUEZ, 2015):

$$\Delta E = L_0^* - \sqrt{(L_0^* - L_i^*)^2 + (a_0^* - a_i^*)^2 + (b_0^* - b_i^*)^2} \quad (\text{Eq. 4})$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (\text{Eq. 5})$$

Foram realizadas as medições do C^*h , que usa o mesmo diagrama que o espaço de cor $L^*a^*b^*$, porém utiliza coordenadas cilíndricas ao invés de coordenadas retangulares; C^* representa a saturação, e h é o ângulo de tonalidade. O valor de saturação C^* , representa a distância do eixo de luminosidade (L^*), tendência ao claro e escuro, iniciando em zero no centro. O ângulo de tonalidade começa no eixo $+a^*$, e se movimenta em sentido anti-horário. É expresso em graus (por exemplo, 0° é vermelho e 90° é amarelo) (MINOLTA, 1998).

4.7 Análise Estatística

As médias dos dados das análises microbiológicas, físico-químicas e colorimétricas para os diferentes tempos e repetições foram comparadas por meio de uma análise de variância (ANOVA) e posteriormente o Teste Tukey foi aplicado e os efeitos foram considerados significativos, quando $p\text{-valor} < 0,05$. Para comparar e verificar a existência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as variáveis analisadas em relação aos tipos de sistemas de cultivo foi aplicado o teste T de Student. A matriz de Pearson foi utilizada para verificar a correlação entre a concentração microbiológica das diferentes bactérias analisadas nas diferentes amostras corporais dos peixes, com os microrganismos identificados na água; tempo de armazenamento em relação aos resultados físico-químicos; e tempo de armazenamento em relação às médias das variáveis determinadas análise colorimétrica.

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa XLSTAT para Windows 10 e Excel 2019 (Microsoft 365).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os exemplares de peixes do tanque-rede avaliados apresentaram peso vivo variando entre 300g e 650g, já para as amostras do tanque escavado, os pesos variaram de 340g a 1.130g. Após armazenados, os peixes apresentaram variação na temperatura interna (superfície), mínima de 0,2°C e a máxima de 3,6°C, durante todas as repetições e dias de conservação no gelo para os dois tipos de sistemas.

5.1 Resultados dos padrões microbiológicos

Os resultados das análises de coliformes totais e termotolerantes; análise de *Estafilococos* coagulase positiva/g (Confirmação para *Staphylococcus aureus*); contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em placas; e pesquisa de *Salmonella spp* da musculatura do peixe armazenado (Dias 00, 04, 08, 12, 16 e 20 estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Análises microbiológicas de musculatura durante armazenamento em gelo para os sistemas de cultivo em tanque-rede e tanque escavado.

Dia da Coleta	Coliformes Totais (NMP/g)	
	Tanque-rede	Tanque escavado
0	3,2±0,3 ^a	3,6x10 ² ±10 ^{2a}
4	<3,0±1,7 ^a	<3,0±0,0 ^a
8	<3,0±1,7 ^a	<3,0±0,0 ^a
12	<3,0±1,7 ^a	<3,0±0,0 ^a
16	8,7±10,0 ^a	<3,0±0,0 ^a
20	3,9±4,4 ^a	<3,0±0,0 ^a

Dia da Coleta	Coliformes Termotolerantes (NMP/g)	
	Tanque-rede	Tanque escavado
0	3,2±0,3 ^a	<3,0±1,7 ^a
4	<3,0±1,7 ^a	<3,0±1,7 ^a
8	<3,0±1,7 ^a	<3,0±1,7 ^a
12	<3,0±1,7 ^a	<3,0±1,7 ^a
16	3,0±3,1 ^a	<3,0±2,1 ^a
20	<3,0±1,7 ^a	<3,0±1,7 ^a

Dia da Coleta	<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)	
	Tanque-rede	Tanque escavado
0	2,9x10 ¹ ±10 ^{1a}	4,2x10 ² ±10 ^{2a}
4	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
8	3,3 x10 ¹ ±10 ^{1a}	0,0±0,0 ^a
12	0,0±0,0 ^{aA}	0,0±0,0 ^a

16	0,0±0,0 ^a	1,4x10 ⁴ ±10 ^{4a}
20	3,3x10 ³ ±10 ^{3a}	0,0±0,0 ^a
Dia da Coleta	Mesófilos (UFC/g)	
	Tanque-rede	Tanque escavado
0	4,5x10 ³ ±10 ^{3a}	1,2x10 ² ±10 ^{2a}
4	1,7x10 ¹ ±10 ^{1a}	8,2x10 ³ ±10 ^{4a}
8	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
12	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
16	0,0±0,0 ^a	1,9x10 ⁴ ±10 ^{4a}
20	1,0x10 ¹ ±10 ^{1a}	8,7x10 ¹ ±10 ^{1a}
Dia da Coleta	Psicrotróficos (UFC/g)	
	Tanque-rede	Tanque escavado
0	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
4	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
8	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
12	0,0±0,0 ^a	8,7x10 ² ±10 ^{2a}
16	1,3x10 ³ ±10 ^{3a}	3,9x10 ⁴ ±10 ^{4a}
20	2,9x10 ³ ±10 ^{3a}	5,8x10 ⁴ ±10 ^{4a}
Dia da Coleta	<i>Salmonella</i> spp. (Ausência/Presença)	
	Tanque-rede	Tanque escavado
0	Ausente	Presente
4	Presente	Presente
8	Ausente	Ausente
12	Presente	Ausente
16	Ausente	Presente
20	Ausente	Ausente

Valores apresentados em Média e ± Desvio-Padrão.

^a Letras minúsculas iguais, para colunas de tanque-rede e tanque escavado não diferem entre si significativamente em relação ao tempo de armazenamento pelo teste Tukey ao nível de 5% de significância.

Os coliformes totais (subgrupo da família *Enterobacteriaceae*) a 35°C foram detectados em populações acima de 1,0x10³NMP/g, na musculatura. Os coliformes termotolerantes a 44,5-45,5°C foram detectados em populações abaixo de 1,0x10² NMP/g. Os resultados de coliformes termotolerantes na musculatura dos peixes, a ambos os tipos de cultivos, se encontram em acordo com os padrões legais vigentes preconizados pela RDC nº 12 (BRASIL, 2001), a qual estabelece limite de 10². Os dados de acordo com os diferentes tipos de cultivo, tempo de armazenamento e amostras analisadas demonstram que a qualidade microbiológica é satisfatória para a análise em questão.

Os resultados das análises de coliformes totais e termotolerantes; análise de Estafilococos coagulase positiva/g (Confirmação para *Staphylococcus aureus*); contagem

total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em placas das amostras de *swabs* de muco de superfície da pele dos peixes (Dia 00) estão relacionados na Tabela 2. Os resultados para os microrganismos pesquisados, exceto *Salmonella*, nas amostras da água em que foram capturados os peixes dos diferentes tipos de cultivos estão na Tabela 3.

Tabela 2. Análises microbiológicas de muco do *swab* de superfície dos peixes para os sistemas de cultivo em tanque-rede e tanque escavado.

Tipo de Cultivo	Coliformes Totais (NMP/cm²)	Coliformes Term. (NMP/cm²)	<i>E. coli</i> (NMP/cm²)	<i>S. aureus</i> (UFC/cm²)	Mesófilos (UFC/cm²)	Psicrotróficos (UFC/cm²)
Tanque rede	5,91x10 ^{2a}	4,1x10 ^{2a}	9,0 ^a	1,0x10 ^{6b}	9,5x10 ^{4a}	9,2x10 ^{3a}
Tanque escavado	5,68x10 ^{2a}	1,2x10 ^{1a}	4,1 ^a	4,2x10 ^{2a}	4,1x10 ^{4a}	3,2x10 ^{4ab}
Desvio padrão	4,82x10 ^{2a}	3,1x10 ^{2a}	7,2 ^a	5,6x10 ^{4a}	9,3x10 ^{4a}	3,7x10 ^{4a}
CV	83,06	148,6	109,93	108,74	137,16	181,62
p	0,48	0,09	0,23	< 0.0001	0,27	0,28

Valores apresentados em Média

^{ab} Letras minúsculas diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo teste T Student (p<0,05) Letras minúsculas iguais não diferem entre si significativamente; CV- Coeficiente de Variação; p – Probabilidade Valores apresentados em Média e ± Desvio-Padrão.

Tabela 3. Análises microbiológicas realizadas nas amostras de água dos tanque-rede e tanque escavado onde os peixes foram capturados.

Tipo de Cultivo	Coliformes Totais (NMP/mL)	Coliformes Term. (NMP/mL)	Heterotróficos (UFC/mL)	<i>E.coli</i> (NMP/mL)
Tanque-rede	8,9x10 ^{4a}	8,4x10 ^{2a}	2,5x10 ^{3a}	1,3 ^a
Tanque escavado	3,7x10 ^{2a}	2,0 ^a	3,5x10 ^{3a}	0 ^a
Desvio padrão	4,5x10 ²	8,3x10 ¹	4,0x10 ³	1,4x10 ¹
Coefficiente de variação	235,39	193,23	132,91	222,55
p	0,21	0,16	0,40	0,19

Valores apresentados em Média

^a Letras minúsculas iguais nas colunas, não diferem significativamente pelo teste T Student (P<0,05) CV- Coeficiente de Variação; p - Probabilidade

Na água do tanque-rede foi encontrada *E. coli* em uma das repetições e valores altos para Coliformes Totais. Em tanque escavado foram identificados valores baixos para coliformes totais, termotolerantes e ausência de *E. coli* na água. Esse resultado pode ter sido influenciado pelo fato das análises de uma das repetições ter sido realizada de amostra

coletada muito próximo à entrada de água; estando de acordo com os resultados apresentados pelo piscicultor, das análises microbiológicas realizadas da água que abastece os tanques, as amostras apresentaram características de água potável. Os parâmetros avaliados para a qualidade da água de cultivo seguiram a legislação do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), sendo também orientado que a *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliforme termotolerante de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente (BRASIL, 2005).

Os coliformes totais foram identificados em quase em todos os tempos de coleta para as amostras de musculatura de peixes cultivados em tanque-rede, corroborando assim com a hipótese de que tal contaminação possa ser atribuída ao tipo de água em que estavam instalados os viveiros. Na água de represamento do rio Tocantins existe uma variável de tipos de animais em seu habitat, assim como escoamento ou descarte de dejetos de esgotos sem o devido processo de tratamento. No presente trabalho, podemos deduzir que as populações de coliformes totais e termotolerantes nos tanques escavados foram afetadas pela presença de outros animais nas bordas dos tanques, que apesar de serem cercados, podem estar recebendo material fecal dos animais.

Não foi confirmada a presença de *Escherichia coli* na musculatura dos pescados, porém ocorreu nos *swabs* de muco de superfície da pele para ambos os sistemas estudados (Tabela 2) e na água coletadas do tanque-rede (Tabela 3). O limite estabelecido pela legislação brasileira para *Escherichia coli*/g em peixes frescos, resfriados ou congelados e para produtos derivados de pescado, não consumidos crus, varia de 50 a 5×10^2 NMP/g, já para produtos consumidos crus, varia de 10 a 10^2 NMP/g. Por essa bactéria estar frequentemente associada aos surtos de DTA's (Doenças Transmitidas por Alimentos), na RDC 331 e Instrução Normativa nº 60/2019, da ANVISA, os Coliformes a 45 °C foram substituídos por *E. coli* e foi incluída a análise de Enterobacteriaceae, que fornece mais informações de segurança sobre a qualidade microbiológica do produto.

Os valores para Estafilococos coagulase positivo na musculatura foram estão apresentados, em médias, na Tabela 1, sendo que apresentaram valores de até de $1,4 \times 10^4$ UFC/g (dia 16, no tanque escavado), estando em desacordo com RDC nº 331, em que está estabelecido que o limite para a presença de estafilococos coagulase positivo em pescados é de 1×10^3 UFC/g (BRASIL, 2019).

Trabalhos sugerem que a intensa manipulação durante o beneficiamento de pescados poderia ser uma das fontes de contaminação por *Staphylococcus* spp. Os *Staphylococcus aureus* é uma das principais espécies de estafilococos associada à manipulação humana e está

presente naturalmente na cavidade nasal, em cortes e feridas de pele, na garganta e nos cabelos dos seres humanos (BARTOLOMEU, 2011).

Estafilococos coagulase positiva foram identificados no *swab* de muco da pele, estando presente em populações elevadas para os exemplares do tanque-rede e do tanque escavado, reforçando a hipótese de que esses microrganismos estavam presentes nos peixes, que migraram para a musculatura, pela manipulação ou injúrias causadas nos tecidos pelo gelo.

As maiores contagens de mesófilos na musculatura foram de $14,5 \times 10^3$ UFC/g e $9,5 \times 10^4$ UFC/cm² no *swab* de muco de superfície da pele, nos peixes obtidos do tanque rede. Para o tanque escavado, as amostras apresentaram $1,9 \times 10^4$ em amostra da musculatura e $4,1 \times 10^4$ UFC/g no *swab* de muco de superfície da pele.

Não foi observado um crescimento linear significativo ($p < 0,05$) em relação ao tempo de armazenamento, provavelmente em função da estocagem em gelo, podendo ainda ser indicativo que tais microrganismos não tiveram tempo de multiplicação ou de invasão na musculatura. Mesmo nos casos em que estavam presentes nos dias iniciais, nos resultados para musculatura, não houve aumento significativo de unidades formadoras de colônias, evidenciando boas características de armazenamento e manipulação durante o experimento.

Os valores encontrados não podem ser comparados a um padrão, por falta de padrão nacional brasileiro, porém Agnese et al. (2001) relatam que valores de microrganismos mesófilos superiores a 10^6 UFC/g na musculatura de peixe são considerados críticos com relação ao grau de frescor. Estando o trabalho citado baseado em normas internacionais que definem padrões para tal grupo de microrganismos.

Considerando, assim, o limite de 10^6 , os resultados obtidos no presente estudo para aeróbios mesófilos, foram considerados satisfatórios nos dois tipos de sistema de cultivo, na musculatura.

Apesar de não haver padrão na legislação brasileira para microrganismos psicrotróficos em pescado, esses microrganismos são responsáveis pela diminuição da vida de prateleira do pescado por constituírem seus principais deteriorantes (MARTINS et al., 2002). Foram encontrados psicrotróficos na musculatura dos peixes obtidos de tanque escavado a partir 12º dia de armazenamento em gelo, e do 16º dia para o pescado oriundo do tanque-rede. Houve crescimento linear em ambos os tipos de cultivos, com valores que ultrapassaram $5,0 \times 10^4$ UFC/g no 20º dia de armazenamento.

A temperatura de armazenamento influencia muito no crescimento de microrganismos pertencentes ao grupo de psicrotróficos (desenvolvem-se a 0°C em menos de duas semanas).

Quando o pescado é conservado entre 0 e 5°C, a microbiota vai sofrendo alterações graduais, pois a maioria das bactérias *Pseudomonas*, *Vibrio* e *Moraxella* desenvolvem-se nesta faixa de temperatura, enquanto a maioria dos gêneros *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* etc., não são capazes de desenvolver-se ou apresentam desenvolvimento muito lento (TEIXEIRA, 2012). Em relação aos microrganismos psicotróficos no muco do *swab* da pele dos peixes, os valores encontrados para os dois tipos de cultivos em que os peixes foram capturados manteve-se em torno de 10^2 e 10^3 UFC/cm².

No presente estudo foi identificada presença de *Salmonella* sp. na musculatura, *swabs* de muco de superfície da pele e na água em ambos os sistemas de cultivos trabalhados, devendo-se à relativa resistência da *Salmonella* à vários fatores ambientais e resultado de contaminação fecal quando encontrada em efluentes de água de esgoto (BRASIL, 2011b). O risco potencial é aumentado devido principalmente à identificação da *Salmonella* spp. no muco de superfície da pele dos peixes e na água que sobrevivem e à identificação de *Salmonella* nos dias 04 e 12 (tanque-rede) e nos dias 0, 4 e 16 (tanque escavado), demonstrando que esse microrganismo pode estar presente nos peixes em pequenas quantidades, associado à uma microbiota mista e numerosa, aliada ainda à uma complexa composição química e física da musculatura.

Dependendo das injúrias que esses peixes sofram, pode ocorrer migração para a musculatura ou ser contaminado com a água utilizada para a “limpeza” desses peixes durante evisceração. Apesar do beneficiamento de pescado só ser permitido em estabelecimento inspecionado, sabe-se que ainda é prática a ocorrência de evisceração dos peixes ou outros pescados no local de despesca.

A presença de *Salmonella* spp. nas amostras de musculatura se deve ao fato do Tambaqui apresentar caráter filtrador (presença de rastros branquiais) e poder acumular altas densidades de bactérias (ALMEIDA et al., 2013), além do seu habitat natural ter apresentado presença de *Salmonella* spp. Peixes capturados em ambientes poluídos por esgotos, dejetos e fezes, podem apresentar microrganismos patogênicos ou deteriorantes, pois a microbiota presente na superfície corporal, brânquias e no trato gastrointestinal dos peixes pode estar relacionada qualitativa e quantitativamente com aspectos microbiológicos do ambiente (GALETTI, 2008).

No Brasil, estudos sobre detecção de *Salmonella* spp. em peixes de cultivo são poucos disponíveis, inclusive, levantamentos de casos de salmonelose envolvendo pescados das espécies pirarucu (*Arapaima gigas* Schinz, 1822) e tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier 1818), os dois peixes mais cultivados da Amazônia, são integralmente inéditos,

ficando evidente que mais estudos devem ser desenvolvidos no sentido de identificar a presença ou ausência desses patógenos na produção de pescado. Podendo auxiliar nos trabalhos de inspeção de pescados, para o emprego da avaliação de risco, método mais usado por países europeus e até pelo Brasil nos trabalhos de identificação, inspeção e fiscalização em abatedouros frigoríficos de várias espécies, inclusive de peixes.

A *Samonella spp.* e *E. coli* foram confirmadas através de provas bioquímicas, sendo que foram realizadas as provas bioquímicas, de acordo com MM, subseções 4.4.4 e 4.4.5. Como foram retiradas cinco UFC de cada placa de Ágar Nutriente, após crescimento típico em meios seletivos, foram realizadas provas bioquímicas para o total de 375 inóculos de amostras de *Swab* de muco da pele, água e musculatura, dos dois tipos de cultivos para *Salmonella spp.* e de 86 para *E. coli*, também de ambos os tipos de cultivo.

Nos resultados bioquímicos, além das características típicas, foram identificadas características classificadas como atípicas para *Salmonella spp.*, como as que fermenta Lactose que não descarboxila a Lisina, servindo para trabalhos futuros para o isolamento de sorotipos de *Salmonella spp.* atípicas.

Trabalho concomitante a esse vem sendo desenvolvido por outra discente do Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos/UFT para tipificação das espécies de *Salmonella spp.* e *E. coli*, isoladas da musculatura e dos *swabs* de muco da pele, no presente trabalho, através de técnicas de Reação em Cadeia da Polimerase Múltipla (mPCR).

Tabela 4. Correlação de parâmetros microbiológicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui para peixes cultivados em tanque-rede e em tanque escavado.

	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	S. aureus	Mesófilos	Psicrotróficos
Tanque-rede					
Correlação de Pearson	0,2188	-0,2086	0,3516	-0,3552	0,5238
Probabilidade	0,38	0,41	0,15	0,15	0,03
Tanque escavado					
Correlação de Pearson	-0,3545	-0,0656	0,2029	0,1164	0,5162
Probabilidade	0,15	0,79	0,42	0,64	0,05

Coeficiente de correlação linear de Pearson (r) significativo a 5% de probabilidade

Correlacionando os dois tipos de sistemas de cultivo e o tempo de armazenamento com o número de Unidades Formadoras de Colônias ou Número Mais Provável dos microrganismos estudados (Tabela 4), observa-se que os psicrotróficos tendem a aumentar de

acordo com o número de dias de armazenamento em gelo. Tal resultado era esperado já que esses microrganismos se multiplicam em baixas temperaturas.

Em relação aos tipos de cultivos, pôde-se verificar populações maiores de *Estafilococos* coagulase positiva presente nos *swabs* do muco de pele dos tanques-rede em comparação ao tanque escavado ($p < 0,05$), podendo ser justificado pela maior manipulação dos peixes pelos piscicultores, no manejo para realização de biometrias, troca de tanques, sendo comum a prática de retirada de animais dos tanques mais distantes da beira rio para os mais próximos, para facilitar a comercialização realizada no local de despesca.

O músculo do Tambaqui *in natura* apresentou uma carga bacteriana menor em comparação ao muco de *swab* da pele. O *swab* de pele que apresentou maior contaminação por indicadores de poluição fecal, o que pode estar relacionado com a má qualidade microbiológica da água presente nos sistemas de cultivo, bem como à proximidade de animais aos locais de criação.

Em relação ao tempo de prateleira, avaliando os resultados microbiológicos, o aumento de carga microbiana para alguns patógenos só foi observado a partir do 16º dia de armazenamento em gelo, sendo os resultados satisfatórios até o dia 12 de armazenamento, excetuando-se os resultados para *Salmonella* spp. Segundo Ferreira et al. (2002) o peixe é um produto altamente perecível, quando fresco, com uma vida útil máxima de 15 dias, sob refrigeração, já Silva (2018) sugere que o tambaqui *Colossoma macropomum* inteiro armazenado em gelo tenha vida útil de 22 dias.

Apesar dos resultados obtidos serem satisfatórios, sugerimos que em trabalhos futuros sejam realizadas análises em períodos diferentes, chuvoso e seco, que permitirá determinar a qualidade e segurança do pescado em duas épocas do ano, o que aumentará a confiabilidade dos resultados, devido as interferências das chuvas principalmente na qualidade da água.

5.2 Resultados das Análises Físico-Químicas

Para os diferentes dias de armazenamento e sistemas de produção os resultados dos parâmetros físico-químicos encontrados estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros físico-químicos do Tambaqui armazenados durante 20 dias de armazenamento em gelo, para peixes cultivados em tanque-rede e tanque escavado.

Parâmetros	Tipo de cultivo: Tanque-rede					
	Tempo de Armazenamento					
	Dia 01	Dia 04	Dia 08	Dia 12	Dia 16	Dia 20
pH	6,80±0,28 ^a	7,25± 0,15 ^{ab}	7,64± 0,25 ^b	7,21±0,27 ^{ab}	7,36±0,24 ^{ab}	7,53±0,17 ^b
Umidade	76,83±1,76 ^a	78,24±1,36 ^a	78,71±0,40 ^a	77,73±2,49 ^a	77,32±2,0 ^a	79,13±0,52 ^a
Cinzas	3,91±2,36 ^a	Nd	4,41±0,42 ^a	Nd	3,13±0,37 ^a	Nd
Proteína Bruta	16,38±0,59 ^a	Nd	15,69±3,3 ^a	Nd	16,39±4,06 ^a	Nd
Lipídeos	4,36±1,47 ^a	Nd	3,98±2,6 ^a	Nd	5,38±2,45 ^a	Nd
Parâmetros	Tipo de cultivo: Tanque escavado					
	Tempo de Armazenamento					
	Dia 01	Dia 04	Dia 08	Dia 12	Dia 16	Dia 20
pH	6,52± 0,23 ^a	6,42± 0,10 ^a	6,43± 0,15 ^a	6,37±0,19 ^a	6,47±0,16 ^a	6,68±0,11 ^a
Umidade	77,77±2,03 ^a	79,11±0,20 ^a	78,32±0,42 ^a	79,21±1,24 ^a	77,49±2,72 ^a	78,64±0,87 ^a
Cinzas	1,26±06 ^a	Nd	1,07±0,14 ^{ab}	Nd	0,81±0,10 ^b	Nd
Proteína Bruta	21,34±3,04 ^a	Nd	20,76±3,36 ^a	Nd	19,60±2,90 ^a	Nd
Lipídeos	1,54±1,07 ^a	Nd	1,00±0,26 ^a	Nd	2,99±2,67 ^a	Nd

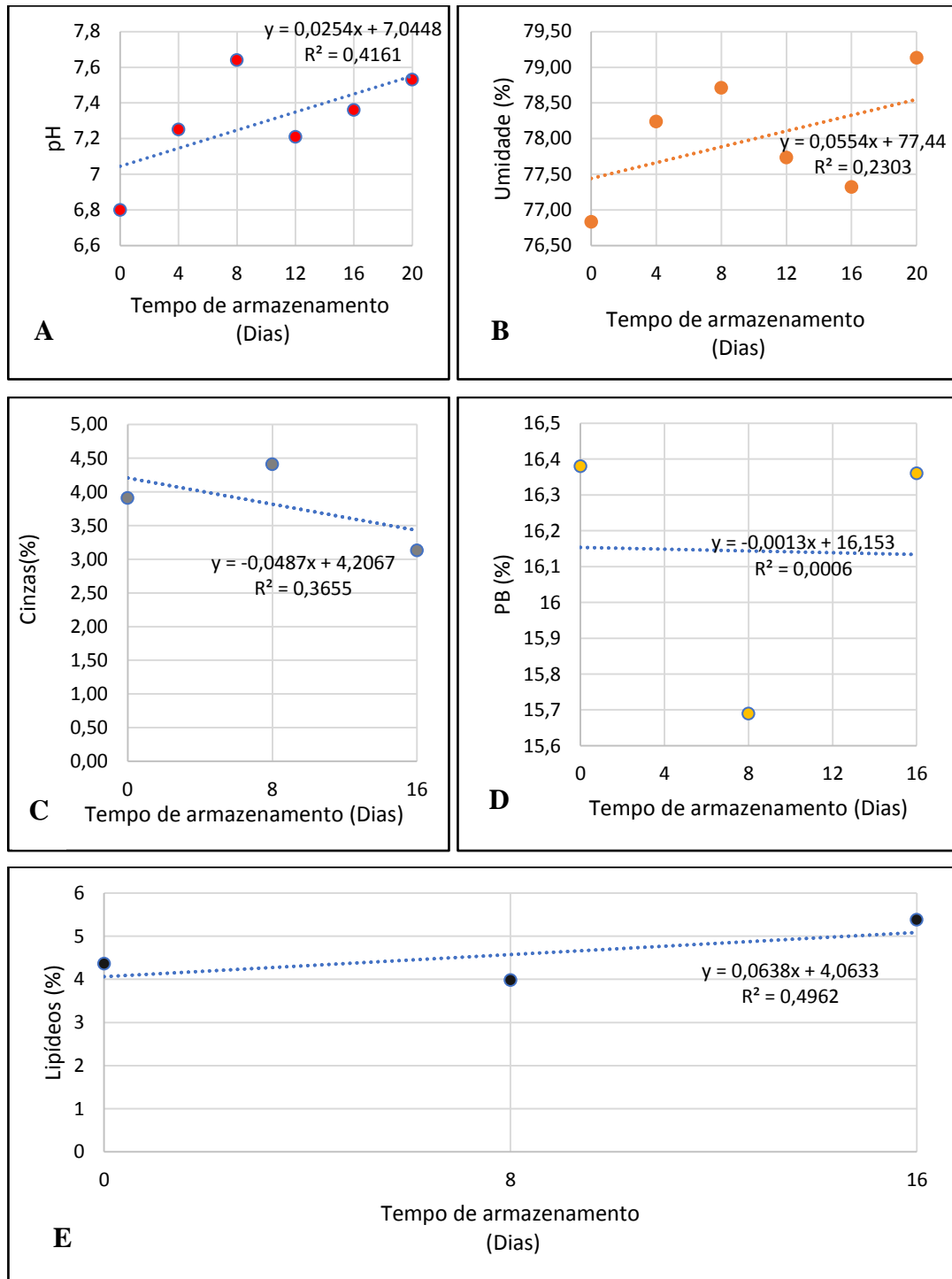
Valores apresentados em Média e ± Desvio-Padrão

Nd Não determinado

^a Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste Tukey (P<0,05) Letras iguais não diferem entre si significativamente Para proteína bruta, lipídeos e cinzas foram realizadas oletas nos dias 01, 08 e 16, conforme MM (Subseção 4.3.3).

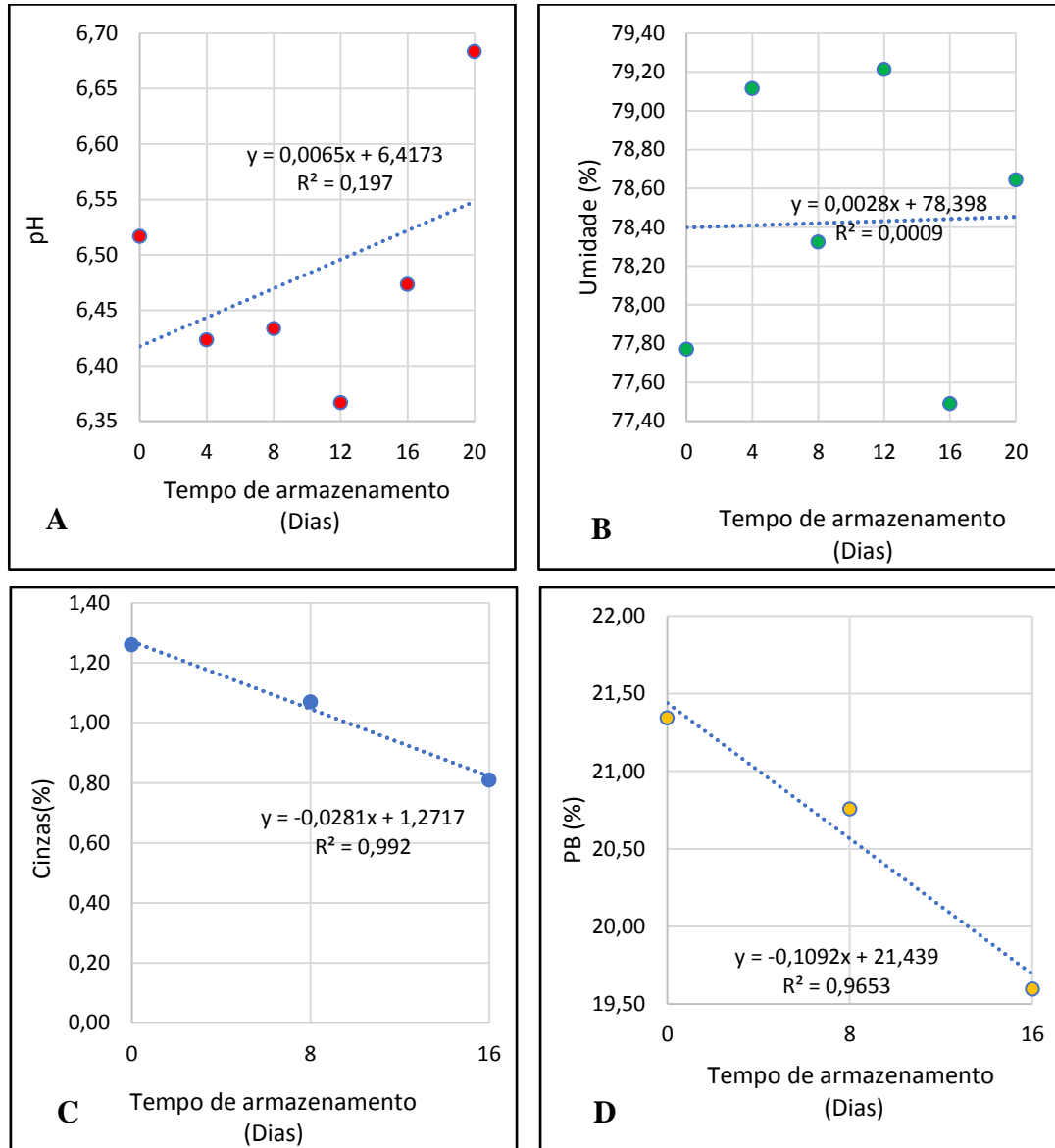
Nas figuras 12 e 13 pode ser avaliado o grau de correlação entre as variáveis físico-químicas e o tempo de armazenamento, podendo determinar se o armazenamento em gelo interfere em variáveis que estão relacionadas à qualidade do pescado também.

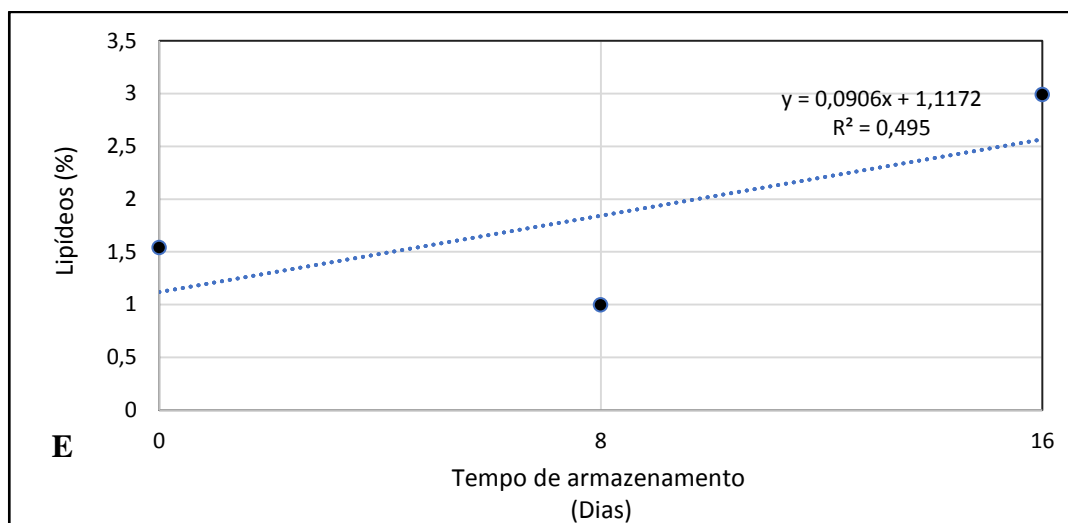
Figura 12. Avaliação da correlação de parâmetros físico-químicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, para peixes cultivados em tanque-rede.



R – Coeficiente de Correlação de Pearson; y – Variação do tempo de armazenamento; Linhas traçadas representam limites de confiança de regressão de 95%; 11A- pH; 11B -Umidade; 11C- Cinzas; 11D- Proteína Bruta (PB); 11E- Lipídeos

Figura 13. Avaliação da correlação de parâmetros físico-químicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, para animais cultivados em tanque escavado.





R – Coeficiente de Correlação de Pearson; y – Variação do tempo de armazenamento; Linhas traçadas representam limites de confiança de regressão de 95%; 12A- pH; 12B -Umidade; 12C- Cinzas; 12D- Proteína Bruta (PB); 12E- Lipídeos

Para uma maior utilização do pescado na alimentação humana é necessário o conhecimento da composição corporal dos peixes, que varia muito de uma espécie para outra e dentro de uma mesma espécie, dependendo da época do ano, do tipo e quantidade de alimento disponível, da qualidade da dieta consumida, do estágio de maturação sexual, da idade, das condições de cultivo e da parte do corpo analisada. Informações claras sobre a composição da carne possibilita a competição com outros alimentos proteicos, bem como a escolha da tecnologia a ser utilizada no seu beneficiamento e conservação (ROJAS et al., 2002).

Os valores encontrados para umidade do Tambaqui variaram de 76,83% a 80,59%, estando de acordo com os resultados de Lima et al (2018), que encontraram valores de 79% e 77,6% para lombo e costela de tambaqui, respectivamente. No presente estudo foi utilizada porção de amostras compostas de diferentes partes dos peixes, para medir o teor de umidade, não estando separadas anatomicamente.

De acordo com estudos realizados por Chomnawang et al. (2007) o pH do pescado aumentou com a idade e o tempo de armazenamento em gelo (4°C), de 6,41 (dia 0) para 7,07 (dia 15), corroborando com os resultados apresentados no presente trabalho, quando avaliamos a correlação do pH com o tempo. Portanto, quanto maior o tempo de armazenamento, maior o pH (correlação positiva), principalmente quando avaliados os resultados para tanque escavado.

O pH no sistema de produção em tanque-rede oscilou de 6,80 a 7,54, e para tanque escavado, ficou entre 6,15 e 6,78 estando os resultados para tanque-rede, acima dos níveis

permitidos (BRASIL, 2017). A utilização do pH do músculo do peixe como indicativo de qualidade é muito questionada devido aos vários fatores que interferem em seu resultado, podendo apresentar alta variabilidade, e por isso seu uso geralmente é restrito por variar de amostra para amostra (OGAWA; MAIA, 1999).

Os teores de cinzas apresentaram diferença significativa em relação aos dias de armazenamento, sendo encontrados teores de 2,81% à 5,61%, superiores aos apresentados por Lima et al. (2018), que foi de 1,3% para lombo e 0,7% para costela. Os maiores valores de cinzas encontrados podem ser atribuídos às espinhas transversais que ficaram aderidas à musculatura, e não foram retiradas durante o preparo das amostras (Tabela 6).

Os valores de proteínas encontrados foram de 16,98% a 24,67%, não apresentado decréscimo significativo que possa ser correlacionado ao tempo de armazenamento; os valores estão de acordo com os encontrados por Lima et al. (2018) para a média dos valores de proteínas da região do lombo e costelas de tambaquis, que foi respectivamente 18,73% e 17,80%, indicando ser um alimento de alto teor proteico.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados de lipídeos totais, tendo resultado entre e 1,0% a 5,38%, avaliando os dois tipos de cultivos. Os valores variaram, porém, não apresentaram diferença significativa entre as amostras e dias de coleta. Lima et al. (2018) encontraram teores de lipídeos para peixes Tambaquis, sendo os teores para lombo de 5,4% e de costela 5,5%.

O tambaqui é um peixe que apresenta teor de gordura médio e alto teor de proteína (ROJAS et al., 2002). Os altos valores encontrados para lipídeos e proteínas no presente estudo podem ser atribuídos aos tipos de cultivos, nos quais nos tanques-redes e nos tanques escavados, os peixes ficam em um pequeno espaço de área, apresentando pouca atividade física.

Tabela 6. Correlação de parâmetros físico-químicos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui para peixes cultivados em tanque-rede e em tanque escavado.

	PB	Lipídeos	Cinzas	pH	Umidade
Tanque-rede					
Correlação de Pearson	-0,0043	0,2159	-0,2532	0,8759	0,5756
Probabilidade	0,99	0,58	0,51	0,002	0,10
Tanque escavado					
Correlação de Pearson	-0,2704	0,3698	-0,9005	0,2683	0,0134
Probabilidade	0,48	0,33	0,0009	0,28	0,96

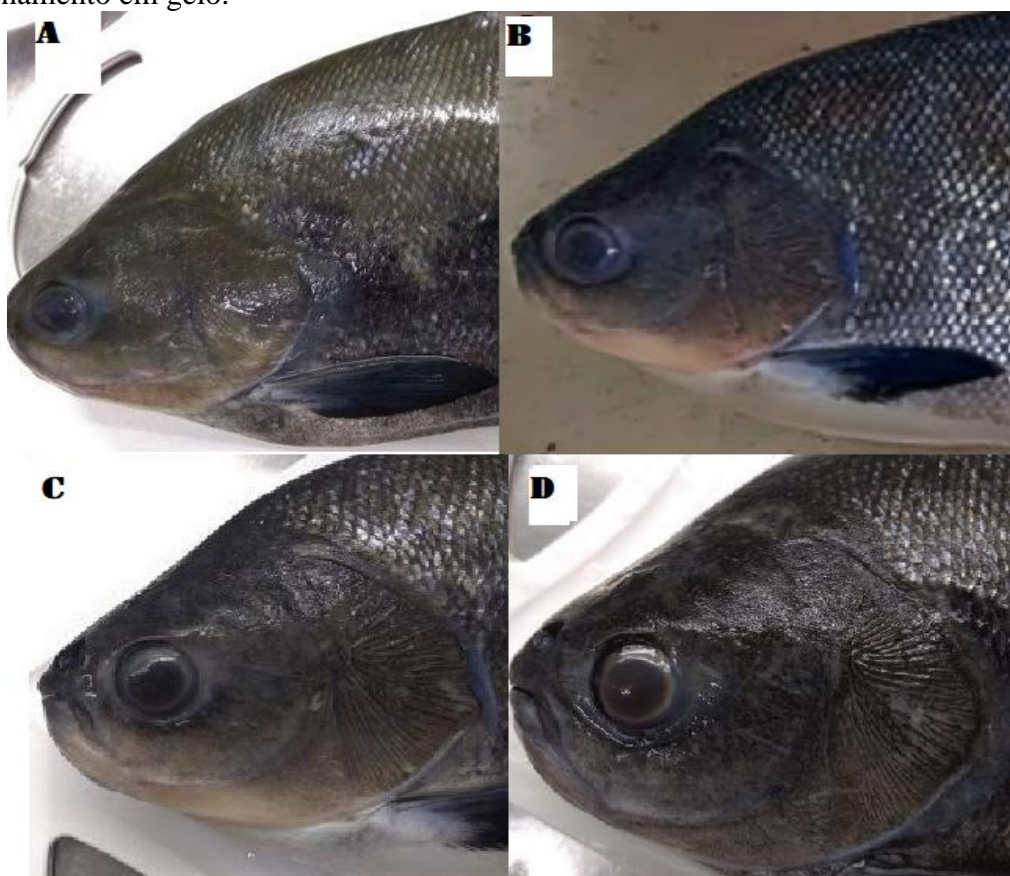
Coefficiente de correlação linear de Pearson (r) significativo a 5% de probabilidade

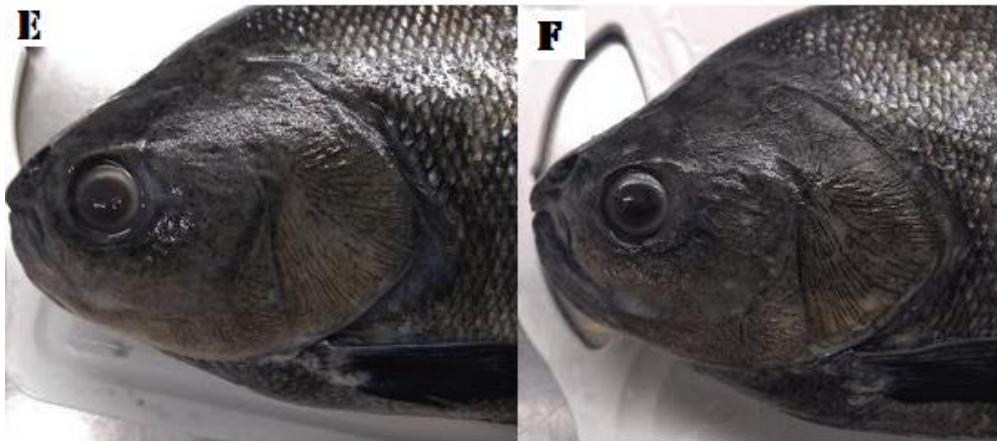
Avaliando se o tempo interferiu nos valores quantitativos dos parâmetros físico-químicos avaliados no presente estudo, só para as variáveis de pH (positiva), onde à medida que aumentava o tempo de conservação, havia também uma elevação no pH; e cinzas (negativa), onde ocorreu um decréscimo em relação ao tempo de armazenamento que pode estar relacionado a vários fatores como citado anteriormente.

5.3 Resultados das análises colorimétricas

As amostras avaliadas através da colorimetria também foram registradas fotograficamente, nas quais foi possível observar que a córnea nos dias 01 e 04 apresentavam-se translúcidas e brilhantes, e à medida da passagem do tempo foram tornando-se opacas, meio laranja, mais amareladas e menos convexas (Figura 14).

Figura 14. Aspectos dos olhos dos Tambaquis avaliados nos diferentes dias de armazenamento em gelo.





13A – Dia 0; 13B – Dia 4; 13C – Dia 8; 13D -Dia 12; 13E - Dia 16; 13F -Dia 20
Fonte: Autor, 2019

No presente estudo os valores determinados para os parâmetros de cores (L^* , a^* e b^*) para os olhos direito e esquerdo, em tempos (Dias) de análises, podem ser visualizados na tabela 7, assim como a diferença total da cor (ΔE) e a croma (C), que estão correlacionados com os parâmetros determinados nos dois tipos de produção (Tabela 8).

Os valores para L^* , a^* e b^* foram obtidos pela leitura no colorímetro, de acordo com metodologia (seção 4.6), com estes valores foram determinadas a variação total da cor (ΔE) e croma (C), sendo usado como padrão o tempo 0 do experimento. Todas as etapas foram realizadas utilizando programas para Cálculos Estatísticos, porém a utilização de software específicos e uso de algoritmos são mais indicados visando diminuir os erros de interpretação.

Tabela 7. Colorimetria de região dos olhos dos peixes durante armazenamento em gelo para os sistemas de cultivo em tanque-rede e tanque escavado.

Tanque Rede						
Atributos	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo
Avaliados	00	04	08	12	16	20
L	28,25 ±6,02ab	33,08 ±11,67 ^a	28,87 ±7,91 ^{ab}	26,87 ±5,91 ^{ab}	28,00 ±4,45 ^{ab}	25,27±5,64 ^b
a	1,3 ±0,36 ^a	1,60±0,34 ^{ac}	1,90±0,48 ^{bc}	1,86±0,37 ^{bc}	2,29±0,34 ^b	2,00±0,76 ^{bc}
b	3,48±2,25 ^a	4,32±2,45 ^a	4,56±2,14 ^a	4,03±2,29 ^a	4,49±1,87 ^a	5,15±1,96 ^a
h	63,44±15,63 ^a	64,99±12,02 ^a	63,06±12,25 ^a	60,1 ±12,98 ^a	60,54 ±8,77 ^a	65,21±16,25 ^a
C	0.38±0,26 ^a	1,00±0,93 ^{ab}	0.93±0,55 ^{ab}	1.02±0,44 ^{ab}	1.39±0,64 ^b	11.62±0,33 ^b
ΔE	2.77±2,54 ^a	1.66±0,99 ^a	4.67±1,90 ^{ab}	7.95±5,46 ^b	4.32±2,75 ^{ab}	5.71±1,86 ^{ab}
Tanque escavado						
Atributos	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo	Tempo
Avaliados	00	04	08	12	16	20
L	25.76±1,95 ^a	32.96±2,76 ^b	27.6±3,47 ^a	26.91±3,13 ^a	27.15±1,62 ^a	26.07±2,27 ^a
a	1.37±0,51 ^a	1.35±0,39 ^a	3.25±1,17 ^b	3.35±1,01 ^b	2.35±0,38 ^c	2.2±0,83 ^c
b	3,26±1,48 ^a	3,27±1,49 ^a	2,62±0,83 ^a	3,26±1,46 ^a	3,24±1,16 ^a	3,01±1,04 ^a
h	82.75±14,19 ^a	76,20±16,23 ^a	54.34 ±7,50 ^b	59.6 ±12,65 ^b	53.35 ±11,32 ^b	51.58±9,58 ^b
C	2,43±1,16 ^a	1,83±1,88 ^a	1,73±0,50 ^a	1,79±0,69 ^a	1,24±0,59 ^a	1,52±0,84 ^a
ΔE	3,78±1,86 ^a	3,91±1,76 ^a	4,58±2,48 ^a	3,47±2,43 ^a	2,44±0,54 ^a	3,93±1,20 ^a

L- Luminosidade, a*- vermelho (+a*) ao verde (-a*); b* do amarelo (+b*) ao azul (-b); diferença total de cor (ΔE*); C*- saturação; h - ângulo de tonalidade. Valores apresentados em Média e ± Desvio-Padrão

^{ab}Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste Tukey (P<0,05); Letras iguais não diferem entre si significativamente.

A variação total da cor (ΔE) pode ser visualizada na Tabela 8 e na figura 15 onde a variação da cor não mostrou uma variação linear, já os valores de L e a^* tiveram correlações, no caso de a^* , conforme aumentou o tempo, a cor ficou mais vermelha, sendo observado a partir do 4º dia um decréscimo, que voltou a aumentar após oito dias de armazenamento e mostrou uma ligeira diminuição no décimo nono e vigésimo dia, esta diminuição se deve às variações de L^* e a^* .

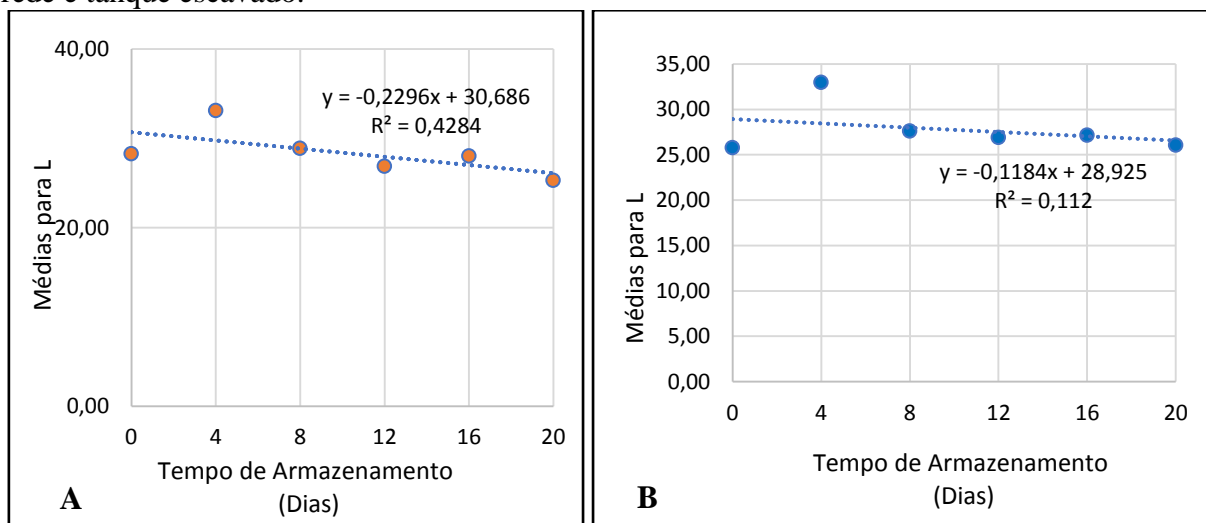
Tabela 8. Correlação de atributos avaliados através de colorímetro, na região dos olhos de Tambaqui, em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) dos cultivos em tanque-rede e em tanque escavado.

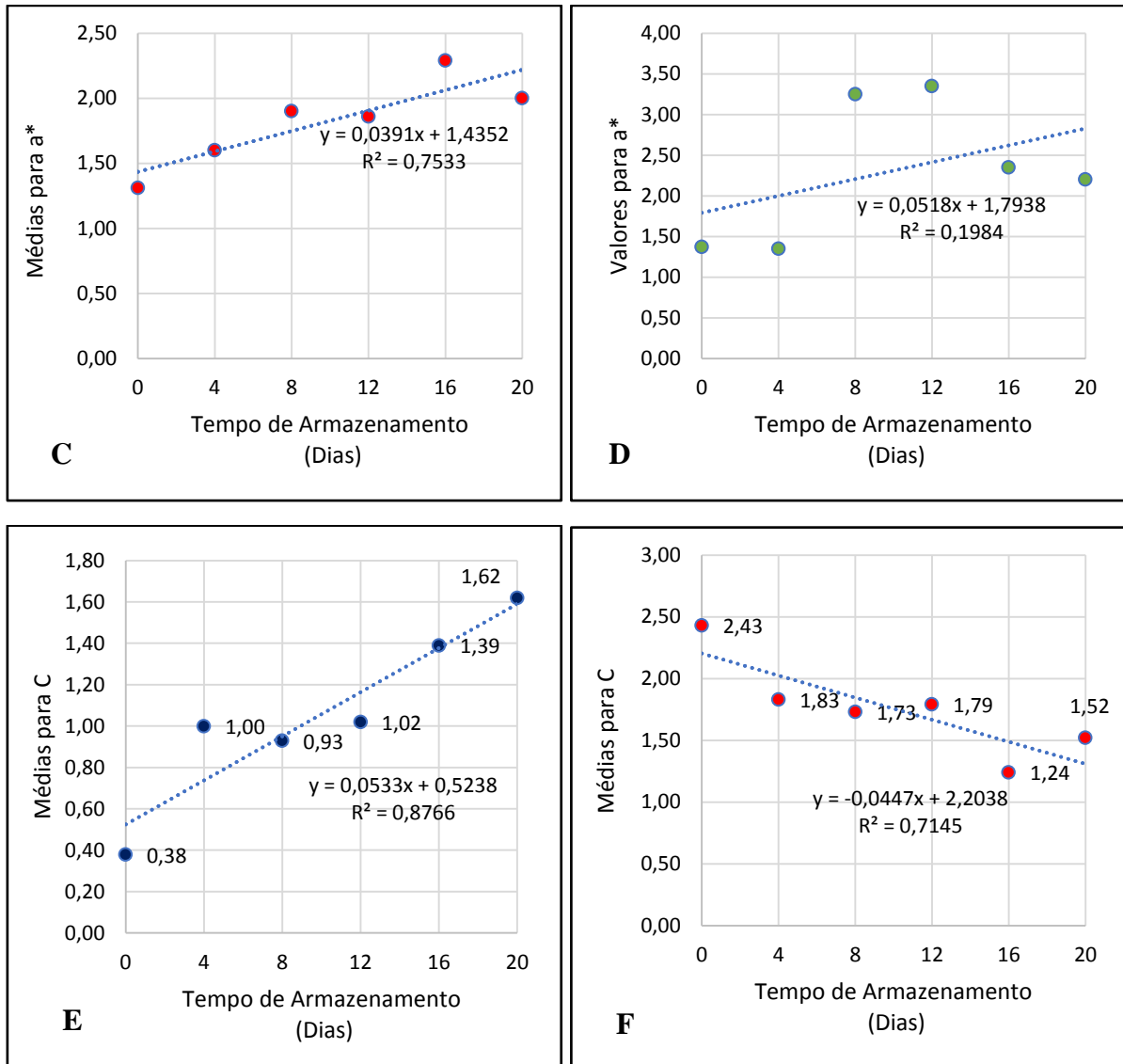
Tanque-rede						
	L	a	b	h	ΔE	Croma
Coefficiente de correlação de pearson	0,2086	0,4885	0,1872	-0,0278	0,3695	0,5487
p	0,0302	< 0.0001	0,0523	0,7755	0,0059	< 0.0001

Tanque Escavado						
	L	a	b	h	ΔE	Croma
Coefficiente de correlação de pearson	-0,2312	-0,6306	-0,0287	0,324	-0,126	-0,2882
p	0,016	< 0.0001	0,7684	0,0006	0,3639	0,0345

Coefficiente de correlação linear de Pearson (r) significativo a 5% de probabilidade

Figura 15. Correlação de parâmetros colorimétricos em relação ao tempo de armazenamento em gelo (vida de prateleira) do Tambaqui, para peixes cultivados em tanque-rede e tanque escavado.





Linhas traçadas representam limites de tendência de regressão de 95%; 14A- Resultados de L para Tanque-rede; 14B - Resultado de L para tanque escavado; 14C- Resultados de a* para Tanque-rede; 14D - Resultado de a* para tanque escavado; 14E - Resultado de C para tanque-rede; 14F - Resultado de C para tanque escavado; R^2 - Coeficiente de Determinação

Os valores de croma para os exemplares avaliados do Tanque-rede mostraram um aumento a partir do quarto dia, já para os peixes do tanque escavado, decresceu. Com os resultados, avaliando a escala de cores para CieLab e o espaço de cor L^*C^*h , podemos dizer que o colorímetro apresentou-se como uma boa ferramenta para avaliar padrões sensoriais relacionados à cor dos olhos dos peixes, pois a partir do quarto dia houve uma diminuição da luminosidade dos olhos, tendendo mais ao escurecimento, aumentando vermelho (âmbar), assim como elevou a opacidade (aumentando saturação). Esses parâmetros aproximaram-se ao observado através do visualizado e registrado através de fotografias (Figura 14).

Os parâmetros de cor dos olhos são um bom indicador para prever o tempo de armazenamento do pescado, devido principalmente não haver necessidade da retirada dos

olhos do pescado para adquirir as imagens, porém mais metodologias, buscando-se um padrão devem ser desenvolvidas, buscando diminuir as variáveis que podem interferir nos atributos avaliados.

Determinando-se padrões de cores para o uso do colorímetro nas diferentes espécies de peixes será possível o uso desses instrumentos não só para peixes, mas também para uma ampla variedade de *commodities* alimentares. A avaliação de cores pode também ser particularmente importante para o desenvolvimento de instrumentos a um custo razoável. Aplicativos fáceis de usar para smartphones ou multisensores, capazes de fornecer uma visão mais abrangente e integrada de todas as dimensões objetivas da qualidade, podem estar entre os desenvolvimentos futuros.

6. CONCLUSÕES

A detecção de diversos grupos de bactérias entéricas como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, potenciais agentes patogênicos nos lagos e tanques de cultivo de pescado sugere que devem ser seguidos rigorosos procedimentos de higiene durante a manipulação e beneficiamento de peixes oriundos de aquicultura antes do consumo para evitar a transferência de bactérias potencialmente patogênicas aos seres humanos.

Os diferentes tipos de cultivos de peixes não interferiram na qualidade físico-química dos pescados, estando essas mais relacionadas ao tempo de armazenamento.

O colorímetro mostrou-se como uma importante ferramenta para avaliação dos olhos, como parâmetro de frescor no pescado, para o uso na espécie Tambaqui, permitindo que sejam criados valores, baseados em algoritmos, assim como curvas espectrais, através da determinação de padrão qualitativo para as cores, que servirão de padrão para avaliações futuras e aplicações na prática pelos consumidores, fornecedores e industriais, não exigindo mão de obra especializada. Ademais, pode ser utilizado como ferramenta com resultado menos subjetivo quando comparada às análises sensoriais realizadas pelos métodos convencionais.

Em relação ao tempo de prateleira, o *Colossoma macropomum*, Tambaqui, inteiro armazenado em gelo, resfriado apresentou vida útil de 12 dias.

Esse trabalho poderá dar subsídio ao estabelecimento de critérios microbiológicos para os cultivos nas condições estudadas e contribuir com as instituições responsáveis pelo fomento da pesca e aquicultura no estado, tendo maior conhecimento quanto à qualidade do

pescado, em atendimento aos padrões de qualidade, produzido e ofertado aos consumidores no estado e até mesmo exportados para outros estados da federação.

7. REFERÊNCIAS

AGNESE, A. P.; DE OLIVEIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. A. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica - RJ. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo. v. 15, n. 88, p. 67-70, 2001.

ALMEIDA, E.R.; MENDES, S.H.A. Criação de Peixe no Tocantins: a contribuição da piscicultura para o desenvolvimento local. **Revista São Luis Orione Online**, Araguaína – TO, Ano XIV, v. II, n. 9 – jan./dez. 2015. Disponível em: <http://seer.catolicaorione.edu.br/index.php/revistaorione/article/download/12/10>. Acesso em: 13 out. 2017.

ALMEIDA, A. P.G; BEHR, E. R; BALDISSEROTTO, B. Rastros branquiais em seis espécies de teleósteos: influência do hábito alimentar e tamanho corporal. **Cienc. Rural**. v. 43, n. 12, p. 2208-2214, 2013.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2001.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20 ed., Washington, DC: Apha, 1998.

ANDREWS, W. H.; HAMMACK, T. S. Salmonella. In: **Food and Drug Administration. Bacterial Analytical**. Manual. Revision A. 8 ed. Arlington: AOAC International. p. 501-519, 2003.

ARAÚJO, D.A.F.V.; SOARES, K.M.P.; GÓIS, V.A. Características gerais, processos de deterioração e conservação do pescado. **PUBVET**, Londrina, v. 4, n. 9, ed. 114, art. 771, 2010.

ASHBOLT, N.J. Microbial Contamination of Drinking Water and Human Health from Community Water Systems. **Current Environmental Health Reports**, 2015; v. 2. p. 95–106. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4372141/>. Acesso em: 13 out. 2018.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17 ed. Gaithersburg, 2000. 937p.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Relatório de Gestão DIPOA 2019a**. Coordenação de Suporte à Gestão – CSG/DIPOA/DAS. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos/publicacoes-dipoa/relatorio-de-gestao-dipoa-2019>. Acesso em 10 dez. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e sua aplicação. **Resolução-RDC Nº 331, de 23 de dezembro de 2019**. Brasília, DF: Diário Oficial da União de 26 de dezembro de 2019; 2019b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 21, de 31 de maio de 2017**. Regulamento Técnico que fixa a identidade e as características de qualidade que deve apresentar o peixe congelado. Brasília, DF: Diário Oficial da União de 07 de junho de 2017; 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília, DF: Diário Oficial da União de 29 de março de 2017; 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Norma Interna DIPOA/SDA n. 1, de 9 de agosto de 2013**. Aprova os procedimentos operacionais complementares à Instrução Normativa n. 9, de 8 de abril de 2009, definindo os procedimentos para a coleta oficial de amostras para o controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo a serem adotados pelo Serviço de Inspeção Federal. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/controle-de-patogenos/arquivos-controle-de-patogenos/norma_interna_dipoa_01_2013_listeria-1.pdf. Acesso em: 02 dez.2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 25, de 2 de junho de 2011**: Anexo I: métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de pescado e seus derivados. Brasília, DF: Diário Oficial da República Federativa do Brasil de 3 de março 2011; 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella**. Secretaria de Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011b.

BRASIL. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução nº 357, de 17 de março de 2005**. Brasília, DF: Diário Oficial da União de 18 de março de 2005; 2005.

BRASIL. Ministério de Estado da Saúde. **Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011**. Brasília, DF: Diário Oficial da União de 14 de dezembro de 2011; 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Resolução-RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001**. Brasília, DF: Diário Oficial da União de 10 de janeiro de 2001; 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado). **Portaria nº185 de 13 de maio de 1997**. Brasília, DF: Diário Oficial da União de 19 de maio de 1997; 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I – Métodos microbiológicos**. Brasília, 1992.

CAMPOS, J.L.; ONO, E.A.; ISTCHUK, P.I. A cadeia de produção e preço do Tambaqui. **Panorama da aquicultura**. v. 25, n. 49, p. 42-45, 2015.

CARECHE, M.; SÁNCHEZ-ALONSO, I. Quality and Quality Changes Assessment of Processed Fish. In: BORDA, D.; ANCA, I.; RASPOR, P. **Trends in Fish Processing Technologies**. Boca Raton FL: CRC Press, cap. 12, p 255-276, 2017.

CARVALHO, M. R. B. Composição e deterioração de pescados. Semana de Ciência e Tecnologia Agropecuária. **Anais**. Jaboticabal, 2000.

CHENG, J. H. et al. **Applications of non - destructive spectroscopic techniques for fish quality and safety evaluation and inspection**. Trends in Food Science & Technology. v. 34, p. 18, 2013.

CHOMNAWANG, C. et al. Chemical and biochemical changes in hybrid catfish fillet stored at 4 °C and its gel properties. **Food Chemistry**. v. 103, n. 2, p. 420-427, 2007.

CIRNE, L.G.A. et al. Características morfológicas e da carcaça de Tambaqui abatidos com diferentes pesos. **Magistra**, Cruz das Almas. v. 30, n. 3, p. 160-167, 2019. Disponível em: <https://magistraonline.ufrb.edu.br/index.php/magistra/article/view/702>. Acesso em 01 dez. 2020.

CLARK, C.G. et al. Vigilância para *Listeria monocytogenes* e listeriose, 1995 - 2004. **Epidemiologia e Infecção**. v. 138, p. 559-572, 2010. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbs>. Acesso em: 01 dez. 2020.

CNA/EMBRAPA. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Dinâmica da produção de tambaqui e demais peixes redondos no Brasil**. 2016 Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1041302/1/CNPASA2015aa7.pdf>. Acesso em 10 nov. 2018.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. Métodos químicos para análise do pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U. E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, p. 196-209, 1988.

CORRÊA, C. F. et al. Rendimento de carcaça, composição do filé e análise sensorial do robalo-peva de rio e de Marbol. **Inst. Pesca**, São Paulo, v. 39, p. 401 - 410, 2013.

CREPALDI, D.V.; TEIXEIRA, E.A.; FARIA, P.M. C.; RIBEIRO, L. P.; MELO, D. C.; CARVALHO, D.; SOUSA, A. B.; SATURNINO, H. M. Sistemas de produção na piscicultura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 30, n. 3/4, p. 86-99, 2006.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus* enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas. v. 22, n. 3, 2002.

DAIRIKI, J. K.; SILVA, T. B. A. **Revisão de literatura: Exigências nutricionais do tabaqui – Compilações de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2011.

DELBARRE-LADRAT, C.; CHÉRET, R.; TAYLOR, R.; VERREZ-BAGNIS, V. Tendências no envelhecimento post-mortem em peixes: compreensão da proteólise e desorganização da estrutura miofibrilar. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. v. 46, p. 409-421, 2006.

EFSA. Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar. **Diretrizes para relatar dados sobre zoonoses, resistência antimicrobiana e surtos de origem alimentar usando os modelos de dados da EFSA para a estrutura de coleta de dados (DCF) a serem usados em 2017 para dados de 2016**. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/spp.efsa.2017.PT1178/pdf>. Acesso em: 10 dez 2020.

ESTEVES, E.; ANIBAL, J. Quality Index Method (QIM): utilização da análise sensorial para determinação da qualidade do pescado. In: Congresso do Algarve, 13, 2007 Lagos, Portugal. **Anais**, 2007.

FAO. 2020. Situação Mundial da Pesca e Aquicultura 2020. **Sustentabilidade em ação**. Roma. Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca9229en/online/ca9229en.html>. Acesso em: 16 dez. 2020.

FARIAS, M.C.A.; FREITAS, J.A. Qualidade microbiológica de pescado beneficiado em indústrias paraenses. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 6, p. 113-117, 2008.

FIETO. Federação das Indústrias do Estado do Tocantins. **Plano estratégico para as cadeias produtivas do agronegócio no Estado do Tocantins 2018-2027**. Palmas, 2018.

FILHO, M.X.P.; BARROSO, R.M.; FLORES, R.M.V. **Diagnóstico da cadeia produtiva da piscicultura no Tocantins**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura. 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/pesca-e-aquicultura/buscade-publicacoes/-/publicacao/992817/diagnostico-da-cadeia-produtiva-da-piscicultura-no-Estado-de-tocantins>. Acesso em 15 nov. 2018.

FOGAÇA, F.H.S.; SANT'ANA, L.S. Oxidação lipídica em peixes: mecanismo de ação e prevenção. **Archives of Veterinary Science**. v. 14. n. 2. p. 117-127, 2009.

FONSECA, M. G.; SILVA, R.J. Occurrence of *Rondonia rondoni* Travassos (Nematoda: Atractidae) in the pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holgerg (Osteichthyes: Characidae) celomatic cavity. **Reunião Anual do Instituto Biológico**. São Paulo, 2004.

GALETTI, F. S.; AZEVEDO, A. P.; AZEVEDO, R. V. P. Estudo da similaridade entre cepas de microrganismos indicadores higiênico-sanitários isolados de alimentos, superfícies de

contato e manipuladores – fenotipagem. **Revista Higiene Alimentar**. v. 22, n. 164, p. 67- 74, 2008.

GARCIA, S. S. A. **Desenvolvimento do método do índice de qualidade do peixe voador (*Hirundichthys affinis*, Günther, 1866) inteiro armazenado em gelo**. 2017. 113 f. Tese (Mestrado em Nutrição) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Ciências da Saúde. Natal, RN, 2017.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2008.

GONÇALEZ, J. C.; JANIN, G.; SANTORO, A. C. S. Colorimetria quantitativa: uma técnica objetiva de determinar a cor da madeira. **Brasil Florestal**, Brasília. ano 20, v. 72, p. 47-58, 2001.

GUERRA, A. F. **NMP/g ou mL de Coliformes a 35 e 45°C**. Valença, 1ª Edição, p.15 2015. Disponível em: www.microbiologia-de-alimentos.com. Acesso em: 12 dez. 2020.

JORGENSEN, B. M. et al. A study of the attitudes of the European fish sector towards quality monitoring and labelling. In: J. B. WAGENINGEN, J. B. **Quality of Fish from Catch to Consumer, the Netherlands**: Wageningen Academic Publishers, 2003.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo, Atheneu, p. 10-20, 2011.

GONÇALVES, P. M. R. O pescado e as bactérias do seu meio ambiente. **Hig Aliment**. v. 18 p. 29-32, 2004.

GREEN-PETERSEN, D.; NIELSEN, J.; HYLDIG, G. A model for communication of sensory quality in the seafood processing chain. In: BORDA, D.; ANCA, I.; RASPOR, P. **Trends in Fish Processing Technologies**. Boca Raton FL: CRC Press. cap. 12, p. 255-276, 2017.

HAYES, P.R. **Food microbiology and hygiene**. 2.ed. New York: Chapman and all. 1995.

HUNTERLAB. **CIE L*a*b* color scale: applications note**. v. 8, n.7, 1996. Disponível em: http://www.hunterlab.com/color_theory.php. Acesso em: 01 dez. 2020.

HUSS, H. Quality and quality changes in fresh fish. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations. Fisheries Technical Paper, 1995.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas; métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4. ed.; 1 ed. digital. São Paulo, 2008.

ISO 17604. **Microbiology of food and animal feeding stuffs - Carcass sampling for microbiological analysis**. 2 ed. The Internacional Organization for Standardization, 2015.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Micobiology**, Nova Iorque, 7th ed, EUA: Springer, 2005.

JAY, J. **Microbiologia de alimentos**. 6.^a Edição. Artmed Editora. Porto Alegre, 2000.

JIMÉNEZ, A.; GUTIÉRREZ, G. C. **Métodos para medir propriedades físicas em indústrias de alimentos**. In: ALVARADO, J.D.; AGUILERA J. M. Zaragoza: Editorial Acribia S.A. p. 325-346, 2001.

JESUS, R. S.; LESSI, E.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade química e microbiológica de “minced fish” de peixes amazônicos durante o congelamento. **Ciênc Tecnol Aliment.**, v. 21, p. 144-8, 2001.

JOBLING, M.; BAARVIK, B.M.; CHRISTIANSEN, J.S. et al. The effects of prolonged exercise training on growth performance and production parameters in fish. **Aquaculture International**. v. 1, p. 95-111, 1993.

KÄFERTEIN, E. K.; MOTARJEMI, Y.; BETTCHER, D. W. Foodborne disease control: a transnational challenge. **Emerg Infect Dis**. v. 3, p. 503-10, 1997.

KIRSCHNIK, P. G. et al. Estabilidade em armazenamento da carne de tilápia-do-nilo mecanicamente separada, lavada, adicionada de conservantes e congelada. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 48, n. 8, p. 935-942, 2013.

KUBITZA, F. Manejo na produção de peixe - parte III: O preparo dos tanques, estocagem dos peixes e a manutenção da qualidade da água. **Panorama da Aquicultura**. v. 18, p. 13 – 21, 2008.

KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da Aquicultura**. p. 27-37, 2004.

LIMA, L. K. F.; NOLETO, S. S; VERDOLIN, V. R.; LUIZ, D. B.; KIRSCHNIK, P. G. Rendimento e composição centesimal do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por diferentes cortes e categorias de peso. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 12, n. 2, p. 223 -222, 2018.

LIMA, A. F. **Sistemas de produção de peixes**. In: RODRIGUES, A. P. et al. Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. 1ed. Brasília-DF:Embrapa, cap. 4, p 97-139, 2013.

LAWLESS, H. T; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices**. 2. ed. California: Springer, 2010.

LOPES, L. C. **Controle metrológico da cor aplicado à estamperia digital de materiais têxteis**. Dissertação (Mestrado): Metrologia, PUC-RIO, Rio de Janeiro, 2009.

MASSAGUER, P.R. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo: Varela, 2005.

MARQUES, C. O.; SEABRE, L. M. J.; DAMASCENO, K. S. F. S. C. Qualidade microbiológica de produtos à base de sardinha (*Opisthonema oglium*). **Hig Aliment.**, v. 23, p. 174-175; p. 99-104, 2009.

MARTINS, C.V.B.; VAZ S.K., MINOZZO, M.G. Aspectos sanitários de pescados comercializados em “pesque-pagues” de Toledo (PR). **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n.98, p. 51-56, 2002.

MARTINS DOTTIR, E.; SVEINSDOTTIR, K.; LUTEN, J.B.; SCHELVIS-SMIT, R. HYLDIG, G. **Reference manual for the fish sector: sensory evaluation of fish freshness. QIM Eurofish**. ABI Jmuiden, Holanda, 2001.

MELO, R.R. **Análise da qualidade microbiológica do peixe (*Eugerres brasilianus*, Curvier 1830) e das águas do Estuário do Rio Itanhaém, SP, Brasil**. 2015. 72 f. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/134179>. Acesso em 16 nov. 2018.

MINOLTA, K. **Comunicação precisa da cor: controle de qualidade da percepção à instrumentação**. Seoul: Konica Minolta, 1998.

MORO, V. M. et al. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. 1ed. Brasília-DF: Embrapa, cap. 4, p 97-139, 2013.

MORÓN-FUENMAYOR, O. E.; ZAMORANO-GARCÍA, L. Pérdida por goteo en diferentes carnes crudas. **Arch. latinoam. prod. anim.** v. 11, n. 2, p.125-127, 2003.

NUNES, M.L.; BATISTA, I. **Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado**. IPIMAR. Divulgação. Lisboa, 2004.

OETTERER, M. et al. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. Barueri: Manole, 2006.

OETTERER, M. **Processamento de surimi – conhecimento das técnicas de obtenção e de controle da qualidade do produto para a introdução na indústria brasileira**. Projeto Programa de Cooperação Internacional CNPq/JAICA. Brasília: CNPq; 1998.

OGAWA, M.; MAIA, E.I. **Manual da pesca: ciência e tecnologia do pescado**. 1 ed. São Paulo: Varela, 1999.

OLAFSDÓTTIR, G.; MARTINS DÓTTIR, E.; OEHLENSCHLAGER, P. et al. **Methods to determine the freshness of fish in research and industry. Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action “Evaluation of Fish Freshness”**. Nantes, International Institute of Refrigeration. p. 287-296, 1997.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos de origem animal**. São Paulo: Artmed. v. 2, 2005.

PEDROZA FILHO, M. X.; BARROSO, R. M.; FLORES, R. M. V. **Diagnóstico da cadeia produtiva da piscicultura no estado de Tocantins**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 2014.

PEIXE BR - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **ANUÁRIO Peixe BR da Piscicultura**. 2020. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/Anuario2020/AnuarioPeixeBR2020.pdf>. Acesso em: 26 nov.

2020.

RODRIGUES, A. P. O. et al. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos**. Brasília: Embrapa, 2013.

RODRIGUES, C. S. et al. Uma visão geral sobre contaminação por *Listeria monocytogenes* em alimentos cárneos, laticídeos e pescado prontos para o consumo. **Cienc. Rural**. v. 47, n.2, 2017.

ROJAS, G. A, FRACALOSSI, D. M.; INDRUSIAK, J. D. Composição Corporal de Tambaqui, *Colossoma macropomum*, e Matrinxã, *Brycon cephalus*, em Sistemas de Cultivo Intensivo, em Igarapé, e Semi-Intensivo, em Viveiros. **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, n.3, p.1059-1069. 2002.

SANTIAGO, J. A. S. et al. Bactérias patogênicas relacionadas à ingestão de pescados. **Rev. Arquivos de Ciências do Mar**. 2013; p. 46. Disponível em: <http://www.periodicos.ufc.br/arquivosdecienciadomar/article/view/908> >. Acesso em: 22 de jun. 2019.

SILVA, M. L. B. P. et al. Desenvolvimento de um esquema de índice de qualidade e estudo de vida de prateleira para tambaqui inteiro (*Colossoma macropomum*). **Acta Amazonica**. v. 48. p. 98-108, 2018.

SILVA, N. da. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5.ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SOTRATI, V. V. **Caracterização molecular da microbiota e morfologia intestinal da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) após suplementação dietética com mananoligossacarídeo (MOS)**. 2014. 56f. Tese (Mestrado em Microbiologia Agropecuária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp. Jaboticaba., 2014.

TACON, A.G.J. 1987 **A nutrição e alimentação de peixes e camarões de viveiro - Um manual de treinamento. 1. Os nutrientes essenciais**. Documento de campo da FAO, Projeto GCP / RLA / 075 / ITA; Documento de campo nº 2 / E, Brasília, Brasil, 1987.

TAVARES, M.; MORENO, R.B. Pescado e derivados. In: **Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. Brasília: Anvisa, cap. 18, p. 633-43, 2005.

TEIXEIRA, A. R. G. **Avaliação da Qualidade e Segurança Alimentar de carapau (*Trachurus trachurus*) descarregado na lota de Peniche**. Influência e características gerais da água de lavagem no pescado descarregado. Dissertação (Mestrado em turismo e tecnologia do mar). Instituto politécnico de Leiria – Portugal, 2012.

VÁSQUEZ, R. H. **Comparação da medida de cor de pescado entre sistema de visão computacional e colorímetro convencional no frescor do pescado**. 81 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos). Escola de Químicas e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, 2015.

VIEIRA, R.H.S. dos F. Normas e padrões microbiológicos para o pescado. In. VIEIRA, R. H. S. dos F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. São Paulo: Livraria Varela, Cap.16, p.203-210, 2004.

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

ZHOU, H. Y.; CHEUNG, R. Y. H.; WONG, M. H. Bioaccumulation of organochlorines in freshwater fish with different feeding modes cultured in treated wastewater. **Water Resource**. v. 33, nº 12, p.2747-2756, 1999.