



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CÂMPUS DE PALMAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**FELLYPHE AUGUSTHO GONZAGA CARVALHO RODRIGUES**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DE TAMBAQUI (*Colossoma  
macropomum*) CULTIVADO EM TANQUE-REDE.**

**FELLYPHE AUGUSTHO GONZAGA CARVALHO RODRIGUES**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E  
MICROBIOLÓGICA DE TAMBAQUI (*COLOSSOMA  
MACROPOMUM*) CULTIVADO EM TANQUE-REDE.**

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas, Curso de Engenharia de Alimentos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de alimentos e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Doutora. Cláudia Cristina Auler do Amaral Santos.

<https://sistemas.uft.edu.br/ficha/>

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

---

R696c Rodrigues., Fellyphe Augustho Gonzaga Carvalho .  
Caracterização físico-química e microbiológica de tambaqui (*Colossoma macropomum*) cultivado em tanque-rede. / Fellyphe Augustho Gonzaga Carvalho Rodrigues.. – Palmas, TO, 2021.

77 f.

Monografia Graduação - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus  
Universitário de Palmas - Curso de Engenharia de Alimentos, 2021.

Orientadora : Cláudia Cristina Auler do Amaral Santos

1. Tambaqui. 2. Qualidade. 3. Colorimetria. 4. Deterioração. 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).**

## FOLHA DE APROVAÇÃO

FELLYPHE AUGUSTHO GONZAGA CARVALHO RODRIGUES

### **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE TAMBAQUI (*COLOSSOMA MACROPOMUM*) CULTIVADO EM TANQUE-REDE.**

Monografia foi avaliada e apresentada à UFT – Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas, Curso de Engenharia de Alimentos para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de alimentos e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 26/04/21

Banca Examinadora



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Claudia Cristina Auler do Amaral Santos, UFT



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Glêndara Aparecida de Souza Martins, UFT



---

Prof.<sup>o</sup> Dr. <sup>o</sup> Thiago Lucas de Abreu Lima, UFT

*Dedico este trabalho à minha mãe, pai e irmãos que nunca deixaram de acreditar em mim quando nem eu mesmo acreditei.*

## AGRADECIMENTOS

À mim mesmo por ter tido a paciência necessária para passar por tanta coisa.

À minha mãe, por todos “mais longe já estive” que ouvi dela.

Aos meus amigos pelo companheirismo, paciência, broncas, prazeres, lamurias, boemias entre outros momentos que me marcaram aqui.

Ao colegiado de Engenharia de alimentos que apesar dos pesares me proporcionou maravilhosos momentos de crescimento.

À minha orientadora maravilhosa, Prof.<sup>a</sup>. Dra. Claudia Auler, pela dedicação, incentivo, paciência, bondade, ensinamentos, oportunidades e apoio.

Aos colegas de curso principalmente a Weyda, Maria, Tainara e Jarlene que fizeram dessa caminhada por vezes muito turbulenta outras vezes muita calma, mas sempre deliciosas foi um prazer estar com todos vocês.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia de alimentos (LMA), Jessica, Dheyson, Debora, Priscila e Paola e a equipe maravilhosa do pescado Rose e Regina, pela ajuda orientação, companheirismo, amizade e as milhões de histórias compartilhadas ali.

A Caju por proporcionar tantos momentos de aprendizados e de troca de experiência.

À Universidade Federal do Tocantins (UFT), que me proporcionou tantas vivências fantásticas que eu nem sonharia se não tivesse ingressado.

Ao SINTET pelo auxílio durante minha graduação.

Ao senhor ex (quase atual) Luiz Inácio Lula da Silva pela criação do PNAES.

Ao Douglas pelo apoio na realização das análises físico-químicas (LANA);

Aos piscicultores que permitiram a utilização dos peixes no experimento.

A todos, meus sinceros agradecimentos.

*“E novamente ele mergulhou na orgia física e  
completou a tarefa, e Bang! Como a voz tinha  
predito, o chá estava amargo.”*

*Malaclypse o Jovem, KSC*

## RESUMO

O estado do Tocantins tem um grande potencial para o desenvolvimento da cadeia de pescado por possuir condições ambientais favoráveis. Dentre os peixes com alto potencial para criação no estado encontra-se o Tambaqui, por conta disto e seu preço acessível pode se tornar uma proteína comum na dieta dos brasileiros. Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar os parâmetros microbiológicos e físico-químicos de pescado da espécie tambaqui (*Colossoma macroporum*), cultivada em tanque rede no represamento do rio Tocantins no município de Palmas-To. Foi também proposto o uso de colorimetria, que permite obter dados objetivos de percepções sensoriais subjetivas, construindo uma relação entre o frescor e a mudança de cor na córnea do pescado no decorrer do tempo de armazenamento. Foi identificada a presença de estafilococos coagulase positivo na musculatura após o 20º dia e no *swab* de superfície em quantidades superiores às aceitas pelas normas sanitárias). Foram detectados *Salmonella* spp. e coliformes a 45°C ( $>1,1 \times 10^3$  NMP/g) em amostras de musculatura, swab de superfície do Tambaqui e em água oriunda o de tanque-rede. Não foram identificadas colônias típicas de *Escherichia coli* na musculatura de nenhum exemplar analisado, entretanto estavam presentes na água e no swab de superfície. A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas não revelou correlação de deterioração com o tempo de armazenamento, contudo as psicotróficas se multiplicaram durante os 20 dias de armazenamento em gelo. O pH da musculatura variou de 6,80 a 7,54, e a umidade variou de 76,83% a 79,13%. Não houve mudanças significativas quanto aos valores de proteínas, lipídeos e na variação total de cor, mas observou-se um decréscimo de minerais, detecção da redução do brilho e aumento da cor verde no decorrer do tempo de armazenamento.

Palavras-chaves: tambaqui, qualidade, colorimetria, deterioração



## ABSTRACT

The state of Tocantins has great potential for the development of the fish chain, due to its favorable environmental conditions. Among the fish with high potential for breeding in the state is Tambaqui, because of this and its affordable price it can become a common protein in the diet of Brazilians. In this context, this study aimed to evaluate the microbiological and physicochemical parameters of the tambaqui species (*Colossoma macroporum*) fish, cultivated in a net tank in the damming of the Tocantins River in the municipality of Palmas-To. The use of colorimetry was also proposed to obtain objective data from subjective sensory perceptions, building a relationship between freshness and color change in the fish cornea during storage time. The presence of coagulase-positive staphylococci was identified in the musculature after the 20th day and in the surface swab in quantities greater than those accepted by health standards). Salmonella spp. and coliforms at 45°C ( $>1.1 \times 10^3$  NMP/g) in musculature samples, Tambaqui surface swab and in water from cages. No typical colonies of *Escherichia coli* were identified in the musculature of any analyzed specimen; however, they were present in water and surface swab. The total mesophilic aerobic bacteria count showed no correlation of deterioration with storage time, however psychrotrophic bacteria multiplied during the 20 days of ice storage. Muscle pH ranged from 6.80 to 7.54, and moisture ranged from 76.83% to 79.13%. There were no significant changes in the values of proteins, lipids and total color variation, but there was a decrease in minerals, detection of a reduction in brightness and an increase in green color during the storage time.

Keywords: tambaqui, quality, colorimetry, deterioration

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
2.	<b>OBJETIVOS</b> .....	14
2.1.	<b>Objetivo geral</b> .....	14
2.2.	<b>Objetivos específicos</b> .....	14
3.	<b>Referencial teórico</b> .....	16
3.2.	<b>Microbiologia do Pescado</b> .....	17
3.3.	<b>Tambaqui (<i>Colossoma macroporum</i>)</b> .....	18
3.4.	<b>Sistemas produtivos aquícolas</b> .....	20
3.4.1.	Tanque rede .....	21
3.5.	<b>Qualidade do pescado</b> .....	22
3.5.1.	Decomposição bacteriana e alterações físico-químicas .....	24
3.5.2.	Oxidação lipídica .....	26
3.5.3.	Métodos de análise físico-químicos .....	27
3.5.4.	Padrões microbiológicos para pescado .....	28
3.5.5.	Patógenos encontrados em pescados e principais riscos à saúde humana .....	29
3.5.6.	Avaliação colorimétrica .....	30
4.	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	31
4.2.	<b>Delineamento Experimental e Coleta do Material</b> .....	31
4.3.	<b>Preparo das Amostras e Análises Microbiológicas</b> .....	32
4.3.1.	Colheita de muco através de <i>Swab</i> de superfície .....	33
4.3.2.	Abate dos peixes, transporte e armazenamento das amostras .....	33
4.3.3.	Preparo e diluição das amostras para análises microbiológicas, e físico-químicas da musculatura .....	34
4.4.	<b>Análises microbiológicas</b> .....	35

4.4.1.	Quantificação de coliformes totais, coliformes à 45°C/g e confirmação da presença de <i>E. coli</i> .....	35
4.4.2.	Contagem de Estafilococos coagulase positiva/g .....	38
4.4.3.	Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos em placas ...	38
4.4.4.	Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos em placas 39	
4.4.5.	Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp/25g.....	39
4.4.5.1.	<i>Teste Tríplice-Açúcar-Ferro (TSI)</i> .....	40
4.4.5.2.	<i>Teste de descarboxilação da Lisina (LIA)</i> .....	41
4.4.5.3.	<i>Teste hidrólise da Ureia (Urease)</i> .....	41
4.4.5.4.	<i>Citrato de Simmons</i> .....	41
4.4.5.5.	<i>Teste do Indol e Motilidade (SIM)</i> .....	42
4.4.5.6.	<i>Voges-Proskauer e Vermelho de Metila (VM-VP)</i> .....	42
4.5.	<b>Análises Físico-Químicas</b> .....	43
4.5.1.	Determinação de Potencial Hidrogeniônico (pH) .....	43
4.5.2.	Umidade (método gravimétrico) .....	44
4.5.3.	Cinzas (método gravimétrico) .....	44
4.5.4.	Proteína bruta (Método Kjeldahl).....	45
4.5.5.	Lipídeos ou extrato etéreo (Método gravimétrico).....	45
4.6.	<b>Análise Colorimétrica</b> .....	46
4.7.	<b>Análise Estatística</b> .....	47
5.	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	47
5.1.	<b>Resultados dos padrões microbiológicos</b> .....	48
5.2.	<b>Resultados das Análises Físico-Químicas</b> .....	55
5.3.	<b>Resultados das análises colorimétricas</b> .....	58
6.	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	62

7.	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>65</b>
----	---	-----------

## 1. INTRODUÇÃO

Muito se discute sobre o crescimento exponencial da espécie humana, assim como as possibilidades de fornecer alimentos de qualidade e seguros para todos. A manufatura de alimentos é um dos pontos a serem estudados a fim de se manter a humanidade nutrida, de maneira que os impactos provocados pelo desenvolvimento não acarretem mudanças irreversíveis e prejudiciais ao meio ambiente (FAO, 2020). Alimentar-se de maneira saudável e sustentável atrai cada vez mais consumidores hoje e é considerado um dos principais desafios da humanidade.

No contexto alimentar, a demanda proteica é de extrema importância para saúde humana, no entanto, um dos desafios do fornecimento de proteína é a demanda pela proteína animal e seus respectivos impactos no meio ambiente na atualidade. De acordo com Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico - OECD/FAO (2016), é apresentado um panorama acerca da produção agrícola, onde se evidencia a perda do espaço das proteínas oriundas de aves, suínos e bovinos para a do pescado, que se tornou a proteína animal mais consumida, produzida e comercializada em todo mundo, e que deverá se manter assim até 2025.

Segundo Sampaio (2013, pag. 5) “Em relação à pecuária, a piscicultura permite uma produção de proteína por hectare 20 a 80 vezes maior, considerando-se a produção de 100 kg carne/ano, em um hectare de boa pastagem”. Tal informação além de contribuir para ideia de que a piscicultura é mais eficiente no âmbito de produção de proteína, pode-se relacionar também ao impacto ambiental causado por esta atividade, que por sua vez é menor, se tornando uma prática mais sustentável.

O Brasil já foi considerado o país com maior potencial para o desenvolvimento da pesca e aquicultura. Hoje, ocupa a 13ª posição na produção de peixes em cativeiro, e a 8ª na produção de peixes de água doce. Tal apontamento evidencia que o potencial de produção de pescado do país está sendo desperdiçado, tendo em vista que o país conta com uma grande variedade de corpos de água passíveis de exploração. Ressalta-se ainda alguns dos entraves dessa cadeia, que seriam a falta de informações sobre o setor e a falta de investimentos em pesquisa e tecnologia, a fim de tornar as atividades mais sustentáveis, eficientes, rentáveis e seguras (FOGAÇA, 2020).

O estado do Tocantins apresenta um excelente potencial para a prática da piscicultura, por possuir em seu território uma grande disponibilidade hídrica, contando com a segunda maior bacia hidrográfica do país e com reservatórios de hidrelétricas. As temperaturas elevadas e grande luminosidade durante o ano todo também são fatores que favorecem o desenvolvimento dos peixes no estado (FILHO; BARROSO; FLORES, 2014). Segundo dados do Anuário Peixe BR (2021), em 2020 o estado do Tocantins produziu 14.804 toneladas de pescado, com aumento de 11,3% sobre o ano anterior. Com esse resultado, mantém a 18ª posição no ranking dos estados produtores, evidenciando que mesmo com as dificuldades encontradas pelo setor, a produção continua crescendo.

Visto a importância da piscicultura faz-se necessário uma avaliação da qualidade dos peixes que são produzidos, ressaltando ainda a grande informalidade na comercialização. O pescado é um alimento altamente perecível, que se deteriora rapidamente se não for manipulado, processado e armazenado adequadamente seguindo os padrões de qualidade e segurança (PEIXE BR, 2019).

Com a pesca de peixe sendo a principal atividade dentro da cadeia da aquicultura, podemos salientar ainda que foi o tipo de exploração que apresentou o maior crescimento segundo relatório “*The State of World Fisheries and Aquaculture– SOFIA (2020)*”, isso pode ser explicado pela percepção do consumidor sobre qual a proteína fará parte de sua dieta, já que com o passar do tempo pode culminar como a opção mais vantajosa, pois é um alimento de alto valor nutricional e de ótimo custo-benefício.

O consumo de pescado na América deve atingir um crescimento de aproximadamente 33% em relação aos anos anteriores até o ano de 2030 (FAO, 2018), sendo de suma importância a obtenção de dados que auxiliem no processo de descrição e qualidade do pescado, com ressalva as espécies que sejam melhor adaptadas a cada bioma.

Nesse contexto, torna-se imprescindível estabelecer informações que auxiliem no controle de qualidade, que nos tragam ponderações acerca do processo de deterioração e a vida útil do pescado, visto que existem na literatura poucos registros que forneçam padrões acerca da qualidade de espécies amazônicas, como o tambaqui *Colossoma macroporum* (Cuvier, 1818) (Characiformes, Serrasalminidae) cultivados em tanque rede.

## 2. OBJETIVOS

### 3. Objetivo geral

Analisar parâmetros microbiológicos e físico-químicos de pescado da espécie tambaqui (*Colossoma macroporum*) cultivado em tanque rede no represamento do rio Tocantins, município de Palmas.

### 4. Objetivos específicos

- Determinar composição parcial de tambaqui desde a despesca até o 20º dia de armazenamento em gelo, sendo a cada 4 dias aferidos a umidade e pH e a cada 8 dias cinzas, proteína e lipídios;
- Determinar coliformes totais e termotolerantes a 45°C, pesquisa de *Salmonella* spp., e contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos e heterotróficos em amostras de água do tanque rede;
- Realizar análises da musculatura do tambaqui, desde a despesca a cada 4 dias até o 20º dia de armazenamento, para detecção e quantificação de coliformes à 45°C, estafilococos coagulase positiva, e *Salmonella* spp.;
- Realizar análise da superfície do Tambaqui após despesca, para detecção e quantificação de coliformes à 45°C, estafilococos coagulase positiva, e *Salmonella* spp.;
- Realizar confirmação de presença dos patógenos alimentares *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. através de provas bioquímicas;
- Realizar a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos das amostras de swabs de superfície e musculatura do peixe desde a despesca até o 20º dia de armazenamento em gelo;
- Utilizar colorímetro para tentar prognosticar o frescor do peixe inteiro e armazenado em gelo, baseado na mudança de cor dos olhos;

- Agregar ao conjunto de estudos sobre a espécie dados que corroborem com um beneficiamento que proporcione um alimento seguro e de qualidade; e
- Correlacionar os dados microbiológicos, físico-químicos com o tempo de armazenamento de forma a identificar um possíveis relações.



## 5. Referencial teórico

### 5.1. Composição centesimal da carne de pescado

A composição centesimal é definida como relação de constituintes presentes na matéria prima alimentícia expressa em porcentagem. Comumente são estudados a presença de água, umidade, proteína, lipídeos, carboidratos e cinzas. Tais compostos se encontram em constante variação no pescado, porém após o seu abate essas variações podem influenciar na aceitabilidade do pescado para o consumo humano (LOVE, 1992)

É de conhecimento geral que diferentemente das outras fontes de proteína animal, os peixes encontram uma maior variação na sua composição, mesmo entre indivíduos da mesma espécie. Isso se deve tanto à fatores intrínsecos, como atividade migratória e período reprodutivo, como também à disponibilidade de nutrientes para seu desenvolvimento (HUSS, 1999).

Como há uma grande variabilidade acerca da composição do pescado o uso de parâmetros mais gerais podem nos dar uma falsa ideia de homogeneidade. Tendo isto em vista, com relação aos peixes de água doce, o componente em maior quantidade é a umidade que pode variar entre 64 e 82%, os lipídeos se encontram na faixa de 1 a 17 %, as proteínas apresentam valores entre 14,51 e 16,98%, as cinzas variam entre 0,85 e 0,97% e os carboidratos encontram-se na faixa de 1,2 a 2,76% segundo Guinazi (2006).

Sant'Ana (2019) estudou a espécie Pacumã *Lophiosilurus alexandri* e também fez suas contribuições acerca da composição química desse peixe de água doce, com valores de umidade por volta de 80%, proteína com 17%, cinzas 1% e lipídeos com 2%. Com relação aos lipídeos temos dois grupos de peixes, os gordos e os magros, sendo esse, o aspecto com maior índice de variabilidade mesmo dentro da mesma espécie (ROCHA et al., 1982).

Através de um experimento feito em 5 espécies de peixes comerciais do rio Nilo no Sudão durante 45 dias a composição apresentou teores de umidade na casa dos 70%, a proteína entre 17 e 22%, a gordura com teores médios entre 2 e 8% e as cinzas aproximadamente 1,5% (MALIK, 2021). Segundo tais estudos podemos observar uma tendência a determinadas faixas de valores para tais características, mas que pode variar bastante conforme os habitat e métodos de cultivo do pescado entre outros fatores.

## 6. Microbiologia do Pescado

De início, o musculo do peixe saudável é estéril já que o sistema imunológico do mesmo previne o desenvolvimento microbiano, muito diferente da pele do peixe que reflete a microbiota do ambiente no qual é cultivado. Devido a carne do pescado ser de alto valor biológico, elevada atividade de água e possuir uma série de outros nutrientes, o pescado é propício para o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes (VIEIRA, 2003)

Logo após a captura do peixe, diversas transformações bioquímicas acontecem, podendo corroborar com o desenvolvimento de microrganismos presentes em sua microbiota. Existem certos gêneros comumente encontrados na microbiota do pescado sendo eles *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrio* e *Micrococcus*, dentre estes as *Pseudomonas* e *Shewanella* segundo Franco e Landgraf (2005) são gêneros que estão intimamente ligados às alterações organolépticas do pescado.

Além da microbiota natural do pescado, ele está susceptível a contaminação microbiológica proveniente do seu manejo e beneficiamento. Tais microrganismos podem ocasionar riscos à saúde, como por exemplo: cepas psicrófilas de *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* tipo C, Clostrídios sulfito redutores, *Klebsyella* spp, *Citrobacter* spp, *Enterobacter* spp, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp, *Aeromonas* spp, *Alcaligenes* spp, *Flavobacterium* spp, enterococos e coliformes termotolerantes (GERMANO, 2015)

Algumas das espécies explicitadas merecem destaque, pois a legislação preconiza seu controle como forma de garantir a qualidade e segurança do pescado. A resolução RDC N° 12 de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, foi revogada pela RDC N° 331 de 2019, juntamente com a Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019, que estabelece padrões microbiológicos para alimentos de venda e exportação. Esses padrões cobrem principalmente os grupos microbianos que não apresentam alterações sensoriais perceptíveis na matriz alimentícia, mas mesmo assim apresentam riscos à saúde.

## 7. **Tambaqui** (*Colossoma macroporum*)

A espécie *Colossoma macropomum*, popularmente conhecida como tambaqui, (figura 1) é um peixe amazônico teleósteo, pertence à ordem Characiformes e à família Serrasalminidae. Tem como principais características, ser redondo, rústico, onívoro, reofílico, de grande porte, com reprodução que pode ser controlada na piscicultura (GOULDING, CARVALHO, 1982; KUBITZA, 2004). O tambaqui é a espécie nativa mais produzida no Brasil, contando com 44.978 estabelecimentos agropecuários de beneficiamento, majoritariamente localizados no norte e nordeste, com produção anual de 287.910 toneladas. O tambaqui também é a terceira espécie em exportação com números promissores, apresentando uma alta de 648,6% em relação a 2019 (PEIXEBR, 2020 e 2021).

Fig. 1: Exemplar de tambaqui.



Fonte: Autor, 2019.

Com o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e a pirapitinga (*Piaractus brachypomum*), bem como determinados híbridos destas espécies, o tambaqui faz parte do grupo de peixes denominados redondos (ZANIBONI-FILHO, 1997). O tambaqui pode chegar até um metro de comprimento e 30 Kg de peso. Para suprir a crescente demanda por proteína animal, aliada a necessidade de uma produção sustentável, o tambaqui demonstra um enorme potencial, pois apresenta um fácil manejo devido a sua resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido, hábito gregário e excelentes taxas de conversão alimentar (VAL et al., 1998).

De acordo com dados de 2006 da estatística brasileira da pesca (IBAMA, 2007) o preço médio do tambaqui de cultivo no Tocantins, era de 4,50 R\$/Kg. Tais dados se encontram defasados e há uma enorme pressão do setor sobre o governo para que um novo levantamento seja feito, já que os preços sobem com a inflação. Com a ferramenta presente no site do Banco Central Brasileiro, calculadora cidadão, estimamos o valor corrigido do preço médio do quilo de tambaqui, sendo 10,03 R\$/Kg pelo INPC (Índice Nacional de Preço ao Consumidor) ([IBGE, 2021](#)).

Estudos realizados por Feitosa (2018), relacionados aos aspectos econômicos da atividade piscícola, demonstram a viabilidade econômica do tambaqui, apontando que: a propriedade típica do estado do Amazonas apresenta o valor de investimento de R\$ 66.594,17 Reais/ha e um Lucro Líquido de R\$ 0,54/Kg, já por sua vez, a propriedade típica de Rondônia apresenta um investimento de R\$ 49.080,19 Reais/ha e o Lucro Líquido de R\$ 0,25/Kg, por fim, a propriedade típica de Roraima, apresenta o investimento de R\$ 43.777,18 Reais/ha e Lucro Líquido de R\$ 0,94/Kg.

Não foram encontrados estudos que estimam o investimento e o lucro líquido para o Tocantins, mas a autora Filho (2015) observou que o investimento na produção de tambaqui em viveiro escavado no Tocantins é atraente do ponto de vista econômico e financeiro. Concluindo assim, que os projetos relacionados à piscicultura na Amazônia são viáveis e bastante produtivos.

O tambaqui é produzido em sistemas aquícolas que compreendem desde o tradicional cultivo semi-intensivo em viveiros escavados, até cultivos mais extensivos em grandes barragens, como no Sudeste do Tocantins (CNA/EMBRAPA, 2016). Algumas iniciativas de cultivo intensivo para produção desta espécie em tanque-rede começam a ser validadas em campo. Os indicadores zootécnicos da produção de tambaqui em viveiros escavado levantados pelo projeto Campo Futuro são de 0,88 Kg/m<sup>2</sup> de densidade de estocagem e uma taxa de conversão alimentar 1,8 no centro do Tocantins (CNA/EMBRAPA, 2014; 2015). Os dados se mostram promissores, contudo, devem ser alavancados com melhor manejo e a tecnificação dos processos de beneficiamento *post-mortem*.

Quanto à composição parcial da espécie, valores encontrados na literatura são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Composição parcial do tambaqui (*Colossoma macroporum*).

<b>Umidade</b>	<b>Proteína</b>	<b>Gordura</b>	<b>Cinza</b>	<b>Autores</b>
74,33	17,01	7,60	0,95	Almeida (1998)
79,42	16,74	2,66	1,18	Andrade (2006)
72,70	19,00	6,90	1,40	TACO (2003)
31,07*	-	9,69*	1,25*	Amaral (2013)
66,30*	24,80*	5,80*	3,10*	Aguiar (1996)

Valores percentuais; \* Filé de tambaqui.

## 8. Sistemas produtivos aquícolas

A produção de pescado é conduzida de diferentes formas, sendo especificada pelo ambiente, manejo implementado, tipo de alimentação e a produtividade alcançada, são elas o sistema extensivo, semi-extensivo e o sistema intensivo (EMBRAPA, 2013).

No sistema extensivo não há controle frequente da qualidade da água, existe pouco ou nenhum arraçoamento, sendo a principal fonte de alimentação obtida no ambiente não se emprega tecnologia e geralmente pratica-se o policultivo (várias espécies no mesmo ambiente), tais práticas levam a números poucos expressivos de rendimento (SENAR, 2018). A popularização desse sistema se encontra na aquicultura familiar e lazer, sendo o de menor custo de implantação e menor quantidade de peixes por volume de reservatório.

No sistema semi-extensivo se propõe uma certa preocupação no que tange a renovação da água, assim como seu controle de qualidade frequente. A alimentação passa a ser feita por rações comerciais e se utiliza algum tipo de tecnologia como aeradores, sensores e a automatização de processos (SENAR, 2018).

No sistema intensivo, é priorizada uma espécie de pescado, o alimento é específico para espécie que se está cultivando, tem-se o controle sistemático da qualidade de água com utilização de aeradores. Se utiliza tecnologia na maioria das fases de produção e tudo isso feito com auxílio de POP's – Procedimentos padrões operacionais para se conseguir um

controle rigoroso do processo produtivo (SENAR, 2018). Tal sistema necessita de maiores investimentos, mas entrega melhores resultados e possibilita uma maior densidade de peixes.

#### Tanque rede

Segundo Ximenes e Vidal (2018), o Brasil conta com 5 milhões de hectares de áreas alagadas formadas por reservatórios de hidrelétricas, rios, áreas de garimpo, açudes, entre outros corpos de água que demonstram um enorme potencial para instalação de tanques rede. Esse sistema de cultivo é o que mais cresce no mundo, com chances de se consolidar como sistema de cultivo majoritário no país e pode se tornar o mais importante modo de cultivo de peixes no mundo.

Com a piscicultura em tanques-rede obtemos algumas vantagens em relação aos sistemas tradicionais do ponto de vista técnico, econômico, ambiental e social. As principais vantagens são (SEBRAE,2013):

- Tecnologia relativamente barata e simples, sendo aplicável a produtores com poucos recursos;
- Ser técnica e economicamente viável, praticamente em qualquer escala;
- O manejo é simples e de fácil entendimento;
- Maior gerenciamento dos processos e controle dos parâmetros de qualidade;
- e
- Despesca simples e rápida com pouca necessidade de mão de obra.

Os tanques-rede como mostra a Figura 2 exigem constante acompanhamento, se constituem de estruturas que confinam os peixes em seu interior enquanto permitem a troca de água com o ambiente, tendo sua eficiência ligada na relação entre o volume, formato, material utilizado em sua construção, qualidade da água, espécie criada, assistência técnica, ração e manejo (Woynárovich, 2019).

Figura 2: Tanque-rede instalado no lago de Palmas, utilizado no sistema intensivo no cultivo de tambaqui.



Fonte: Barbosa, 2019.

Comumente os tanques redes são feitos com redes ou malhas de aço, algum outro material esquelético podendo assumir formas cilíndricas ou retangulares, elas devem ser fixadas a um pontão se ajustando ao nível da água flutuando além de tomar cuidado para que os peixes não escapem e não deixem os predadores entrar (Woynárovich, 2019).

## 9. Qualidade do pescado

A qualidade do pescado pode ser avaliada por várias perspectivas, sendo elas qualitativas, descritivas, quantitativas ou até mesmo de maneiras subjetivas, como os estudos de análise sensorial. As variações, suas causas e seus significados para indústria de alimentos compõem o espectro de dados que constituem o conceito de qualidade, que é construído a partir da avaliação da “condição nutricional” do pescado. Esse termo é comumente usado por biólogos, que através de medidas objetivas avaliam tal aspecto, entretanto, esse conceito é bastante ligado a aceitabilidade do pescado como alimento (LOVE, 1992)

Um dos atributos da qualidade é o frescor, tal critério apesar de parecer subjetivo se mostra como o principal atributo de análise quando utilizamos métodos de avaliação como os sensoriais, microbiológicos, e os físico-químicos. Os parâmetros sensoriais são os mais utilizados pela cadeia produtiva de pescado, e pelas entidades de fiscalização sanitária por conta de sua praticidade (SOARES, 2012). O frescor pode se relacionar diretamente com diversos parâmetros sendo eles (Adaptado de Ólafsdóttir et al. 1997):

- Elevado teor Creatina, OTMA - Óxido de trimetilamina, ATP-Adenosina 5'-trifosfato, IMP - Inosina 5'-monofosfato;
- Músculo num estado próximo do *rigor mortis*;
- pH < 7,0;
- Baixo n.º de microrganismos;
- Autólise reduzida;
- Aspecto característico, cheiro fresco e textura firme.

Dentre os protocolos que são referência no mundo para a avaliação do frescor do pescado estão: (i) o *Quality Index Method* (QIM) (BREMNER, 1985), (ii) o Esquema da União Europeia (CE, 1996) e (iii) o Esquema *Torry* (SHEWAN, MACINTOSH, TUCKER, & EHRENBERG, 1953). Entretanto, a maioria desses protocolos não abarcam um número expressivo de espécies, além das dificuldades de padronização das amostras. O mais comumente empregado é o QIM, contudo, estudos de validação bacteriológica demonstram lacunas no protocolo, o que nos impele a estudar alternativas para aferir o frescor (BERNADO, 2020).

Certas variáveis podem ser estudadas de maneira qualitativa e descritiva, dentre elas a investigação da população microbiana do pescado e os parâmetros físico-químicos, que não se limitam apenas a observação do pescado, mas do ambiente em que está sendo cultivado também. Em relação ao habitat de exploração, a Resolução 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, visto que a qualidade do pescado está ligada a qualidade da água, que muitas vezes recebe despejo de poluentes.

Existem diversas práticas que são cruciais para a preservação das características do pescado, proporcionando uma menor carga de microrganismos patógenos e deteriorantes, implicando em maior vida de prateleira do pescado (PATERSON et al. 1997; HUSS, 1995). Podemos destacar alguns estudos que corroboram com a hipótese de que o processamento



impacta na qualidade do pescado, como por exemplo, o modo de captura pode aumentar de 10 a 100 vezes a carga microbiana (ASHBOLT, 2015). Quando o peixe não é insensibilizado durante o processo de abate pode-se gerar alterações indesejáveis no *rigor mortis*, que afetam o aspecto da pele, a composição química, o pH e as propriedades organolépticas da carne (PATERSON et al., 1997; ROBB, 2002). Ademais, a nutrição também fornece os subsídios para um pescado com um bom perfil de nutrientes não devendo ser negligenciada (LOVE, 1992).

Com base nas diversas formas de se conhecer a qualidade do pescado torna-se comum a associação de métodos para se obter resultados mais robustos e protocolos mais eficientes, que devem ser adequados às mais variadas situações na cadeia da piscicultura. Esse esforço se deve ao fato de que ao se conhecer a percepção de qualidade do consumidor, os produtores terão um produto competitivo (BERNADO, 2020).

Devemos destacar certos marcos regulatórios nacionais que já oferecem uma direção para a maioria dos produtores de pescado e ajudam a padronizar a qualidade de pescado e facilitam o controle sanitário desses alimentos:

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

#### Decomposição bacteriana e alterações físico-químicas

Certas transformações na matriz alimentícia do pescado se devem aos fatores intrínsecos como elevada atividade de água dos tecidos, o teor elevado de nutrientes de fácil acesso pelos microrganismos, a rápida ação destrutiva das enzimas naturais presentes nos tecidos, a alta taxa de atividade metabólica da microbiota, a grande quantidade de lipídeos insaturados e pH próximo à neutralidade (SOARES, 1998). Essas alterações ocorrem por

conta de três causas principais, sendo elas de natureza enzimática, oxidativa e bacteriana (VIEIRA, 2003). Como fatores extrínsecos merecem destaque o meio de cultivo, a manipulação e o manejo da cultura.

Após o abate do pescado, a sequência de reações autolíticas e bioquímicas começam a acontecer de maneira progressiva e gradual, reações essas que interferem no grau de frescor. Na fase de *pré rigor*, o músculo de pescado contém quantidades consideráveis de glicogênio, fosfocreatinina e adenosina 5'-trifosfato (ATP), dependentes do nível de esgotamento provocado pela captura e abate. A musculatura apresenta-se flexível e elástica, essa fase dura algumas horas, em seguida se contrai devido às ligações das proteínas contrácteis. Esse processo altera as propriedades das proteínas e, conseqüentemente, a textura do músculo, que se torna duro, rígido e inextensível, caracterizando a fase de *rigor mortis* (TEJADA 2009; HUSS, 1995).

A glicólise *post mortem* anaeróbia resulta na acumulação de ácido láctico que reduz o pH do músculo. A quantidade de ácido láctico produzido está relacionada com a quantidade de glicogênio armazenado no tecido vivo. Em geral, o músculo dos peixes contém um nível de glicogênio relativamente baixo, em comparação ao dos mamíferos (GONÇALVES, 2010). Essas alterações do pH estão ligadas a características como a textura do musculo, à medida que o pH decresce ocorre a desnaturação parcial de proteínas (HUSS, 1995).

Além do *rigor mortis* e a queda do pH, é importante destacar o processo de autólise que quebra as moléculas de proteínas e gordura devido a ação de enzimas proteolíticas e lipolíticas no pescado. A autólise só produz alterações estruturais, porém tais alterações propiciam o desenvolvimento de microrganismos, podendo levar a deterioração (GONÇALVES, 2010). Franco e Landgraf (2005) descrevem a autólise do pescado como decorrência de duas ações principais:

- Ação dos sucos digestivos: esses sucos, de natureza ácida e diversas enzimas proteolíticas atravessam a parede intestinal após a morte do pescado, atuando em seguida nos tecidos musculares;
- Ação das enzimas dos tecidos: existem também enzimas na pele e nos tecidos que levam ao amolecimento e desintegração da carne.

No início do processo de deterioração do pescado as enzimas endógenas são as principais agentes, isso enquanto a microbiota do pescado não se adaptou às alterações das condições ambientais (HUSS, 1995). O músculo permanece estéril com ligeiras alterações. A partir desse ponto, a maioria dos aspectos sensoriais surgem como sinais do metabolismo microbiano (GONÇALVES, 2010).

Franco e Landgraf (2005) ressaltam que após as reações enzimáticas ocorrerem nos tecidos do pescado, várias substâncias nitrogenadas não proteicas são disponibilizadas para as bactérias. Após o metabolismo desses compostos, as maiores alterações químicas são a produção de bases nitrogenadas voláteis e a amônia decorrente da desaminação oxidativa de compostos não proteicos.

Franco e Landgraf (2005) resumiram o processo deteriorativo de origem bacteriana da seguinte forma:

- Aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não proteicas são utilizadas pelos microrganismos logo após o término do *rigor mortis*;
- *Pseudomonas* e *Shewanella*, principalmente, desenvolvem-se utilizando rapidamente os compostos anteriores, originando produtos com aroma desagradável, alterando a composição do substrato;
- Como consequência da etapa anterior, cessa a repressão de proteínas, tendo início o processo proteolítico, levando ao aumento ou reposição de aminoácidos no substrato;
- A produção de bases e compostos voláteis, bem como a de H<sub>2</sub>S e outros compostos, é aumentada, acelerando a decomposição do pescado.

### Oxidação lipídica

Os lipídios são a forma mais concentrada de energia armazenada nos peixes e são compostos de bastante interesse na indústria por conta dos seus inúmeros benefícios à saúde, dito isso, deve-se preservar ao máximo esses compostos de reações que possam interferir na sua estabilidade (LOVE, 1992). Os lipídios são divididos em dois grandes grupos, o primeiro

consiste em triacilgliceróis (triglicérides), sendo a principal forma de armazenamento dos recursos energéticos. O segundo grupo, composto principalmente por fosfolipídios e colesterol, é essencial para a parede celular, mitocôndrias e outras estruturas sub-celulares (LOVE,1992)

As substâncias bioativas nos óleos de peixe são os ácidos graxos polinsaturados, especialmente ácido eicosapentaenóico, que tem 20 átomos de carbono na cadeia e 5 ligações duplas (20: 5), e também o ácido graxo dodecahexaenóico (22: 6). Ambos os ácidos pertencem à série n-3, ou seja, com a primeira insaturação ligada no terceiro átomo de carbono ao longo da cadeia de carbono do grupo metil (LOVE, 1992). A presença dessas substâncias bioativas de alto grau de insaturação no pescado pode agregar valor ao produto quando ainda estável na matriz alimentícia.

A estabilidade dos compostos lipídicos pode ser influenciada pelas reações de oxidação lipídica que ocorrem quando elétrons são removidos de um átomo ou um grupo de átomos, essas reações são causadas pelo oxigênio atmosférico, e em menor frequência metais, peróxido, ozônio e outros agentes oxidantes. Essas reações levam à formação de radicais livres, promovendo alterações de diversas propriedades (ARAUJO, 1995).

#### Métodos de análise físico-químicos

Os métodos físico-químico são utilizados para quantificar a formação de compostos de degradação no pescado. Segundo Soares (2012), ao tomar ciência desses parâmetros torna-se possível prever as condições em que as reações de degradação podem modificar a matéria prima alimentícia. Várias determinações podem avaliar o grau de conservação de pescado, como a medição do pH, a de bases voláteis (BVT) e a de histamina (TAVARES, MORENO 2005).

Os métodos oficiais para avaliação de pescado no Brasil estão descritos na legislação 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). No conjunto de análises descritas pela norma podemos citar que a determinação do pH é uma análise bastante empregada, tendo como

referência valores acima de 6,8 para indicar a atividade bacteriana e o acúmulo de compostos alcalinos (BRASIL, 2017).

Devemos salientar a investigação do acúmulo de NBVT - Nitrogênio das Bases Voláteis Totais provenientes das reações de deterioração do pescado, esta análise tem sido usada pra estimar o grau de frescor, contudo os valores de NBVT dependem do método de análise e não refletem o modo de deterioração (BRASIL, 2017; HUSS, 1995).

#### Padrões microbiológicos para pescado

Certos padrões são estabelecidos para a avaliação da segurança presumível dos alimentos ou pra estabelecer uma retrospectiva da qualidade microbiológica (SOARES, 2012). As entidades de controle de sanitário através de uma série de estudos estabelecem limites para a quantidade de carga microbiana no pescado.

Dentre os marcos regulatórios que estabelecem tais faixas de controle microbiano no Brasil algumas devem ser destacadas, a resolução RDC N° 12 de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a ANVISA, que foi revogada pela RDC N° 331 de 2019, juntamente com a Instrução Normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019, que estabelecem padrões microbiológicos para alimentos de venda e exportação. Na referida normativa são estabelecidos limites para grupos microbianos que não necessariamente provocam alterações sensoriais perceptíveis no pescado, mas que mesmo assim podem causar risco a saúde (BRASIL, 2001).

Os marcos regulatórios passam por diversas mudanças em decorrência dos novos estudos que são feitos e as novas percepções que são construídas. Em relação aos grupos microbianos alvos, foi inclusa a exigência de nova pesquisa no ano de 2019, para *Listeria* em alimentos destinados a lactantes e contagem para alimentos prontos para o consumo. Uma vez que a *L. monocytogenes* pode se desenvolver em baixas temperaturas se torna necessário à sua verificação e controle para evitar infecção alimentar (BRASIL, 2019).

Além da pesquisa no pescado, vale ressaltar que a água, local de cultivo do pescado, também deve obedecer a padrões microbiológicos para que não ocorra a migração de microrganismos para o pescado e seja comprovada sua sanidade. Pela natureza pecilotérmica

dos peixes, eles são acometidos por um grupo específico de microrganismos, os psicrotróficos, que crescem mesmo sob refrigeração (0 – 7°C), mas apresentam temperatura ótima acima de 20°C. As mais importantes espécies psicrotróficas deteriorantes de pescado são: *Alteromonas*, *Photobacterium* e *Vibrio* (SILVA et al., 2017). Não são preconizadas análises para aeróbios mesófilos e psicrotróficos em pescado, porém seu estudo revela a presença de patógenos e dá indicativos da qualidade sanitária.

#### Patógenos encontrados em pescados e principais riscos à saúde humana

O estudo da comunidade bacteriana dos alimentos auxilia a cadeia produtiva, evita eventuais perdas e principalmente a ocorrência de surtos de intoxicação alimentar. Dentre as cepas patogênicas salientamos as que foram descobertas nos últimos 20 anos: *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*, *Norovirus*, *Rotavirus*, *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia* (BARBOSA, 2020).

Alguns microrganismos são utilizados como indicadores da qualidade do alimento, a *Escherichia coli* como um deles fornece uma perspectiva dos padrões higiênicos sanitários no processamento dos alimentos, esses microrganismos são encontradas em moscas, animais alimentícios, humanos e animais domésticos (Cook et. al., 2009, Vasilakopoulou et al., 2009, Songe, 2017, Shaheen et al., 2010) estando presente no trato intestinal e/ou na pele desses animais, podendo ser facilmente disseminada no meio ambiente por conta da cadeia alimenta e hídrica (RYU, 2012).

Estando presente no grupo de coliformes totais, da família *Enterobacteriaceae* a *Escherichia coli* causar riscos à saúde humana. De forma semelhante a presença de números elevados de *Staphylococcus aureus* indica perigo potencial a saúde pública devido a produção toxinas, indicando falhas no processo de higienização e tratamento térmico (SILVA, 2015; FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Como consequência direta da manipulação inadequada, são apontados os *Streptococcus* spp e o *Staphylococcus aureus*, ambos de origem humana, presentes nas mucosas e superfície da pele, e que encontram no pescado ambiente favorável para sua

multiplicação (GERMANO, 2015). Em seguida, merecem destaque as bactérias do gênero *Salmonella*, tanto as de origem humana, *S. typhi* e *S. paratyphi*, quanto as de origem animal, bem como as *Shigella* spp., todas elas encontradas em águas poluídas por esgotos ou excretas animais. Nessas circunstâncias, as ostras, os mexilhões e os mariscos comumente também são acometidos por esse tipo de contaminação (GERMANO, 2015)

Os sintomas relacionados a infecção por essas cepas ou por toxinas formadas por elas vão desde náuseas, câimbras, vômitos e diarreia. No caso do *Staphylococcus aureus*, diarreia, infecção, vômitos e febre. No caso da *Escherichia coli* e *Salmonella* os sintomas são subdivididos de acordo com os grupos, sendo a febre tifoide, febre entérica e as salmoneloses as principais doenças relacionadas (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Devido ao potencial efeito danoso que tais microrganismos podem oferecer à sociedade, a qualidade do pescado deve incluir os aspectos microbiológicos no seu espectro de características desejáveis para fornecimento de alimentos seguros.

#### Avaliação colorimétrica

A cor, como uma característica sensorial é um dos principais parâmetros de qualidade avaliado durante a compra de um produto e a primeira informação que chega ao consumidor (REZENDE-DE-SOUZA et. al, 2020). Cor pode ser definida como a propriedade dos corpos em absorver e refletir luz, e tem como atributos principais o matiz, a luminosidade e a saturação. É o aspecto gerado pelas percepções do órgão visual em radiação eletromagnética visível de comprimento de onda entre ~380-400 a 740-750 nm, determinado basicamente pela fonte de luz e a superfície refletora (FERREIRA, SPRICIGO 2017).

A percepção humana sobre as cores é completamente subjetiva, e o acelerado desenvolvimento de tecnologias de manufatura, assim como a expansão da variedade de cores fez com que houvesse a necessidade do desenvolvimento de um método que aferisse as cores. A colorimetria é a ciência e o conjunto de técnicas que buscam descrever, quantificar e simular com o auxílio de modelos matemáticos a percepção da cor pelos seres humanos. Trata-se da tentativa de representar a interação da luz com os materiais, percebida pelo olho e interpretada pelo cérebro (FERREIRA, SPRICIGO 2017). A colorimetria possibilita tratar com objetividade o estudo das cores nos alimentos.

Alguns equipamentos utilizados para realizar essas inferências são:

- O espectrofotômetro de refletância que fornece a curva de distribuição de refletância da amostra, em cada comprimento de onda da faixa de medição do instrumento; e
- o colorímetro que separa as componentes *Red, Green and Blue*- RGB da luz, funcionando de forma análoga ao sistema visual humano.

Os dados obtidos nestas análises são apresentados como um espaço de cor. Eles são utilizados para definir as cores e os mais comuns são CIE XYZ; CIE L\* a\* b\*; CIE LCH, Hunter L a b e RGB, entre outros (FERREIRA, SPRICIGO 2017). A diferença nestes sistemas está relacionada à simetria da distribuição da cor e no sistema de coordenadas utilizado para definir os pontos dentro desta distribuição.

#### **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

O trabalho em questão teve seus dados coletados e analisados no município de Palmas em meados do início de 2019, as análises foram feitas nas dependências da UFT no Laboratório de Microbiologia de Alimentos por uma equipe formada pelo autor e pelas mestrandas Barbosa (2020) e Souza (2021), devido ao volume expressivo de análises o trabalho era dividido entre as equipes.

##### **10.1. 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.

##### **11. Delineamento Experimental e Coleta do Material**



Foram utilizados peixes de escamas, redondos, da espécie tambaqui (*Colossoma macropomum*) provenientes de tanques-rede instalados no lago de Palmas, no estado de Tocantins. Os peixes foram capturados com puçá e redes.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições, sendo coletados 10 (dez) peixes por repetição. Os peixes capturados deveriam 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 30 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.

As amostras de água do local de cultivo foram coletadas manualmente  $\pm 20$  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. 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 de Palmas.

Visando a detecção e quantificação de diferentes grupos bacterianos, chegando ao laboratório, as amostras de água foram imediatamente processadas em condições assépticas, no fluxo laminar, onde foram manipuladas e foram submetidas à diluição decimal seriada, 1:10 ( $10^{-1}$ ); 1:100( $10^{-2}$ ) e 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).

#### 11.1. Preparo das Amostras e Análises Microbiológicas

### 11.1.1. Colheita de muco através de *Swab* de superfície

A colheita de muco foi feita, por meio de *swabs* de superfície, de dois exemplares de peixes por repetição, 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, por meio de fricção nas escamas, com movimentos da direita para esquerda e o outro *swab*, agarrado pelo cabo, foi esfregado de baixo para cima, em uma área delimitada através de um molde metálico estéril (50cm<sup>2</sup>). O *swab* foi esfregado em um movimento rotacional para que toda a superfície do algodão entrasse em contato com a superfície do peixe, conforme metodologia adaptada de ISO 17604 (2015).

Logo em seguida, os *swabs* foram armazenados em tubo específico, as duas zaragatoas foram submersas em 10 ml de solução salina peptonada a 20 g/L com composição sendo peptona Bacteriológica, cloreto de sódio, fosfato de potássio monobásico, fosfato de sódio bibásico e água purificada, fazendo com que as partes manuseadas dos *swabs* fossem quebradas antes de mergulhá-los na solução salina. A partir da solução de imersão realizamos as diluições decimais seriadas. Os tubos foram armazenados em caixa isotérmica, mantida a temperatura de 0°C-4°C. A temperatura foi aferida através de um termômetro digital. As amostras foram transportadas imediatamente para o LMA - Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Campus de Palmas da UFT.

### Abate dos peixes, transporte e armazenamento das amostras

Os peixes foram insensibilizados por meio da utilização de uma parte de gelo para duas partes de água, sendo imediatamente guardados 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 em 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, conforme orientado pela legislação.

A temperatura foi mensurada 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 conforme ilustrado pela figura 3. Para garantir que a qualidade das amostras não fosse afetada foi estabelecido um tempo limite de 8h entre a captura e o início das análises, 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 3.** Armazenamento do pescado em gelo.



Fonte: Barbosa, 2020

Preparo e diluição das amostras para análises microbiológicas, e físico-químicas da musculatura

A pele do pescado passou por um processo de higienização 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 4).

**Figura 4.** Coleta de amostras da musculatura para análises microbiológicas e físico-químicas.



Fonte: Autor, 2019

No preparo da diluição seriada, foram utilizadas 25 gramas de músculo, retiradas de três regiões diferentes do peixe, buscando-se obter uma amostra mais heterogênea de um mesmo exemplar. Este material foi fragmentado com auxílio do bisturi e então homogeneizado com 225 mL de solução salina peptonada (0,9%), alcançando-se assim a diluição  $10^{-1}$ . Houve uma espera de no máximo 3 minutos para que a espuma se dispersasse, e então foram realizadas as diluições decimais seriadas subsequentes ( $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ ). As amostras de musculatura foram retiradas, em condições de assepsia para realização das análises físico-químicas.

## 12. Análises microbiológicas

As amostras foram submetidas a métodos analíticos quantitativos: Número Mais Provável (NMP) para coliformes a totais e coliformes à  $45^{\circ}\text{C}$ ; 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 usado para detecção de *Salmonella* sp/25g.

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

Com o intuito de se realizar a quantificação dos microrganismos presentes no muco, através de *swabs*, consideramos que o procedimento amostrou uma área de  $50\text{cm}^2$  e cada mililitro do diluente, depois de recolhidos os *swabs*, correspondeu a  $5\text{cm}^2$  de superfície (ISO

17604, 2015). Quantificação de coliformes totais, coliformes à 45°C/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 do pescado e do *swab* de superfície 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  $24\pm 2\text{h}$ . Ao término do período de incubação, foi verificado se houve produção de gás nos tubos de Durham e turvação do meio, indicando crescimento, em caso de indicativos de presença foi realizada prova confirmatória. Em caso negativo, os tubos foram incubados novamente até completar  $48\pm 2\text{h}$  e repetida a leitura, passando para prova confirmatória seguinte em caso de crescimento com produção de gás.

Para a confirmação dos coliformes totais à  $35^{\circ}\text{C}$ , uma alçada de cada tubo positivo do teste presuntivo foi transferida para tubos contendo tubos de Durham e 10 mL de meio 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  $35^{\circ}\text{C}$  o resultado foi determinado com a ajuda de Tabela de Número Mais Provável (NMP/g) para a musculatura, (NMP/cm<sup>2</sup>) para as amostras de *swab* e (NMP/mL) para as amostras de água.

Para a confirmação dos coliformes à  $45^{\circ}\text{C}$ , 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  $24\pm 2\text{h}$  de incubação à  $44,5\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  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/cm<sup>2</sup> em caso de *swab*.

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 o meio de Ágar Levine Eosina Azul de Metileno KASVI® (EMB) e incubadas em estufa a  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$  por  $24\pm 2$  horas e, depois desse período, 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  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  por  $24 \pm 2$  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 Simonns 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 com Ágar semissólido SIM (HIMEDIA®) e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após este tempo foi observada a motilidade. Foram adicionadas ao meio de cultura de três a cinco gotas do reagente de Kovac's para observar se havia o desenvolvimento de um anel vermelho violeta na superfície do meio de cultura, sendo este indicativo de teste positivo e a permanência da cor amarelada indicava teste negativo. O desenvolvimento de vários tons entre vermelho e rosa indicava teste indeterminado. A *E. coli* é indol geralmente positiva, embora também possa ser negativa.

Foi transferida uma alçada da cultura típica de *E. coli* para tubos contendo caldo MR-vp (e então incubados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por  $48 \pm 2$  horas. Após o período de incubação foi retirado 1mL da cultura, em tubo estéril, e adicionadas 3 gotas de Solução  $\alpha$ -Naftol 5% (0,6mL) e 2 gotas (0,2mL) de Solução de KOH 40% (Hidróxido de Potássio). Os tubos foram agitados entre a adição de um reagente e outro, sendo feita a leitura em 15 minutos e após uma hora, realizada 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 incubada novamente por mais 48h ( $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ), 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/cm<sup>2</sup>, quando *swab*, utilizando a técnica dos tubos múltiplos (série de três tubos) em relação aos tubos de EC.

#### Contagem de Estafilococos coagulase positiva/g

A contagem deste microrganismo foi realizada transferindo 0,1mL (100 $\mu$ L) 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 foi espalhado sobre o meio com auxílio da alça de Drigalski, e então as placas foram incubadas em estufa à 35-37°C por 45-48 horas.

Após 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 o meio de Ágar Nutriente KASVI® e foram incubadas em estufa à 35- 37°C por 18-24 horas. Após o período de incubação, foram feitas a coloração de Gram, teste da catalase, e teste de oxidase. O número de UFC/g foi calculado para a musculatura e UFC/cm<sup>2</sup> para amostras de *swabs* em função do número de colônias típicas contadas, diluição inoculada e percentual de colônias confirmadas.

#### Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos em placas

Foi realizada a semeadura em profundidade, transferindo-se 1mL (1000 $\mu$ L) 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 $\pm$ 1°C por 48 $\pm$ 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.

### 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  $7\pm 1^{\circ}\text{C}$  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.

### Pesquisa de *Salmonella* sp/25g

A análise tradicional de detecção de *Salmonella* em pescado é uma técnica clássica 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).

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.

Logo após esse tempo o recipiente 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 foram feitas estrias por esgotamento 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  $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3\text{h}$ . 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.

No Ágar Hektoen (He) a região onde colônias típicas da bactéria crescem se torna verde e as colônias são lisas, convexas, circulares, brilhantes e com coloração negra devido à produção de  $\text{H}_2\text{S}$ . 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  $\text{H}_2\text{S}$ .

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  $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 3\text{h}$ . Após a incubação foram selecionadas cinco colônias bem isoladas de cada placa de AN para os testes de confirmação bioquímica.

As cinco colônias isoladas de cada placa de AN foram submetidas aos testes de Consumo de açúcares em Ágar Tríplice-Açúcar-Ferro (TSI), descarboxilação da lisina (LIA), Hidrólise da Ureia (Urease), Citrato de Simmons, Indol e Motilidade (SIM), Vermelho de Metila (VM) e Voges-Proskauer (VP) (BRASIL, 2003).

#### 12.1.1.1. *Teste Tríplice-Açúcar-Ferro (TSI)*

Com auxílio de uma alça bacteriológica, as culturas foram inoculadas em tubos contendo 5 mL de Ágar TSI HiMedia® inclinados, por picada na base e estrias no bisel. Os tubos foram incubados em estufa a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  / 18-24 h, com as tampas levemente afrouxadas, evitando-se a produção excessiva de  $\text{H}_2\text{S}$ . No ágar TSI, estão presentes: glicose (1,0 g/L), lactose (10,0 g/L) e sacarose (10,0 g/L). Como a glicose é um monossacarídeo e está em baixa concentração, é rapidamente fermentada anaerobicamente, formando ácido no fundo do tubo, o que torna o meio amarelo pela viragem do indicador vermelho de fenol (todos os membros da família Enterobacteriaceae fermentam a glicose com produção de ácido) (Fig. 5a). A fermentação aeróbia da glicose, que ocorre na superfície do bisel, resulta em ácido pirúvico, que é posteriormente degradado a  $\text{CO}_2$  e água (BRASIL, 2003).

#### 12.1.1.2. *Teste de descarboxilação da Lisina (LIA)*

Para este teste, uma colônia foi inoculada em tubos contendo 5 mL de Ágar LIA HiMedia®, através de picada profunda e estriamento na superfície inclinada do bisel, incubando-os em seguida a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ /24 horas. Decorrido o período, observou-se a ocorrência de descarboxilação da lisina pela alcalinização do meio, o que é demonstrado pela não alteração de cor do indicador presente (Fig. 5f). Cepas de *E. coli* não são capazes de descarboxilar a lisina.

#### 12.1.1.3. *Teste hidrólise da Ureia (Urease)*

No teste de urease cada cultura foi inoculada por estrias na rampa em um tubo com 5 mL de Ágar Uréia de Christensen KASVI® inclinado e incubado a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  /  $24 \pm 3$  h. A ocorrência de viragem alcalina do indicador com alteração da cor do meio de pêssego para cor rosa escuro indica teste positivo e a permanência do meio na cor original, teste negativo. Cepas de *Salmonella* spp. não produzem urease (Fig. 5g).

#### 12.1.1.4. *Citrato de Simmons*

Uma colônia foi transferida para tubos contendo 5 mL de ágar Citrato de Simmons Acumedia® inclinado, com estrias na rampa e uma picada no fundo. Os tubos foram incubados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}/24\pm 3\text{h}$  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 indica teste negativo. Cepas de *E. coli* e *Salmonella* são negativas e positivas para este teste, respectivamente (Fig. 5e/j).

#### 12.1.1.5. *Teste do Indol e Motilidade (SIM)*

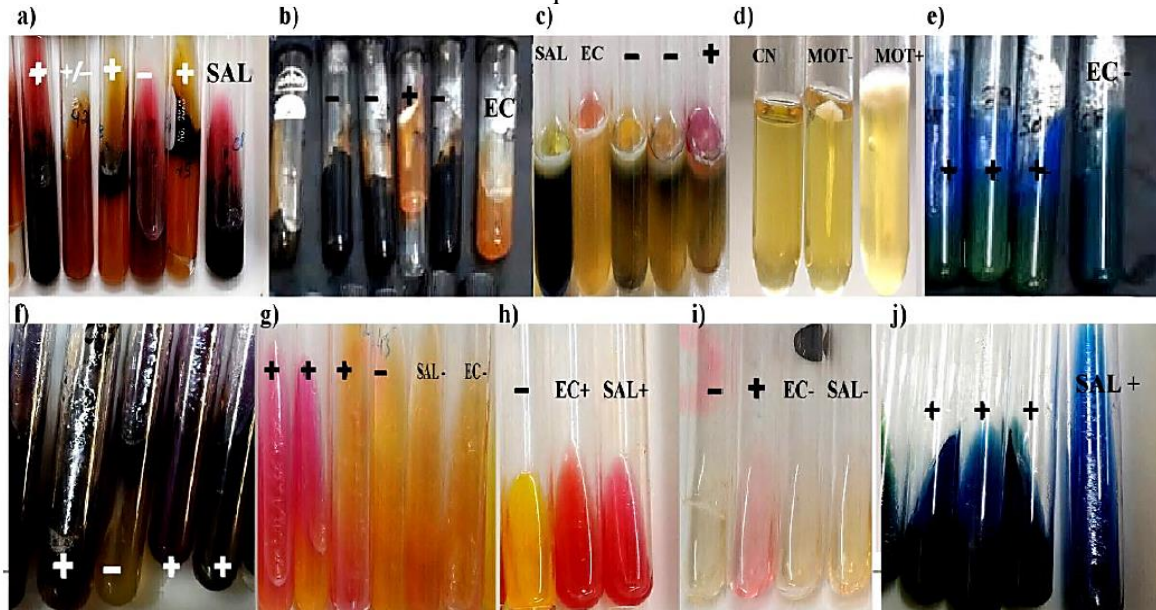
As culturas foram inoculadas em tubos de ensaio contendo Ágar semi-sólido SIM HiMedia® e incubadas a  $37 \pm 1^\circ\text{C} / 24 \pm 3 \text{ h}$ . Após esse período foi observada a motilidade (Fig. 5d). A motilidade é caracterizada pela difusão do crescimento por todo o meio. Se for restrito à linha de semeadura, indica que o microrganismo é imóvel (BRASIL, 2003). Após a leitura da motilidade, adicionou-se 2 gotas de reativo de Kovac's aos tubos para verificação da produção de indol. O desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura indica teste positivo, enquanto que a permanência da cor amarelada indica teste negativo (Fig. 5c). As cepas de *E. coli* e *Salmonella* spp. são indol positivo e negativo, respectivamente.

#### 12.1.1.6. *Voges-Proskauer e Vermelho de Metila (VM-VP)*

Primeiramente, uma alçada leve do inóculo foi inoculada em tubos contendo 3 mL de caldo MR-VP (Himedia), incubando-os a  $35^\circ\text{C} / 48 \pm 2\text{h}$ . Para o teste de VP, foi transferido assepticamente 1 mL da cultura para um tubo de ensaio autoclavado, adicionando 0,6 mL de solução de a-naftol 5% e 0,2 mL de solução de KOH 40%, com agitação entre os reagentes. Deixou-se em repouso e observou-se, periodicamente, por até uma hora, o desenvolvimento de uma cor vermelha ou rosa no meio de cultura (teste positivo). A permanência do meio na cor do reagente (amarelada ou ligeiramente esverdeada) indica teste negativo. As cepas de *E. coli* e *Salmonella* spp. são VP negativas (Fig. 5h). A cultura remanescente no caldo MR-VP foi re-incubada por 48 horas adicionais para realização do teste de VM com 96 horas de incubação. Para a realização do teste, adicionou-se quatro gotas da solução de vermelho de

metila, observando imediatamente se o meio adquiriria uma coloração vermelha (teste positivo) ou amarela (teste negativo). As cepas de *E. coli* e *Salmonella* spp. são VM positivas (Fig 5i).

**Figura 5:** Provas bioquímicas realizadas para identificação de isolados de *Salmonella* spp. em amostras de swab de superfície, musculatura e água de cultivo de Tambaqui cultivado em tanque-rede.



SAL = controle *Salmonella* spp; EC = controle *E. coli*; CN = controle negativo; MOT = motilidade; + = positivo; - = negativo; a) reações de TSI para *Salmonella* spp; b) reações de TSI para *E. coli*; c) reações em meio SIM para teste de indol; d) reações em meio SIM para teste de Motilidade; e) reações de Citrato de Simmons para *E. coli*; f) reações para teste de LIA; g) reações para teste de urease; h) reações teste de VM ; i) reações teste VP; j) reações de Citrato de Simmons para *Salmonella* spp.

Fonte: SOUZA, 2021

### 13. 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.

#### Determinação de Potencial Hidrogeniônico (pH)

Uma alíquota 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 previamente em soluções tampões com pH de 7,0 e 4,0 e o eletrodo de leitura foi inserido na amostra. Após a estabilização da leitura, foi determinado o valor de pH, na temperatura ambiente, realizado em triplicata (KIRSCHNIK et al., 2013).

#### 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:

$$\%Umidade = \frac{(Peso\ cadinho+Amostra\ Umida)-(Peso\ cadinho+amostra\ seca)}{Peso\ da\ amostra\ umida} \quad (Eq. 1)$$

O método descrito acima foi usado também para a preparação da amostra seca usada nas análises de Cinzas, Proteína bruta e Lipídios.

#### 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).

Equação usada na determinação de cinzas:

$$\%Cinzas = \left( \frac{(\text{Peso cadinho} + \text{amostra}) - (\text{Peso cadinho}) * 100}{\text{Peso da amostra}} \right) * \frac{\text{Matéria seca}}{100} \quad (\text{Eq. 2})$$

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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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, 2008).

Lipídeos ou extrato etéreo (Método gravimétrico)

Foram pesadas 2 a 5 g de amostra seca, previamente desengordurada e seca; 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:

$$\%Lipídeos = \left( \frac{(\text{Peso reboiler} + \text{amostra}) - (\text{Peso reboiler}) * 100}{\text{Peso da amostra}} \right) * \frac{\text{Matéria seca}}{100} \quad (\text{Eq. 3})$$

#### 14. Análise Colorimétrica

As amostras foram mantidas nas condições de armazenamento descritas no delineamento experimental, sendo analisadas no dia da despesca e a cada 4 dias, durante o período de armazenamento de 20 dias em gelo. 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, em todos os dias de teste foram utilizadas as mesmas amostras pareadas.

Foi realizado registro fotográfico dos olhos, e no mínimo três medições da área definida dos olhos direito e esquerdo foram efetuadas conforme ilustrado pela Figura 6. A realização de três medições de cada área foi para eliminar os erros devido esta operação ser realizada de forma manual.

Figura 6. Aferição da área dos olhos com o Colorímetro Minolta 400CR



Fonte: Barbosa, 2020

A variação total da cor ( $\Delta E$ ) 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 ( $\Delta E$ ) e a croma ( $C$ ) (Equações 4 e 5) são as propostas pela *National Bureau of Standards* (NBS) (VÁSQUEZ, 2015):

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

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

Foram realizadas as medições do  $C^*$  e  $h$ , que usa o mesmo diagrama que o espaço de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , porém utiliza coordenadas cilíndricas ao invés de coordenadas retangulares;  $C^*$  representa a saturação chamado croma, e  $h$  - hue 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,  $0^\circ$  é vermelho e  $90^\circ$  é amarelo) (MINOLTA, 1998).

## 15. 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  $p\text{-valor} < 0,05$ .

A matriz de Pearson foi utilizada para verificar a correlação entre a população microbiológica das diferentes bactérias analisadas nas diferentes amostras de musculatura do pescado, 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 pela análise colorimétrica. As análises estatísticas foram realizadas pelo *software* Past 64 bits (HAMMER 1999-2020) e Exel 2019, desenvolvido pela Microsoft.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os exemplares de tambaqui coletados apresentaram o peso vivo entre 300g e 650g. Pode-se perceber uma variação de 85% no peso do pescado, que pode estar relacionada a idade e nutrição dos animais. Tal variação de peso pode se relacionar com diferenças significativas apenas no teor de lipídeos como mostram os estudos de Lima et al, (2018) e Coutinho et al. (2019).



Após acondicionados em gelo, o pescado apresentou variação na temperatura mínima de 0,2°C e a máxima de 3,6°C, durante a realização das análises no decorrer dos 20 dias de conservação no gelo.

### 16.1. Resultados dos padrões microbiológicos

Os resultados obtidos nas análises de coliformes totais e termotolerantes, análise de Estafilococos coagulase positiva/g e confirmação para *Staphylococcus aureus*, contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos em placas e a pesquisa de *Salmonella* spp. na musculatura do pescado armazenado nos dias 00, 04, 08, 12, 16 e 20 estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Análises microbiológicas de musculatura de Tambaqui durante armazenamento em gelo.

<b>Dia</b>	<b>Coliformes Totais (NMP/g)</b>	<b>Coliformes Termotolerantes (NMP/g)</b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g)</b>
0	3,2 ±0,3	3,2 ±0,3	2,9x10 <sup>1</sup> ±10 <sup>1</sup>
4	<3,0 ±1,7	<3,0 ±1,7	0,0±0,0
8	<3,0 ±1,7	<3,0 ±1,7	3,3x10 <sup>1</sup> ±10 <sup>1</sup>
12	<3,0 ±1,7	<3,0 ±1,7	0,0±0,0
16	8,7 ±10,0	3,0 ±3,1	0,0±0,0
20	3,9 ±4,4	<3,0 ±1,7	3,3x10 <sup>3</sup> ±10 <sup>3</sup>
<b>Dia</b>	<b>Mesófilos (UFC/g)</b>	<b>Psicrotróficos (UFC/g)</b>	<b><i>Salmonella</i> spp. (Ausência/Presença)</b>
0	4,5x10 <sup>3</sup> ±10 <sup>3</sup>	0,0±0,0	Ausente
4	1,7x10 <sup>1</sup> ±10 <sup>1</sup>	0,0±0,0	<u>Presente</u>
8	0,0±0,0	0,0±0,0	Ausente
12	0,0±0,0	0,0±0,0	<u>Presente</u>
16	0,0±0,0	1,3x10 <sup>3</sup> ±10 <sup>3</sup>	Ausente
20	1,0x10 <sup>1</sup> ±10 <sup>1</sup>	2,9x10 <sup>3</sup> ±10 <sup>3</sup>	Ausente

Valores apresentados em Média e  $\pm$  Desvio-Padrão.

Não foram encontradas populações de coliformes totais a 35°C e coliformes termotolerantes a 44,5-45,5°C na musculatura que ultrapassem os limites da RDC n ° 12 (BRASIL,2001) de  $1,0 \times 10^3$  NMP/g e  $1,0 \times 10^2$  NMP/g, respectivamente, até o 20° dia de armazenamento em gelo indicando qualidade satisfatória quanto a presença deste grupo microbiano.

Podemos salientar a presença de *Salmonella* nos dias 4 e 12, já que a Instrução Normativa (IN) 60/2019 (BRASIL,2019) preconiza a ausência desse microrganismo. No 20° dia de armazenamento foi confirmada presença de *Staphylococcus aureus*, sendo a amostra classificada como inaceitável para o consumo, por estar acima do limite microbiológico de  $10^3$ , sugerindo contaminação da musculatura por conta da migração da bactéria da água para o peixe.

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 superfície do pescado estão 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 do swab de superfície do Tambaqui cultivado em tanque rede.

Dia	Coliformes Totais (NMP/cm <sup>2</sup> )	Coliformes Term. (NMP/cm <sup>2</sup> )	<i>S. aureus</i> (UFC/cm <sup>2</sup> )	Mesófilos (UFC/cm <sup>2</sup> )	Psicrotróficos (UFC/cm <sup>2</sup> )	<i>E. coli</i> (NMP/cm <sup>2</sup> )
0	$3,37 \times 10^2$	$6,12 \times 10^2$	$1,02 \times 10^5$	$9,53 \times 10^4$	$9,22 \times 10^3$	9,07
$\pm$	$4,72 \times 10^2$	$8,20 \times 10^1$	$3,46 \times 10^3$	$1,34 \times 10^5$	$6,04 \times 10^3$	7,87

Valores apresentados em Média e  $\pm$  Desvio-Padrão. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

**Tabela 3.** Análises microbiológicas da água de cultivo do Tambaqui.

Dia	Coliformes Totais (NMP/mL)	Coliformes Term. (NMP/mL)	Heteretróficos (UFC/mL)	<i>E. coli</i> (NMP/mL)
0	8,97	$8,43 \times 10^1$	$2,50 \times 10^3$	$1,27 \times 10^1$

±	1,04x10 <sup>1</sup>	1,11x10 <sup>2</sup>	2,86x10 <sup>3</sup>	1,94x10 <sup>1</sup>
---	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------

Valores apresentados em Média e ± Desvio-Padrão. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

A água do cultivo do Tambaqui apresentou valores altos para coliformes totais e detectou-se a presença de *E. coli* em uma das repetições, resultados que podem ser explicados pelo despejo de efluente não tratados no lago. Os parâmetros avaliados para a qualidade da água de cultivo obedecem a legislação do Conselho Nacional do Meio Ambiente que preconiza um máximo de 25 NMP/ mL em água doce, 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 encontrados em grande parte dos tempos de coleta para as amostras de musculatura, mesmo que água se encontre dentro dos padrões de estabelecidos pela legislação, talvez o número de amostras não tenha sido o suficiente para fornecer um panorama da qualidade da água na qual era cultivado o tambaqui por conta do tamanho expressivo ambiente de cultivo. A contaminação pode ser atribuída ao meio (lago) em que estavam instalados os viveiros. Na água de represamento do rio Tocantins existe grande variedade de animais, assim como escoamento ou descarte de dejetos de esgotos com processo de tratamento indevido.

Não foi confirmada a presença de *Escherichia coli* na musculatura dos pescados, porém ocorreu nos *swabs* de superfície (Tabela 2) e na água coletada 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 5x10<sup>2</sup> 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 (BRASIL, 2019).

Os valores para Estafilococos coagulase positivo na musculatura estão apresentados na Tabela 1. Os maiores valores foram alcançados no vigésimo dia de armazenamento, sendo 3,3x10<sup>3</sup>UFC/g, 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  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2019). Podemos levantar a hipótese que mesmo no vigésimo dia as amostras ainda se encontram próximas ao limite microbiológico estabelecido, demonstrando que as populações elevadas de *S. aureus* podem ter migrado para musculatura por meio das injúrias causadas no tecido pelo gelo ou manipulação.

Estudos indicam que a intensa manipulação e condições inadequadas de higiene durante o processamento de pescados poderia ser uma das fontes de contaminação por *Staphylococcus* spp. Os *Staphylococcus aureus* é uma das principais cepas 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).

As maiores contagens de mesófilos na musculatura foram de  $4,5 \times 10^3$  UFC/g e  $9,5 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> no swab de superfície, nos peixes obtidos do tanque rede. Os microrganismos mesófilos não apresentaram um crescimento significativo ao decorrer do período de armazenamento, mesmo sendo encontrados no primeiro dia de armazenamento. Isso evidencia que a manipulação do pescado e os aspectos do método de armazenamento foram suficientes para o controle do desenvolvimento microbiano de mesófilos.

Segundo Barbosa (2020), a falta de padrões nacionais para comparação dos dados obtidos pela contagem de microrganismos aeróbios mesofílicos dificulta inferências sobre a qualidade microbiológica, porém alguns estudos indicam que  $10^6$  UFC/g de microrganismos mesófilos na musculatura é considerado preocupante em relação ao frescor. Chang (2021) também apresenta os mesmos limites para controle de mesofílicos em pescado. A partir destas observações o Tambaqui cultivado em tanque rede analisado no presente estudo apresentou resultados satisfatórios quanto a presença e população de aeróbios mesófilos.

Assim como para os mesofílicos, as cepas psicotróficas carecem de padrões na legislação brasileira. Segundo, Ward e Baj (1988) a população inicial de bactérias psicotróficas é um dos principais fatores que afetam a vida útil do pescado nas embalagens, seu estudo nos possibilita entender a extensão da vida útil do pescado. Foram encontrados psicotróficos na musculatura dos peixes obtidos de tanque-rede a partir 16º dia de armazenamento em gelo. Houve crescimento linear, com valores que ultrapassaram  $6,0 \times 10^3$  UFC/g no 20º dia de armazenamento.

Para a contagem da população de psicotróficos, de acordo com Pascual-Anderson (2000) os marcos regulatórios em vigor na Espanha estabelecem um limite microbiano de  $10^5$  UFC/g de microorganismos aeróbios psicotróficos para peixes frescos e refrigerados. Constatamos portanto, que mesmo no 20º dia de armazenamento em gelo, o tambaqui analisado ainda estava dentro destes padrões de qualidade. Em relação aos microorganismos psicotróficos no muco do swab de superfície dos peixes, os valores encontrados mantiveram-se em torno de  $9,2 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>.

Neste estudo foi identificada presença de *Salmonella* sp. na musculatura, swabs de superfície e na água, devendo-se à relativa resistência da *Salmonella* à vários fatores ambientais. Sua propagação ocorre como resultado de contaminação fecal de humanos e animais (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 de cultivo, bem como na musculatura nos dias 04 e 12 de armazenamento em gelo. Esses resultados denotam 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.

A presença de *Salmonella* spp. no peixe pode estar associada à migração por meio de injúrias na pele provocadas pela manipulação e contato com o gelo, assim como más práticas de higiene, usando água fora dos padrões de qualidade, pois mesmo sendo permitida a evisceração só em estabelecimentos inspecionados ainda se é praticada no local da despesca. Outro fator relevante para a presença de tal cepa na musculatura do tambaqui, se deve ao fato do caráter filtrador da espécie, assim como a capacidade de acumular altas densidades de bactérias (ALMEIDA et al., 2013), além da água de cultivo também apresentar contaminação.

Estudos sobre a presença de *Salmonella* no cultivo de tambaqui são escassos, mesmo diante da importância comercial que esse pescado representa e o potencial risco que a cepa traz consigo. A legislação vigente no Brasil, relacionada aos padrões microbiológicos de alimentos, preconiza que a presença de *Salmonella* em 25 g de pescado fresco é suficiente para descartá-lo (BRASIL, 2019). Ademais, a presença desse microrganismo gera custos que podem interferir na viabilidade econômica da cadeia produtiva do tambaqui. Portanto, as

informações contidas neste estudo podem contribuir nas atividades de inspeção de pescado possibilitando no maior controle de qualidade da espécie, podendo aumentar as possibilidades de mercado ao qual o tambaqui será comercializado, assim como as formas de beneficiamento que são empregadas.

A *Samonella* spp. e *coli* foram confirmadas através de provas bioquímicas. Foram retiradas cinco colônias indicativas de cada placa de Ágar Nutriente totalizando 171 isolados.

**Tabela 4:** Relação da quantidade de isolados identificados bioquimicamente provenientes de swab de superfície, musculatura e água de cultivo de peixes cultivados em tanque-rede.

Amostras	<i>Salmonella</i>		<i>E. coli</i>	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
Musculatura	10	32	-	-
Swab de superfície	6	41	3	44
Água de Cultivo	5	22	1	7
Total	21	95	4	51

Pos= Positivo, Neg= Negativo.

Na Tabela 4 é apresentado que dos 21 potenciais isolados de *Salmonella* spp. nas amostras do sistema de manejo tanque-rede, 9 foram tiveram confirmação como positivos para os testes de motilidade, descarboxilação da lisina, citrato, vermelho de metila, e produção de ácido de glicose, enquanto foram negativos para fermentação de lactose, sacarose, reação de Voges-Proskauer e produção de urease. Segundo Brasil (2011), tais características são reconhecidas como de isolados de *Salmonella* spp. Em contrapartida, houve uma incidência de resultados variáveis para a fermentação da lactose, descarboxilação da lisina e produção de gás, sendo classificadas como características não típicas para *Salmonella* spp.

Apenas 4 isolados foram característicos para a espécie *E. coli*, sendo positivos para o teste de produção de indol, motilidade, teste de vermelho de metila, descarboxilação da lisina, produção de ácido de glicose, lactose e sacarose, enquanto apresentaram-se negativos para a reação de Voges-Proskauer, produção de urease e utilização de citrato. Tais características são confirmatórias para *E. coli*, de acordo com Holt et al. (1994).

Segundo Souza (2021), a presença de cepas de *Salmonella* spp. e *E. coli* apresenta distintos perfis em meio presuntivo, ocorrendo uma grande variabilidade bioquímica entre as cepas, de maneira especial em relação a produção de gás a partir da fermentação da glicose,

fermentação da lactose e sacarose, descarboxilação da lisina e motilidade. A fermentação da lactose, assim como produção de indol definem as cepas de *E. coli* e as provas de fermentação da lactose e sacarose, descarboxilação da lisina e produção de urease são as que definem as cepas de *Salmonella* spp.

Procurando entender o desenvolvimento destes microrganismos foi feita a correlação linear de Pearson ente os dias de amostragem e a quantidade de unidades formadoras de colônia.

**Tabela 5.** Correlação de parâmetros microbiológicos de Tambaqui cultivados em tanque-rede.

	Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	<i>S. aureus</i>	Mesófilos	Psicrotróficos
Correlação de Pearson	0,2188	-0,2086	0,3516	-0,3552	<b>0,5238</b>
Probabilidade	0,38	0,41	0,15	0,15	<b>0,03</b>

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

Podemos observar correlação significativa para os psicrotróficos, já que eles se multiplicam em baixas temperaturas, produzindo um alerta para o desenvolvimento de patógenos desse tipo, caso seja necessário entender a vida de prateleira do pescado.

A discrepância entre as cargas microbiológicas da musculatura e as encontradas na superfície e na água evidenciam a necessidade de um controle mais rigorosos da qualidade do ambiente onde estão instalados os tanques-rede. Esses cuidados estão relacionados à observação de possíveis causas da contaminação por patógenos que podem estar no solo próximo ao local de cultivo e o despejo de efluentes não tratados da concessionária da cidade de Palmas-To. No ano de 2020 a mesma foi atuada pelo Instituto de Natureza do Tocantins (NATURATINS) que concluiu por meio de estudos que os efluentes despejados estavam com parâmetros de contaminação acima do permitido pela legislação ambiental, além de indicar o vazamento de esgoto não tratado, segundo notícia no site do G1 TOCANTINS.

O crescimento significativo das cepas de *S. aureus*, microrganismos mesófilos e psicrotróficos na musculatura só pode ser observado a partir do 16° dia de armazenamento em gelo, sendo considerados satisfatórios até o 12° dia de armazenamento. De acordo com Ferreira et al. (2002) o peixe possui alto valor biológico, sendo considerado um produto de alta perecibilidade, com tempo de prateleira estimado em 15 dias sob refrigeração). Quando

aliados ao não uso das boas práticas de manipulação e cultivo de pescado, os valores estimados pela literatura tendem a não ser mais capazes de fornecer um de tempo de prateleira que represente o cotidiano do consumidor. Silva (2018) sugere que o tambaqui inteiro armazenado em gelo tenha vida útil de 22 dias. A diferença entre os dois tempos de vida de prateleira apresentados reflete o que foi exposto anteriormente. O eventual aumento da vida de prateleira do tambaqui poderá ocorrer com o emprego de tecnologias de conservação que se consigam entrar em sinergia com a cadeia produtiva, fornecendo o maior tempo de prateleira, mantendo o frescor e a baixos custos.

## 16.2. Resultados das Análises Físico-Químicas

Os parâmetros físico-químicos avaliados nos diferentes dias de armazenamento foram relacionados na tabela 6 e 7.

**Tabela 6.** Parâmetros físico-químicos do Tambaqui cultivado em tanque-rede armazenado durante 20 dias em gelo.

Parâmetros	Tempo de Armazenamento					
	Dia 1	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
pH	6,80 ± 0,28 <sup>a</sup>	7,25 ± 0,15 <sup>ab</sup>	7,64 ± 0,25 <sup>b</sup>	7,21 ± 0 ,27 <sup>ab</sup>	7,36 ± 0 ,24 <sup>ab</sup>	7,53 ± 0,17 <sup>b</sup>
Umidade	76,83 ± 1,76 <sup>a</sup>	78,24 ± 1,36 <sup>a</sup>	78,71 ± 0,40 <sup>a</sup>	77,73 ± 2,49 <sup>a</sup>	77,32 ± 2,0 <sup>a</sup>	79,13 ± 0,52 <sup>a</sup>

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

**Tabela 7.** Parâmetros físico-químicos do Tambaqui cultivado em tanque-rede armazenado durante 20 dias em gelo.

Parâmetros	Tempo de Armazenamento		
	Dia 1	Dia 8	Dia 16
Cinzas	3,91 ± 2,36 <sup>a</sup>	4,41 ± 0,42 <sup>a</sup>	3,13 ± 0,37 <sup>a</sup>
Proteína Bruta	16,38 ± 0,59 <sup>a</sup>	15,69 ± 3,3 <sup>a</sup>	16,39 ± 4,06 <sup>a</sup>
Lipídeos	4,36 ± 1,47 <sup>a</sup>	3,98 ± 2,6 <sup>a</sup>	5,38 ± 2,45 <sup>a</sup>



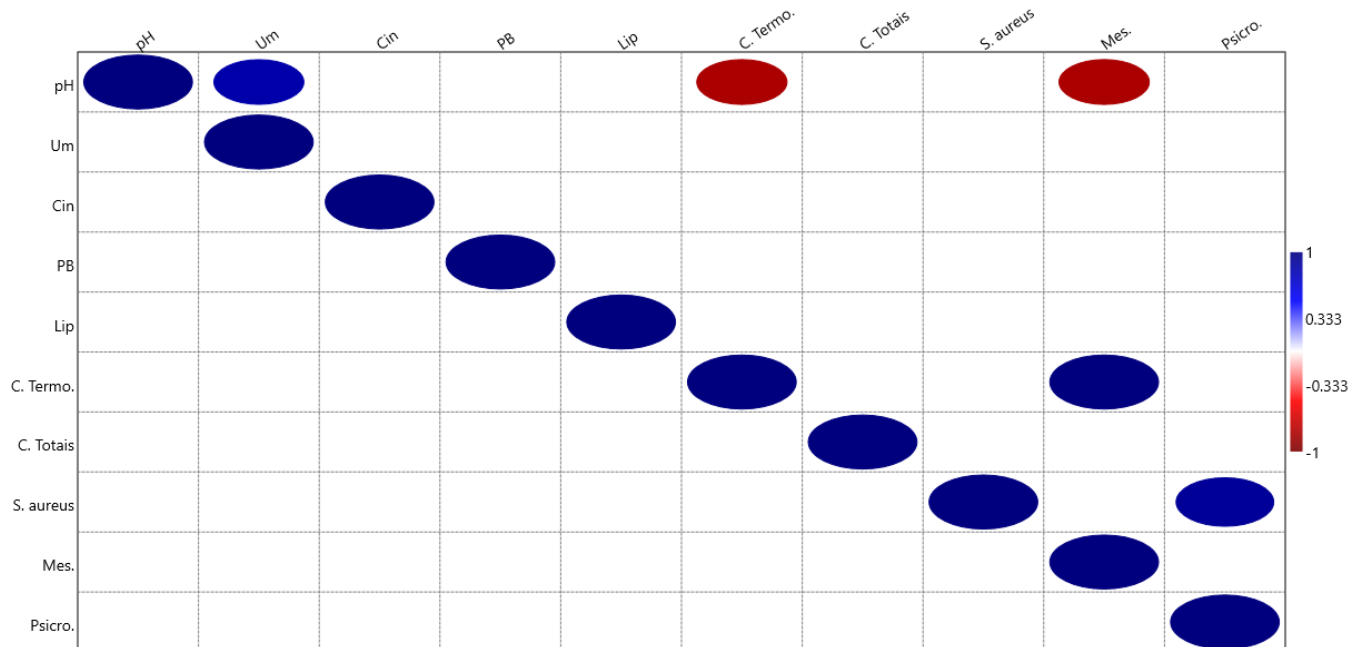
Valores apresentados em Média e  $\pm$  Desvio-Padrão.  
a Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença estatística pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ )  
Letras iguais não diferem entre si significativamente

O conhecimento sobre a composição parcial possibilita a expansão das possibilidades do emprego de tecnologias de conservação e beneficiamento, agregando valor ao produto e o tornando mais competitivo, assim como a inserção do pescado como fonte de proteína primária na dieta da sociedade (ROJAS et al., 2002, ZUANAZZI et al., 2013). A composição parcial não apresentou alterações significativas, provavelmente devido ao curto espaço de tempo em que as amostras foram estudadas.

Em relação a umidade, os valores variaram entre 76 e 79%, bem próximos dos resultados encontrados em lombo e costela de tambaqui com 79% e 77,6%, respectivamente, por Lima et al. (2018). Há também outros estudos que encontraram valores na mesma faixa (ALMEIDA, 1998; ANDRADE, 2006; TACO, 2003 e AIRES, 2019). Os maiores teores de umidade foram encontrados no 8º e 20º dia de armazenamento tal aumento no teor de umidade pode ser explicado pela perda da água ligada as proteínas musculares, que por conta da oxidação causadas pela ação dos microorganismos se tornam moléculas de água livre.

A figura 7 apresenta o gráfico de correlação linear de Pearson, que utiliza o gradiente de cores para explicar os valores de correlação e ao ser observado corrobora com o fato que as alterações de umidade e pH estão correlacionadas, pois foram as que demonstraram maior correlação entre si. Vale salientar as correlações observadas entre cinzas e umidade e o teor de proteína e lipídeos.

Figura 7: Correlação entre os parâmetros físico-químicos e as análises microbiológicas da musculatura ao decorrer do tempo.



Gerado pelo software *Past*, valores apresentados ao um nível de significância de  $p > 0,05$ .

Como mostrado na figura 7, há uma correlação entre o pH, a umidade ao decorrer do tempo assim como com o desenvolvimento de cepas de microorganismos mesófilos e coliformes termotolerantes. Podemos afirmar que o pH muda conforme o passar do tempo, assim como já exemplificado por outros estudos como o de Chomnawang et al. (2007) em que o pH passou de 6,14 para 7,07 depois de 15 dias.

Além das correlações entre o parâmetro pH obtivemos também correlação entre o desenvolvimento de microorganismos mesófilos associados aos coliformes termotolerantes e psicrotóxicos associados aos de *S. aureus*, isso pode ser explicado pela faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento destas culturas estarem relativamente próximas.

No presente estudo os valores de pH estavam perto do limite estabelecido por Ólafsdóttir et al. (1997) e Brasil (2017) para peixe fresco no dia da coleta. Os valores de pH variaram de 6,8 a 7,54, e no quarto dia de armazenamento o pescado já se mostrava acima dos níveis preconizados pela legislação (BRASIL, 2017).

Os teores de cinzas variaram de 3,13% para 4,41%, em desacordo com estudos anteriores, como os de Lima et al. (2018) em que o teor de cinzas foi de 1,3% para lombo e 0,7% para costela, já Amaral (2013) encontrou 1,25%. Valores mais próximos foram encontrados por Aguiar (1996) 3,1% na composição de filé de tambaqui. Os elevados teores de cinzas no presente estudo podem ser atribuídos às características da metodologia onde se utilizou partes próximas aos ossos do peixe que tinham um maior teor de cinzas.

Os valores de proteína bruta variaram de 15,69% a 16,39% tal aumento durante o armazenamento advém da hidrólise de ésteres de ácidos graxos de glicerol é uma alteração *post mortem* importante que ocorre nos lipídios do músculo dos peixes, propiciando o desenvolvimento de microrganismos e/ou ação de enzimas que contribuem para a variação da proteína bruta (AUBOURG, 2001; GONÇALVES, 2010). Filho et al (2021) encontraram valores de proteína próximos aos do presente estudo, sendo 17,64% para o filé e 19,37% para constelas de tambaqui abaixo de 1,2 Kg.

Os lipídeos presentes no pescado representam os compostos bioativos mais valiosos do ponto de vista econômico e também para saúde, os resultados obtidos ficaram entre 3,98% e 5,38% sendo classificado como peixes de gordura média segundo Ackman (1989). Lima et. al. (2018), em seus estudos encontraram valores aproximados aos do 8º dia de armazenamento, sendo os teores para lombo de 5,4% e de costela 5,5% e Andrade (2006) apresenta valores menores, próximos de 2,7%. As discrepâncias entre os dados obtidos e os dos autores podem advir da variabilidade deste tipo de alimento, o sistema antioxidante endógeno do peixe que inclui composto lipofílicos (RICHARDS, 2001) e por conta da variação do peso encontrado entre as amostras.

### 16.3. **Resultados das análises colorimétricas**

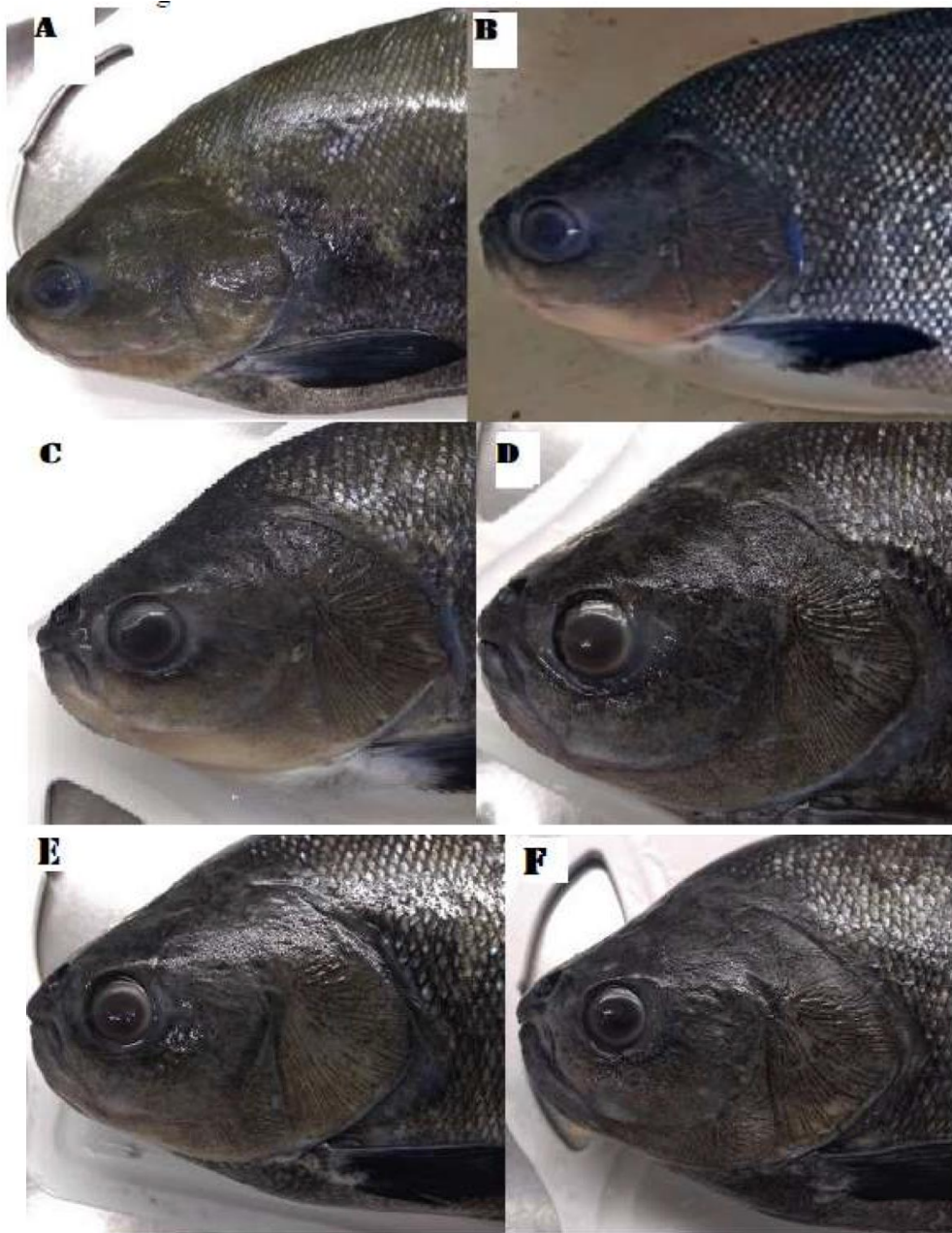
As amostras submetidas às análises colorimétricas também foram registradas fotograficamente, nas fotos em questão podemos observar as mudanças na cor dos olhos de córneas translúcidas e brilhantes para opacas com tons amarelos e menos convexas.

Figura 8. Aspectos dos olhos dos Tambaquis avaliados nos diferentes dias de armazenamento em gelo.

9A – Dia 0; 9B – Dia 4; 9C – Dia 8; 9D -Dia 12; 9E - Dia 16; 9F -Dia 20

Fonte: Barbosa, 2019

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 observadas na tabela 7, assim como a diferença total da cor ( $\Delta E$ ) e a croma (C).



Os valores para  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram obtidos pela leitura no colorímetro de acordo com a metodologia descrita pelo fabricante, com estes valores foram determinadas a variação total da cor ( $\Delta E$ ) e croma ( $C$ ), sendo usado como padrão o tempo 0 do experimento. Todas as etapas foram realizadas utilizando o Excel para os cálculos de  $h$ ,  $\Delta E$  e  $C^*$ , e o *Past* para plotar o gráfico.

Tabela 7. Colorimetria de região dos olhos de Tambaqui cultivado em tanque-rede durante armazenamento em gelo.

Atributos avaliados	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
$L^*$	27,14 <sup>a</sup> ± 6,19	31,57 <sup>ab</sup> ± 12,53	27,9 <sup>bc</sup> ± 7,58	23,98 <sup>bc</sup> ± 6,43	25,55 <sup>b</sup> ± 4,26	22,19 <sup>abc</sup> ± 5,01
$a^*$	1,26 <sup>a</sup> ± 0,48	1,75 <sup>a</sup> ± 0,92	1,72 <sup>a</sup> ± 0,56	1,82 <sup>a</sup> ± 0,39	1,88 <sup>a</sup> ± 0,44	1,72 <sup>a</sup> ± 0,47
$b^*$	2,69 <sup>a</sup> ± 3,50	3,69 <sup>b</sup> ± 3,54	4,53 <sup>ac</sup> ± 1,85	5,74 <sup>abcd</sup> ± 1,88	4,20 <sup>ad</sup> ± 1,71	5,89 <sup>abc</sup> ± 1,99
$h$	0,63 <sup>a</sup> ± 0,92	0,74 <sup>b</sup> ± 0,85	1,14 <sup>abc</sup> ± 0,27	1,22 <sup>ab</sup> ± 0,18	1,09 <sup>ab</sup> ± 0,23	1,23 <sup>ab</sup> ± 0,24
$C^*$	3,81 <sup>a</sup> ± 2,59	4,85 <sup>ab</sup> ± 2,54	4,96 <sup>ac</sup> ± 1,62	6,08 <sup>abcd</sup> ± 1,71	4,69 <sup>de</sup> ± 1,51	6,24 <sup>abce</sup> ± 1,70
$\Delta E$	-	7,42 <sup>a</sup> ± 5,72	7,85 <sup>a</sup> ± 5,32	6,85 <sup>a</sup> ± 4,97	7,17 <sup>a</sup> ± 4,16	7,42 <sup>a</sup> ± 6,51

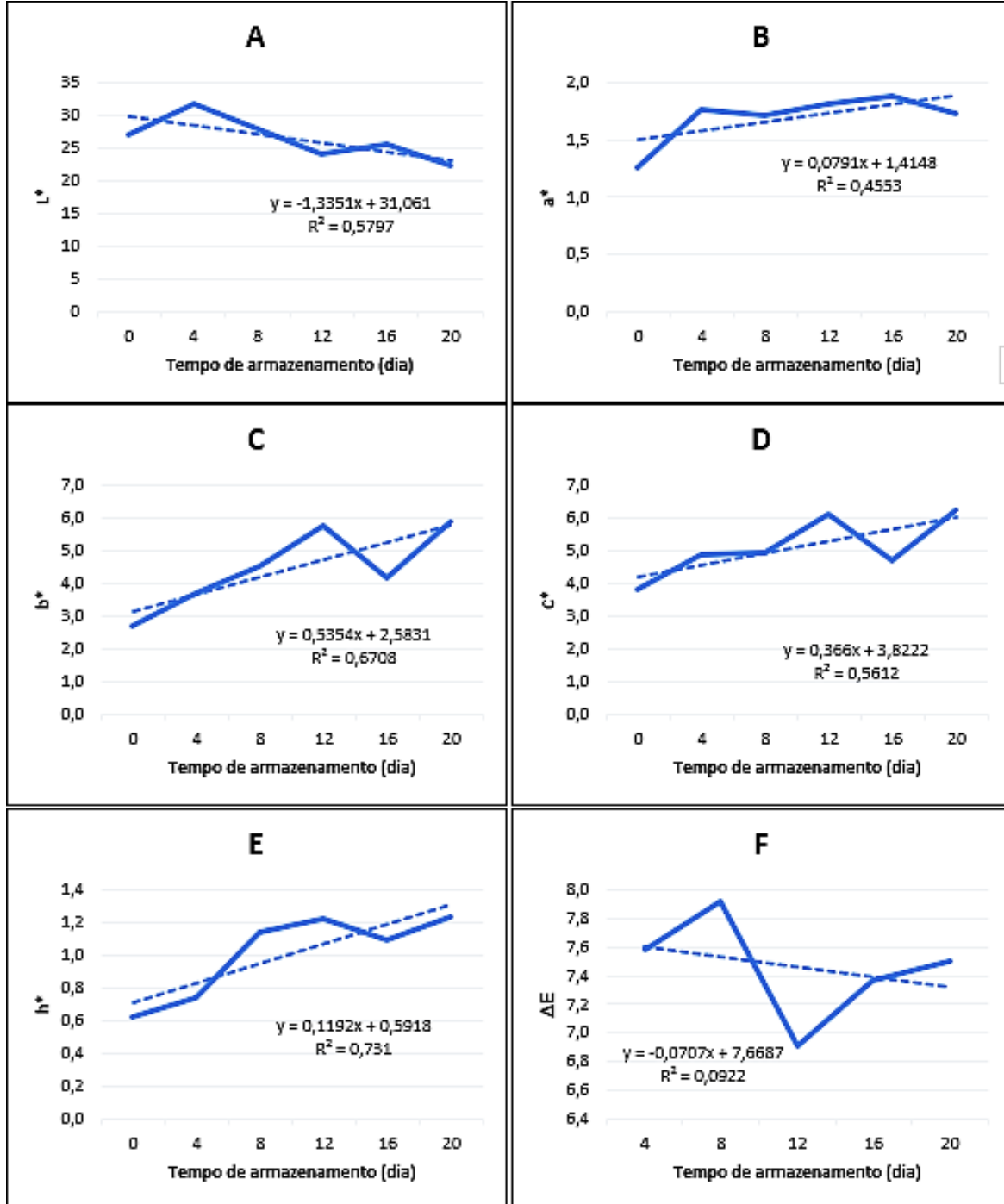
$L$ - Luminosidade,  $a^*$ - vermelho (+ $a^*$ ) ao verde (- $a^*$ );  $b^*$  do amarelo (+ $b^*$ ) ao azul (- $b$ ); diferença total de cor ( $\Delta E^*$ );  $C^*$ - saturação;  $h$  - ângulo de tonalidade.

Os resultados são expressos como média e  $\pm$  desvio padrão.

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

Os dados dispostos em tabelas são de difícil interpretação já que há uma dificuldade em se associar números a cores, por isso buscou-se uma ferramenta que possibilitasse a interpretação de dados de maneira mais simples. Abaixo temos uma figura que dispõe de gráficos que relacionam o tempo de armazenamento com cada variável obtida através do colorímetro e dos arranjos matemáticos subsequentes.

Figura10: Gráfico linear relacionando as variáveis colorimétricas e o tempo de armazenamento.



Linhas traçadas representam limites de tendência de regressão de 95%; 10A- Resultados de L\*; 10B - Resultado de a\*; 10C- Resultados de b\*; 10D - Resultado de C\*; 10E - Resultado de h\*; 10F – Resultado de ΔE; R<sup>2</sup> - Coeficiente de Determinação

A figura 10 apresenta a mudança da cor dos olhos analisada por meio de colorímetro em seis gráficos. Na figura 10A podemos notar que nas duas primeiras aferições os valores

de  $L^*$  são mais altos, isso explica o brilho na córnea presente nos 8 dias iniciais de armazenamento, após isso o valor diminui indicando assim a perda desta característica que é comumente associada ao frescor.

Na figura 10B percebemos o crescimento do valor de  $a^*$ , indicando a mudança dos tons avermelhados para os de verde, apesar do seu ápice no dia 16 não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Com os valores positivos de  $a^*$  se mantendo na tonalidade de vermelho na figura 10C percebemos o aumento do valor de  $b^*$  indicando a predominância da cor amarela, pigmento esse que é resultado da reação entre a proteína e o lipídio oxidado (DOWLATI et al., 2013). O tambaqui é uma matéria prima rica em lipídios de cadeia longa com alta porção de ácidos graxos polinsaturados que sofrem alterações devido à oxidação durante o armazenamento.

Segundo Ferreira (2017) a saturação está ligada diretamente à concentração do elemento corante e representa um atributo quantitativo para intensidade. A baixa saturação está ligada ao aspecto opaco presente em córneas de peixes com longos períodos de armazenamento. Na figura 10D a variável  $C^*$  aumentou com o tempo de armazenamento e atingiu um pico suave ao 4º dia e depois um mais intenso ao 16º caindo logo em seguida comportamento semelhante ao encontra do por Dowlati et al. (2013) até o 18º dia de armazenamento, porém ao 20º dia tivemos uma alta isso provavelmente devido ao grau de oxidação e hidrolise da córnea.

Ferreira (2017) descreve o ângulo hue graficamente, considerando o ângulo em radianos de 0 como a cor vermelha, o ângulo de 1,57, amarelo, o ângulo de 3,14, verde, e o ângulo de 4,71, azul. Com a figura 10E o  $h^*$  ficou entre as tonalidades de vermelho e amarelo.

A figura 10E demonstra como o tempo de armazenamento influenciou a  $\Delta E$  total dos olhos, por mais que no gráfico de margens para algumas interpretações os valores não diferiram entre si, talvez precisaríamos de uma maior quantidade de tratamentos para evidenciar essa diferença no parâmetro  $\Delta E$ .

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a atual demanda por proteínas de origem animal que sejam sustentáveis e do potencial brasileiro para o fortalecimento da cadeia produtiva de pescado os resultados obtidos permitiram traçar um paralelo com dados existentes na literatura gerando informações sobre a relação entre o sistema de manejo de tambaqui em tanque rede e sua qualidade.

Conseguimos determinar a composição parcial do tambaqui contudo não foi possível observar alterações significativas no intervalo de tempo estudado, principalmente para as cinzas, proteínas e lipídeos. Resultados que podem indicar que esses parâmetros mantêm estabilidade durante o armazenamento do pescado em gelo.

A qualidade microbiológica do tambaqui cultivado em tanque se encontra fora dos padrões de qualidade recomendados pela legislação que recomenda a ausência de *Salmonella* e níveis populacionais menores de *E. coli*, sendo possível inferir que o manejo, processamento ou o meio no qual os tanques redes estavam inseridos não estavam dentro dos padrões considerados satisfatórios para qualidade do pescado. Portanto, as boas práticas de manipulação, manejo e processamento de pescado devem ser abordadas com maior ênfase, afim de se minimizar possíveis incidentes de intoxicação alimentar.

Com a utilização do colorímetro integrando o conjunto da análise e a simplicidade apresentada pela técnica de componentes principais foi possível acompanhar o processo de deterioração do pescado com base na cor dos olhos do Tambaqui. A utilização do colorímetro foi uma ferramenta que possibilitou detectar mudanças sutis dos parâmetros de cor, que não podiam ser observados a olho nu, entretanto há a necessidade de se estabelecer protocolos e métodos padronizados para a utilização dessa ferramenta com o objetivo de prognosticar o fresco de pescado.

Durante o trabalho constatou-se que há escassez de informações para o estabelecimento de padrões de qualidade e a segurança de alimentar de peixes amazônicos. Portanto, o presente trabalho fornece subsídios sobre a qualidade e segurança alimentar da espécie Tambaqui (*Colossoma macroporum*) cultivado em tanque rede no represamento do rio Tocantins no município de Palmas. Espera-se que estes dados possam corroborar com um beneficiamento que proporcione um alimento seguro e de qualidade, assim como o emprego de tecnologias que deem suporte em seu processamento.





## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACKMAN, R. G. **Composição nutricional das gorduras em frutos do mar.** Progredir em Alimentos e Nutrição Ciência, 13 (3-4), 161 - 241. (1989). Obtido em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2699043/>

AGUIAR, J. P. L. **Notas e Comunicações Tabela de composição de Alimentos da Amazônia.** ACTA Amazônica, v. 26, n. 1/2, p. 121 – 126, 1996.

AIRES, Luana de Nazaré dos Anjos, **Desempenho de tambaqui (Colossoma macropomum) na fase de recria em sistema de recirculação** – Belém, 2019. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2018.

ALMEIDA, H. C. G. **Efeito da Técnica de sous vide na qualidade microbiológica de filés de tambaquis cultivados na Amazônia.** Dissertação, 2011. Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, 2011.

ALMEIDA, N. M. **Alterações port-mortem em Colossoma macropomum (Cuvier, 1818), procedente da piscicultura e conservado em gelo.** Manaus, INPA/UA, Dissertação. Mestrado em Ciência de Alimentos. 1998.

AMARAL, N. S. F. **Análise centesimal de filé de tambaqui Colossoma macropomum (cuvier, 1816).** 26 f. Monografia (Graduação em Farmácia) - Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes/RO. (2013)

ANDRADE, E.G. **Qualidade dos "minced fish" de tambaqui (Colossoma macropomum Cuvier, 1818) e matrinxã (Brycon amazonicus Spix & Agassiz, 1819) procedente de piscicultura.** Dissertação (mestrado), Manaus-AM: UFAM/INPA. 2006.

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.

AUBOURG S, **Estudo de fluorescência do efeito pró-oxidante de ácidos graxos livres em lipídios marinhos.** J Agric Food Sei 81: 385 - 390 (2001).

BADOLATO, E.S.G; AUED-PIMENTEL, S.; TAVARES, M.; MORAIS, C. **Sardinhas em óleo comestível. Parte 11. Estudo da interação entre os ácidos graxos do peixe e do óleo de cobertura.** Rev. Inst. Adolfo Lutz, 54(1): 21-6, 1994.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura.** Ed. UFSM, Santa Maria, 212 p (2002)

BARBOSA, R. G.; **Influência de Sistemas de Cultivo sobre Parâmetros de Qualidade do Tambaqui (*Colossoma macropomum*).** 2020. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Tocantins, Palmas – TO. 2020.

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.

BELLO, R.A.; RIVAS, W.G. **Evaluacion y aprovechamiento de la cachama (*Colossoma macroporum*) cultivada, como fuente de alimento.** In: Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion. Italy, Mexico: FAO, n.2, out, 113p. 1992.

BERNARDO, YAA, Rosario, DKA, Delgado, IF, Conte-Junior, CA. **Fish Quality Index Method: Principles, weaknesses, validation and alternatives – a review.** Comprehensive reviews in food science and food safety.; 19: 2657– 2676. <https://doi.org.ez6.periodicos.capes.gov.br/10.1111/1541-4337.12600> (2020)

Brander, K.M. **Global fish production and climate change.** Proceedings of the National Academy of Sciences. United States Am., 104, pp. 19709-19714. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/104/50/19709> . Acesso em: 15/04/2021 (2007)

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. **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. **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.

BREMNER, HA. **Um sistema conveniente e fácil de usar para estimar a qualidade de frutos do mar resfriados.** Peixes Boletim de processamento, 7, 59 - 70. (1985)

CHANG, S.-H.; Chen, Y.-J.; Tseng, H.-J.; Hsiao, H.-I; Chai, H.-J.; Shang, K.-C.; Pan, C.-L.; Tsai, G.-J. **Antibacterial Activity of Chitosan–Polylactate Fabricated Plastic Film and Its Application on the Preservation of Fish Fillet.** Polymers 2021, 13, 696. <https://doi.org/10.3390/polym13050696> (2021)

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.

CNA/EMBRAPA. **Cai custo de produção para tambaqui, pintado e tilápia .2015** Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1041288/1/CNPASA2015aa4.pdf>. Acesso em 10 nov. 2020. (2015)

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. 2020. (2016)

COOK, R. Reid-Smith, R. Irwin, SA McEwen, A. Valdivieso-Garcia, C. Ribble **Resistência antimicrobiana em Campylobacter, Salmonella e Escherichia coli isolada de carne de peru no varejo do sul de Ontário**, Canadá Journal of Food Protection, 72, pp. 473 – 481 (2009)

COUTINHO, Nazareno. **Rendimento e composição centesimal do tambaqui curumim**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, XXI., 2019, Manaus. Anais. Manaus. 2019

DOWLATI, M., MOHTASEBI, S. S., OMID, M., RAZAVI, S. H., JAMZAD, M., & de la GUARDIA, M. (2013). **Freshness assessment of gilthead sea bream (Sparus aurata) by machine vision based on gill and eye color changes**. Journal of Food Engineering, 119(2), 277–287. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.05.02

E.H. Allison. **Aquaculture, Fisheries, Poverty and Food Security**. The World Fish Center, Penang, Malaysia Disponível em: [http://aquaticcommons.org/7517/1/WF\\_2971.pdf](http://aquaticcommons.org/7517/1/WF_2971.pdf) Acesso em 01 Apr. 2021.(2011)

FAO, **The state of food insecurity in the world 2015**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Home, Disponível em<<http://www.fao.org/publications/card/en/c/CA9692EN/>> Acesso jul, 2021. (2015)

FAO, **The state of food insecurity in the world 2020**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Home, Disponível em <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9692en>> Acesso jul, 2020. (2020)

FEITOSA, D. **Análise do risco da rentabilidade em pisciculturas de tambaqui nos estados do Amazonas, Rondônia e Roraima, para o mercado consumidor de Manaus-AM**. Dissertação de mestrado (Mestre em ciências pesqueiras nos trópicos) – Faculdade de Ciências agrárias, Universidade Federal do Amazonas. Manaus, p. 261. 2018

FERREIRA, M. D., SPRICIGO P. C., **Colorimetria - princípios e aplicações na agricultura. Parte 4. Análises não destrutivas**. Instrumentação Pós-colheita em Frutas e Hortaliças, São Carlos: Embrapa Instrumentação, p. 209-220, 2017. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1084379>

FERREIRA, M. W. et al. **Pescados processados: maior vida de prateleira e maior valor agregado.** Disponível na Internet: [http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol\\_66.pdf](http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_66.pdf), capturado em 22 de janeiro de 2010. (2010)

FILHO, J.V.D. CAVALI, J. NUNES, C.T. NOBREGA, B. A. GASPARINI, L. R. F. **Composição centesimal, valor calórico e correlação preço-nutrientes de cortes comerciais de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e pirarucu (*Arapaima gigas*) em diferentes classes de peso corporal (Amazônia: Brasil).** Research, Society and Development, v. 10, n. 1, e23510111698, 2021 DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i1.11698> (2021)

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. 2020. (2014)

FOGAÇA, F. **O protagonismo do Brasil na produção mundial de pescado.** Brasília: Embrapa Agroindústria de Alimentos. 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/53738345/artigo---o-protagonismo-do-brasil-na-producao-mundial-de-pescado#:~:text=mundial%20de%20pescado%3F-%20Brasil%20j%C3%A1%20foi%20considerado%20o%20pa%C3%ADs%20com%20maior%20potencial,de%20peixes%20de%20%C3%A1gua%20doce>. Acesso em 15 nov. 2020. (2020)

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

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. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos: qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos** -- 5. ed. rev. e atual. -- Barueri, SP: Manole, 2015.

GERVASIO, E. W. **PISCICULTURA - Análise da Conjuntura**. SEAB – Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. DERAL - Departamento de Economia Rural. Disponível em: [http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos\\_restritos/files/documento/2019-11/aquicultura2019v1.pdf](http://www.agricultura.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2019-11/aquicultura2019v1.pdf). Acesso em: 02/01/2021 (2018)

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

GONÇALVES, A. C. **Qualidade e valorização em aquacultura: Propriedades sensoriais e período de conservação útil de peixe e bivalves**, Tese (Doutoramento em Farmácia) – Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Salvador, p. 8-36. 2010.

GOULDING, M., & Carvalho, L. C. **Life history and management of the tambaqui (Colossoma macropomum, Characidae) na important amazon food fish**. Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba, 1 (2), 107-133. (1982)

GUINAZI, M.; MOREIRA, A. P. B.; SALARO, A. L.; CASTRO, F. A. F.; DADALTO, M.; SANT'ANA, H. M. **P Composição química de peixes de água doce frescos e estocados sob**. Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, Av. P.H. Rolfs, s/n, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Acta Sci. Technol. Maringá, v. 28, n. 2, p. 119-124, July/Dec., 2006

HAMMER, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. **PAST: Paleontological Statistics software package for education and analysis**. Paleontologia Electronica 4(1) :9 pp. (2001)

HOLT J, KREG N, SNEATH P, STALEY J, W. S. **Bergey's manual of determinative bacteriology ninth edition**. European Journal of Paediatric Neurology: EJPN: Official Journal of the European Paediatric Neurology Society. 1994.

HUSS, H. H. **El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad**. FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Documento técnico de pesca 348. Roma, 202 p. 1999.

IAC, Instituto Americano de Culinária. **Chef Profissional**. São Paulo: SENAC,2009.

IBAMA. **Estatística da pesca 2007: grandes regiões e unidades da federação. Tamandaré, PE**: IBAMA/CEPENE, 129p. 2007. Link: <http://www.ibama.gov.br/>, Acesso: 08/04/2021 (2007)

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.

LOVE, R.M. **Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish** in: HALL, G.M. (Ed.) Fish processing technology. Glasgow: Blache Academic G. Prossional, p.1-27. 1992.

Malik, IA, Elgasim, EA, Adiamo, OQ, Ali, AA, Mohamed Ahmed, IA. **Effect of frozen storage on the biochemical composition of five commercial freshwater fish species from River Nile, Sudan**. Food Sci Nutr. 2021; 9: 3758– 3767. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2340>

MORO, G. V. **Espécies de peixe para piscicultura**. In Rodrigues, A. P. O et al. (Org.). Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos. Brasília, DF: Embrapa. p. 29-70. (2013)

OBHA, **Observatório Brasileiro de Hábitos Alimentares. Segurança alimentar em Tempos de COVID-19**. Programa de Alimentação, Nutrição e Cultura (Palin), volume 1 | ano: 2020. Disponível em : <https://sites.ufpe.br/rpf/wp-content/uploads/sites/43/2020/07/cadernos-obha-vol-1.pdf> . Acesso em: 21/03/2021 (2020)

OECD/FAO, **Agricultural Outlook 2016-2025**, OECD Publishing, Paris. Acesso em 30/06/2020 [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2016-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2016-en) (2016),

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca**. São Paulo: Livraria Varela, 1999.

OLIVEIRA, B. **Análise de cadeia global de valor e risco na piscicultura no Tocantins** Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Desenvolvimento Regional



da Universidade Federal do Tocantins para obtenção do título de mestre. Orientador: Dr. Manoel Xavier Pedroza Filho. (2015)

OLAFSDÓTTIR, G. E. Martinsdóttir, J. Oehlenschläger, P. Dalgaard, B. Jensen, I. Undeland, I.M. Mackie, G. Henehan, J. Nielsen, H. Nilsen, **Methods to evaluate fish freshness in research and industry**. Trends in Food Science & Technology, Volume 8, Issue 8, Pages 258-265, ISSN 0924-2244, [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01049-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01049-2). (1997)

Pascual-Anderson, MR e Calderón-Pascual, V. " **Microbiologia de alimentos** ". Food and Beverage Methodology, 441 Madrid: Díaz de Santos. (2000)

Paterson, B., Goodrick, B., Frost, S. **Controlling the quality of aquacultured food products**. Trends in Food Science and Technology, 8: 253 - 257. (1997)

PEDROZA FILHO, M. X.; RODRIGUES, A. P O.; REZENDE, F. P. **Dinâmica da produção de tambaqui e demais peixes redondos no Brasil**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento e CNA Confederação da agricultura e Pecuária do Brasil, Ano 2, ed. 7 (2016)

PeixeBr, **Anuário PeixeBr da Piscicultura 2020**. Associação Brasileira de Piscicultores. Publicado online. <https://www.peixebr.com.br/anuario-peixe-br-da-piscicultura-2020/>. Acesso: 08/04/2021 (2020)

PeixeBr, **Anuário PeixeBr da Piscicultura 2021**. Associação Brasileira de Piscicultores. Publicado online. <https://www.peixebr.com.br/anuario-peixe-br-da-piscicultura-2021/>. Acesso: 08/04/2021 (2021)

Regulamentos (CE) n.º 2406/96 do Conselho de 26 de novembro. **Estabelecer normas comuns de comercialização para certos produtos da pesca**. Jornal Oficial da União Europeia, L - 334, 1–15. (1996).

REZENDE-DE-SOUZA, J.H., SOUZA, C. O. S. S., HOSHIBA, M.A., ABREU, J.S., SAVAY-DA-SILVA, L.K. **Influência colorimétrica em surimis de tambaqui submetidos a diferentes crioprotetores**. Brazilian Journal of Development, Curitiba - PR, 3(3/4):143-152. DOI:10.34117/bjdv6n5-034 (2020)

RICHARDS, Mark P.; Hultin, Herbert O. **Desenvolvimento de ranço em um sistema modelo de peixe afetado por fosfolipídios.** Journal of Food Lipids (2001), 8 (3), 215-230 CODEN: JFFLES; ISSN: 1065-7258. (Food & Nutrition Press, Inc.)

RYU, S. H., Park, G.H., Choi C.M., Hwang, Y. O. **Antimicrobial resistance and resistance genes in Escherichia coli strains isolated from commercial fish and seafood,** International Journal of Food Microbiology, Volume 152, Issues 1–2, Pages 14-18, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.003>. (2012)

ROBB, D. **The killing of quality: the impact of slaughter procedures on fish flesh.** In: **Seafoods: quality, technology and nutraceutical applications.** Alas alvar, C.; Taylor, T., Eds.; Springer, Berlin; pp 7-16. (2002)

ROCHA, Y. R.; AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A.; SHRIMPTON, R. **Aspectos nutritivos de alguns peixes da Amazônia,** Acta Amazônica, v. 12, n. 4, p. 787-794, 1982.

Sebrae - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Manual como Iniciar Piscicultura com Espécies Regionais. — 1. ed. Brasília: Sebrae, 2013.

SANT'ANA, Lea S. et al. **Comparative study of the chemical composition, fatty acid profile, and nutritional quality of Lophiosilurus alexandri (Siluriformes: Pseudopimelodidae), a Brazilian carnivorous freshwater fish, grown in lotic, lentic, and aquaculture environments.** Neotropical Ichthyology. Sao Paulo: Soc Brasileira Ictiologia, v. 17, n. 4, 7 p., 2019. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/196473>>.

SENAR – Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Aquicultura: planejamento e legalização de projetos aquícolas/** Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR). — 2. ed. Brasília: SENAR. 84 p. il.; 21 cm ISBN 978-85-7664-138-4 (2018)

SHEWAN, J. M., Macintosh, R. G., Tucker, C. G., & Ehrenberg, A. S. C. **The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice.** Journal of the Science of Food and Agriculture, 4(6), 283–298. <https://doi-org.ez6.periodicos.capes.gov.br/10.1002/jsfa.2740040607> (1953).

SILVA, Mariana Silveira Guerra Moura e. **Aquicultura: manejo e aproveitamento de efluentes;** Marcos Eliseu Losekann; Hamilton Hisano – Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. 39 p. — (Documentos / Embrapa Meio Ambiente; 95). (2013)

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

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 Amazônica. v. 48. p. 98-108, 2018.

SHAHEEN, BW. Shaheen, OA Oyarzabal, DM Boothe **O papel dos integrons de classe 1 e 2 na mediação da resistência antimicrobiana entre isolados clínicos de *E. coli* caninos e felinos dos EUA**. Veterinary Microbiology, 144, pp. 363 – 370 (2010)

SOARES KMP, Gonçalves AA. **Qualidade e segurança do pescado**. Revista Instituto Adolfo Lutz. São Paulo; 71(1):1-10. (2012)

SOARES FMV, Vale SR, Junqueira RG, Glória BA. **Teores de histamina e qualidade físico-química sensorial de filé de peixe congelado**. Ciência Tecnologia de Alimentos.;18(4):462-70. (1998)

SOFIA. **The State of World Fisheries and Aquaculture: Sustainability in Action** Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome (2020). Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en/>> Acesso jul, 2020. (2020)

SONGE, M. M. et al. **Antimicrobial Resistant Enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in Houseflies Infesting Fish in Food Markets in Zambia**. International Journal of Environmental Research & Public Health, v. 14, n. 1, p. 21. Disponível em: <http://search-ebsochost-com.ez6.periodicos.capes.gov.br/login.aspx?direct=true&db=fsr&AN=121003522&lang=pt-br&site=ehost-live>. Acesso em: 2 abr. 2021. (2017)

SOUZA, R. V.; **Identificação molecular de patógenos de importância em saúde pública associados a pescados de diferentes sistemas de manejo na amazônia legal**. 2021. 41 f. Qualificação (Mestrado Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Tocantins, Palmas – TO. (2021)

TACO, **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 1. ed. Campinas: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação, 2003.

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

TEJADA, M. **ATP-derived products and K-value determination. In: Fishery products: quality, safety and authenticity.** Rehbein, H.; Oehlenschläger, J., Eds.; Blackwell Publishing Ltd; Oxford; pp 68-88. (2009)

VAL, A. L.; SILVA, M. N. P.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. **Hypoxia adaptation in fish of the Amazon: a never-ending task. South African Journal of Zoology,** Pretoria, v. 33, p. 107-114, 1998.

VASILAKOPOULOU ET AL.A. Vasilakopoulou , M. Psychogiou , L. Tzouvelekis , PT Tassios , C. Kosmidis , G. Petrikkos , ES Roma , E. Charvalos , M. Passiotou , A. Avlami , GL Daikos **Prevalência e caracterização de integrons de classe 1 em Escherichia coli de origem avícola e humana** Foodborne Pathogens and Disease , 6, pp. 1211 – 1218 ( 2009)

VIEIRA, R. H. S. dos Fernandes. **Microbiologia, Higiene e Qualidade do pescado: Teoria e Prática.** São Paulo: Livraria Varela, 2003.

XIMENES, Luciano Feijão; VIDAL, Maria de Fátima. **Pescado no Brasil: produzir bem e vender melhor.** Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, ano 3, n.49. (Série Caderno Setorial ETENE, n.49). (2018)

WARD, D.R. and Baj, N.J. (1988, “**Factors affecting microbiological quality of seafoods**”, Food Technology, Vol. 42, pp. 85-9.

WOYNÁROVICH, A. and Van Anrooy, R. 2019. **Field guide to the culture of tambaqui (Colossoma macropomum, Cuvier, 1816).** FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 624. Rome, FAO.132 pp

ZUANAZZI, J. S. G.; DELBEM, A. C. B.; MARENGONI, N. G.; NASCIMENTO, F. L.; LARA, J. A. F. **Determinação da composição centesimal de pacu (Piaractus Mesopotamicus) cultivados em tanques-rede no Pantanal.** In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SOCIOECONOMICOS DE PANTANAL, 6., Corumbá/MS. Anais. 2013

ZANIBONI-FILHO, E. **O desenvolvimento da piscicultura brasileira sem a deterioração da qualidade de água.** Rev. Brasil. Biol., v. 57, p. 3-9, 1997.

\_\_\_\_\_, . **BRK Ambiental é multada em mais de R\$ 8 milhões após esgoto ir parar no lago de Palmas; diz Naturatins.** G1 Tocantins, Palmas, 29/10/2020 16h35. Disponível em:

< <https://g1.globo.com/to/tocantins/noticia/2020/10/29/brk-ambiental-e-multada-em-mais-de-r-8-milhoes-apos-esgoto-ir-parar-no-lago-de-palmas-diz-naturatins.ghtml> >