



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

GEÍSA ALMEIDA DAMASCENO

EFEITO DE REVESTIMENTOS BIOATIVOS À BASE DE
QUITOSANA SOBRE A VIDA ÚTIL E SEGURANÇA DA CAVALA
(*Scomberomorus cavalla*) REFRIGERADA

FORTALEZA

2016

GEÍSA ALMEIDA DAMASCENO

EFEITO DE REVESTIMENTOS BIOATIVOS À BASE DE QUITOSANA SOBRE A
VIDA ÚTIL E SEGURANÇA DA CAVALA (*Scomberomorus cavalla*) REFRIGERADA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva
Coorientador: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D162e Damasceno, Geísa Almeida.
Efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a vida útil e segurança da cavala
(*Scomberomorus cavalla*) refrigerada / Geísa Almeida Damasceno. – 2016.
74 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2016.
Orientação: Profa. Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva.
Coorientação: Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza.

1. Peixe. 2. Revestimento bioativo. 3. Deterioração. I. Título.

CDD 664

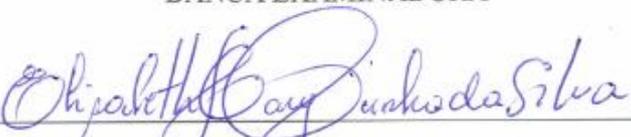
GEÍSA ALMEIDA DAMASCENO

EFEITO DE REVESTIMENTOS BIOATIVOS À BASE DE QUITOSANA SOBRE A
VIDA ÚTIL E SEGURANÇA DA CAVALA (*Scomberomorus cavalla*) REFRIGERADA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em: 08/04/2016.

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dra. Elisabeth Mary Cunha da Silva (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof.^a Dra. Oscarina Viana de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof.^a Dra. Maria Lúcia Nunes
Universidade Federal do Ceará (UFC)


Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela minha existência e por tudo que me tem concedido, inclusive por mais essa vitória em minha vida.

Aos meus pais, Marcos e Lêda, que não só me deram a vida, como também orientaram meus passos e me ensinaram a lutar pelos meus ideais.

Ao meu namorado Elton, pelo amor incondicional e companheirismo, sempre me apoiando e compreendendo tudo o que faço.

Aos meus familiares, em especial minha tia Nágila Raquel, que sempre vibraram, torceram e compartilharam comigo cada vitória.

À Professora e amiga Elisabeth Mary Cunha da Silva, por aceitar me orientar neste trabalho e por toda a sua dedicação, disponibilidade, compromisso e postura. Com privilegiada inteligência e vasto conhecimento acumulado em múltiplas áreas, dá exemplo de simplicidade, modéstia, dedicação e amor à ciência. Fica a minha eterna gratidão.

Ao meu co-orientador Prof. Bartolomeu Warlene Silva de Souza, pela ajuda, atenção e maravilhosas ideias e sugestões oferecidas para o aprimoramento deste estudo.

À Professora Oscarina Viana de Sousa, pela paciência, confiança, amizade e principalmente pela enorme contribuição para a realização deste trabalho.

Aos demais professores participantes da banca examinadora, Maria Lúcia Nunes e Rafael Audino Zambelli, que proporcionaram sugestões e discussões que servirão para o meu aprendizado e incentivo à pesquisa.

Aos técnicos e amigos do Laboratório de Carnes e Pescados do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará (UFC) Rozelúcia Barroso, Luiz Bitu, Norma Perdigão e Janevane Castro, pelo companheirismo e pela contribuição na execução desta pesquisa.

Aos amigos e bolsistas Ellen Ponte, Ana Patrícia, Victor e Fabrínio pela alegre convivência, paciência, incentivo e disposição em ajudar nas análises e nos momentos de dúvidas. Meus mais sinceros e carinhosos agradecimentos.

Ao Diego, Jackson e Irene do Laboratório de Tecnologia do Pescado – LATEPE/UFC da Pesca, pelo suporte no desenvolvimento do meu trabalho.

Ao meu amigo e colega de mestrado Leandro, pela imensa colaboração na realização da estatística.

À Cristiane, Daniel e demais amigos do LABOMAR, pelos valiosos ensinamentos e pelo auxílio fundamental na elaboração das análises microbiológicas.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP, pela concessão da bolsa de estudos, viabilizando financeiramente a minha permanência no curso.

A todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram a chegar até aqui.

Muito obrigada.

RESUMO

Apesar do seu valor nutritivo, o peixe é um alimento com elevada instabilidade química e prazo de validade curto. Assim, depois de sua captura, recomenda-se que ele seja armazenado o mais rápido possível sob temperatura controlada. A temperatura é um bom método para manter as propriedades físicas e químicas do peixe, no entanto, existem agora novos métodos ou técnicas capazes de melhorar a sua eficácia. No que diz respeito a isto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a vida útil e a segurança da cavala (*Scomberomorus cavalla*) refrigerada. No total, foram utilizadas 80 postas de cavala obtidas no Mercado de Peixes localizado no Bairro Mucuripe, Fortaleza-CE. Após serem adquiridas, as amostras foram colocadas em caixas isotérmicas e transportadas para o laboratório de Carnes e Pescados do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, onde foram armazenados a 4 ± 1 ° C até que as análises fossem realizadas. Para a avaliação dos diferentes tratamentos, as amostras foram divididas em grupos, como a seguir: C- cavala *in natura*; T1- cavala revestida com quitosana + óleo essencial de orégano + ácido ascórbico; T2: Cavala revestida com quitosana + ácido ascórbico; T3: Cavala revestida com quitosana + óleo essencial de orégano; T4: cavala revestida com quitosana. Após o processo de revestimento por imersão, cada posta foi colocada em bandeja de poliestireno, envolvido em filme de PVC, etiquetados e armazenados a 4 ± 1 ° C. Depois disso, todas as análises foram realizadas em triplicata a cada sete dias e durante 21 dias. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p\leq 0,05$), com o auxílio do programa Statistica lançamento 7. Para as análises de BVT e TMA, todos os tratamentos apresentaram valores mais baixos do que o grupo controle. Com relação à oxidação lipídica, avaliada pelo TBARS, esta foi semelhante entre todos os grupos. Enquanto todos os tratamentos foram capazes de diminuir o pH, o T4 apresentou resultados mais satisfatórios com relação à coloração das postas e a Textura permaneceu inalterada após os diferentes tratamentos. Por sua vez, as análises microbiológicas mostraram que o T4 também foi o tratamento mais efetivo para inibir o crescimento das BHC e das BPH nas amostras de cavala mantidas sob refrigeração. Portanto, os revestimentos à base de quitosana foram efetivos para prolongar a vida útil da cavala, embora não tenha havido um único tipo de revestimento que tenha sido eficiente para todos os parâmetros analisados.

Palavra-chave: Peixe. Revestimento bioativo. Deterioração.

ABSTRACT

Despite of the nutritional value, fish is one food with high chemistry instability and short shelf life. So, after his capture, it is recommended that fish will be stored as soon as possible under controled temperature. Temperature is a good method to maintain physical and chemistry properties of fish, however, now there are new methods or techniques able to improve its efficacy. Regarding that, the objective of this study was to evaluate the effect of bioactive coatings based on chitosan on shelf life and safety of Mackerel (*Scomberomorus cavalla*) refrigerated. In total, were used 80 samples of mackerel obtained from the Fish Market located at Mucuripe neighborhood, Fortaleza-CE. After being acquired, samples were placed in cool boxes and transported to the Meat and Fish Laboratory of Department of Food Technology, Federal University of Ceará, where they were stored at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ until to performed analysis. For evaluation of different treatment, samples were divided in groups, as following: C- Mackerel *in nature*; T1- Mackerel coated with chitosan + essential oil of oregano + ascorbic acid; T2: Mackerel coated with chitosan + ascorbic acid; T3: Mackerel coated with chitosan + essential oil of oregano; T4: Mackerel coated with chitosan. After the coating process by immersing, each set was placed in a polystyrene tray, wrapped in PVC film, labeled and stored at $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. After that, all analyzes were performed in triplicate every seven days and for 21 days. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Tukey test ($p\leq 0.05$), with the help of Statistica program Release 7. For the analysis of TVB and TMA, all treatments showed lower values than the control group. With respect to lipid oxidation, evaluated by TBARS was similar between groups. While all treatments were able to decrease the pH, the T4 showed more satisfactory results with respect to staining of the slices and Texture remains unchanged after different treatments. In turn, the microbiological analyses showed that T4 was also an effective treatment able to inhibit the growth of BHC and BPH in Mackerel samples maintained under refrigeration. Therefore, the chitosan-based coatings were effective to improve the shelf life of Mackerel, although there was not only one type of coating that has been effective protective role for all parameters.

Keyword: Fish. Bioactive coating. Deterioration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Quantidade das Bases Voláteis Totais (BVT) presentes em cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$	42
Figura 2 -	Quantidade de Trimetilamina (TMA) presente em cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$	45
Figura 3 -	Quantidade de TBARS presentes nas cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$	47
Figura 4 -	Valor do pH das cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$	50
Figura 5 -	Contagem de Bactérias Heterotróficas Cultiváveis (BHC) nas cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$	55
Figura 6 -	Contagem de Bactérias Produtoras de Histamina (BPH) nas cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores médios das Bases Voláteis Totais (BVT) em mg N/100g de cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C.....	41
Tabela 2 -	Valores médios das quantidades de Trimetilamina (TMA) em mg N/100g de cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C.....	44
Tabela 3 -	Valores médios de TBARS (mg MDA/kg) apresentados pelas cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C.....	46
Tabela 4 -	Valores médios de pH das cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C.....	49
Tabela 5 -	Valores médios para os parâmetros de cor L*, a* e b* das amostras de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocada por 21 dias a 4±1°C.....	51
Tabela 6 -	Valores médios da textura (N) das cavalas (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C.....	53
Tabela 7 -	Matriz de correlação das análises realizadas durante o experimento com as postas de cavala (<i>Scomberomorus cavalla</i>) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C.....	59

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1	Produção de pescado no brasil e no nordeste.....	14
2.2	Pescado como alimento.....	15
2.3	Histamina em peixes da família <i>Scombridae</i>	16
2.4	Conservação do pescado pela refrigeração.....	18
2.5	Revestimento em pescado.....	19
2.6	Substâncias com propriedades bioativas.....	22
2.6.1	<i>Quitosana</i>	22
2.6.2	<i>Ácido acético</i>	23
2.6.3	<i>Óleos essenciais</i>	25
2.7	<i>Ácido ascórbico</i>	28
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1	Material.....	30
3.2	Metodologia.....	30
3.2.1	<i>Testes preliminares</i>	30
3.2.2	<i>Elaboração das soluções de revestimento</i>	31
3.2.3	<i>Aplicação dos revestimentos</i>	32
3.3	Análises físico-químicas.....	33
3.3.1	<i>Bases voláteis totais (BVT)</i>	33
3.3.2	<i>Trimetilamina (TMA)</i>	34
3.3.3	<i>Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i>	35
3.3.4	<i>pH</i>	36
3.3.5	<i>Cor</i>	36
3.3.6	<i>Textura instrumental</i>	36
3.4	Análises microbiológicas.....	36
3.4.1	<i>Homogeneização e diluição das amostras</i>	37
3.4.2	<i>Pesquisa de Salmonella sp</i>	37
3.4.3	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	38
3.4.4	<i>Coliformes a 45°C</i>	38
3.4.5	<i>Bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC)</i>	39

3.4.6	<i>Bactérias produtoras de histamina (BPH)</i>	39
3.5	Análises estatísticas.....	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	Bases voláteis totais (BVT).....	41
4.2	Trimetilamina (TMA).....	43
4.3	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	45
4.4	pH.....	48
4.5	Cor.....	50
4.6	Textura instrumental.....	52
4.7	Análises microbiológicas.....	54
4.7.1	<i>Salmonella sp., Staphylococcus coagulase positiva e Coliformes a 45°C.</i> ..	54
4.7.2	<i>Bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC)</i>	55
4.7.3	<i>Bactérias produtoras de histamina (BPH)</i>	57
4.8	Análise de correlação.....	58
5	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que o consumo de pescado seja em média de 12 kg ao ano por habitante. O Brasil, por sua vez, consome quantidades relativamente maiores que a recomendada, apresentando em 2012 um recorde de consumo per capita de 19,2 Kg de pescado ao ano (FAO, 2014). Isso pode estar associado ao seu grande potencial pesqueiro e ao novo estilo de vida das pessoas que optam por alimentos mais saudáveis, nutritivos e de elevado valor proteico (VERBEKE; VERMEIR; BRUNSO, 2007).

A carne de peixe, em geral, se destaca nutricionalmente por ser importante fonte de vitaminas e minerais; rica em ácidos graxos poli-insaturados, principalmente ômega 3 e 6 e apresentar proteínas de alto valor biológico (NJINKOUÉ *et al.*, 2001). Entretanto, é devido principalmente a essa riqueza de nutrientes que os peixes são bastante perecíveis e facilmente susceptíveis às alterações de natureza química e microbiológica (BRESSAN; PEREZ, 2000). Assim, logo após a sua captura, recomenda-se que o peixe seja armazenado e comercializado mediante a aplicação do frio, com a utilização de gelo ou equipamentos como refrigeradores e congeladores, com o intuito de manter a sua qualidade e de impedir possíveis danos aos seus consumidores (PEREIRA; FONSECA, 2011).

Visando a manutenção da qualidade do produto e a segurança do consumidor, novos métodos ou técnicas de conservação vêm sendo desenvolvidos para esse tipo de alimento. Exemplo disso são as embalagens ativas, as quais possuem a capacidade de interagir diretamente com o alimento, modificando alguma de suas propriedades e tornando-o mais seguro e nutritivo (SOARES *et al.*, 2009).

Os filmes ou revestimentos comestíveis são exemplos de embalagens ativas que vêm alcançando espaço nas novas tecnologias alimentícias, pois conseguem reduzir ou inibir o desenvolvimento microbiano e controlar a migração de umidade, gases e aromas. Estes filmes ou revestimentos, quando adicionados ou combinados de outras substâncias como antioxidantes ou antimicrobianos, conseguem aumentar a sua funcionalidade, devido à sua liberação lenta e gradual na superfície do produto (SCHENATO, 2010).

Assim, segundo alguns autores, revestimentos feitos com quitosana, por exemplo, adicionados ou não de outros componentes, apresentam-se como uma alternativa bastante interessante para prolongar a vida útil e a segurança de alguns alimentos, pois além de funcionarem como barreira aos gases, vapor d'água e solutos, serem seguras e

biodegradáveis, também podem agir contra os microrganismos, devido às suas propriedades antibacterianas (SIRIPATRAWAN; HARTE, 2010; BOTREL *et al.*, 2010).

Dentre as espécies mais apreciadas no nordeste estão as da família Scombridae caracterizada por peixes de carne escura. A cavala (*Scomberomorus cavalla*) é uma das espécies mais apreciadas pela população e que tem um valor econômico significativo na região. Essa espécie de peixe apresenta carne vermelha e sabor bastante acentuado, devido à presença de histidina em sua constituição. Trata-se de um aminoácido que é facilmente convertido na amina biogênica histamina pela ação de bactérias presentes no pescado, o que pode conferir toxicidade ao alimento antes mesmo dele ser considerado organolepticamente inaceitável (LENZA, 2006).

Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a extensão da vida útil e segurança da cavala (*Scomberomorus cavalla*) refrigerada.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção de pescado no Brasil e no Nordeste

O Brasil possui um grande potencial de produção pesqueira, devido ao seu clima favorável, água em abundância e à presença de uma enorme variedade e quantidade de espécies de peixes. No ano de 2013, por exemplo, a sua produção pesqueira foi bastante significativa e conseguiu ultrapassar mais de um milhão de toneladas de pescado (1.241.807 t), sendo que, destas, 765.287 toneladas foram de origem da pesca (61,6%) e 476.512 toneladas de origem da aquicultura (38,4%) (BRASIL, 2013).

De acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), em 2013, o Nordeste apresentou-se como a maior região produtora de pescado do Brasil com 140.748 mil toneladas/ano, seguida da região Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Norte, com apenas 73.009 mil toneladas/ano (BRASIL, 2013).

A produção de pescado no Brasil é influenciada principalmente pela produção registrada pelos estados de Santa Catarina, Pará, Bahia, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Amazonas, São Paulo, Maranhão, Ceará e Rio Grande do Norte, pois juntos, detêm cerca de 80% do total acumulado (RODRIGUES DA SILVA; DA COSTA; LÉLIS DA SILVA, 2013).

O Estado do Ceará, por sua vez, tem a pesca como uma das suas principais atividades econômicas (IBAMA, 2007), ocupando o município de Fortaleza o terceiro lugar no Estado, ficando atrás somente de Camocim e Acaraú (CEPENE, 2008).

Segundo Carneiro e Sales (2011), os principais alvos da pesca cearense são a serra e a cavala, cuja participação relativa em número de indivíduos é de 68% e 20%, respectivamente. Os dados do Boletim Estatístico de Pesca (CEPENE, 2005), revelam ainda que entre os anos de 1999 e 2004, a cavala contribuiu com 966,4 toneladas, apresentando uma participação média de 161,1 toneladas/ano.

A cavala é um peixe de corpo alongado, robusto e comprido lateralmente, com coloração azul-metálica escurecida no dorso e com o ventre prateado (FISHBASE, 2006). Trata-se de um produto marinho que se alimenta basicamente de moluscos, crustáceos e de outros peixes (FIGUEIREDO; MENEZES, 2010) e que apresenta ampla distribuição geográfica, que vai além do litoral brasileiro, ocorrendo desde o golfo do Maine (E.U.A.) até o Rio de Janeiro e por todo o golfo do México (KLEIN, 1973), aparecendo também,

segundo Lessa (2006), nos Estados do Piauí, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Alagoas e Bahia.

Na região cearense, a distribuição dessa espécie se dá provavelmente na porção externa da plataforma continental (FONTELES-FILHO, 2000), sendo na maioria das vezes, capturada de forma artesanal com linha-de-mão de superfície, entre as isóbatas de 20 e 200 m, principalmente entre os meses de janeiro e abril (XIMENES, 1978).

Como a sua carne é considerada excelente e de grande valor comercial, ela é encontrada nos mercados nas suas formas fresca, defumada, congelada ou enlatada (COSTA, 2007).

2.2 Pescado como alimento

De acordo com o Artigo 438 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), o termo “pescado” compreende os peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios, quelônios e mamíferos de água doce ou salgada usados na alimentação humana (BRASIL, 1952).

Por apresentar uma fonte de proteína de alta qualidade, sendo muitas vezes comparada com a dos ovos, carnes e leite, a carne de peixe é considerada como um importante constituinte da dieta humana (LEDERER, 1991).

De todos os componentes presentes na sua parte comestível, a água é o que aparece em maior quantidade, podendo variar de 64% a 90%, seguido pelas proteínas, de 8% a 23%, e pela gordura, de 0,5% a 25%. Em menores proporções, aparecem os sais minerais, cujo teor varia de 1,0% a 2,0%; os carboidratos, que não chegam a representar 1,0% da sua composição, e as substâncias nitrogenadas não proteicas, que não atingem 0,5%. Quanto ao seu teor lipídico, os peixes dividem-se em peixes magros e peixes gordos, o que pode variar de acordo com o seu estado biológico, idade, tipo de alimentação, estado de nutrição e temperatura da água em que vive (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

A cavala é um exemplo de peixe gordo, cuja gordura total apresenta-se dispersa por toda parte do seu corpo, principalmente na carne e nas peles (FAULHAUBER, 1988). Devido à sua composição química riquíssima em lipídios insaturados (MENEZES *et al.*, 2009), variando de 7 a 8%, também serve como uma excelente fonte calórica para a dieta humana (BEIRÃO *et al.*, 2002).

O consumo regular de peixes gordos é capaz de proporcionar à dieta maior conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados como o ômega-3 (AGPI n-3) (NJINKOUÉ *et al.*, 2001)

que está relacionado com a redução dos triglicerídeos séricos, melhoramento da função plaquetária e ligeira redução da pressão arterial em pacientes hipertensos (MCGOWAN, 1997).

Pescador (2006) denomina esses ácidos graxos poli-insaturados de "essenciais". Isso, porque o ser humano e os demais mamíferos têm a capacidade de sintetizar somente certos ácidos graxos saturados e insaturados, mas são incapazes de sintetizarem certos ácidos graxos poli-insaturados, a exemplo do ômega-3, sem os quais o organismo humano não funcionaria adequadamente.

Os ácidos eicosapentaenoicos (EPA), docosaenoico (DHA) e o alfa-linolênico (ALA) são os três ácidos graxos ômega-3 mais importantes para a dieta humana. Os dois primeiros são provenientes principalmente de peixes marinhos e o último, que é considerado o mais comum ácido graxo ômega-3 encontrado nas dietas ocidentais, é obtido das nozes, vegetais folhosos, semente e óleo de linhaça, etc. (SARTORI; AMANCIO, 2012).

2.3 Histamina em peixes da família *Scombridae*

As aminas bioativas são bases orgânicas que possuem atividades biológicas. Formadas por processos bioquímicos, participam de funções fisiológicas e metabólicas importantes para os seres vivos, pois atuam na contração e no relaxamento do músculo liso. Como substâncias normais do crescimento de microrganismos e de vegetais, estimulam os neurônios sensoriais, motores e cardiovasculares, aceleram o processo metabólico e participam da secreção gástrica (GLÓRIA, 2005; STRATTON; HUTKINS; TAYLOR, 1991).

Dentro deste grupo, existem as aminas biogênicas que são compostos orgânicos nitrogenados alcalinos e de baixos pesos moleculares formados e degradados normalmente como resultado do metabolismo de vegetais, animais e microrganismos. Geralmente, originam-se através dos processos de aminação e transaminação de aldeídos ou cetonas, descarboxilação de aminoácidos por enzimas microbianas, decomposição térmica ou pela hidrólise de outros compostos nitrogenados (MAINTZ; NOVAK, 2007).

Na área de alimentos, o termo aminas biogênicas costuma ser utilizado para designar o grupo de aminas não voláteis como a histamina, espermina, putrescina, cadaverina, tiramina e triptamina. Assim, dentre os alimentos que apresentam aminas biogênicas em sua constituição, independentemente do seu tipo e da sua quantidade, podem ser citados os

peixes, ovos, legumes, queijos, produtos de soja, cerveja, vinhos, carne e seus derivados (SHALABY, 1996; BOURGEIOS; LARPENT, 1994).

Segundo Glória (2005), por serem resistentes ao tratamento térmico, as aminas biogênicas, a exemplo da histamina, costumam ser consideradas como bons indicadores do grau de qualidade dos alimentos frescos e processados, o que reflete nas suas condições higiênicas e a qualidade da matéria-prima anteriormente empregada. Spano *et al.* (2010) também afirmam que estas, quando presentes nos alimentos, além de serem utilizadas como indicadores de deterioração, também servem como excelentes indicadores da atividade microbiana indesejada.

Apesar das aminas serem consideradas como compostos essenciais para o crescimento e saúde dos organismos vivos, se estiverem presentes nos alimentos em altas concentrações, podem causar alguns efeitos adversos à saúde dos consumidores (LIMA; GLÓRIA, 1999).

Segundo a Portaria nº. 185, de 13 de maio de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os peixes pertencentes à família *Scombridae*, a exemplo da cavala, são espécies que podem produzir histamina em sua musculatura a níveis maiores que o máximo permitido, que é de 100 ppm (BRASIL, 1997).

Quando a histamina é ingerida nas quantidades de 8-40 mg/100g, 40-100 mg/100g e superior a 100 mg/100g pode provocar uma ligeiro, intermediário e intensivo envenenamento, respectivamente (PARENTE *et al.*, 2001). Portanto, o monitoramento dos níveis dessa amina torna-se fundamental para a prevenção de intoxicações do consumidor (POMBO, 2007). No Brasil, essa quantificação e caracterização costumam ser feitas segundo a Portaria nº 25 (BRASIL, 2011), a qual descreve que a análise de histamina e de outras aminas biogênicas deve ser realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Entre os fatores que influenciam a formação de histamina em pescados estão: o tempo de armazenamento antes e pós-pesca, práticas de manejo pós-captura, método de pesca, temperatura do peixe, sistemas de refrigeração e de congelamento durante armazenamento (GLÓRIA; IZQUIERDO-PULIDO, 1999).

A histamina é um vaso dilatador resistente ao processamento térmico que é formado nos alimentos a partir da descarboxilação da histidina pela ação de bactérias histidinas descarboxilases (BEHLING; TAYLOR, 1982), que de acordo com Taylor *et al.* (1978), apresentam-se como seus maiores representantes os gêneros *Clostridium*, *Lactobacillus* e os membros da família *Enterobacteriaceae*. Porém, em temperaturas superiores a 4°C, as principais produtoras são as bactérias entéricas, especificamente a *Morganella morganii*,

determinadas cepas de *Klebsiella pneumoniae* e algumas variantes de *Hafnia alvei* (STRATTON; HUTKINS; TAYLOR, 1991).

Os sintomas da intoxicação por histamina costumam aparecer pouco tempo após a ingestão do alimento e podem ser caracterizados por problemas cutâneos, gastrointestinais, hemodinâmicos e neurológicos (SHALABY, 1996). A intensidade dos sintomas depende de alguns fatores, como o peso do indivíduo, diferenças no metabolismo e ingestão de medicamentos por parte deste (LEHANE; OLLEY, 2000).

Estudos mostram que a histamina por si só não é o único agente responsável por esta toxicidade no alimento (BALDINI, 1982), pois ela age sinergicamente com outras aminas, como putrescina e cadaverina que são produtos da descarboxilação do aminoácido lisina e do aminoácido ornitina, respectivamente (GINGERICH *et al.*, 1999; MIDDLEBROOKS *et al.*, 1988) presentes no pescado deteriorado.

2.4 Conservação do pescado pela refrigeração

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Peixe Fresco define peixe fresco como aquele produto obtido de espécimes saudáveis e de qualidade adequada ao consumo humano, convenientemente lavado e que seja conservado somente pelo resfriamento a uma temperatura próxima a do ponto de fusão do gelo (BRASIL, 1997). Segundo Ogawa e Maia (1999), este produto pode ser comercializado nas formas *in natura* ou industrializado. A forma *in natura* refere-se ao pescado recém-capturado, submetido ou não à refrigeração e ainda cru.

Entretanto, o pescado, devido à sua elevada atividade de água, rápida oxidação de lipídios, composição química e pH próximo da neutralidade, é considerado um produto bastante perecível e um dos alimentos mais suscetíveis à deterioração, a qual está intimamente vinculada a diversos fatores como: espécie, sazonalidade, microbiota natural, condições de captura, manuseio, processamento e comercialização (MINOZZO; MALUF, 2007).

Quando os produtos pesqueiros não são obtidos e/ou armazenados em condições higiênicas adequadas, podem veicular diversas enfermidades para os consumidores. Isso porque esse tipo de alimento é extremamente vulnerável à proliferação de microrganismos deterioradores e patogênicos (MARTINS; VAZ; MINOZZO, 2002).

Dentre as enfermidades causadas, estão as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) (QUINATES, 2003), as quais podem ser originadas a partir de pescado contaminado

com *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostrídios*, *Salmonella* ou *Staphylococcus aureus*. (SALES; OLIVEIRA; COSTA, 1988).

Portanto, devido à sua alta perecibilidade, faz-se necessário adotar medidas de precaução e técnicas de conservação adequadas para que esse tipo de alimento não sirva de via de transmissão de doenças aos seus consumidores (PEREIRA, 2001).

A indústria de pescados vem buscando novas alternativas para a conservação de seus produtos (GONÇALVES; GINDRI JÚNIOR, 2009). No entanto, percebe-se que entre os vários métodos utilizados, aqueles baseados no uso de baixas temperaturas, a exemplo da refrigeração, continuam sendo os mais empregados, mesmo necessitando de um maior controle quanto à manutenção de temperatura, umidade relativa e velocidade de circulação do ar (MORAIS, 2013).

O frio não melhora a qualidade dos produtos alimentícios, ele apenas retarda as reações químicas, enzimáticas e o crescimento microbiológico que ocorrem durante o seu processamento. Por isso, apenas tecidos sadios e de qualidade devem ser refrigerados (ORDÓÑEZ, 2005).

A utilização do frio ainda é vantajosa para as indústrias alimentícias, pois além de seu baixo custo, consegue promover segurança alimentar ao produto e prolongar a sua vida de prateleira com a mínima modificação nas suas características nutritivas e sensoriais (ORDÓÑEZ, 2005).

2.5 Revestimento em pescado

Com o intuito de aumentar a vida útil dos produtos alimentícios e atender à demanda dos consumidores por produtos que sejam cada vez mais próximos ao natural, saudáveis, seguros e com menos conservantes, faz-se necessário promover melhorias nas embalagens tradicionais, por exercerem um importante papel na conservação dos alimentos (SOARES *et al.*, 2009).

Além disso, por ser a maioria de origem sintética, e, portanto, não biodegradável, podem originar a longo prazo sérios problemas ambientais. Por isso, nos últimos anos, tem-se observado uma crescente utilização de biopolímeros como os polissacarídeos e as proteínas na elaboração de novas embalagens que interajam de forma positiva com o alimento e que causem menos impactos no ambiente (ASSIS; LEONI, 2003).

Assim, neste contexto, merecem destaque as embalagens ativas, a exemplo dos filmes e revestimentos antimicrobianos e antioxidantes, que segundo Soares (1998), são

aquelas que interagem de forma intencional com o alimento, com o objetivo de alterar alguma de suas características para aumentar a sua vida útil, segurança ou manter suas características sensoriais.

As principais técnicas aplicadas na elaboração desse tipo de embalagem estão associadas com a incorporação e/ou imobilização de certas substâncias na própria embalagem, ao invés da incorporação direta no produto (KERRY; O'GRADY; HOGAN, 2006).

As embalagens ativas, mais especificamente os revestimentos, costumam ser aplicadas sobre a superfície do alimento com o intuito de manter a sua textura, reduzir a sua perda de umidade e oxigênio e a migração de lipídios e aroma (GIANCONE *et al.*, 2008).

Geralmente, esta aplicação é feita por imersão, na qual os alimentos são diretamente imersos na formulação do revestimento (em meio aquoso), o excesso é removido e o revestimento é seco, formando uma espécie de filme sobre a sua superfície (PINHEIRO *et al.*, 2010). Este, entretanto, deve ser invisível, ter aderência suficiente para não ser facilmente removível e não promover alterações no gosto dos produtos nos quais foram aplicados (ASSIS; LEONI, 2003). As formulações devem ser líquidas e capazes de se espalhar uniformemente em toda a superfície do produto. Além disso, depois de secas, devem possuir coesividade, adesividade e durabilidade adequadas (KESTER; FENNEMA, 1986).

Os filmes e os revestimentos à base de polissacarídeos ou proteínas possuem excelentes propriedades mecânicas, sensoriais e óticas, porém são sensíveis à umidade, pois apresentam alto coeficiente de permeabilidade ao vapor da água (SCHENATO, 2010). Assim, uma forma de reverter essa situação seria adicionar compostos às suas matrizes, tais como lipídios, para aumentar a sua hidrofobicidade.

Devido à possibilidade de incorporação de algumas substâncias nesses revestimentos, eles podem atuar no controle do crescimento de microrganismos, quando adicionados de agentes antimicrobianos, como: os óleos essenciais; ácidos orgânicos e seus sais; sulfitos; antibióticos e enzimas (GERRA *et al.*, 2005).

Isso ocorre porque, segundo Park, Daeschel e Zhao (2004), quando se formam esses tipos de filmes ou revestimentos à base de quitosana, ele é capaz de levar consigo outras substâncias funcionais, como agentes antimicrobianos, nutracêuticos e antioxidantes, devido à presença de uma elevada densidade de grupos hidroxila e de grupos amino na estrutura deste polímero.

Quanto à eficácia destes revestimentos, diversos trabalhos na literatura podem ser citados, a exemplo do realizado por Alak (2012), que observou uma redução no pH, produção de bases voláteis totais e no crescimento de microrganismos em filés de cavala, armazenados por 9 dias a 4° C, revestidos de quitosana adicionado de ácidos acético e láctico.

Anteriormente, Alak *et al.* (2010), haviam registrado melhores resultados de pH e inibição do crescimento microbiano em filés de bonito (*Sarda sarda*) revestidos com quitosana em comparação com amostras *in natura* ou embaladas à vácuo.

Mena, Rodríguez e Barrero (2010), em seus estudos com lombos de atum congelados e revestidos com solução de carragenana e gelatina em diferentes proporções, observaram que esse tipo de revestimento foi capaz de diminuir a oxidação lipídica, a perda de umidade e a degradação proteica desse tipo de peixe, além de manter a sua coloração original por mais tempo.

Soares, Oliveira e Vicente (2015), usando o revestimento de quitosana em amostras de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) como uma alternativa para substituir o glaciamento, constataram que esse tipo de revestimento é uma alternativa viável pois além de manter a cor do produto e controlar a atividade microbiana, teve boa aceitabilidade pelos consumidores.

Em filés de pargo (*Lutjanus purpureus*) revestidos com quitosana e congelados, NUNES (2014) também obtiveram resultados melhores quanto a qualidade microbiológica, menores taxas de oxidação lipídica, manutenção da coloração e aumento dos valores de pH quando comparados ao grupo controle.

Duan, Cherian e Zhao (2010), avaliando a aplicação de diferentes revestimentos à base de quitosana e óleo de peixe, adicionados ou não de vitamina E em filés frescos de Lorcha (*Ophiodon elongatus*) submetidos ao resfriamento ou ao congelamento, também obtiveram resultados satisfatórios, pois conseguiram diminuir a perda por gotejamento, os valores de TBARS e a taxa de crescimento de bactérias totais e psicotróficas. Logo, diante do exposto, sugere-se que a aplicação de revestimentos bioativos realmente seja uma excelente alternativa para estender a vida de útil destes e de outros produtos.

2.6 Substâncias com propriedades bioativas

2.6.1 Quitosana

A quitosana é um biopolímero geralmente aplicado na elaboração de revestimento e apresenta-se como um produto natural de grande importância econômica e ambiental, pois além de seu baixo custo, é renovável e biodegradável. É biofuncional, biocompatível, antioxidante, não tóxica e capaz de formar filmes com propriedades antifúngicas e antibacterianas, podendo, inclusive, ser aplicada na área biomédica, agrícola, alimentícia, cosmética, nos processos de clarificação e desacetilação de sucos de frutas e na purificação da água (GÓMEZ-ESTACA *et al.*, 2010).

Gonsalves *et al.* (2011) afirmam que este polissacarídeo é insolúvel em água, em solventes orgânicos e em bases, sendo solúvel na maioria das soluções de ácidos orgânicos com pH inferior a 6,0, a exemplo daquelas preparadas com ácidos acético e fórmico. Quando solubilizada em pH abaixo de 6,5, a quitosana forma soluções viscosas que contribuem para as características de seus revestimentos, que segundo Ribeiro (2005), além de serem comestíveis, são flexíveis, de longa duração e difíceis de romper.

A quitosana também apresenta a função de agente quelante de íons metálicos, podendo atuar contra a oxidação lipídica e na intervenção da produção de toxinas microbianas (BORDERÍAS; SÁNCHEZ-ALONZO; PÉREZ-MATEOS, 2005).

Estudos com carnes e frutos do mar com altas quantidades de ácidos graxos insaturados revelaram que a simples adição de quitosana mostrou-se eficaz para o controle da oxidação lipídica, tanto em bacalhau (*Gadus morhua*), quanto em carne picada (SHAHIDI *et al.*, 2002; DARMADJI; IZUMIMOTO, 1994).

Com relação ao seu espectro de ação contra os microrganismos, a quitosana é capaz de inibir o crescimento de uma ampla variedade de fungos, leveduras e bactérias (CHAMORRO *et al.*, 2011), como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella entérica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Shigella dysenteriae*, dentre outros (FAI; STAMFORD, Thayza; SATAMFORD, Tânia, 2008). Entretanto, isso vai depender do tipo de quitosana utilizado, do seu grau de desacetilação, da sua massa molar e da temperatura e pH do meio (KHAN, 2011).

De acordo com Antonino (2007), a quitosana é um amino-polissacarídeo obtido da desacetilação da quitina, na qual os grupamentos acetamido (-NHCOCH₃) da quitina são transformados, em graus variados, em grupos amino. Esses grupos amínicos protonados, segundo Yadav e Bhise (2004), provavelmente se ligam seletivamente à superfície celular carregada negativamente dos microrganismos, o que pode alterar a atividade e a permeabilidade de suas membranas, resultando na sua completa inibição.

Entretanto, o efeito da quitosana é distinto nos dois grupos de bactérias. A atividade antimicrobiana contra as bactérias Gram-positivas costuma aumentar quando aumenta a massa molecular do polímero, enquanto que, para as bactérias Gram-negativas, a sua atividade só aumenta quando a massa molecular do polímero diminui.

Kim e Rajapakse (2005) supõem que a quitosana de alta massa molecular forme um filme ao redor da célula das bactérias Gram-positivas o que acaba inibindo a absorção de nutrientes por parte delas, enquanto que a quitosana de baixa massa molecular, por conseguir penetrar com mais facilidade nas bactérias Gram-negativas e atingir o DNA, acaba impedindo a transcrição e a tradução deste, desestabilizando-as por completo.

Portanto, a quitosana, por apresentar propriedades antimicrobianas e antifúngicas, demonstra um alto potencial para a sua aplicabilidade na elaboração de biofilmes, podendo ainda, ser utilizada em associação com outras substâncias para aumentar os seus efeitos de preservação sobre os alimentos (SANTOS, 2012).

Além das propriedades já mencionadas, a quitosana também é capaz de exercer ações benéficas para a saúde dos consumidores, pois ela é capaz de reduzir o colesterol associado a proteínas de baixa densidade (LDL) e aumentar aquele que está associado a proteínas de alta densidade (HDL), além de reduzir o peso corporal (DUTTA *et al.*, 2009), melhorando a qualidade nutricional do produto.

2.6.2 Ácido acético

Quanto à escolha de um diluente na preparação de soluções à base de quitosana, o ácido acético têm sido o agente mais referido na bibliografia e também aquele descrito como o que apresenta melhores resultados (ADAY; CANER, 2010; MARTÍNEZ-CAMACHOA, *et al.*, 2010; ROMANAZZI *et al.*, 2009).

O ácido acético é um ácido orgânico de cadeia curta, incolor e de baixa toxicidade ao organismo humano que é resultante da fermentação (oxidação) do álcool etílico por ação da bactéria *Acetobacter aceti*. Esse composto, além de ser solúvel em água, também é solúvel em solventes orgânicos, tais como o éter, álcool etílico, acetona, glicerol e dimetil sulfóxido (PARDI *et al.*, 1994, SILVA; DUPIM, CHAZIN, 2015; UTYAMA, *et al.*, 2007).

Sua fórmula e massa moleculares são, respectivamente, $C_2H_4O_2$ e 60,05 g/mol. Quando dissolvido em solução aquosa, não é capaz de se dissociar completamente, por isso é classificado como um ácido fraco. Ou seja, em uma solução aquosa 0,1 M de ácido

acético, apenas 1% das moléculas presentes é capaz de se dissociar, originando os íons acetato e hidrônio (COSTA *et al.*, 2005).

Com relação à sua atividade antibacteriana, Benassatti, Marfil e Occhionero (1994) afirmam que este ácido possui atividade contra as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Isso ocorre porque o ácido acético é solúvel nas membranas destas bactérias quando na sua forma não dissociada. Assim, quando chega ao citoplasma, este ácido se dissocia e há a liberação de um próton, o qual precisa de energia para ser expulso e isso acaba restringindo o crescimento da própria célula.

De acordo com Van Netten, Van Der Zee e Mossel (1984) se este ácido estiver presente na fase logarítmica do crescimento bacteriano, ele pode acarretar na morte dos microrganismos devido às alterações provocadas no pH intracelular e no potencial eletroquímico da membrana.

As principais aplicações industriais do ácido acético estão voltadas para a produção de anidrido acético, ácido cloroacético, ésteres de acetato e como componente do vinagre (4 a 8%). Esta última, que é considerada como a sua mais antiga aplicação, costuma ser utilizada como condimento e como conservante de alimentos (SILVA; DUPIM, CHAZIN, 2015).

Segundo Pardi *et al.* (1994), em concentrações acima de 0,5%, já se inicia a sua atividade antimicrobiana a qual ocorre devido à queda de pH provocada no meio. Assim, a presença de 1 a 2% desse ácido não dissociado em carnes, pescados e vegetais é considerada suficiente para impedir ou retardar a ação microbiana e enzimática, protegendo o alimento contra a deterioração, desde que boas condições de higiene sejam mantidas.

Luck (1981) afirma que a atividade do ácido acético é duplicada na faixa de pH 5,0 a 6,0. Quando ele está sobre um substrato acidificado a pH 3,0, a sua atividade antimicrobiana é 10 a 100 vezes maior do que a de qualquer outro ácido e isso ocorre devido à sua capacidade de penetrar mais intensamente na célula devido à sua lipossolubilidade.

Boskou e Debevere (2000) em seus estudos sobre o efeito do ácido acético a 10% em filés de bacalhau (*Gadus morhua*) refrigerados e armazenados sob atmosfera modificada, observaram que a presença deste ácido proporcionou a redução da quantidade de microrganismos aeróbios, enterobactérias e bactérias que produzem H₂S, além da inibição das bases voláteis totais (BVT) e da trimetilamina (TMA).

Por sua vez, Mujica (2000) avaliando a eficiência do ácido acético em relação à redução dos teores de ureia e ao aumento da vida útil de filés de cação (*Prionace glauca*) armazenados em diferentes temperaturas de refrigeração, concluíram que o tratamento com

ácido acético a 1% durante 3 horas a 5°C conseguiu reduzir os teores de ureia e que a vida útil dos peixes armazenados a 0°C e 10°C foi prolongada em até 12 e 3 dias, respectivamente.

2.6.3 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são considerados metabólitos secundários biodegradáveis e voláteis que estão presentes em muitos órgãos vegetais, como flores, folhas, cascas e frutos. Possuem propriedades antibacteriana, antiparasitária, inseticidal, antiviral, antifungal e/ou antioxidante (SIQUI *et al.*, 2000; HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012) que podem estar relacionadas com as funções que estes óleos exercem nas próprias plantas (MAHMOUD; CROTEAU, 2002).

Os óleos essenciais costumam ser formados por uma mistura complexa de componentes em diferentes proporções, a exemplo dos hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, álcoois simples, fenóis, cetonas, ésteres e ácidos orgânicos fixos, todos de natureza lipofílica, estando um deles em maior quantidade e, portanto, farmacologicamente ativo (SANTURIO *et al.*, 2007).

Estes óleos podem ser formados por mais de sessenta desses componentes individuais, dos quais os fenólicos são considerados os principais responsáveis pelas suas propriedades antibacterianas (SENATORE, 1996; COSENTINO *et al.*, 1999).

Tais compostos são geralmente extraídos das plantas através da técnica de destilação por arraste com vapor de água, que é o mais utilizado, ou pela prensagem do pericarpo de algum fruto cítrico, podendo em seguida, serem aplicados como coadjuvantes em medicamentos ou nas áreas alimentícia, cosmética e de perfumaria (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Entretanto, para que sua composição seja mantida e sua ação melhorada, precisam ser armazenados na ausência de luz e em recipientes estanques ao ar e a baixas temperaturas (BURT, 2004).

No setor alimentício, costumam ser utilizados como conservantes, pois além de serem naturais, também são capazes de retardar oxidações, deteriorações e o ataque de microrganismos em certos tipos de alimentos (SACCHETTI *et al.*, 2005).

No geral, mesmo a sua maioria sendo classificada como GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro) (KABARA, 1991) a sua utilização como preservativo em alimentos deve obdecer a sua concentração inibitória mínima (MIC), a qual é considerada por

muitos autores como uma medida do seu desempenho antibacteriano (LAMBERT *et al.*, 2001; TASSOU; KOUTSOUMANIS; NYCHAS, 2000).

Portanto, antes de sua aplicação em alimentos, recomenda-se que além da concentração inibitória mínima (MIC), que costuma ser determinada por diluição ou por difusão, também sejam conhecidas de forma detalhada cada uma de suas propriedades, a exemplo do seu modo de ação, microrganismos alvo e influência da matriz dos alimentos, pois é imprescindível que seja estabelecido um equilíbrio entre a sua eficiência antimicrobiana e a aceitação sensorial do produto ao qual foi adicionado (HYLDGAARD; MYGIND; MEYER, 2012).

Segundo Burt (2004), estudos realizados com carnes frescas, peixes, laticínios e legumes revelaram que os óleos essenciais quando utilizados em níveis entre 0,2 e 10 µl/ml mostravam-se eficazes contra a *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, o que pode estar associado com a presença de certos agentes antibacterianos que fazem parte de sua constituição, tais como o carvacrol, timol, eugenol, cinamaldeído e ácido cinâmico que possuem concentrações inibitórias mínimas (MICs) de 0,05-5 µl ml⁻¹ in vitro.

Com o intuito de minimizar os impactos ambientais, reduzir o uso de aditivos e agregar qualidade aos produtos, pesquisas recentes na indústria alimentícia tentam desenvolver embalagens ativas e inteligentes que sejam elaboradas a partir de polímeros biodegradáveis em associação com óleos essenciais, graças às suas propriedades de inibir a atividade microbiana nos alimentos (MONTES; NETA; CRUZ, 2013).

Quando em contato com o alimento, os óleos essenciais incorporados aos polímeros migram de forma lenta e constante, por difusão ou separação, para a superfície do produto, de modo que a atividade antimicrobiana de seus agentes bactericidas ou bacteriostáticos ocorra com maior intensidade onde se faz necessário (COMA, 2008).

Entretanto, para que melhores resultados sejam alcançados e que a dispersão destes óleos seja facilitada através do meio, tornou-se comum durante a preparação destas embalagens, a utilização de solventes, detergentes ou agentes emulsificadores, como o Tween 20 ou Tween 80 (GROPPO *et al.*, 2002)

Dentre os óleos essenciais existentes na natureza, o óleo de orégano apresenta significativo destaque graças as suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes. Por ser classificado como GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro), possui um grande potencial como aditivo sintético (FDA, 2006). Entretanto, no Brasil, segundo o regulamento técnico para especiarias, RDC n° 276 da ANVISA, apenas duas de suas espécies, o orégano

chileno (*Origanum vulgare* L.) e o orégano mexicano (*Lippia graveolens* Kunth), têm seu uso reconhecido e devem seguir os regulamentos técnicos específicos de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação (BRASIL, 2005).

Além de serem utilizados como agentes aromatizantes em perfumes, bebidas e alimentos, o óleo essencial de orégano possui algumas propriedades terapêuticas (tônica, anti-séptica e anti-espasmódica) que possibilitam o seu uso em cosméticos e em produtos de higiene pessoal e como inseticidas e fungicidas (REHDER *et al.*, 2004; ASENSIO; GROSSO; JULIANI, 2015). Junior *et al.* (2014) também afirmam que o óleo essencial de orégano possui propriedades antimicrobianas, medicinais e antioxidantes.

Souza *et al.* (2006), em seus estudos, verificaram que as bactérias *Serratia mercencens*, *Shigella sonnei*, *Aeromonas hydrophilla*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis* e *Salmonella entérica* são bastante sensíveis na presença deste óleo (20µL/disco), apresentando halos de inibição de 30-36 mm e MIC variando de 20-40 µL/mL para a maioria delas.

Dentre os seus diversos componentes, o carvacrol e o timol merecem destaque por serem os principais responsáveis por suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (GUTIERREZ; BARRY-RYAN; BOURKE, 2008). Entretanto, alguns fatores como a idade da planta, época de colheita, tipo de solo, clima, práticas agrícolas, variedade do orégano e tipo de extração utilizada, podem influenciar bastante na sua composição e no seu potencial biológico, o que acaba limitando o seu uso como conservante em alimentos (SILVA *et al.*, 2010; BURT, 2004).

Embora o timol e o carvacrol apresentem estruturas similares, diferindo apenas pela localidade do grupo hidroxila sobre o anel fenólico, ambos possuem o mesmo tipo de ação contra os microrganismos, pois tornam as membranas celulares permeáveis, desintegram a membrana externa de bactérias Gram negativas, liberando os lipopolissacarídeos (LPS) e aumentam a permeabilidade da membrana citoplasmática ao ATP (SILVA, 2010). Ou seja, estes componentes são capazes de desestabilizar as membranas celulares, causando efeitos posteriores em seu pH homeostático e no equilíbrio de seus sais inorgânicos (LAMBERT *et al.*, 2001).

Estudos com mortadela revestida com filmes de quitosana enriquecidos com extrato puro de óleo de orégano mostraram que, quanto às suas propriedades bactericidas para *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, havia um efeito sinérgico entre eles, pois quando

juntos, reduziu em 1 log o crescimento desses microrganismos, quando comparado ao revestimento feito apenas com quitosana (CHI; ZIVANOVIC; PENFIELD, 2006).

Cardoso *et al.*, (2010) avaliando a estabilidade oxidativa da carne bovina *in natura* revestida com biofilme à base de gelatina, extratos de alecrim e orégano e mantida sob refrigeração, verificaram que os diversos tratamentos aplicados resultaram em significativa estabilidade oxidativa para este produto, sendo seus melhores resultados apresentados por aqueles tratamentos em que os dois óleos apareciam juntos, havendo uma reação sinérgica entre eles.

2.6.4 Ácido ascórbico

Com o intuito de inibir ou retardar a oxidação lipídica de alguns produtos gordurosos, a exemplo dos peixes gordos, são utilizadas substâncias com capacidade antioxidante. No mercado, contudo, existem tanto os antioxidantes naturais, quanto os sintéticos, como o butil-hidroxianisol (BHA) e o butilhidroxitolueno (BHT), os quais podem ser tóxicos quando administrados em altas doses. Por isso, nos últimos anos, tem-se observado um crescente interesse na substituição destes antioxidantes sintéticos pelos naturais (MORAES *et al.*, 2006).

Segundo Ramalho e Jorge (2006), a indústria alimentícia tem estudado bastante sobre a natureza e os mecanismos de ação dessas substâncias, com a finalidade de minimizar os processos oxidativos responsáveis pelo desenvolvimento de sabores e odores estranhos nesses tipos de produtos.

Entretanto, antes de utilizá-los, devem ser analisadas algumas de suas principais características, como: fácil aplicabilidade e compatibilidade com o alimento; ausência de efeitos indesejáveis na cor, no sabor e em outras características do alimento; estabilidade nas condições de processo e armazenamento; formação de compostos não tóxicos, mesmo quando utilizados em grandes quantidades e eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%) (BAILEY, 1996).

Com relação à sua classificação, existem os antioxidantes primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e os antioxidantes mistos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2009).

Dentre os antioxidantes removedores de oxigênio, o ácido ascórbico é o que apresenta maior destaque, pois além de ser reconhecido como seguro para o consumo humano, barato e bem aceito pelos consumidores, é também considerado um composto

reduzidor moderadamente forte e de natureza ácida, solúvel em água e capaz de formar sais neutros na presença de bases (MIGUEL, 2008).

O ácido ascórbico ou vitamina C, como é geralmente denominado, é considerado um poderoso antioxidante em alimentos, agindo das seguintes formas: remoção do oxigênio, prevenindo a oxidação de constituintes sensíveis do alimento; regeneração de antioxidantes e redução de produtos indesejáveis da oxidação (RAMALHO, 2006).

O ácido ascórbico é essencial à saúde, pois além do seu poder antioxidante, desempenha outras atividades importantes para o organismo, como regular a sua temperatura, ajudar na formação do colágeno e no desenvolvimento e regeneração da pele, ossos, dentes e músculos. Quando em falta no organismo, o indivíduo pode desenvolver o escorbuto, porém, quando consumido em excesso, pode provocar dor abdominal, diarreia e cálculos renais. Portanto, recomenda-se o seu consumo de forma moderada, sendo o tomate, as folhas verdes e as frutas, principalmente as cítricas, suas principais fontes naturais (GAMA *et al.*, 2002).

Logo, por ser considerado um excelente antioxidante, a sua incorporação em filmes e revestimentos comestíveis de quitosana poderia ser, segundo Mello e Cunha (2010), uma excelente alternativa para preservar a qualidade dos produtos alimentícios, através do controle oxidativo de seus lipídios e pigmentos.

As embalagens ativas antioxidantes, as quais contêm antioxidantes (metais, vitaminas e óleos essenciais estabilizados) na sua constituição, são capazes de inibir ou reduzir as reações de oxidação do alimento, ao reagirem com radicais livres e peróxidos presentes no meio (MONTES; NETA; CRUZ, 2013). Entretanto, essa migração do antioxidante a partir do polímero para o alimento é um processo bastante complexo, pois é afetada, principalmente, pela natureza do antioxidante, propriedades da matriz do polímero e pelas características da superfície do próprio alimento (LÓPEZ-DE-DICASTILLO *et al.*, 2012).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Foram utilizadas 80 postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) obtidas diretamente do Mercado de Peixes localizado no Bairro Mucuripe, Fortaleza-CE. Após serem adquiridas, as postas foram previamente acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas ao

Laboratório de Carnes e Pescado do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará onde foram armazenadas em refrigerador doméstico a $4\pm 1^\circ\text{C}$ até o momento da aplicação dos revestimentos.

Para a elaboração dos revestimentos, foi utilizada quitosana de alto peso molecular, obtida da Polymar Indústria e Comércio Ltda, com 86,7% de desacetilação, óleo essencial de orégano (*Oreganum vulgare*), adquirido da empresa Ferquima Indústria e Comércio Ltda. (Vargem Grande Paulista, SP) e o ácido ascórbico, da empresa Dinâmica Química Contemporânea Ltda.

3.2 Metodologia

3.2.1 Testes preliminares

Inicialmente, foram feitos testes que pudessem indicar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) da quitosana, do ácido ascórbico e do óleo essencial de orégano frente ao crescimento das cepas-padrão das bactérias indicadoras de contaminação *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada para cada microrganismo, utilizando-se a técnica de difusão em poços, segundo o *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2010), nos quais foram colocados 50 μL de cada uma das concentrações das substâncias a serem testadas.

As concentrações utilizadas para a quitosana e para o ácido ascórbico foram de 0,5%, 1% e 1,5%, enquanto para o óleo essencial de orégano foram de 100 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$, 400 $\mu\text{g/mL}$ e 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Como diluentes para cada um desses componentes utilizou-se o ácido acético 0,4%, a água esterilizada e o tween 80 a 10%, respectivamente. Estes, por sua vez, também serviram como padrão para as análises das CIM as quais foram realizadas em duplicata.

A princípio, observou-se que nenhuma das concentrações testadas para a quitosana e para o ácido ascórbico foi capaz de inibir o crescimento dessas bactérias deterioradoras, embora o óleo essencial na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ tenha apresentado efeito inibidor frente apenas para a *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

Entretanto, com o intuito de otimizar as quantidades desses componentes e prevendo que pudesse haver sinergismo entre eles quando fossem misturados na elaboração dos revestimentos, prosseguiu-se com novos testes que pudessem comprovar esta hipótese.

Assim, foram preparadas três diferentes soluções que continham misturas desses componentes, a saber:

- Solução 1: Quitosana 1% + Óleo essencial de orégano 1000 μ g/mL + Ácido ascórbico 1%;
- Solução 2: Quitosana 1% + Ácido ascórbico 1%;
- Solução 3: Quitosana 1% + Óleo essencial de orégano 1000 μ g/mL.

Essas três soluções também foram testadas para os mesmos microrganismos indicadores e houve sinergismo entre essas substâncias, pois a solução 1 e a solução 2, que possuem componentes com concentrações que não apresentaram atividade bactericida individualmente, em combinação conseguiram inibir todos os três microrganismos testados.

3.2.2 Elaboração das soluções de revestimento

Após determinada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) da quitosana, do ácido ascórbico e do óleo essencial de orégano, procedeu-se à elaboração das soluções de revestimento que seriam aplicadas nas postas de cavala.

No entanto, depois que as mesmas foram elaboradas, verificou-se que a quitosana não havia se solubilizado por completo em nenhuma das formulações e que após uma semana em repouso na geladeira a 4°C, todas as soluções apresentavam separação de fases o que poderia comprometer a eficácia desses revestimentos.

Assim, com o intuito de melhorar a estabilidade dessas soluções, foram testadas diferentes concentrações de ácido acético de 0,4%, 1,0%, 1,5%, 2,0% e 3,0% e também diferentes modos de agitação (agitador magnético, Ultra Turrax e sonicador).

Ao final de quatro semanas de testes, concluiu-se que a melhor forma de agitar as soluções era submetendo-as a 12 horas de agitação em agitador magnético e mais 10 min no Ultra Turrax e que a quitosana deveria ser inicialmente diluída em ácido acético 3%, e depois adicionada de água até a concentração de 1,5%, para que o pH final fosse de aproximadamente 3,5.

Assim, foram elaboradas as soluções de revestimento, as quais foram preparadas a partir da dissolução de quitosana 1% (m/v) em ácido acético 1,5% (v/v), usando agitador magnético com agitação constante de 12 horas e a temperatura ambiente.

Após as primeiras 6 horas de agitação, adicionou-se água esterilizada em todas as soluções, nas proporções de 25% (T1 e T3) e 50% (T2 e T4) v/v. Duas horas depois, foram acrescentados 25% (v/v) de emulsão de óleo essencial de orégano e Tween 80 (1000 µg/mL) e/ou ácido ascórbico 1%, de acordo com a composição de cada tratamento.

Depois da adição dos últimos constituintes, as soluções permaneceram em agitação por mais 4 horas. Terminado o tempo de agitação, as soluções foram levadas ao Ultra Turrax para serem homogeneizadas por 10 min. Em seguida, foram envolvidas com filmes de PVC, colocadas em câmara de fluxo laminar por 30 min e armazenadas a $4\pm 1^\circ\text{C}$ em refrigerador doméstico durante 12 horas.

3.2.3 Aplicação dos revestimentos

No total, foram preparadas quatro diferentes soluções de revestimento, as quais foram aplicadas por imersão nas postas de cavala mantidas sob refrigeração a $4\pm 1^\circ\text{C}$. As 80 postas de cavala, por sua vez, foram divididas em cinco grupos, ficando 16 postas para cada um, sendo que cada grupo recebeu um tratamento diferente, conforme mostrado a seguir:

- Controle (C) - postas de cavala *in natura* mantidas sob refrigeração;
- T1 - postas de cavala refrigeradas revestidas com solução à base de quitosana 1%, óleo essencial de orégano (1000 µg/mL) e ácido ascórbico 1%;
- T2 - postas de cavala refrigeradas revestidas com solução à base de quitosana 1% e ácido ascórbico 1%;
- T3 - postas de cavala refrigeradas revestidas com solução à base de quitosana 1% e óleo essencial de orégano (1000µg/mL);
- T4 - postas de cavala refrigeradas revestidas com solução à base de quitosana 1%.

Com exceção das postas do grupo Controle, todas as demais postas foram imersas nas soluções de revestimento e tiveram seus excessos de líquidos drenados em peneiras de plástico por 1min. Depois de colocadas individualmente em bandejas de isopor, envolvidas com filme de PVC e identificadas, as postas ficaram armazenadas em refrigerador doméstico a $4\pm 1^\circ\text{C}$ até a realização das análises.

No tempo zero e a cada sete dias, foram feitas tanto análises físico-químicas, quanto microbiológicas. O tempo total de armazenamento foi de 21 dias e o experimento foi realizado em triplicata e com três repetições.

3.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas, realizadas no Laboratório de Carnes e Pescado do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, determinaram os valores de BVT, TMA, TBARS, pH, Cor e Textura (força de cisalhamento) das postas de cavala ao longo de 21 dias a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

3.3.1 Bases voláteis totais (BVT)

Para a quantificação do conteúdo de Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT) das amostras de cavala, a metodologia utilizada foi a de microdifusão de Conway descrita por Conway e Byrne (1933), na qual os resultados foram expressos em mg de N/100 g de cavala.

Para a preparação do extrato foram pesados em balança analítica (Ohaus Analytical Standard model AS200) $50,0 \pm 0,1$ g das postas de cavala previamente trituradas em multiprocessador (Hamilton Beach, modelo 70595) e adicionados 50 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10%. Inicialmente, essa mistura foi macerada por 1 minuto em gral de porcelana e em seguida, peneirada e filtrada em papel de filtro quantitativo faixa branca.

A montagem das placas de microdifusão de Conway procedeu-se da seguinte maneira: no compartimento interno das placas foram adicionados 2 mL de ácido bórico a 1% contendo indicador misto de Tashiro e, no compartimento externo, foram adicionados apenas 2 mL do extrato anteriormente preparado e 2 mL de solução saturada de carbonato de potássio. Logo após a adição dos reagentes, as placas foram imediatamente vedadas com o auxílio de tampas de vidro, graxa de silicone e grampos metálicos. Em seguida, as mesmas tiveram seus conteúdos homogeneizados e mantidos em estufa a $35-36^\circ\text{C}$ por 2 horas.

Após esse período, realizou-se a titulação do conteúdo das placas com uma solução de ácido clorídrico a 0,01 N. Os valores foram expressos em mg de N-BVT/100 g de cavala e calculado através da equação (1) a seguir:

$$\text{mg N-BVT/100g} = \frac{(V \times N \times 1400) \times (T+U)}{V_a \times P} \quad (1)$$

Onde: V = volume (mL) do ácido HCl 0,01N gasto na titulação;

N = normalidade da solução de HCl 0,01N;

T = volume (mL) da solução de TCA a 10% usado;

U = umidade da amostra;

Va = volume (mL) da alíquota do extrato;

P = peso da amostra utilizada no preparo do extrato (g).

3.3.2 Trimetilamina (TMA)

A quantidade de Nitrogênio da Trimetilamina (N-TMA) também foi quantificada através da metodologia de microdifusão de Conway descrita por Conway e Byrne (1933), cujos valores foram expressos em mg de N/100 g de cavala.

A preparação do extrato procedeu-se da mesma forma que para a análise de N-BVT, entretanto, a montagem das placas de microdifusão ocorreu com modificações. No compartimento externo, além dos 2 mL de extrato de peixe e 2 mL de solução saturada de carbonato de potássio, também foi adicionado 1 mL de formol a 35% previamente neutralizado, com o intuito de quantificar somente a Trimetilamina.

A titulação também ocorreu da mesma forma, com solução de HCl 0,01N e os resultados, encontrados a partir da equação (2) abaixo, foram todos expressos em mg de N-TMA/100 g de cavala.

$$\text{mg N-TMA/100g} = \frac{(V \times N \times 1400) \times (T+U)}{V_a \times P} \quad (2)$$

Onde: V = volume (mL) do ácido HCl 0,01N gasto na titulação;

N = normalidade da solução de HCl 0,01N;

T = volume (mL) da solução de TCA a 10% usado;

U = umidade da amostra;

Va = volume (mL) da alíquota do extrato;

P = peso da amostra utilizada no preparo do extrato (g).

3.3.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Em um tubo de boca larga, foram colocados $10,0 \pm 0,1$ gramas de amostra anteriormente triturada em multiprocessador (Hamilton Beach, modelo 70595), 1 mL da

solução de BHT e 40 mL da solução de TCA 5%. Em seguida, a mistura foi homogeneizada em triturador do tipo Marconi (Modelo TE102, Piracicaba – SP) e colocada em centrífuga Beckman J2-21 durante 10 minutos a 10.000 x g a 4°C.

Após sair da centrífuga, o sobrenadante foi filtrado, transferido para um balão volumétrico de 50 mL e o volume completado com solução de TCA 5%. Posteriormente, retirou-se 2 mL (em triplicata) de cada balão que foram transferidos para tubos de ensaio com tampa. Após a adição de 2 mL da solução de TBA em cada um dos tubos, estes foram vedados, agitados e aquecidos em banho-maria fervente por 50 minutos.

Em seguida, com o auxílio de um espectrofotômetro a 531 nm, procedeu-se à leitura das absorbâncias de cada uma das amostras. Os valores encontrados foram aplicados em equação elaborada a partir de uma curva padrão de calibração anteriormente obtida e cujos resultados foram novamente empregados na equação (3) abaixo para que se pudesse finalmente calcular os níveis de TBARS das amostras.

$$\text{mg MDA/Kg} = \frac{25 \times C}{P} \quad (3)$$

Onde: C = concentração ($\mu\text{g MDA}/2 \text{ mL}$) correspondente a absorbância lida (curva padrão)

P = peso da amostra

25 = equivalente à diluição

A metodologia utilizada foi descrita por Raharjo; Sofos; Schmidt (1992), modificada por Facco (2002) e os resultados foram expressos em mg de malonaldeído (MDA)/Kg de cavala.

3.3.4 pH

A determinação do pH foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2005). Em balança analítica (Ohaus Analytical Standard model AS 200), foram pesadas $5,0 \pm 0,1$ g da amostra previamente triturada em multiprocessador e adicionados 5,0 mL de água destilada. Em seguida, com o auxílio de um bastão de vidro, procedeu-se a homogeneização da mistura, a qual teve seu pH lido em potenciômetro (Tecnal, modelo Tec – 5).

3.3.5 Cor

Para a determinação da cor das amostras, foi utilizado o colorímetro Konica Minolta, modelo Chroma Meter CR – 410. A calibração do aparelho foi realizada por meio de placa de cerâmica branca e a leitura dos parâmetros L*, a*e b* foi feita de forma direta, na qual o equipamento foi colocado em contato direto com a superfície das postas de cavala. Os resultados, por sua vez, foram todos expressos através da média dos valores encontrados para cada um desses parâmetros.

3.3.6 Textura instrumental

A força utilizada para cortar transversalmente (força de cisalhamento) as postas de cavala foi medida em texturômetro TA-XT plus Texture Analyser (Stable Micro System), equipado com lâmina Warner Bratzler, operando com velocidade de 10 mm/s. Todos os resultados foram obtidos a partir da média de cinco repetições e expressos em Newton.

3.4 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado - LABOMAR - Instituto de Ciências do mar da UFC. Além de seguirem as recomendações feitas pela Portaria nº 451 de 19 de setembro de 1997, do Ministério da Saúde, SVS (1997) para pescado *in natura*, fresco e refrigerado, que exigia análise de detecção para *Salmonella sp.*, *Staphylococcus* coagulase positiva e Coliformes a 45°C também foram feitas análises para Bactérias Heterotróficas Cultiváveis (BHC) e Bactérias Produtoras de Histamina (BPH) em 25 g de cavala

3.4.1 Homogeneização e diluição das amostras

Em frasco de vidro esterilizado, colocou-se cerca de 25g de cavala previamente macerada e 225 mL de solução salina 1%. Em seguida, essa mistura foi homogeneizada em liquidificador estéril por 2 min. A partir do homogeneizado, que correspondia a diluição 10^1 , preparou-se as demais diluições decimais até 10^{-5} para que pudessem ser utilizadas em todas as análises, exceto para a *Salmonella sp.*

3.4.2 Pesquisa de Salmonella sp.

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada segundo metodologia descrita por Wallace e Hammack (2009). Esta se inicia com uma etapa de pré-enriquecimento composta por uma mistura de 25 g de amostra em 225 mL de Caldo Lactosado que foi incubada *overnight* em estufa a 35°C.

Da mistura de pré-enriquecimento, foi retirado 0,1 mL e incubado para 10 mL de Caldo Rappaport e 1,0 mL para 10 mL de caldo Tetrionato (adicionado de 0,2 mL de Iodo e 0,1 mL de Verde Brilhante para enriquecimento). O tubo contendo o Caldo Rappaport foi colocado em banho-maria a 42°C por 24 horas, enquanto o tubo de Caldo Tetrionato foi incubado em estufa a temperatura de 35°C por 24 horas.

O isolamento das colônias foi efetuado através do plaqueamento seletivo diferencial, a partir desses tubos de Rappaport e Tetrionato incubados. Em seguida, com auxílio de uma alça de níquel cromo, foram retiradas alíquotas de cada tubo para realizar as estrias de esgotamento em placas de Agar Enterico de Hektoen (HE) e Agar Verde Brilhante.

Finalmente, as placas estriadas foram incubadas a 35°C por 24 horas e depois verificado se houve ou não crescimento de colônias típicas de *Salmonella sp.* Como o resultado foi negativo, indicando ausência de *Salmonella sp.*, não foi necessário realizar provas bioquímicas.

3.4.3 *Staphylococcus coagulase positiva*

Para a quantificação de *Staphylococcus coagulase positiva*, utilizou-se a técnica de *Spread Plate*, na qual 200 µL de cada uma das diluições foram plaqueadas, em duplicata, sobre o meio de cultura Ágar Baird Parker e depois incubadas a 35°C por 48 horas (DOWNES; ITO, 2001). Decorrido o tempo de incubação, as colônias consideradas típicas foram contadas e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama de cavala (UFC/g cavala).

Posteriormente, foram selecionadas e isoladas três colônias de cada um dos tratamentos, as quais foram colocadas em tubos contendo Ágar Triptona de Soja (TSA) para verificar a presença de catalase e de peróxido de hidrogênio. Aquelas colônias que deram teste de catalase positivo, sendo verificada a presença de bolhas e de turvamento, foram repicadas para tubos contendo caldo infusão cérebro – coração (BHI) para que fosse feito o teste da presença de coagulase. Este, por sua vez, foi verificado através da reação com plasma de coelho da marca LABORCLIN e com leituras de 2, 8 e 24 horas. O teste somente foi considerado positivo quando ocorria forte coagulação.

3.4.4 Coliformes a 45°C

A análise de coliformes termotolerantes foi realizada pela técnica de tubos múltiplos segundo o método da American Public Health Association (APHA), o qual está descrito no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

Nesta análise, a diluição 10^{-1} foi preparada com água peptonada, enquanto as demais foram feitas em solução de NaCl 0,1%. Para cada diluição, foram utilizados três tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durham invertidos, que foram colocados em estufa a 35° C por 48 h.

Após o período de incubação, observou-se se havia ou não crescimento de microrganismos com produção de gás. Quando o resultado apresentou-se positivo, os inóculos foram semeados para uma série de três tubos por diluição, contendo caldo *Escherichia coli* (EC) e tubos de Durham invertidos, sendo posteriormente incubados em banho termostático a $45,5 \pm 0,1^\circ\text{C}$ por 48 horas, para que se pudesse confirmar a presença de coliformes termotolerantes nas amostras.

Assim, novamente foi verificado se havia crescimento e produção de gás por parte dos microrganismos. Em caso de produção, o número de tubos era anotado e determinado o número mais provável (NMP) por grama utilizando a tabela de NMP adequada às diluições inoculadas para expressão dos resultados.

3.4.5 Bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC)

A técnica utilizada para a quantificação da população microbiana heterotrófica cultivável foi a de *Pour Plate*, a partir do plaqueamento em meio Plate Count Agar (PCA), conforme descrito por Downes e Ito (2001), cujo diluente foi solução salina 0,85%.

Em duplicata, foram adicionados nas placas de petri 1mL de cada uma das diluições, juntamente com cerca de 15 mL do meio de cultura. Em seguida, as mesmas foram homogeneizadas e colocadas em estufa a 30°C por 48 horas. Após este período, foram realizadas as contagens do número de unidades formadoras de colônias, as quais foram expressas em UFC/g de cavala.

3.4.5 Bactérias produtoras de histamina (BPH)

A metodologia para a detecção e quantificação das bactérias produtoras de histamina foi realizada segundo Niver, Jeffrey e Corlett (1981) com modificações. A técnica utilizada foi a de *pour-plate* convencional, cujos valores foram todos expressos em UFC/g de cavala.

Para o preparo do meio, foram utilizados 0,5% caldo tripitona, 0,5% extrato de levedura, 2% L-histidina.2HCl, 0,5% de NaCl, 0,1% de CaCO₃, 2,0% Agar e 0,006% do indicador púrpura de bromocresol (pH 5,3). Após completa homogeneização, com o auxílio de um bastão de vidro e microondas, o mesmo foi autoclavado por 15 min.

Em seguida, 1 mL de cada diluição (10^{-1} a 10^{-5}) foi colocado, em duplicata, em placas de petri juntamente com 5ml do meio anteriormente preparado. Depois de homogeneizadas, foram todas colocadas em estufa a 30°C durante 48 horas.

Passado esse período, as colônias com coloração roxas e com halo roxo no fundo amarelo foram contadas e isoladas.

4.5 Análises estatísticas

Todas as análises foram conduzidas em triplicata e os resultados foram apresentados sob a forma de gráficos e tabelas. As variáveis com distribuição normal foram apresentadas em média e desvio padrão e submetidas à Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, adotando-se o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas pelo programa Statistica Release 7.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Bases voláteis totais (BVT)

Os valores médios de BVT em mg de N/100 g de cavala submetidas a cinco diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$ estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores médios das Bases Voláteis Totais (BVT) em mg N/100g de cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$.

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
C	$22,15 \pm 0,07^{\text{Ac}}$	$30,91 \pm 1,53^{\text{Bc}}$	$67,00 \pm 0,32^{\text{Cd}}$	$96,73 \pm 1,27^{\text{Dd}}$
T1	$13,33 \pm 2,28^{\text{Aa}}$	$15,86 \pm 0,30^{\text{Aa}}$	$36,26 \pm 0,23^{\text{Bc}}$	$47,93 \pm 0,52^{\text{Ca}}$
T2	$11,41 \pm 0,74^{\text{Aa}}$	$19,41 \pm 1,65^{\text{Bb}}$	$44,67 \pm 0,69^{\text{Ca}}$	$56,52 \pm 0,45^{\text{Dc}}$
T3	$10,77 \pm 0,01^{\text{Aab}}$	$13,09 \pm 0,98^{\text{Aa}}$	$28,56 \pm 2,12^{\text{Bb}}$	$37,66 \pm 1,14^{\text{Cb}}$
T4	$8,48 \pm 0,20^{\text{Ab}}$	$13,27 \pm 0,03^{\text{Ba}}$	$42,75 \pm 0,91^{\text{Ca}}$	$45,75 \pm 0,21^{\text{Da}}$

C: cavala *in natura*; T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico; T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico; T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial; T4: cavala revestida com quitosana. Linhas com médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si ($p\leq 0,05$) em relação ao período de estocagem. Colunas com médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p\leq 0,05$) para os tratamentos.

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em relação ao pescado fresco, resfriado ou congelado, os valores de BVT não devem ultrapassar 30 mg N/100g de carne (BRASIL, 1997).

De acordo com a Tabela 1, as amostras Controle foram as que mais rapidamente alcançaram o máximo estabelecido pela legislação e isso ocorreu próximo aos sete primeiros dias de estocagem, com um valor de BVT de $30,91\pm 1,53$ mg N/100 g de cavala.

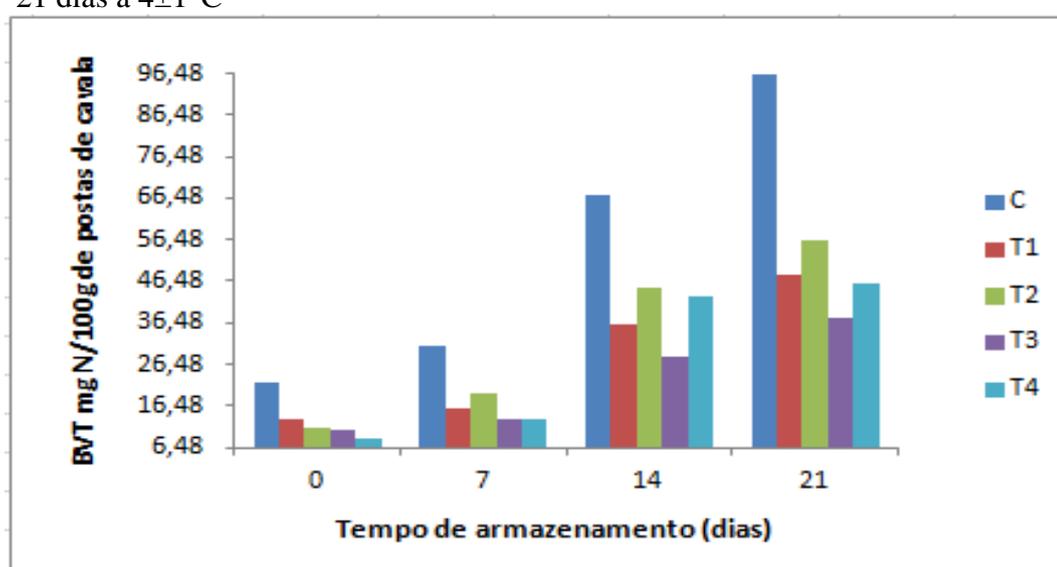
Enquanto os tratamentos T1 ($36,26\pm 0,23$ mg N/100g), T2 ($44,67\pm 0,69$ mg N/100g) e T4 ($42,75\pm 0,91$ mg N/100g) somente alcançaram esse limite ao redor dos 14 dias, o T3 ($37,66\pm 1,14$ mg N/100g) foi o que mais demorou a atingir esse limite, o que só ocorreu depois dos 14 dias de armazenamento refrigerado.

Segundo a Figura 1, dentro de um mesmo tempo, observou-se que todos os tratamentos obtiveram menores valores de BVT quando comparados ao Controle, o que

mostra a eficácia desses tratamentos em retardar a produção das bases voláteis totais nas postas de cavala.

Ao longo dos 21 dias de estocagem, todos os tratamentos apresentaram valores crescentes para BVT (FIGURA 1). Embora os tratamentos T1 e T3 tenham apresentado comportamentos similares durante esse período, o T3 foi considerado o melhor tratamento devido aos seus valores de BVT terem sido mais baixos que os do T1.

Figura 1 – Quantidade das Bases Voláteis Totais (BVT) presentes em cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$



FONTE: Elaborada pela autora

C: cavala *in natura*

T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico

T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico

T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial

T4: cavala revestida com quitosana

Ogawa e Maia (1999) afirmam que peixes com valores de BVT entre 5 e 10 mg N/100g e 15 e 25 mg N/100g, podem ser considerados, respectivamente, como peixes de excelente estado de frescor e de frescor razoável.

Assim, conforme esses autores, no tempo zero, somente as amostras do T4 ($8,48\pm 0,20$ mg N/100g) poderiam ser consideradas como de excelente frescor, enquanto que as demais, de frescor razoável. Esta falta de uniformidade no frescor inicial das amostras pode estar relacionada aos diferentes dias de captura, pois embora tenham sido adquiridas de uma vez só, não se sabe o histórico delas antes da compra.

No 7º dia de estocagem, com exceção do Controle ($30,91 \pm 1,53$ mg N/100g), todas as demais amostras ainda eram consideradas como de frescor razoável. Entretanto, a partir do 14º dia, todas as amostras passaram a ser consideradas como impróprias para o consumo.

Ao estudar cavalas revestidas com diferentes soluções de quitosana e estocadas a 4°C durante 9 dias, Alak (2012) observou que os valores de BVT do Controle e de suas amostras tratadas com quitosana em ácido acético e ácido láctico atingiram, respectivamente, $18,96 \pm 6,29$ mg N/100g e $15,94 \pm 3,99$ mg N/100g, $16,76 \pm 4,20$ mg N/100g de cavala ao final do experimento.

Soares, Mendes e Vicente (2013), ao analisarem os possíveis efeitos de soluções de quitosana e do glaciamento na preservação do salmão congelado a -5°C por 14 semanas, verificaram que mesmo no final do experimento, a quantidade de BVT das amostras revestidas com quitosana não ultrapassou o limite recomendado pela legislação, o que demonstra a capacidade da quitosana em inibir a produção dessas bases ao longo do tempo.

Qiu *et al.* (2014) estudando os efeitos de preservação de diferentes revestimentos à base de quitosana em filés de robalo (*Lateolabrax japonicas*) durante 12 dias a 4°C, observou que enquanto os valores de BVT das amostras Controle aumentaram de 11,07 mgN/100g a 100,21mg/100g, as demais amostras tratadas com quitosana, quitosana e ácido cítrico e quitosana e extrato de alcaçuz atingiram no máximo 60,53 mg N/100g, 29,69 mg N/100g, e 47,95 mg N/100g de robalo, respectivamente, o que demonstra a capacidade desses revestimentos em reduzir a perda de qualidade e prolongar a vida útil desse tipo de peixe.

4.2 Trimetilamina (TMA)

Os valores de TMA expressos em mg de N/100g de cavala submetidas a cinco tratamentos e armazenadas por 21 dias a 4 ± 1 °C estão apresentados na Tabela 2.

Embora as amostras Controle tenham apresentado altos valores de TMA nos tempos 0 e 7 quando comparado aos demais tratamentos, nenhum dos tratamentos ultrapassou o limite de 4 mg N/100g de carne estabelecido pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para peixe fresco (BRASIL, 1962). Contudo, próximo ao 14º dia, o Controle passou a registrar valores acima desse limite, os quais alcançaram o valor de $6,25 \pm 0,27$ mg N/100g no final do experimento.

Tabela 2 - Valores médios das quantidades de Trimetilamina (TMA) em mg N/100 g de cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
C	3,18 ± 0,04 ^{Ac}	3,57 ± 0,02 ^{Ac}	4,55 ± 0,10 ^{Be}	6,25 ± 0,27 ^{Cb}
T1	0,58 ± 0,13 ^{Aab}	1,07 ± 0,01 ^{Aba}	1,92 ± 0,18 ^{Ba}	3,19 ± 0,62 ^{Ca}
T2	0,56 ± 0,15 ^{Ba}	1,90 ± 0,20 ^{ABb}	2,46 ± 0,01 ^{Ab}	3,10 ± 1,09 ^{Aa}
T3	0,57 ± 0,00 ^{Aab}	1,32 ± 0,30 ^{Ba}	3,18 ± 0,02 ^{Cd}	3,77 ± 0,12 ^{Da}
T4	0,84 ± 0,11 ^{Ab}	1,85 ± 0,10 ^{Bb}	2,76 ± 0,12 ^{Cc}	3,88 ± 0,03 ^{Da}

C: cavala *in natura*; T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico; T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico; T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial; T4: cavala revestida com quitosana. Linhas com médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) em relação ao período de estocagem. Colunas com médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) para os tratamentos.

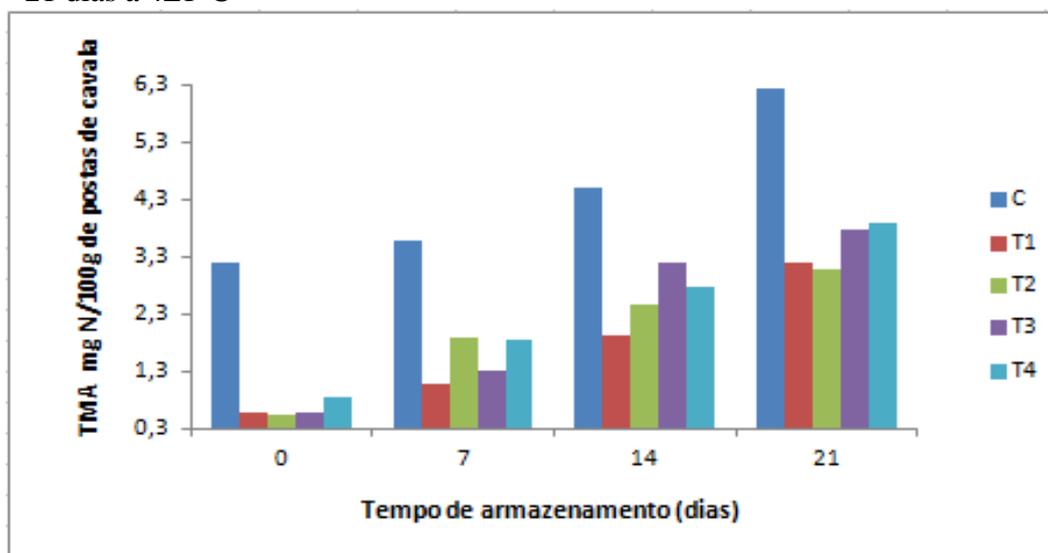
Ao longo dos 21 dias de estocagem, observou-se que os valores de TMA de todos os tratamentos aumentaram com o passar do tempo. Entretanto, dentro de cada tempo analisado, as amostras submetidas aos tratamentos T1, T2, T3 e T4 obtiveram valores de TMA mais baixos que o Controle (FIGURA 2).

Apesar de todos os tratamentos terem sido melhores do que o Controle o T1 foi aquele que apresentou os valores mais baixos de TMA durante o período de estocagem, indicando que este tenha sido o tratamento mais efetivo no controle da produção dessa base volátil.

Segundo Ihaveri *et al.* (1982) a quantidade inicial de TMA presente em cavala armazenada em gelo deve ser de aproximadamente 1 mg N/100 g de carne. Entretanto, os altos valores de TMA nas amostras Controle obtidas no início do experimento já eram de se esperar, devido aos valores de BVT anteriormente encontrados para este mesmo tratamento.

De acordo com Guzmán (1994), a quantidade de TMA não é distribuída uniformemente nos peixes, já que as porções superficiais apresentam maior concentração do que as interiores, e em regiões próximas a cabeça, seja na região lombar ou ventral, os conteúdos acabam sendo maiores do que na cauda. Santos (2008), revela ainda que peixes armazenados em condições idênticas, mas capturados em períodos diferentes, podem não apresentar teores de TMA semelhantes.

Figura 2 - Quantidade de Trimetilamina (TMA) presente em cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$



FONTE: Elaborada pela autora

C: cavala *in natura*

T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico

T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico

T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial

T4: cavala revestida com quitosana

Em seus trabalhos para avaliar o prazo de vida comercial de atuns armazenados a 4°C , Andrade (2006) observou que os valores de TMA de suas amostras variaram de 4,10 mg N/100g a 5,54 mg N/100g de atum ao final de 19 dias de estocagem.

Ao estudarem o efeito do revestimento de quitosana em filés de sardinhas (*Sardinella longiceps*), Mohan *et al.* (2012), verificaram que o conteúdo de TMA de suas amostras aumentaram gradativamente com o período de armazenamento, tanto para as amostras controle como para as revestidas, tendo as amostras Controle atingido valores de 12,3 mg de N/100 g em 5 dias de armazenamento refrigerado.

4.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Os valores médios de TBARS expressos em mg MDA/kg de cavala encontrados neste experimento estão apresentados na Tabela 3.

De acordo com a Tabela 3, com exceção do T2 e T3, todos os demais tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas ao longo dos 21 dias de armazenamento refrigerado para este parâmetro analisado.

A Tabela 3 mostra ainda que os valores de TBARS do T1, T2, T3 e T4 apresentaram-se maiores que o Controle em cada um dos tempos analisados, indicando que nenhum desses tratamentos foi efetivo no controle da oxidação lipídica das postas de cavala mantidas sob refrigeração.

Tabela 3 - Valores médios de TBARS (mg MDA/kg de amostra) apresentados pelas cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
C	$1,78 \pm 0,82^{Aa}$	$1,87 \pm 0,65^{Ab}$	$1,36 \pm 0,07^{Ac}$	$1,82 \pm 0,96^{Aa}$
T1	$1,47 \pm 0,28^{Aa}$	$3,57 \pm 0,73^{Bab}$	$3,04 \pm 0,24^{ABab}$	$2,76 \pm 1,36^{Aba}$
T2	$1,77 \pm 0,55^{Ba}$	$4,68 \pm 1,36^{Aa}$	$4,06 \pm 0,30^{Ab}$	$3,95 \pm 0,13^{Aa}$
T3	$1,77 \pm 0,22^{Ba}$	$4,83 \pm 1,22^{Aa}$	$3,54 \pm 0,42^{Aab}$	$4,13 \pm 0,33^{Aa}$
T4	$1,88 \pm 0,37^{Aa}$	$2,99 \pm 0,71^{Aab}$	$2,61 \pm 0,95^{Aac}$	$3,32 \pm 1,01^{Aa}$

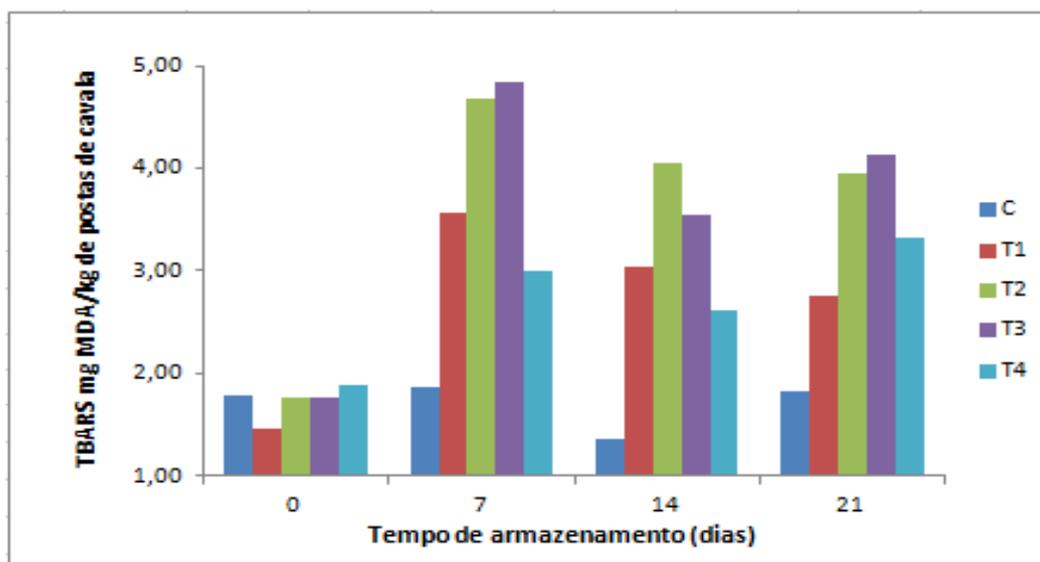
C: cavala *in natura*; T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico; T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico; T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial; T4: cavala revestida com quitosana. Linhas com médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) em relação ao período de estocagem. Colunas com médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) para os tratamentos.

Entre os tempos 0 e 7, observou-se que os índices de TBARS de todos os tratamentos foram aumentando com o passar do tempo. No entanto, a partir do 7º dia e até o final do experimento, estes mesmos índices apresentaram um expressivo decréscimo o que pode estar relacionado à degradação do próprio malonaldeído (FIGURA 3).

A legislação brasileira não possui um valor máximo permitido de TBARS para pescado. Entretanto, torna-se interessante saber estes valores, pois no pescado oxidado há a formação de compostos tóxicos e cancerígenos como cetonas, aldeídos, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos, além do sabor desagradável de ranço, que pode comprometer a sua aceitação (OLIVO, 2006).

Na literatura existem controvérsias quanto aos limites de TBARS que refletem o grau de oxidação nos alimentos. Ozogul *et al.* (2010), sugerem valores de 5mg MDA/kg para TBARS como indicativo de uma boa qualidade de pescado, considerando que estes podem ser consumidos até atingirem valores de 8 mg MDA/kg.

Figura 3 – Quantidade de TBARS presentes nas cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$



FONTE: Elaborada pela autora

C: cavala *in natura*

T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico

T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico

T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial

T4: cavala revestida com quitosana

Woyewoda e Ke (1979), por sua vez, ao analisarem os valores de TBARS em filés de cavala sem pele e estocado sob congelamento, consideraram uma condição excelente quando os valores eram menores ou iguais a 0,432 mg MDA/kg; aceitável quando os teores variavam de 0,504 a 1,296 mg MDA/kg e rejeitável quando os teores eram maiores ou iguais a 1,368 mg MDA/kg de cavala.

Segundo Silva, Borges e Ferreira (1999), as disparidades nos resultados desse teste podem estar relacionadas à presença de carboidratos que podem apresentar sinergismo na formação de TBARS, superestimando os resultados, ou à complexação do malonaldeído com outros compostos, impedindo-o de reagir com o TBA e diminuindo os valores esperados.

Alak (2010), em seus estudos com filés de bonito (*Sarda sarda*) submetidos a diferentes tratamentos com filme de quitosana, vácuo e atmosfera modificada estocados a 4° C por 15 dias, verificou que o envoltório de quitosana não retardou a oxidação lipídica do peixe, pelo contrário, aumentou a oxidação quando comparado com os outros tratamentos e com o Controle.

Observação semelhante foi feita por Alak (2012), pois ao estudar os efeitos dos revestimentos de quitosana preparados em diferentes solventes (ácido acético, ácido láctico) sobre os parâmetros de qualidade de filés de cavala, observou que as amostras revestidas apresentavam valores mais altos de TBARS que as amostras não revestidas.

Segundo Liu (1970), isto pode estar associado com a natureza do ácido utilizado para solubilizar a quitosana e com o pH final desta solução, pois estes podem afetar negativamente a função antioxidante do filme ou revestimento, já que a condição acídica pode contribuir para a peroxidação lipídica.

Por outro lado, Nunes (2014) analisando o efeito antioxidante do revestimento de quitosana em amostras de pargo, observou que a quitosana apresentou um efeito antioxidante e que os valores de TBARS das amostras revestidas foram menores que o controle.

Filés de tilápia revestidos com quitosana e estocados em gelo por 12 dias a 4°C apresentaram valores de TBARS menores que as amostras não revestidas, indicando que este revestimento é eficiente para inibir a oxidação lipídica nesses peixes (SANTOS, 2014).

4.4 pH

Na Tabela 4 encontram-se os valores de pH das amostras de cavala submetidas a cinco diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C.

De acordo com o RIISPOA, o pH da carne interna e externa do peixe não devem ultrapassar os limites de 6,8 e 6,5, respectivamente. Assim, segundo a Tabela 4, enquanto o Controle atingiu esses limites próximo ao 7º dia de estocagem, os demais tratamentos só os alcançaram ao redor dos 21 dias, o que mostra a capacidade desses tratamentos em manter baixo o valor de pH das amostras analisadas.

Ao longo dos 21 dias de estocagem, observou-se que os valores de pH do T1, T2, T3 e T4 foram aumentando gradativamente com o passar do tempo. Porém, em todos os tempos analisados, observou-se que esses mesmos tratamentos apresentaram valores de pH mais baixos que o Controle, tendo o T3 obtido os melhores resultados, principalmente nos tempos 7, 14 e 21 (FIGURA 4).

Entre os tempos 0 e 7, os valores de pH do T4 não apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre si. Isso pode ter ocorrido devido à presença de proteínas solúveis, aminoácidos, amônia, trimetilamina, bem como substâncias voláteis de baixo peso molecular que podem mascarar as mudanças de pH do músculo do pescado, promovendo um efeito tamponante, o que faz com que os valores de pH aumentem de forma lenta no início e mais rapidamente com o decorrer da deterioração (SIKORSKI; KOLAKOWSKA; BURT, 1994).

Tabela 4 - Valores médios de pH das cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
C	$5,84 \pm 0,03$ ^{Ad}	$6,72 \pm 0,27$ ^{Bb}	$7,18 \pm 0,09$ ^{Cb}	$7,64 \pm 0,16$ ^{Db}
T1	$5,45 \pm 0,03$ ^{Aa}	$5,82 \pm 0,03$ ^{Ba}	$6,19 \pm 0,06$ ^{Ca}	$6,87 \pm 0,08$ ^{Da}
T2	$5,46 \pm 0,01$ ^{Aa}	$5,90 \pm 0,12$ ^{Ba}	$6,18 \pm 0,06$ ^{Ca}	$6,89 \pm 0,03$ ^{Da}
T3	$5,56 \pm 0,06$ ^{Ab}	$5,76 \pm 0,04$ ^{Ba}	$6,05 \pm 0,05$ ^{Ca}	$6,80 \pm 0,09$ ^{Da}
T4	$5,66 \pm 0,02$ ^{Ac}	$5,81 \pm 0,04$ ^{Aa}	$6,13 \pm 0,09$ ^{Ba}	$6,94 \pm 0,08$ ^{Ca}

C: cavala *in natura*; T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico; T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico; T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial; T4: cavala revestida com quitosana. Linhas com médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) em relação ao período de estocagem. Colunas com médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) para os tratamentos.

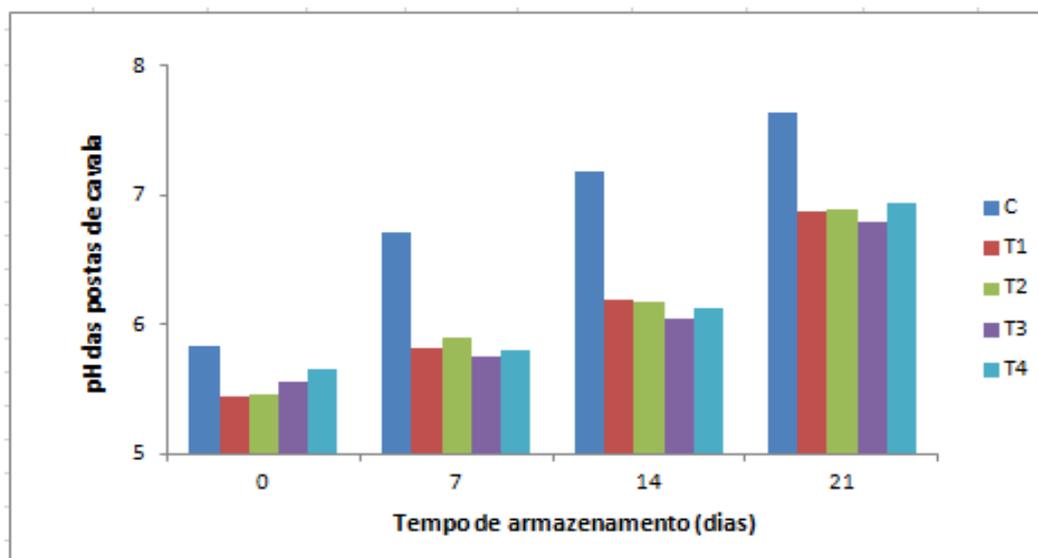
Os valores de pH iniciais deste estudo estão de acordo com Pereda *et al.* (2005), os quais afirmam que em pescados de carne escura, a exemplo da cavala, o pH inicial deve ser em média de 6,9 a 7,0, e que o mesmo costuma decair até 5,5 a 5,7.

Vieira (2010), alega que a qualidade da cavala diminui gradualmente à medida que os valores de pH aumentam, sendo considerado o peixe impróprio para consumo quando este atinge valores de pH maiores que 7,2. Assim, de acordo com esse autor, próximo aos 14 dias de estocagem, as postas de cavala do Controle já poderiam ser consideradas como impróprias para o consumo devido ao seu valor de pH de $7,18 \pm 0,09$.

Resultados semelhantes foram encontrados por Alak (2012), que ao trabalhar com filés de cavala revestidos com soluções de quitosana e estocados a 4°C por 9 dias, percebeu que o pH de suas amostras também aumentavam com o decorrer do tempo, variando de 6,03 a 6,66 durante todo o período estudado.

Santos (2014), analisando os efeitos do revestimento de quitosana sobre as características físico-químicas de filés de tilápia armazenadas a 4°C por 12 dias, observou que o pH das amostras revestidas com quitosana apresentaram valores menores que as não revestidas. O pH das postas revestidas variaram entre 7,33 e 7,66, enquanto as não revestidas mostraram valores de pH entre 7,48 e 8,86.

Figura 4 - Valor do pH das cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$



FONTE: Elaborada pela autora

C: cavala *in natura*

T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico

T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico

T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial

T4: cavala revestida com quitosana

Segundo Farias e Freitas (2011), essa variação de pH em pescados é influenciada por uma série de fatores, como a sua espécie, tipo e carga microbiana, métodos de captura e armazenamento, dentre outros.

4.5 Cor

Os resultados obtidos na determinação instrumental da cor das cavalas submetidas a diferentes tipos de tratamentos e estocadas a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período de 21 dias estão apresentados na Tabela 5.

Com relação ao parâmetro L^* (Luminosidade), a Tabela 5 mostra que os tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si ($p\leq 0,05$) nos tempos 0, 7 e 14. Contudo, no 21º dia, embora o T2, T3 e T4 tenham apresentado uma forte tendência em diferir do Controle, apenas o T1 apresentou-se estatisticamente diferente ($p\leq 0,05$).

Apesar de todos os tratamentos mostrarem-se estatisticamente iguais entre si ($p\leq 0,05$) ao longo dos 21 dias de estocagem, o T4 foi considerado o melhor tratamento quanto a este parâmetro, devido à sua capacidade de manter a luminosidade das amostras revestidas semelhante do Controle.

Tabela 5 - Valores médios para os parâmetros de cor L*, a* e b* das amostras de cavala (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
Parâmetro L*				
C	48,72 ± 3,21 ^{Aa}	49,88 ± 2,14 ^{Aa}	49,69 ± 2,77 ^{Aa}	48,42 ± 1,44 ^{Aa}
T1	57,20 ± 5,80 ^{Aa}	51,30 ± 0,72 ^{Aa}	54,01 ± 3,45 ^{Aa}	54,34 ± 1,31 ^{Ab}
T2	56,51 ± 1,58 ^{Ba}	53,22 ± 0,34 ^{Aa}	51,06 ± 1,59 ^{Aa}	53,85 ± 1,01 ^{ABab}
T3	56,51 ± 0,61 ^{Aa}	52,55 ± 0,98 ^{Aa}	51,63 ± 3,23 ^{Aa}	52,13 ± 2,89 ^{Aab}
T4	53,05 ± 2,19 ^{Aa}	49,52 ± 2,49 ^{Aa}	49,15 ± 0,78 ^{Aa}	50,96 ± 3,47 ^{Aab}
Parâmetro a*				
C	8,29 ± 1,41 ^{Aa}	8,99 ± 3,19 ^{Aa}	11,88 ± 0,78 ^{Ac}	11,91 ± 1,44 ^{Ab}
T1	5,02 ± 2,47 ^{Aa}	8,64 ± 1,59 ^{Aa}	5,86 ± 1,03 ^{Aa}	6,27 ± 0,89 ^{Aa}
T2	4,53 ± 0,24 ^{Ba}	8,18 ± 0,90 ^{Aa}	7,67 ± 1,28 ^{Aab}	6,06 ± 1,52 ^{Aa}
T3	4,87 ± 1,40 ^{Aa}	5,21 ± 0,24 ^{Aa}	6,11 ± 0,09 ^{Aab}	7,03 ± 1,20 ^{Aa}
T4	6,47 ± 1,14 ^{Aa}	9,35 ± 1,10 ^{Aa}	8,50 ± 0,95 ^{Ab}	7,85 ± 2,79 ^{Aab}
Parâmetro b*				
C	8,66 ± 0,80 ^{Ab}	6,58 ± 1,70 ^{Aa}	10,14 ± 2,05 ^{Ab}	9,87 ± 1,16 ^{Aa}
T1	6,80 ± 0,65 ^{Aab}	8,71 ± 0,72 ^{Aa}	8,50 ± 0,34 ^{Aab}	9,95 ± 2,23 ^{Aa}
T2	6,55 ± 0,23 ^{Bab}	9,48 ± 0,92 ^{Aba}	9,95 ± 0,93 ^{Ab}	10,27 ± 2,02 ^{Aa}
T3	6,26 ± 1,74 ^{Aab}	7,93 ± 1,12 ^{Aa}	6,49 ± 1,04 ^{Aa}	9,69 ± 2,76 ^{Aa}
T4	5,77 ± 0,82 ^{Aa}	8,65 ± 1,17 ^{BCa}	6,64 ± 0,74 ^{ABa}	10,41 ± 0,86 ^{Ca}

C: cavala *in natura*; T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico; T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico; T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial; T4: cavala revestida com quitosana. Linhas com médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) em relação ao período de estocagem. Colunas com médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) para os tratamentos.

De acordo com a Tabela 5, todos os tratamentos, com exceção do T2, obtiveram ao longo do período de estocagem, valores de a* (teor avermelhado) estatisticamente iguais entre si ($p \leq 0,05$). Porém, no 21º dia, com exceção do T4, todos os tratamentos apresentaram valores de a* menores que o Controle, o que leva a crer que o T4 tenha sido novamente o melhor tratamento devido à sua capacidade de manter o teor avermelhado das postas de cavala.

Quanto ao parâmetro b* (teor amarelado), os valores apresentados na Tabela 5 revelaram que dentro de cada tempo, o T4 foi o tratamento que mais diferiu das amostras Controle. Por outro lado, ao longo do tempo, tanto o T2 quanto o T4 mostraram-se estatisticamente diferentes ($p \leq 0,05$) do Controle, devido suas colorações mais amareladas.

Embora as amostras de cavala tenham sido submetidas a diferentes tratamentos, o presente estudo procurou escolher aquele que mantivesse a coloração típica da espécie

estudada, a qual costuma apresentar-se com um vermelho escuro e pouco iluminado. Portanto, de todos os tratamentos analisados, o T4 foi considerado o melhor tratamento devido sua capacidade de manter as amostras menos luminosas, mais avermelhadas e tendendo ao amarelo.

Mena, Rodríguez e Barreto (2010), ao trabalharem com lombos de atum revestidos com carragenina e gelatina, observaram que, enquanto os valores de L^* e a^* dessas amostras apresentaram uma tendência a diminuir com o tempo, os de b^* permaneceram estatisticamente iguais durante os 30 dias de armazenamento a -10°C .

Santos (2013), ao avaliar a eficiência de três métodos de abate da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre a qualidade de seus filés congelados, observou que as variáveis de cor L^* e a^* apresentaram variações para cada tipo de tratamento ao longo dos 26 dias de armazenamento em gelo.

Em seus estudos com filés de pargo congelados e revestidos com quitosana, Nunes (2014) verificou que todos os seus tratamentos promoveram mudanças no componente b^* das amostras, diminuindo os seus valores ao longo do tempo e ficando, portanto, menos amareladas.

Santos (2014), por outro lado, observou que o valor de L^* das amostras de tilápia revestidas com quitosana aumentou durante o período de armazenamento, apresentando valores mais elevados ($54,5 \pm 0,85$) do que as amostras não revestidas ($52,45 \pm 1,02$), enquanto seus valores de a^* e b^* foram semelhantes para todas as amostras, as quais tenderam a ficar amareladas.

4.6 Textura instrumental

Na Tabela 6 estão descritos os valores médios da força necessária para cortar as postas de cavala submetidas a diferentes tratamentos e estocadas durante 21 dias a $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

De acordo com a Tabela 6, os valores para este parâmetro variaram de $2,74 \pm 0,10$ N a $5,39 \pm 0,19$ N para as postas de cavala dos cinco tratamentos. A análise dos dados mostrou que não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos ao longo do período de armazenamento. Assim, não foi verificado nenhum efeito desses tratamentos sobre a textura das amostras de cavala, quando comparados com as amostras Controle.

Fato semelhante ocorreu nos experimentos de Nunes (2014), ao trabalhar com filés de pargo (*Lutjanus purpureus*) congelados submetidos ao glaciamento ou ao revestimento com solução de quitosana estocados a -18°C por 180 dias verificou que não houve

diferenças significativas na textura entre os tratamentos e ao longo do tempo (NUNES, 2014).

Por outro lado, em estudos com filés de Pregado (*Psetta maxima*), Santos (2008) observou que ao longo do tempo de armazenamento, os valores da variável textura apresentaram uma tendência à diminuição, o que teria ocorrido devido ao avanço do estado de degradação, deixando-os menos firmes e com menores resistências à compressão.

Tabela 6 - Valores médios da textura (N) das postas de cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C

Tratamento	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
C	3,33 ± 0,13 ^{Aa}	3,24 ± 0,06 ^{Aa}	3,33 ± 0,02 ^{Aa}	2,74 ± 0,10 ^{Aa}
T1	2,75 ± 0,10 ^{Aa}	4,51 ± 0,22 ^{Aa}	4,80 ± 0,12 ^{Aa}	3,73 ± 0,02 ^{Aa}
T2	4,02 ± 0,13 ^{Aa}	3,82 ± 0,06 ^{Aa}	4,71 ± 0,13 ^{Aa}	4,22 ± 0,08 ^{Aa}
T3	3,24 ± 0,08 ^{Aa}	3,04 ± 0,03 ^{Aa}	3,33 ± 0,03 ^{Aa}	3,04 ± 0,07 ^{Aa}
T4	5,39 ± 0,19 ^{Aa}	3,63 ± 0,05 ^{Aa}	3,63 ± 0,07 ^{Aa}	3,63 ± 0,05 ^{Aa}

C: cavala *in natura*; T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico; T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico; T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial; T4: cavala revestida com quitosana. Linhas com médias seguidas de letras maiúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) em relação ao período de estocagem. Colunas com médias seguidas de letras minúsculas iguais não diferem entre si ($p \leq 0,05$) para os tratamentos.

De acordo com Huss, Ababouch e Gram (2003), as alterações nas características sensoriais de sabor, aparência, odor e textura do peixe estão associadas principalmente ao crescimento de microrganismos que possam estar presentes no próprio peixe. Segundo Bikerland *et al.* (2005), a análise da textura costuma ser utilizada para acompanhar a deterioração do pescado, podendo ser empregada como possível ferramenta de controle de qualidade durante o processo de deterioração.

Quando o peixe está vivo, a sua textura é firme e elástica, mas depois que morre, devido aos processos de contração, relaxamento e decomposição do próprio músculo, este acaba adquirindo uma consistência flácida e pastosa (FARIAS, 2006).

Pesquisas feitas por Zhong *et al.* (2012), provaram que durante o armazenamento em gelo, além da desintegração das fibras de colágeno, algumas proteínas miofibrilares também podem se desintegrar, entretanto, isto não é suficiente para alterar a estrutura dos elementos contráteis do músculo, o que contribui para a manutenção da textura ao longo do tempo.

4.7 Análises microbiológicas

4.7.1 *Salmonella sp*, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Coliformes a 45°C*

Com o intuito de trabalhar com peixes de boa qualidade higiênico-sanitária, procedeu-se à realização de análises microbiológicas segundo as recomendações da Portaria nº451 de 19/09/1997 do Ministério da Saúde, a qual estabelece os seguintes parâmetros para pescado *in natura*, fresco e refrigerado: *Salmonella sp.*: ausência em 25g; *Staphylococcus coagulase positiva*: máximo de 10^3 /g; Coliformes a 45°C: máximo de 10^2 /g e o máximo de 10^6 /g para Contagem Padrão em Placas (ARGENTA, 2012).

Porém, vale ressaltar que estas análises não foram realizadas em todas as amostras de cavala armazenadas durante os 21 dias, elas foram feitas somente naquelas do tempo zero de estocagem, devido aos objetivos deste estudo.

Assim, após a realização das mesmas, os resultados mostraram que nenhuma das amostras analisadas apresentou crescimento para esses microrganismos, o que só confirmou a boa qualidade desses peixes e a certeza de que eles poderiam realmente ser utilizados neste experimento.

Resultados diferentes foram encontrados por Mol *et al.*(2007), ao verificaram que a contagem dessas mesmas bactérias em suas amostras de cavala apresentou-se muito alta desde o primeiro dia de armazenamento, classificando-as, portanto, como estragadas e impróprias ao consumo.

Nunes (2014), em seus estudos com filés de pargo, também verificou o crescimento de *Staphylococcus coagulase positiva* em todas as suas amostras desde o 1º dia de análise. Porém ela explica que isto já era de se esperar, uma vez que se trata de uma bactéria não marinha, cujo contágio se dá durante as etapas de manipulação, sendo as mãos dos manipuladores a principal fonte de contaminação desses microrganismos.

Segundo Lanzarin *et al.* (2012), a ausência de *Salmonella sp.* em 100% das amostras de cavala pode ter sido devido à elevada contagem de bactérias heterotróficas cultiváveis nessas amostras, já que seu crescimento é inibido em decorrência da *Salmonella sp* ser péssima competidora.

Peixes que apresentam contagem de coliformes termotolerantes acima de 10^3 UFC/g são considerados impróprios para consumo, podendo indicar contaminação fecal recente ou mesmo uma possível presença de patógenos intestinais no alimento (BRASIL, 2001), o que não foi observado neste experimento.

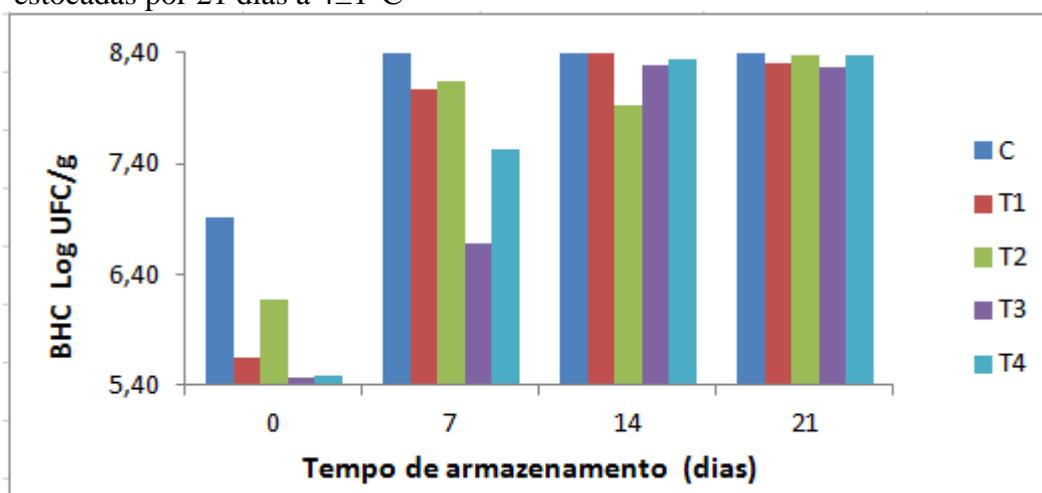
4.7.2 Bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC)

Com relação à contagem das bactérias heterotróficas cultiváveis (BHC) presentes nas amostras de cavala submetidas a cinco diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4°C, foram observados valores que variaram de 5,47 log UFC/g a 8,5 log UFC/g (FIGURA 5).

De acordo com a Figura 5, todos os tratamentos apresentaram valores crescentes para este grupo de microrganismo ao longo do período de estocagem, atingindo valores acima de 8 log UFC/g no final do 21º dia.

Dentro de um mesmo tempo, a quantidade de BHC encontrada no T1, T2, T3 e T4 foi menor do que a do Controle em todos os tempos analisados. Contudo, de todos os tratamentos, o T3 foi aquele que apresentou menores contagens de BHC quando comparado aos demais. Portanto, o T3 foi o tratamento mais eficiente na inibição do crescimento desses microrganismos nas amostras de cavala mantidas sob refrigeração a 4°C.

Figura 5 - Contagem de Bactérias Heterotróficas Cultiváveis (BHC) nas cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C



FONTE: Elaborada pela autora

C: cavala *in natura*

T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico

T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico

T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial

T4: cavala revestida com quitosana

Segundo a FAO (2008), a determinação da quantidade de BHC em amostras de peixe é importante, pois além de estimar a qualidade sanitária nesse tipo de alimento, serve para medir as condições da matéria-prima, a eficiência dos procedimentos tecnológicos, as

condições higiênicas durante o processamento, as condições sanitárias dos equipamentos e utensílios, e ainda as condições de armazenamento e distribuição.

Embora não exista na legislação brasileira um limite para este grupo de microrganismo, a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 1986) aponta valores maiores que 7,0 log UFC/g de peixe como sendo críticos com relação ao grau de frescor do pescado.

Sendo assim, de acordo com a Figura 5, no 7º dia de estocagem, todos os tratamentos já apresentavam valores críticos de BHC, com exceção do T3 que obteve apenas 6,69 log UFC/g de cavala.

Por outro lado, Vieira (2010) ao analisar o crescimento das BHC em amostras de cavala, observou que a quantidade dessas bactérias variou de apenas 2,79 log UFC/g a 5,37 log UFC/g ao final de 9 dias de armazenamento refrigerado. Ou seja, valores bem menores do que os encontrados neste experimento.

Em seus estudos com filés de bonito (*Sarda sarda*) submetidos a diferentes tratamentos incluindo o revestimento com quitosana, Alak *et al.* (2010), observaram que o número total das BHC foi maior no grupo controle do que no grupo revestido com quitosana, mostrando que o crescimento desses microrganismos nos filés revestidos foi mais lento do que no grupo controle, não chegando a 6 log UFC/g no final do experimento.

Chi, Zivanovic e Penfield (2006), ao estudarem fatias de mortadelas envolvidas com filmes de quitosana adicionados ou não com óleo essencial de orégano e armazenadas a 10 °C durante 5 dias, também relataram efeito sinérgico entre a quitosana e o óleo essencial de orégano com relação à sua propriedade bactericida devido à redução do número de células de *Escherichia coli* e *L. monocytogenes* de aproximadamente 4 logs decimais, comparada com 1 a 3 logs quando aplicado somente o filme de quitosana.

Esse efeito antimicrobiano da quitosana pode estar associado à sua capacidade para absorver nutrientes de bactérias, inibindo o seu crescimento ou à sua interação com as cargas negativas das membranas celulares microbianas, resultando no aumento da sua permeabilidade (HELANDER *et al.*, 2001)

Segundo Alak (2010), o efeito antimicrobiano destes revestimentos também pode estar relacionado ao pH dessas soluções, os quais apresentavam-se mais acidificados devido à presença de ácido acético utilizado para solubilizar a quitosana.

4.7.3 Bactérias produtoras de histamina (BPH)

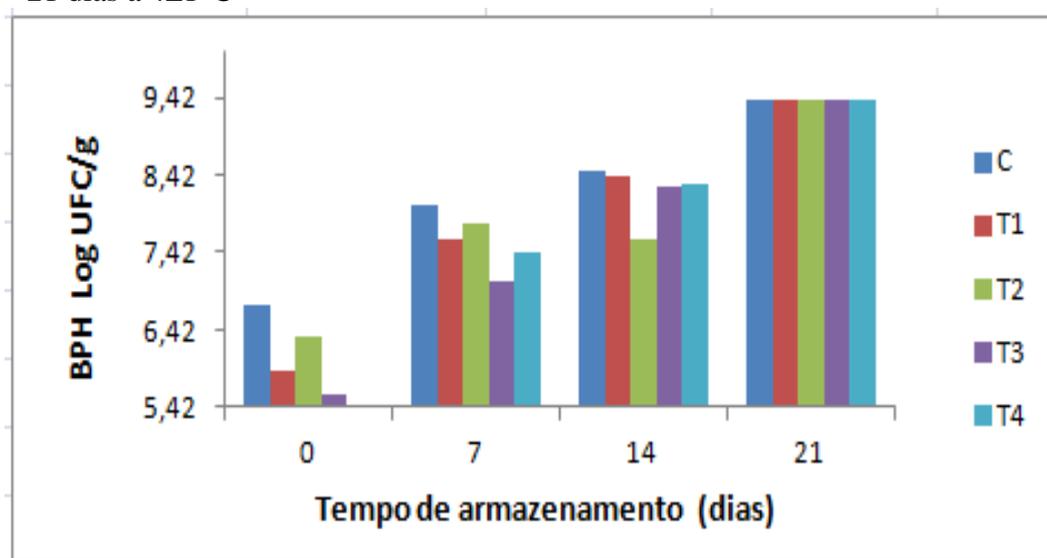
As contagens das bactérias produtoras de histamina (BPH) realizadas nas amostras de cavala submetidas a cinco diferentes tratamentos e estocadas a $4\pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 21 dias estão apresentadas na Figura 6.

De acordo com a Figura 6 a quantidade das BPH foi aumentando gradativamente ao longo do período de estocagem variando de 5,42 log UFC/g a 9,40 log UFC/g de cavala.

Enquanto o Controle apresentou os maiores valores durante os 21 dias, o T3 foi o que obteve menores quantidades, o que leva a crer que este tenha sido o melhor tratamento para inibir o crescimento das BPH nas amostras de cavala armazenadas a 4°C .

No tempo zero, a quantidade das BPH variou de 5,42 log UFC/g a 6,75 log UFC/g entre os diferentes tratamentos, tendo o Controle apresentado o maior valor. No 7º e no 14º dias o Controle continuou obtendo os maiores valores, contudo, no 21º dia todos os tratamentos apresentaram quantidades de BPH bastante altas e praticamente iguais, devido ao avançado grau de degradação do produto.

Figura 6 - Contagem de Bactérias Produtoras de Histamina (BPH) nas cavalas (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$



FONTE: Elaborada pela autora

C: cavala *in natura*

T1: cavala revestida com quitosana + óleo essencial + ácido ascórbico

T2: cavala revestida com quitosana e ácido ascórbico

T3: cavala revestida com quitosana e óleo essencial

T4: cavala revestida com quitosana

Shin-Hee *et al.* (2001) também observaram que a quantidade de bactérias produtoras de histamina em suas amostras de peixe aumentaram com o tempo, as quais passaram de 2,02 log UFC/g para 2,76 log UFC/g em apenas 14 dias de estocagem a 4°C.

Por outro lado, resultados diferentes foram encontrados por Tavares (2012), ao avaliar que não havia crescimento dessas bactérias em nenhuma de suas amostras de filé de pescado híbrido e de atum pré e pós-processado. Entretanto, este mesmo autor alega que isso pode ter acontecido porque o meio de Niven (1981) não é seletivo para bactérias histidina descarboxilase, podendo haver o crescimento de colônias não características nesse meio.

Fato curioso também foi observado por Emborg e Dalgaard (2005), ao trabalharem com atum defumado a frio e armazenado a 5°C por 40 dias, descobriram que peixes com propriedades organolépticas alteradas não teriam necessariamente que apresentar altas quantidades de BPH ou de histamina em sua constituição.

Segundo o FDA (2001), as linhagens bacterianas que geralmente estão associadas com o desenvolvimento da histamina pertencem principalmente ao ambiente marinho, sendo a *Morganella morganii* e o *Proteus vulgaris* conhecidas como as mais prevalentes e as mais produtivas bactérias formadoras de histamina. A *Hafnia alvei*, *Escherichia coli* e a *Salmonella sp*, por sua vez, também são consideradas por alguns autores, como importantes bactérias formadoras de histamina em pescados (Oliveira *et al.*, 2004)

Entretanto, em seus estudos com cavala, Vieira (2010) identificou que as possíveis bactérias formadoras de histamina nesse tipo de peixe seriam: *Citrobacter freundii* (índice de identificação de 99.4%), *Aeromona hydrophila* (índice de identificação de 96.4%) e *Escherichia vulneris* (índice de identificação de 82.2%).

4.8 Análise de correlação

Com o intuito de verificar se havia alguma correlação entre as análises físico-químicas realizadas neste experimento, os resultados obtidos para BVT, TMA, TBARS, pH, Cor e Textura foram submetidos à análise de correlação com o auxílio do programa Statistic 9.0, considerando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

A princípio, foram encontradas tanto correlações positivas, quanto negativas entre as análises, indicando que algumas eram diretamente proporcionais e outras inversamente proporcionais entre si, respectivamente.

Segundo a Tabela 7, que apresenta os resultados da análise de correlação, à medida que os valores de BVT aumentam, também aumentam os valores de TMA, pH e do parâmetro b* da cor. Por outro lado, enquanto os valores de TMA aumentam com o pH e com os parâmetros a* e b*, eles diminuem com o aumento do parâmetro L*, sendo a recíproca de todas essas afirmações também verdadeira.

Tabela 7 – Matriz de correlação das análises realizadas durante o experimento com as postas de cavala (*Scomberomorus cavalla*) submetidas a diferentes tratamentos e estocadas por 21 dias a 4±1°C

Variável	TBARS	BVT	TMA	pH	a*	b*	L*	Textura
TBARS	1,00	- 0,03	0,07	0,19	0,13	- 0,27	- 0,14	0,69
BVT	- 0,03	1,00	0,89	0,60	0,50	0,73	- 0,50	-0,29
TMA	0,07	0,89	1,00	0,87	0,68	0,70	- 0,71	-0,11
pH	0,19	0,60	0,87	1,00	0,71	0,43	- 0,77	0,13
a*	0,13	0,50	0,80	0,71	1,00	0,57	- 0,94	0,10
b*	- 0,27	0,73	0,70	0,43	0,57	1,00	- 0,49	-0,41
L*	- 0,14	- 0,50	- 0,71	- 0,77	- 0,94	- 0,46	1,00	-0,13
Textura	0,69	-0,29	-0,11	-0,13	0,10	-0,41	-0,13	1,00

*Negrito: Correlação significativa ($p \leq 0,05$)

Correlação Positiva: quanto X aumenta, Y também aumenta ou X diminui e Y diminui.

Correlação negativa: quando X aumenta, Y diminui, ou vice-versa.

Correlação Perfeita: $\pm 1,00$

Ausência de Correlação: 0,00

Esta correlação está de acordo com o preconizado por Prentice e Sainz (2005), os quais afirmam que os valores de pH aumentam à medida que aumenta o tempo de armazenamento sob refrigeração, o que contribui para o desenvolvimento bacteriano e a para a produção das BVT, a exemplo do TMA.

Com relação ao pH das amostras, verificou-se que este também aumenta com o parâmetro a* da cor, embora diminua com o aumento do parâmetro L*. No entanto, o parâmetro a* da cor apresentou-se inversamente proporcional aos demais parâmetros b* e L* e vice-versa.

De acordo com Pino (2005), a Cor é um importante parâmetro da qualidade de carnes frescas, estando intimamente relacionado com o pH, textura, capacidade de retenção de água e com a capacidade emulsificante desses produtos, indicando muitas vezes as condições destas propriedades.

Por sua vez, quanto aos resultados obtidos para TBARS e Textura, observou-se que estes apresentavam uma correlação positiva entre si, indicando que a oxidação lipídica é capaz de promover alterações na textura das amostras, deixando-as mais resistentes ao corte.

5 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, concluiu-se que o revestimento à base de quitosana e óleo essencial de orégano foi capaz de controlar a produção das Bases Voláteis Totais (BVT) e de reduzir o pH das amostras de cavala armazenadas sob refrigeração.

Enquanto o revestimento à base de quitosana e óleo essencial de orégano contribuiu para diminuir as quantidades de Bactérias Heterotróficas Cultiváveis (BHC) e de Bactérias Produtoras de Histamina (BPH) nas postas de cavala analisadas, o revestimento de quitosana, óleo essencial de orégano e ácido ascórbico foi o que apresentou melhores resultados quanto à sua capacidade de inibir a produção da Trimetilamina (TMA) nessas mesmas postas.

Embora os revestimentos não tenham apresentado nenhuma influencia sobre a textura (força de cisalhamento) e sobre a inibição da oxidação lipídica das amostras analisadas, observou-se que o revestimento à base apenas de quitosana conseguiu manter as amostras de cavala menos luminosas e mais avermelhadas por mais tempo, o que leva a crer que ele foi o melhor tratamento quanto a esse parâmetro analisado.

Apesar de não ter havido um único tipo de revestimento que tenha sido eficiente pra todos os parâmetros analisados, o revestimento de quitosana adicionado de óleo essencial de orégano foi o tratamento que obteve os melhores resultados para as análises físico-químicas e microbiológicas investigadas.

REFERÊNCIAS

- ADAY, M.S.; CANER, C. Understanding the effects of various coatings in the storability of fresh cherry. **Packaging Technology and Science**, v. 23, p. 441-456, 2010.
- ALAK, G. Effects of chitosan prepared in different solvents on quality parameters of mackerel fillets. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.11, n.15, p.2813-2816, 2012.
- ALAK, G.; HISAR, S. A.; HISAR, O.; KABAN, G.; KAYA, M. Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum. **Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas**. v.16, p.73-80, 2010.
- ANDRADE, P. F. **Avaliação do prazo de vida comercial do atum (*thunnus atlanticus*) armazenado sob refrigeração**. 2006. 97f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2006.
- ANTONINO, N. A. **Otimização do processo de obtenção de quitina e quitosana de exoesqueletos de camarões oriundos da indústria pesqueira paraibana**. 2007, 89f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa: PB, 2007.
- AOAC. Official Methods of Analysis Manual. 18. ed. **Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International**, 2005.
- ARGENTA, F. F. **Tecnologia do pescado: características e processamento da matéria-prima**, 2012. 63f. Monografia (Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
- ASENSIO, C.M.; GROSSO, N.R.; JULIANI, H. R. Quality characters, chemical composition and biological activities of oregano (*Origanum spp.*) Essential oils from Central and Southern Argentina. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p.203-213, 2015.
- ASSIS, O.B.G.; LEONI, A.M. Filmes Comestíveis de Quitosana: ação biofungicida sobre frutas fatiadas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.30, p. 33-38, 2003.
- BAILEY, A. E. **Baileys's Industrial Oil and fat Products**, John Wiley: New York, v.3, n.5, 1996.
- BALDINI, V. L. S. Aminas biogênicas e a deterioração do pescado. **Boletim do ITAL**, v. 19, n.4, p. 389-402, 1982.
- BEHLING, A. R.; TAYLOR, S. L. Bacterial histamine production as a function of temperature and time of incubation. **Journal of Food Science**, v. 47, p. 1311-1317, 1982.

BEIRÃO, L.H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; SANTO, M.L.P.E. **Processamento e industrialização de moluscos**. 2002. Disponível em: <http://www.acaq.org.br/arquivos/pr>> Acesso em: 5 nov. 2014.

BENASSATTI, H. E.; MARFIL, L. M.; OCCHIONERO, M. Acido acético: su capacidad desinfectante. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, v. 28, n. 3, p. 411- 419, 1994.

BIRKELAND, S.; SIVERTSVIK, M.; NIELSEN, H.H.; SKARA, T. Effects of brining conditions on weight gain in herring (*Clupea harengus*) fillets. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 7, p. 418-424, 2005.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M.C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BORDERÍAS, A. J.; SÁNCHEZ-ALONSO, I.; PÉREZ-MATEOS, M. New applications of fibres in foods: addition to fishery products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 16, n. 10, p. 458-465, 2005.

BOURGEIOS, C.; LARPENT, J. P. **Microbiologia Alimentar**. Zaragoza: Acribia, 1994. 366p

BOSKOU,G.; DEBEVERE,J. Shelf-life extension of cod fillets with acetate buffer spray prior to packaging under modified atmospheres. **Food Additives and Contaminants**, v.17. n.1, p.17-25, 2000.

BOTREL, D. A.; SOARES, N.F.F.; GERALDINE, R.M.; PEREIRA, R.M.; FONTES, E.A.F. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pêra Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.8, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 1.255 de 25 de junho de 1962**.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 185, de 13/05/97. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado)**. Brasília/DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1997. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/servlet/VisualizarAnexo?id=2157>> Acesso em: 14 nov. 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. RIISPOA- Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Decreto nº 30691, de 29/03/52**. Brasília/DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1952.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 25, de 2 de junho de 2011**. Aprova os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos para Controle de Pescado e seus Derivados. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 de junho de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria 185, 1997**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 22 dez. 2015.

BRASIL. **Ministério da Pesca e Aquicultura**. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. Brasília: MPA, 2013. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/mapa/>>. Acesso em: 02 mar. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001**.

BRESSAN, M.C.; PEREZ, J.R.O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA /FAEPE, 2000. 225p.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p. 223-253, 2004.

CARDOSO, G.P.; RAMOS, E.M.; FARIA, C.H.M.; RAMOS, A.L.S. Estabilidade oxidativa de carne bovina in natura refrigerada revestida em biofilme de gelatina contendo extratos de alecrim e orégano. XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA. **Anais**, 2010.

CARNEIRO, P.B.M.; SALLES, R. Caracterização da pescaria com rede de emalhar derivante realizada no município de fortaleza, estado do ceará. **Arq. Ciên. Mar**, v.44, n.1, p. 69 – 80, 2011.

CEPENE 2004 - Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste - **Boletim Estatístico de Pesca Marítima e Estuarina do Nordeste do Brasil –2004**, Tamandaré, p. 152, 2005

CEPENE. **Monitoramento da atividade pesqueira no litoral nordestino** - Projeto Estatpesca-Boletim estatístico de pesca – 2006. Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste, Tamandaré, 384 p., 2008.

CHAMORRO, S.A.V.; PALOU, L.; RIO,M.A.D.; GAGO, M.B.P. Critical Reviews, Antimicrobial Edible Films and Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. **Food Science and Nutrition**, n. 51, p. 872-900, 2011.

CHI, S.; ZIVANOVIC, S.; PENFIELD, M. P. Application of chitosan films enriched with oregano essential oil on bologna- Active compounds and sensory attributes. **Food Science and Technology International**, v. 12, n.2, p. 111-117, 2006.

COMA, V. Bioactive packaging Technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**, v.78, n.2, p.90-103, 2008.

CONWAY, E. J.; BYRNE, A. An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances: the micro-determination of ammonia. **Biochemistry Journal**, v. 27, p. 419-429, 1993.

COSENTINO, S.; TUBEROSO, C.I.G.; PISANO, B.; SATTA, M; MASCIA, V.; ARZEDI, E.; PALMAS, F. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. **Letters in Applied Microbiology**, v. 29, p.130– 135, 1999.

COSTA, B.G.B. **Concentração de mercúrio total em cavala (*Scomberomorus cavalla* - Cuvier, 1829) e serra (*Scomberomorus brasiliensis* - Collette, Russo & Zavala-Camin,**

- 1978) comercializados nas bancas de pescado do Mucuripe, Fortaleza, CE. 2007. 52f.** Monografia (Graduação e Engenharia de Pesca). Departamento de Engenharia de Pesca. Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza-CE, 2007.
- COSTA, M. O desafio de vender peixe. **Exame Agronegócios**, São Paulo, p. 114-115, jun. 2006.
- COSTA, P.R.R.; FERREIRA, V.F.; ESTEVES, P.M.; VASCONCELLOS, M.L.A.A.; **Ácidos e Bases em Química Orgânica**, Editora Bookman: Porto Alegre, 2005.
- DARMADJI, P.; IZUMIMOTO, M. Effect of chitosan in meat preservation. **Meat Science**, v. 38, n.243, 1994.
- DOWNES, M. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed., Washington: Ed. APHA, p. 676, 2001.
- DUAN, J.; CHERIAN, G; ZHAO, Y. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongates*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings. **Food Chemistry**, v. 119, p. 524–532, 2010.
- DUTTA, P.K.; SHIPRA TRIPATHI; MEHROTRA, G.K.; JOYDEEP DUTTA. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications, **Food Chemistry**, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.
- FACCO, E.M.P. **Parâmetros de qualidade do charque relacionados ao efeito da Suplementação de vitamina E na dieta de bovinos de raça Nelore em confinamento**. 2002. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas – SP, 2002.
- FDA- Food and Drug Administration (2006). **Department Of Health And Human Services. Essential oils, oleoresins (solvent-free), and natural extractives (including distillates)** In.: Substances generally recognized as safe. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/>> Acesso em 12 nov.2014.
- FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos, **Revista Iberoamericana de Polímeros**, v.9, n.5, p.435,2008.
- FARIAS, M.C.A. **Avaliação das condições higiênico – sanitárias do pescado beneficiado em indústrias paraenses e aspectos relativos à exposição para consumo em Belém – Pará. Belém**, 2006. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Pará, Belém - PA, 2006.
- FARIAS, M.V.A.; FREITAS, J.A. Avaliação sensorial e físico-química de pescado processado. **Revista Inst. Adolfo Lutz**, v.70, n.2, p.175-179, 2011.
- FAULHAUBER, C. A Importância de um sistema de Inspeção e controle de Qualidade dos Produtos da Pesca. In: SEMINÁRIO SOBRE CONTROLE DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE PESCADO, 1988, Santos. **Anais...** Leopoldina/Loyola, 303 p.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, N. A. Manual de peixes marinhos do Sudeste do Brasil VI Teleostei, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 116 p, 2000. **Food Chemistry**, v. 119, p.524 –532, 2010.

FISHBASE – Disponível em: <<http://www.fishbase.org>>. Acesso em: agosto de 2006.

FONTELES-FILHO, A. A. Síntese sobre a distribuição, abundancia, potencial pesqueiro e biologia da Cavala *Scomberomorus cavalla* (Cuvier) e a Serra *Scomberomorus brasiliensis* (Collete, Russo e Zavala-Camin) da região Nordeste do Brasil. Avaliação do Potencial Sustentável de Recursos Vivos na Zona Econômica Exclusiva MMA. **REVIZEE**. 10p, 2000.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Dossiê Antioxidantes: Antioxidantes. **Revista-fi.com**, Brasil, n.6, p.16-31, 2009.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Proteínas do peixe: Propriedades funcionais das proteínas do peixe. **Revista-fi.com**, n. 8, p. 23-24, 2009.

GAMA, R.S.A.; TEIXEIRA, M.C.D.; ALMEIDA, E.N.; ARAÚJO, J.N. Determinação e distribuição de ácido ascórbico em três frutos tropicais. **Eclética Química**. v.27, n.1, 2002.

GIANCONE, T.; TORRIERI, E.; DI PIERRO, P.; MARINIELLO, L.; MORESI, M.; PORTA, R.; MAIS, P. Role of constituents on the network formation of hydrocolloid edible films. **Journal of Food Engineering**, v.89, p.195-2003, 2008.

GINGERICH, T.M.; LORCA, T.; FLICK, G.J.; PIERSON, M.D.; MCNAIR, H.M. Biogenic amine survey and organoleptic changes in fresh, stored, and temperature-abused bluefish (*Pomatomus saltatrix*). **Journal of Food Protection**, v. 62, n.9, p. 1033-1037, 1999.

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

GLÓRIA, M.B.A.; IZQUIERDO-PULIDO, M. Levels and significance of biogenic amines in Brazilian beers. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.12, p.129-136, 1999.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ DE LACEY, M.E.; LÓPEZ-CABALLERO, M.C.; GÓMEZ-GUILLÉN, P.M. Biodegradable gelatina-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, v. 27, p. 889-896, 2010.

GONÇALVES, A.A., GINDRI JUNIOR, C.S.G. The effect of glaze uptake on storage quality of frozen shrimp. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 285-290, 2009.

GONSALVES, A. A.; ARAUJO, C. R.; SOARES, N.A.; GOULART, M.O.F.; ABREU, F.C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v.34, n.7, p.1215-1223, 2011.

GROPPO, F.C.; RAMACCIATO, J.C.; SIMÕES, R.P.; FLÓRIO, F.M.; SARTORATTO, A. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil and chlorhexidine against oral micro-organisms. **International Dental Journal**. v. 52, n.6, p. 433-437, 2002.

GUERRA, N. P.; MACIAS, C.L.; AGRASARA, T.; CASTRO, L.P. Development of bioactive packaging cellophane using nisaplin as biopreservative agent. **Letters in Applied Microbiology**, v.40, p.106-110, 2005.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, v.124, p.91-97, 2008.

GUZMAN, E. S. C. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 409 p, 1994.

HELANDER, I.M.; NURMIAHO-LASSILA, E.L.; AHVENAINEN, R.; RHOADES, J.; ROLLER, S. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v.71, p.235-244, 2001.

HUSS, H.H.; ABABOUC, L.; GRAM, G. Assessment and management of seafood safety and quality. **Food and Agriculture Organization of the united nations**: Rome, 2003. 230 p

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). Microorganisms in Foods. **Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications**. 2 ed, London: Blackwell Scientific Publications, p.127-278, 1986.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R.L. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers Microbiology**, v.3, n.12, p.1-24, 2012.

IHAVERI, S. N.; LEU, S. S.; CONSTANTINIDES, S. M. Atlantic Mackerel (*Scolllber scolllbms*, L): shelf life in ice. **Journal of Food Science**, v.47, p. 1808-1810, 1982.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS-IBAMA. **Estatística da pesca 2007 Brasil**: grandes regiões e Unidades da federação. Brasília: Ibama, 2007.151p.

JUNIOR, C.; BLANCO, J.; MOREIRA, R.; CRUZ, T.; MASSON, L.; SILVA, J. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de óleo essencial de orégano em maionese In: JORNADA INTERNA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 8, 2014, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: IFRJ, 2014.

KABARA, J.J. Phenols and chelators. In: RUSSELL, N.J.; GOULD, G.W. **Food Preservative**, London: Blac, 1991. p. 200- 214.

KERRY, J.P.; O'GRADY, M.N.; HOGAN, S.A. Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. **Meat Science**, v. 74, p.113-130, 2006.

KESTER, J.J.; FENNEMA, O.R. Edible films and coatings: a review. **Food Technology**, v.40, n.12, p.47-59, 1986.

- KHAN, A. **A potencialidade do reagente metacrilato de glicidila imobilizado no biopolímero quitosana para a remoção de cátions**. 2011, 252f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas: São Paulo, 2011.
- KIM, S.K.; RAJAPAKSE, N. Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 62, p. 357- 368, 2005.
- KLEIN, V.L.M. Helminthos parasitos das espécies *Scomberomorus cavalla* (Cuvier) e *Scomberomorus maculatus* (Mitchill) do litoral cearense. *Contracecum fortalezae* sp.n.(Nematoda: Ascaridoidea). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 71, n.1-2, p.199-202, 1973.
- KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. Enterobacteriaceae, Coliforms and Escherichia coli as quality and safety indicators. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (eds.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. Chapter 8, p.69-82.
- LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.J.; NYCHAS, G.J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.453-462, 2001.
- LANZARIN, M.; RITTER, D.O.; SOUZA, G.G.; DE MELLO, C.A.; FILHO, E.S.D.A. Quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e ocorrência de salmonella spp. Em híbrido tambacu (*piaractus mesopotamicus* x *colossoma macropomum*), comercializado em cuiabá, mato grosso enciclopédia biosfera , **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.8, n.15; p.150, 2012.
- LEDERER, J. **Enciclopédia moderna de higiene alimentar**. São Paulo: Manole Dois, 1991.
- LEHANE, L.; OLLEY, J. Review: Histamine fish poisoning revisited. **International Journal of Food Microbiology**. v. 58, p 1-37, 2000.
- LENZA, R.C. **Ocorrência de histamina no pescado**. 2006. 59f. Monografia (Curso de pós-graduação "Lato Sensu" em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, São Paulo, São Paulo, 2006.
- LESSA, R. P. Recursos Pesqueiros da Região Nordeste. In: MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Programa REVIZEE: Avaliação do potencial sustentável de recursos vivos na zona econômica exclusiva**. Relatório Executivo. Brasília, DF: MMA, Secretaria de Qualidade Ambiental, 2006. 280 p.
- LIMA, A.; GLÓRIA, M. B. A. Aminas Bioativas em Alimentos. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 70-79, 1999.
- LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C.; GÓMEZ-ESTACA, J.; CATALÁ, R.; GAVARA, R.; PILAR HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**, v. 131, p. 1376–1384, 2012.
- LÜCK, E. **Conservación química de lós alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1981.237p.

MAHMOUD, S.S.; CROTEAU, R.B. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. **Trends in Plant Science**, v.7, n.8, p.366– 373, 2002.

MAINTZ, L.; NOVAK, N. Histamine and histamine intolerance. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, n. 05, p. 1185-1196, 2007

MAPA- Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Semana do peixe popularize consume de pescado**. Publicada em 05 set.2014. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/ultimas-noticias/382-semana-do-peixe-populariza-consumo-de-pescado-no-pais>> Acesso em 22 set. 2015.

MARTÍNEZ-CAMACHOA, A.P.; CORTEZ-ROCHAA, M.O.; EZQUERRA-BRAUERA, J.M.; GRACIANO-VERDUGOB, A.Z.; RODRIGUEZ-FÉLIXA, F.; CASTILLO-ORTEGAC, M.M.; YÉPIZ-GÓMEZA, M.S.; PLASCENCIA-JATOMEAA, M. Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. **Carbohydrate Polymers**. v. 82, p. 305–315, 2010.

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

MCGOWAN, M.P. **Am I at risk for developing heart disease? Heart fitness for life**. New York: Oxford, p. 10-25, 1997.

MENA, S.; RODRÍGUEZ, L.; BARRERO, M. El glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus thynnus*) congelado y almacenado a -10°C. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, v.60, n.3, 2010

MENEZES, M.E.S.; LIRA, G.M.; OMENA, C.M.B.; FREITAS, J.D.F.; SANTANA, A.E.G. Valor nutritivo de peixes da costa marítima de Alagoas, Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.68, n.1, p.21-28, 2009.

MIDDLEBROOKS, B. L.; TOOM, P.M.; DOUGLAS, W.L.; HARRISON, R.E.; MCDOWELL, S. Effects of stored time and temperature on the microflora and amine development in Spanish Mackerel (*Scomberomorus maculatus*). **Journal of Food Science**, v. 53, n. 4, p. 1024-1029, 1988.

MIGUEL, A. C. **Uso de película comestível, cloreto de cálcio e ácido ascórbico para a conservação do melão “Amarelo” minimamente processado**. 2008. 196f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MINOZZO, M.G.; MALUF, M. L. F. **Indicadores da qualidade higiênico sanitárias no processamento de tilápias**. In: BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. **Industrialização de tilápias**. Toledo: GFM, 2007. p.247-269.

MOHAN, C.O., RAVISHANKAR, C.N., LALITHA, K.V., SRINIVASA GOPAL, T.K. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. **Food Hydrocolloids**, v. 26, p. 167-174, 2012.

MOL, S.; ERKAN, N.; ÜÇÖK, D.; TOSUN, Y. Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. **Journal of Muscle Foods**, v. 18, p. 120 – 128, 2007.

MONTES, S.S.; NETA, L.G.S.; CRUZ, R.S. Óleos essenciais em embalagens para alimentos–revisão de literatura de 2000 a 2012. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.5, n. 1/2, 2013.

MORAES, S.M.; JÚNIOR, F.E.A.C.; SILVA, A.R.A.; NETO, J.S.M.; RONDINA, D.; CARDOSO, J.H.L. Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais de Espécies de Cróton do Nordeste do Brasil. **Química Nova**, v.29, n. 5, p.907-910, 2006.

MORAIS, Cecília Sandra Nunes. **Qualidade e teor de aminos bioativas da carne de jacaré-do-pantanal (Caiman yacare Daudin 1802) armazenada sob refrigeração**. 2013. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MUJICA, P.Y.C. **Vida útil do cação (*Prionace glauca*) armazenado sob refrigeração e otimização dos métodos microbiológicos e sensoriais de avaliação da qualidade**. Campinas, 2000. 103f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

NIVEN, C.F.J.; JEFFREY, M.B.; CORLETT, D.A J. Differential Plating Medium for Quantitative Detection of Histamine-Producing Bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 321-322, 1981.

NJINKOUÉ, J. M.; BARNATHAN, G.; MIRALLES, J.; GAYDOU, E. M.; SAMB, A. Lipids and fatty acids in muscle, liver and skin of three edible fish from the Senegalese coast: *Sardinella maderensis*, *Sardinella aurita* and *Cephalopholis taeniops*. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 131, p. 395-402, 2001.

NUNES, E.M.S. **Efeito do revestimento de quitosana na vida útil de filés de pargo (*Lutjanus purpurus*) armazenados sob congelamento**. 2014, 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. v.1, 432p.

OLIVEIRA, H.A.C.; SILVA, H.C.M.; SAMPAIO, A.H.; VIANNA, F.A.; SALTER-SAMPAIO, S. Determinação de histamina por cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa em atum e sardinha enlatados. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, p.179-188, 2004

OLIVO, R. **Alterações oxidativas em produtos cárneos**. In: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes. São Paulo: Varela, 2006. p.155-163.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal**. São Paulo: Artmed, 2005. v. 2, 279p.

- OZOGUL, Y.; DURMUS, M.; BALIKCI, E.; OZOGUL, F.; AYAS, D. E.; YAZGAN, H. The effects of the combination of freezing and the use of natural antioxidant technology on the quality of frozen sardine fillets (*Sardinella aurita*), **International Journal of Food Science and Technology**, v.46, p. 236–242, 2011.
- PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciências, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da carne e subprodutos**. Goiânia: CEGRAF/UFG, v. 2, p. 638–675, 1994.
- PARENTE, E.; MARTUSCELLI, M.; GARDINI, F.; GRIECO, S.; CRUDELE, M.; SUZZI, G. Evolution of microbial populations and biogenic amine production in dry sausages produced in Southern Italy. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, p. 882–891, 2001.
- PARK, S.-I.; DAESCHEL, M. A.; ZHAO, Y. Functional properties of antimicrobial lysozyme–chitosan composite films. **Journal of Food Science**, v. 69, n.8, p.215–221, 2004.
- ORDÓÑEZ-PEREDA, J.A.; RODRIGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.H.; CORTECERO, M.D.S. (2005). **Tecnología de Alimentos – Alimentos de Origen Animal**. Vol. 2. Editora Artmed, São Paulo, 279p.
- PEREIRA, L.A.R.; FONSECA, V. Controle de qualidade de pescados com verificação dos seus pcc's em um restaurante no município de volta redonda. **Interbio** v.5 n.1 2011.
- PEREIRA, W.D.; ATHAYDE, A.H.; PINTO, K.P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió-AL. **Higiene Alimentar**, v.15, n.84, p.67-74, 2001.
- PESCADOR, R. **Aspectos nutricionais dos lipídios no peixe: uma revisão de literatura** 2006, 70p. (Trabalho de conclusão do Curso de Especialização em Gastronomia e Segurança Alimentar) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- PINHEIRO, A.C.; CERQUEIRA, M.A.; SOUZA, B.W.S.; MARTINS, J.T.; TEIXEIRA, J.A.; VICENTE, A. A. Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. **Boletim de Biotecnologia**, p.18-28, 2010.
- PINO, L.M. **Estabilidade oxidativa da carne de frangos alimentados com diferentes fontes lipídicas, armazenada sob congelamento**. 2005. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba- SP, 2005.
- POMBO, C. R. **Avaliação físico-química e bacteriológica de peixes anchovados**. 2007, 103f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2007.
- PRENTICE, C.; SAINZ, R.L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados à vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas v.25, n.1, 2005.
- QIU, X.; CHEN, S.; LIU, G.; YANG, Q. Quality enhancement in the Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) fillets stored at 4°C by chitosan coating incorporated with citric acid or licorice extract **Food Chemistry**, n.162, p. 156–160, 2014.

- QUINTAES, V. Potencial perigo microbiológico resultante do uso de caixas plásticas tipo monobloco, no armazenamento e transporte de pescados em São Paulo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n.3, p. 517-522, 2003.
- RAHARJO, S., SOFOS, J.N., SCHMIDT, G.R. Improved speed, specificity and limit of determination of aqueous acid extraction thiobarbituric acid-C₁₈ method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal and Agricultural and Chemistry**, v. 40, p. 2182-2185, 1992.
- RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p.755-760, 2006.
- REHDER, V.L.G.; MACHADO, A.L.M.; DELARMELINA, C.; SARTORATTO, A.; FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Origanum applii* e *O. vulgare*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** v. 6, n. 2, p. 67-71, 2004.
- RODRIGUES DA SILVA, J.; SERRA DA COSTA, L.; DA SILVA, F.: Técnicas de análise multivariada no agrupamento e classificação dos estados brasileiros segundo a produção pesqueira nacional, **Observatorio de la Economía Latinoamericana**, n. 190, 2013. Disponível em: < <http://www.eumed.net/cursecon/ecolat/br/13/pesca-nacional.html>>. Acesso em: 3 mar. 2016.
- ROMANAZZI, G., GABLER, F.M., MARGOSAN, D., MACKKEY, B. E.; SMILANICK, J. L. Effect of chitosan dissolved in different acids on its ability to control postharvest gray mold of table grape. **Phytopathology**. v.99, p.1028-1036, 2009.
- SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v. 91, p. 621–632, 2005.
- SALES, R.O., OLIVEIRA, J.A.P., COSTA, F.J.L. Avaliação do estado de frescor do pescado capturado em água doce e mantido sob refrigeração, no açude de Orós, Ceará. **Ciências Agrônômicas**. v.19, n. 2, p. 109-115. 1988.
- SANTOS, E.C.B. **Métodos de abate e qualidade da tilápia do Nilo. 2013. 100 p.** Tese (doutorado em Aquicultura)- Centro de Aquicultura da UNESP- Universidade Estadual Paulista, 2013.
- SANTOS, F. M. S. **Utilização de quitosana no revestimento de filés de tilápia do nilo (*Oreochomis niloticus*) e na preparação de filmes incorporados com óleos essenciais.** 2014. 149 f. Tese (doutorado em bioquímica e fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2014
- SANTOS, J. M. S.; **Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da qualidade física, química e microbiológica.** 2008. 170f. Dissertação (Mestrado em Controle de Qualidade na área Científica Água e Alimentos)- Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, 2008.

SANTOS, M. C. **Efeitos dos subprodutos da aroeira e do biofilme a base de quitosana pós-colheita e controle de antracnose em goiabas "paluma"**. 2012, 94f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2012.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.803-808, 2007.

SARTORI, A.G.O.; AMANCIO, R.D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Revista Segurança Alimentar e Nutricional**, v.19, n.2, p.83-93, 2012.

SCHENATO, M. T. **Coberturas comestíveis à base de quitosana, cálcio e ácidos graxos na qualidade pós-colheita de morangos**. 2010. 59f. Monografia (Trabalho de conclusão do Curso de Tecnologia de Alimentos) - Instituto Federal do Rio grande do Sul, Bento Gonçalves, 2010.

SENATORE, F. Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, p.1327– 1332, 1996.

SHAHIDI F, KAMIL J, JEON Y-J, KIM SK, J. Antioxidant role of chitosan in a cooked cod (*Gadus morhua*) model system. **Journal of Food Lipids**, v. 9, p. 57-64, 2002.

SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**. v. 29, n.7, p. 675-690, 1996.

SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A.; BURT, J.R. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a La captura. In: SIKORSKI, Z.E. (Ed). **Tecnología de los productos del mar: recursos, composition y conservation**. Zaragoza: Acribia, 1994. Cap.4, p.73-101.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**.v.22, n.1, p.94-103, 1999.

SILVA, J.P.L.; DUARTE-ALMEIDA, J.M.; PEREZ, D. V.; FRANCO, B.D.G.M. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.30, p.136-141, 2010.

SILVA, N. C. C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. 2010. 75f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu, 2010.

SILVA, P.A.S.; DUPIM, M.S.; CHAZIN, E.L. Métodos de preparação industrial de solventes e reagentes químicos. **Revista Virtual de Química**. v.20, n. 20, 2015. Disponível em: <http://www.uu.br/rvq>>. Acesso em: 31 out. 2015.

SIQUI, A.C.; SAMPAIO, A.L.F.; SOUSA, M.C.; HENRIQUES, M.O.; RAMOS, M.F.S. Óleos essenciais – potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.16, p.38-43, 2000.

SIRIPATRAWAN, U.; HARTE, B.R. Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 770 -775, 2010.

SOARES, N.M; MENDES, T.S.; VICENTE, A.A. Effect of chitosan-based solutions applied as edible coatings and water glazing on frozen salmon preservation – **A pilot-scale study Journal of Food Engineering**, v.119, p. 316–323, 2013.

SOARES, N.F.F. **Bitterness reduction in citrus juice through naringinase immobilized into polymer film**. Ph.D. Dissertation.Cornell University, New York, 130 p. 1998.

SOARES, N.F.F.; SILVA, W.A.S.; PIRES, A.C.S.; CAMILLOTO, G.P.; SILVA, P.S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, v.56, n.4, p.370-378, 2009.

SOARES, N.M.F.; OLIVEIRA, M.S.G.; VICENTE, A. A. Effects of glazing and chitosan-based coating application on frozen salmon preservation during six-month storage in industrial freezing chambers. **Food Science and Technology**, v. 61, p. 524-531, 2015.

SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.M; LIMA, E.O. Sensitivity of Spoiling and Pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 527-532, 2006.

SPANO, G.; RUSSO, P.; LONVAUD-FUNEL, A.; LUCAS, P.; ALEXANDRE, H.;GRANDVALET, C.; COTON, E.; COTON, M.; BARNAVON, L.; BACH, B. Biogenic amines in fermented foods. **European journal of clinical nutrition** 64: S95-S100,2010.

STRATTON, J. E. HUTKINS, R.W.; TAYLOR, S.L. Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review. **Journal of Food Protection**, v.54, p.460-470, 1991.

TASSOU, C.C.; KOUTSOUMANIS, K.; NYCHAS, G.J.E. Inhibition of Salmonella enteritidis and Staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil. **Food Research International** v. 33, p. 273- 280, 2000.

TAVARES, R.D.O. **Avaliação da Estabilidade Térmica de Histamina em Conservas de Pescado por CLA**. 2012. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Universidade Federal do Rio de Janeiro- RJ, 2012.

TRONDSSEN, T; SCHOLDERER, J.; LUND, E.; EGGEN, A.E. Perceived barriers to consumption of fish among Norwegian women. **Appetite**, v.41, n.3, p.301-314, 2003.

TAYLOR, S. L.; GUTHERTZ, L.S.; TILLMAN, M.L.F.; LIEBER, E. Histamine production by food-borne bacterial species. **Journal of Food Safety**, v. 1, p. 173–187, 1978.

UTYAMA, I. K. A.; ANDRADE, D.; WATANABE, E.; PIMENTA, .C.F; ITO, I.Y. Determinação da atividade antibacteriana e toxicidade do ácido acético e vinagres branco e tinto. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.4, n.2, p.202-207, 2007.

VAN NETTEN, P.; VAN DER ZEE, H.; MOSSEL, D.A.A. A note on catalase-enhanced recovery of acid injured cells of Gram negative bacteria and its consequences of the assessment of the lethality of l-lactic acid decontamination of raw meat surfaces. **Journal of Applied Bacteriology**, v.57, n.1, p.169-173, 1984.

VERBEKE, W.; VERMEIR, I.; BRUNSO, K. Consumer evaluation of fish quality as basis for fish market segmentation. **Food Quality and Preference**, v.18, n.4, p.651–661, 2007.

VIEIRA, Olga Geraldine de Ascensão. **Caracterização dos microrganismos e quantificação de toxinas bacterianas no músculo de peixes pelágicos utilizados no consumo humano na ilha da madeira**. 2010. 54f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) – Universidade de Lisboa, 2010.

WALLACE, H. A.; HAMMACK, T. S. Salmonella. In : U.S. Food and Drugs Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition. **Bacteriological Analytical Manual online**. FDA/CFSAN, 2009.

XIMENES, C.A.M. **Análise da distribuição especial da cavala, *Scomberomorus cavalla* (Cuvier), em águas costeiras do Estado do Ceará, Brasil**. 1978, 12f. Monografia (Trabalho de conclusão do Curso de Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, 1978.

YADAV, A.V.; BHISE, S.B. Chitosan: a potential biomaterial effective against typhoid. **Current Science**, v. 87, n. 9, p. 1176-1178, 2004.

ZHONG, C.; CAI, Q.F.; SUN, L.C.; SU, W.J.; CAO, M.J. Purification and characterization of cathepsin L from the skeletal muscle of blue snapper (*Decapthus maruadsi*) and comparison of its role with nymbril-bound serine proteinase in the degradation of myofibrillar proteins. **Food chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1560-1568, 2012.