



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA

JÉSSICA FROTA COSTA

ACOMPANHAMENTO DA VIDA ÚTIL DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
MANTIDAS EM GELO, ATRAVÉS DE ABORDAGEM DE VARIÁVEIS
MICROBIOLÓGICAS, QUÍMICAS E SENSORIAIS

FORTALEZA
2019

JÉSSICA FROTA COSTA

ACOMPANHAMENTO DA VIDA ÚTIL DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
MANTIDAS EM GELO, ATRAVÉS DE ABORDAGEM DE VARIÁVEIS
MICROBIOLÓGICAS, QUÍMICAS E SENSORIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Oscarina Viana de Sousa

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.

FORTALEZA

2019

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)

- C873a Costa, Jéssica Frota.
Acompanhamento da vida útil de tilápias (*Oreochromis niloticus*) mantidas em gelo, através de abordagens de variáveis microbiológicas, químicas e sensoriais / Jéssica Frota Costa. – 2019.
67 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Profª. Drª. Oscarina Viana de Sousa.
Coorientação: Profa. Dra. Profª. Drª. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.
1. Pescado. 2. Refrigeração. 3. Método do Índice de Qualidade. 4. Mesófilas. 5. Psicrófilas. I. Título.
CDD 639.2
-

JÉSSICA FROTA COSTA

ACOMPANHAMENTO DA VIDA ÚTIL DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
MANTIDAS EM GELO, ATRAVÉS DE ABORDAGEM DE VARIÁVEIS
MICROBIOLÓGICAS, QUÍMICAS E SENSORIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

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

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

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por todas as orações atendidas, por ser fiel e nunca me abandonar, por colocar na minha vida familiares e amigos essenciais nessa jornada e pela energia e benefícios para conclusão desse trabalho.

Aos meus pais, Maria Luiza Frota e Eulálio José Costa, por todo incentivo, apoio, amor, educação e por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos, acreditando na minha capacidade e sucesso, nunca permitindo que me faltasse nada.

À minha avó, Maria Nelina Ribeiro, que é uma segunda mãe pra mim, pela força, pelo seu acolhimento, seu carinho, amor, dedicação e preocupação, sempre me fazendo sorrir com seus elogios.

À professora e orientadora Oscarina Viana, pela grande oportunidade de ser orientada por ela, uma profissional sem palavras para descrever, paciente, dedicada, cuidadosa e humana são algumas de suas muitas qualidades. Muito obrigada por toda atenção, por todos os seus conselhos e carões, que me fizeram amadurecer bastante na vida acadêmica, e por ser um exemplo de ser humano honesto, humilde e verdadeiro. Saiba que serei eternamente grata a você!

À professora e co-orientadora Gleire Rodrigues, pela oportunidade dada, por acreditar no meu potencial, pela sua confiança, amizade e amor, por ser muito atenciosa e prestativa nos muitos momentos que precisei. Obrigada pelo seu cuidado, seus carões, sua paciência, pelas muitas risadas, pelas comilanças, por infinitas coisas que você fez e faz por mim. Ficará sempre o sentimento de eterna gratidão!

À professora Cristiane Teles, pelo seu apoio na bancada, que seria impossível de realizar sem seus conselhos, sua experiência e disponibilidade. Obrigada por todas suas risadas, que muitas vezes me faziam rir em dias não tão alegres, pelo seu ânimo de viver e por se dividir em “mil pessoas” para conseguir dar atenção a todos nós. Muito obrigada, Cris!

Às professoras Marina Torres e Rosa Rebouças, que me ajudaram muito na parte experimental, tirando todas as dúvidas possíveis e por sempre estarem disponíveis para compartilhar seus ensinamentos e experiências.

À Jéssica Lucinda, por ser uma amiga tão incrível, tão humilde, prestativa, paciente até demais, dedicada e atenciosa. Só tenho a agradecer a Deus pela pessoa que você foi pra mim, nessa fase da minha vida. Sou sua grande torcedora e admiradora, muito obrigada por tudo, Jé!

À Jade Abreu, pela amizade, pelas melhores formas de repassar um conhecimento, sempre muito meiga, paciente, atenciosa, prestativa demais e compreensível. Obrigada por tudo, de coração, você é uma menina incrível, admirável e encantadora, a sua essência é única. Saiba que sentirei muita falta das nossas conversas e de das gordices.

Ao Matheus Maia, por toda a ajuda, por todos os conselhos, pela sua amizade sincera e verdadeira, por me fazer enxergar meu potencial, por me passar segurança e enxergar em mim qualidades que até hoje estou procurando. Obrigada, amigo, que nossa amizade seja eterna!

À técnica mais linda de todo Labomar, Anna Brito, por seu apoio, dedicação, parceria e disposição. Obrigada, Anna de Mossoró, você é demais!

A todos os amigos integrantes do LAMAP, que me apoiaram muito, que sempre estavam dispostos a me ajudar, me socorrendo inúmeras vezes dos momentos de sufocos e correrias. Em especial a: Álef Vasconcelos, Ana Paula Alves, Ariele Rodrigues, Gabriel Bezerra, Gabriela Moura, Isaias da Camara, Jhones Lima, Larissa Nunes, Raul Vitor, Régia Leiliana, Yasmin Girão, Yasmin Marques e Vitória Régia.

As minhas meninas super poderosas, meus amores, minhas irmãs que Deus me deu, Alexandra Régia, Bruna Colares e Luana de Oliveira. Obrigada por tudo, amigas, por me fazerem sorrir, por acreditarem em mim, por serem minhas torcedoras, pelos conselhos, pela amizade de tantos anos, pela paciência, por me aturarem de mau humor, por saberem dos meus piores defeitos e mesmo assim continuarem ao meu lado. Nunca vou cansar de dizer que amo vocês!!!

À Jaqueline Alves, pela sua amizade, seu apoio e por ter se disponibilizado a me ajudar nas análises físico-químicas.

À Universidade Federal do Ceará e a todos os professores responsáveis por essa conquista. Em especial o professor Bartolomeu Warlene, que permitiu que parte desse experimento fosse realizado no LATEPE.

À FUNCAP, pelo apoio financeiro.

A todos que diretamente ou indiretamente, contribuíram para que esse trabalho se realizasse.

RESUMO

Determinar um parâmetro que possa ser usado como indicador universal da qualidade do pescado é uma tarefa complexa que envolve uma variedade de fatores que incluem o frescor, a qualidade nutricional, integridade, segurança alimentar e características e atributos das espécies analisadas. O presente trabalho teve como objetivo geral acompanhar as alterações ao longo da estocagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob refrigeração através do monitoramento de multivariáveis sensoriais, bacterianas e químicas. Para o experimento, os peixes foram mantidos com o gelo (0°C) em caixas isotérmicas, sem haver reposição ou remoção, e dentro do refrigerador com temperatura controlada de 2°C. A partir do dia zero, e a cada 7 dias, era retirado um peixe para as análises sensoriais, microbiológicas e físico-químicas até o vigésimo oitavo dia (T₀ a T₂₈). O gelo usado também foi analisado microbiologicamente. Em cada peixe foram feitas análises de atributos estabelecidos no método de índice de qualidade (MIQ), contagens de grupos bacterianos cultiváveis heterotróficos mesófilos e psicrófilos, bases voláteis nitrogenadas totais (N-BVT) e potencial hidrogeniônico (pH) do músculo. Foram feitos isolamentos e purificação de bactérias crescidas nos meios de cultura para identificação taxonômica. Aplicou-se análise de correlação linear de Pearson nos dados referentes às contagens bacterianas e atributos considerados no MIQ. Na análise sensorial, a média das notas dos painelistas variou de 0,5 a 15,25. Individualmente o atributo “aspecto geral” alcançou maior pontuação no T₂₈, e o atributo olhos, que apresentou a maior pontuação em T₇ e T₁₄. A amostra do gelo comercial utilizado não apresentou contaminação por coliformes termotolerantes estando de acordo com o recomendado pela legislação vigente. Houve correlação positiva elevada entre as contagens bacterianas/atributos do MIQ e as contagens bacterianas/N-BVT. A variação das BVT foi de 0,84 a 20,08 N/100g, permanecendo dentro do aceitável para o consumo humano. Os valores do pH variaram de 6,32 a 6,94, desrespeitando o limite máximo recomendado pela legislação brasileira. Os principais gêneros bacterianos identificados nas amostras foram: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Citrobacter*. e *Enterobacter* com predominância de bactérias Gram positivas. Com a aplicação do MIQ na avaliação de qualidade dos peixes pôde-se verificar que alterações nos atributos relacionados à qualidade do pescado só foram perceptíveis aos painelistas a partir do sétimo dia de estocagem que coincidiu com o aumento no número de bactérias mesófilas e a detecção de bactérias psicrófilas no músculo do pescado. Para a espécie analisada, as N-BVT mostraram ser um

parâmetro de baixa eficiência na indicação da qualidade do pescado enquanto os valores de pH foram coerentes com os parâmetros sensoriais e microbiológicos.

Palavras-chave: Pescado. Refrigeração. Método do Índice de Qualidade. Mesófilas. Psicrófilas. Bases nitrogenadas.

ABSTRACT

Determination of parameters that can be used as universal quality indicators of a task involving once for all fish species, nutritional quality, safety, food supply and characteristics of the species analyzed. The report of general and periodic changes in the monitoring of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the selective monitoring of multivariate sensorial, bacterial and chemicals. For the experiment, the fish were kept with ice (0°C) in isothermal boxes, without being replenished or removed, and inside the refrigerator with a controlled temperature of 2°C. From day zero, and every 7 days, a fish was removed for the sensorial, microbiological and physico-chemical analyzes until the twenty-eighth day (T0 to T28). The used ice was also analyzed microbiologically. In each fish, the quality index (QIM), attributes of mesophilic and psychophilic heterotrophic bacterial groups, total nitrogenous volatile bases (N-BVT) and hydrogenation potential (pH) of the muscle were determined. Isolates and purification of bacteria grown in the culture media for taxonomic identification were made. Pearson's linear correlation analysis was applied to the data concerning the bacterial counts and attributes considered in the QIM. In sensory analysis, the average score of the panelists ranged from 0.5 to 15.25. Individually the "general appearance" attribute reached the highest score in T28, and the attribute eyes, which presented the highest score in T7 and T14. The commercial ice sample used did not present contamination by thermotolerant coliforms being in accordance with the recommended by the current legislation. There was a high positive correlation between bacterial counts / QIM attributes and bacterial / N-BVT counts. The variation of BVT was from 0.84 to 20.08 N / 100g, remaining within acceptable for human consumption. The pH values ranged from 6.32 to 6.94, disregarding the maximum limit recommended by Brazilian legislation. The main bacterial genera identified in the samples were: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, and *Enterobacter* with predominance of Gram positive bacteria. With the application of QIM in fish quality evaluation it was possible to verify that changes in attributes related to fish quality were only perceptible to the panelists from the seventh day of storage, which coincided with the increase in the number of mesophilic bacteria and the detection of psychophilic bacteria in fish muscle. For the specie analyzed, the N-BVT showed to be a low efficiency parameter in the indication of fish quality while the pH values were consistent with the sensorial and microbiological parameters.

Keywords: Fish. Refrigeration. Quality Score Method. Mesófilas. Psychophiles. Nitrogenous bases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma da análise microbiológica da superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo.....	30
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Somatório dos atributos de qualidade e médias do Somatório das características Sensoriais dos avaliadores	34
Gráfico 2 – Relação da pontuação alcançada nos atributos relacionados ao “aspecto geral” de tilápias do Nilo (determinados pelo MIQ) e o tempo de estocagem em gelo.....	37
Gráfico 3 – Relação da pontuação alcançada nos atributos relacionados as “brânquias” de tilápias do Nilo (determinados pelo MIQ) e o tempo de estocagem em gelo.....	38
Gráfico 4 – Relação da pontuação alcançada nos atributos relacionados aos “olhos” de tilápias do Nilo (determinados pelo MIQ) e o tempo de estocagem em gelo.....	39
Gráfico 5 – Contagens das colônias de bactérias mesófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo ao longo da estocagem em gelo.....	44
Gráfico 6 – Contagens das colônias de bactérias psicrófilas presentes na superfície, brânquias e músculo de tilápias do Nilo ao longo da estocagem em gelo.....	44
Gráfico 7 – Percentual de cepas isoladas da superfície, brânquias e músculo de tilápias do Nilo de acordo com a característica de parede das bactérias.....	47
Gráfico 8 – Abundância relativa de bactérias isoladas de superfície, brânquias e músculo de tilápias do Nilo mantidas em gelo.....	48
Gráfico 9 – Linha do crescimento exponencial das bases voláteis totais (N-BVT) do músculo da tilápia do Nilo ao longo do período de estocagem em gelo.....	52
Gráfico 10 – Comportamento do pH no músculo de tilápias do Nilo ao longo do período de estocagem em gelo.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Contagem total das bactérias aeróbias mesófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia ao longo do período de estocagem em gelo.....	41
Tabela 2 – Contagem total das bactérias aeróbias psicrófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia ao longo do período de estocagem em gelo.....	43
Tabela 3 – Correlação entre os parâmetros sensoriais e contagem de bactérias na superfície, brânquias e músculo da tilápia ao longo do período de estocagem em gelo.....	46
Tabela 4 – Correlação entre as N-BVT e as contagens bacterianas na superfície, brânquias e músculo da tilápia ao longo do período de estocagem em gelo.....	53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
2.1	Objetivo geral	18
2.2	Objetivos específicos	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	Aquicultura	19
3.2	Tilápia do Nilo	19
3.3	Deterioração do pescado	20
3.4	Bactérias mesófilas e psicrófilas	22
3.5	Bactérias psicrófilas	23
3.6	Gelo utilizado para conservação do pescado	23
3.7	Métodos utilizados na avaliação do frescor e qualidade de pescado	24
3.8	Método do Índice de Qualidade (MIQ)	25
4	METODOLOGIA	27
4.1	Local de coleta e obtenção das amostras	27
4.2	Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ)	27
4.3	Análise microbiológica do gelo	28
4.3.1	<i>Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes (CT)</i>	28
4.4	Análise microbiológica do pescado	29
4.4.1	<i>Superfície e brânquias do peixe</i>	29
4.4.2	<i>Músculo do peixe</i>	29
4.4.3	<i>Contagem Padrão em Placa (CPP)</i>	31
4.4.4	<i>Isolamento de colônias e técnica de coloração de Gram</i>	31
4.4.5	<i>Identificação das cepas bacterianas isoladas da superfície, brânquias e músculo</i>	31
4.5	Análises físico-químicas	32
4.5.1	<i>Determinação das bases voláteis totais (N-BVT)</i>	32
4.5.2	<i>Determinação do pH</i>	33
4.6	Análise de dados	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34

5.1	Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ).....	34
5.1.1	<i>Média dos avaliadores.....</i>	34
5.1.2	<i>Atributos de qualidade em relação ao tempo de estocagem em gelo.....</i>	36
5.2	Determinação do NMP e contagem das colônias de bactérias mesófilas presentes no gelo.....	39
5.3	Análise microbiológica do pescado	41
5.3.1	<i>Contagem das bactérias mesófilas isoladas da superfície, brânquias e músculo....</i>	41
5.3.2	<i>Contagem das bactérias psicrófilas isoladas da superfície, brânquias e músculo.....</i>	42
5.3.3	<i>Comparativo das contagens das bactérias mesófilas e psicrófilas, expresso em Log, presentes na superfície, brânquias e músculo ao longo do período de estocagem em gelo.....</i>	43
5.3.4	<i>Correlação (r^2) entre as contagens bacterianas da superfície, brânquias e músculo do pescado e os parâmetros do MIQ.....</i>	46
5.4	Características morfotintoriais das cepas isoladas	46
5.5	Identificação das cepas isoladas da superfície, brânquias e músculo da tilápia..	48
5.6	Análises Físico-químicas.....	51
5.6.1	<i>N-BVT.....</i>	51
5.6.2	<i>Correlação (r^2) entre as contagens bacterianas da superfície, brânquias e músculo do pescado e as N-BVT.....</i>	53
5.6.3	<i>pH.....</i>	53
6	CONCLUSÃO.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57
	APÊNDICE A – TABELA DO MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE.....	67

1 INTRODUÇÃO

A produção de pescado pode ser dividida entre a pesca extrativa e a aquicultura. A pesca extrativa é considerada uma atividade que consiste na retirada de recursos pesqueiros do seu hábitat natural, e a aquicultura é o cultivo de organismos aquáticos, tais como: peixes, moluscos, algas, crustáceos, répteis e quaisquer outras espécies que habitam o ambiente aquático e que possuem relevância no ponto de vista econômico produtivo. Dentre os principais ramos da aquicultura se encontra a piscicultura, carcinicultura, malacocultura, ranicultura, algicultura e outras produções com menor valor comercial (SCHULTER; VIEIRA FILHO, 2017).

Os pescados mais produzidos no país, por região, são: i) tilápia e camarão marinho no Nordeste; ii) tambaqui, pacu e pintado no Centro-Oeste; iii) tambaqui, pirarucu e pirapitinga no Norte; iv) tilápia, pacu e pintado no Sudeste; e v) carpa, tilápia, jundiá, ostra e mexilhão no Sul (EMPBRAPA, 2017). No ano de 2016, em relação a produção nacional, a região com maior destaque foi o Nordeste, com 26,8% (sendo o Ceará, o estado com maior notoriedade), em seguida veio a região Norte, com 25,7% (compreendendo Rondônia, apontado como o maior produtor nacional); a região Sul, com 24,2% e o Sudeste, com 10,7% (com ênfase na produção de Minas Gerais e São Paulo) (IBGE, 2016).

Em meados da década de 50, a tilápia (*Oreochromis* sp.) foi inserida no Brasil destinada a procedimentos de cunho experimental, mas apenas em 1971, foi implementado um programa oficial de produção de alevinos para povoamento nos reservatórios públicos do Nordeste, pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) (TAVARES; PALHARES, 2011).

Por possuir índices zootécnicos significativos para a sustentabilidade do seu cultivo, a tilápia do Nilo apresenta o melhor perfil para a piscicultura. É uma espécie oriunda de clima tropical, e devido sua faixa de temperatura ser em torno de 26°C e 28°C, foi possível expandir sua cultura para todas as regiões do Brasil. A tilápia é um pescado onívoro, ou seja, consome diversos tipos de alimentos, possui boa rusticidade, é dócil durante a maior parte do cultivo, tem fácil domínio de reprodução e bom rendimento peso-carcaça (SEBRAE, 2014).

A carne de peixe é abundante em minerais essenciais para alimentação humana como, zinco, iodo, cálcio e selênio, além de possuir outros benefícios nutricionais como vitaminas (A, B e D), proteínas de alta qualidade, ácidos graxos poli-insaturados (ácido ômega 3) e aminoácidos primordiais. Apesar de ter um alto valor nutricional, o tecido

muscular do pescado é desprotegido e de fácil deterioração, sendo uma das carnes mais perecíveis e susceptíveis ao manuseio e processamento (CHENG *et al.*, 2015).

Logo após a retirada do peixe do meio aquático, o mesmo inicia seu processo de degradação. Assim como os outros tipos de carne, o pescado sofre alterações oxidativas, enzimáticas e microbiana. A diferença é que o músculo do pescado é mais vulnerável ao processo autolítico do que o músculo dos mamíferos, tornando a reação mais rápida e menos ácida, e proporcionando a proliferação de bactérias (RALL *et al.*, 2008). Manter os alimentos em temperaturas baixas pode desfavorecer o desenvolvimento de microrganismos, porém pode ocasionar em um médio crescimento para bactérias psicrotóficas e psicrófilas, visto que esses grupos bacterianos se desenvolvem bem em temperaturas de refrigeração, alterando a qualidade do pescado (MOL *et al.*, 2007). Sendo assim, as bactérias diminuem a vida útil dos alimentos e são fatores de risco ao consumidor (GHALY *et al.*, 2010).

O frescor é uma característica que altera constantemente, indicando que o pescado apresenta propriedades semelhantes às que possuía quando vivo ou que se passou um curto período pós-captura (GONÇALVES, 2004). Os principais métodos de avaliação do frescor e qualidade do pescado são os sensoriais, físico-químicos e microbiológicos. A análise sensorial é a mais utilizada devido seu baixo custo, praticidade e eficiência, sendo habitualmente empregada no setor de recursos pesqueiros e pelos serviços de inspeção higiênico-sanitário (SOARES; GONÇALVES, 2012).

Baseado em parâmetros sensoriais, o Método do Índice de Qualidade (MIQ) utiliza avaliação visual e olfativa das características do pescado, principalmente da pele e brânquias, aparência dos olhos, odor e textura, através de um conjunto de classificações por pontos de deméritos, que oscilam de 0 a 3 (SVEINSDÓTTIR *et al.*, 2003). A pontuação de todas as características é somada para ser gerada uma pontuação global sensorial, chamada de Índice de Qualidade (IQ), e, quanto menor for a soma da pontuação, mais fresco o pescado estará (NUNES; BATISTA, 2007). Esta avaliação não é baseada em um único atributo, mas sim em todos, além de que não é dada maior relevância a nenhum aspecto específico (MARTINSDÓTTIR *et al.*, 2004)

Esta pesquisa teve como objetivo principal acompanhar a vida útil de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob refrigeração através do monitoramento de multivariáveis sensoriais, bacterianas e químicas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

- Acompanhar a vida útil de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob refrigeração através do Método do Índice de Qualidade (MIQ), de análises microbiológicas da superfície, brânquias e músculo dos peixes e análises físico-químicas do músculo.

2.2 Objetivos específicos:

- Estabelecer a qualidade microbiológica do gelo comercializado através da detecção de bactérias Coliformes Termotolerantes (CT) e contagem de bactérias heterotróficas totais;
- Analisar sensorialmente a qualidade das tilápias sob refrigeração, ao longo de um período, utilizando atributos do pescado *in natura* estabelecidos pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ);
- Quantificar as Bactérias Heterotróficas Cultiváveis (BHC) mesófilas e psicrófilas isoladas da superfície, brânquias e músculo de tilápias do Nilo mantidas sob refrigeração;
- Determinar a quantidade de bases voláteis nitrogenadas totais (N-BVT) no músculo de tilápias do Nilo conservadas em gelo;
- Mensurar o potencial hidrogeniônico (pH) do músculo do peixe ao longo da estocagem.
- Correlacionar a pontuação dos parâmetros sensoriais do MIQ com a contagem das colônias bacterianas;
- Identificar as cepas bacterianas isoladas da superfície, brânquias e músculo do pescado;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aquicultura

Mundialmente, a aquicultura é vista como um setor de desenvolvimento contínuo, sendo apontada como um dos principais contribuintes, nos últimos 40 anos, para a produção global de pescado, colaborando com cerca de 44,1 % no ano de 2014 (FAO, 2016). O aumento da produção aquícola é necessário, devido ao fato da pesca extrativa se encontrar estagnada (DAUDA; FOLORUNSO; DASAKI, 2013) e o aumento populacional resultar na demanda de pescado (FAO, 2016).

Segundo a FAO (2018), o consumo total de pescado até 2030, aumentará em todas as regiões e sub-regiões do mundo, com crescimento significativo na África (37%), América Latina (33%), Oceania (28%) e Ásia (20%). O consumo mundial *per capita* poderá alcançar 21,5 kg em 2030, quando comparado com 2016, que atingiu 20,3 kg, e as maiores taxas de crescimento são previstas para a América Latina (18%), Ásia (8%) e Oceania (8%).

A piscicultura é uma das áreas mais desenvolvidas da aquicultura no Brasil, e refere-se à produção de espécies de peixes com elevada aceitabilidade no mercado consumidor, em diversos ambientes e com vários tipos de cultivo (BRASIL, 2013). É uma atividade econômica em ascensão no setor agropecuário, devido ao rápido desenvolvimento (SOUSA *et al.*, 2015). Dentro desse quadro, é enfatizada a produção de tilápia do Nilo, sendo responsável por 35% da produção aquícola nacional, assegurando a posição de peixe de água doce mais produzido no país (SEBRAE, 2015). Em contrapartida, a tilápia ocupa a 4ª posição entre as principais espécies de peixes cultivadas no mundo, com 4,5 milhões de toneladas (FAO, 2018).

3.2 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Pertencente ao grupo dos teleósteos, a tilápia do Nilo é de Ordem Perciforme, família Cichlidae e subfamília Pseudocrenilabrinae. É nativa da bacia do rio Nilo, no leste da África, encontrando-se distribuída em regiões tropicais e subtropicais, como em Israel, no sudoeste asiático e no continente americano (SILVA *et al.*, 2015). Este peixe suporta baixos teores de oxigênio, apresenta grande resistência a enfermidades, aceita altas taxas e densidade de estocagem nos viveiros e possui boa adaptação em diversos tipos de sistemas de produção, sendo o semi-intensivo o mais empregado no Brasil (MORO *et al.*, 2013; FARIA *et al.*, 2013).

A tilápia do Nilo é caracterizada pelo seu elevado desempenho e capacidade de adaptação, carne branca e de alta digestibilidade, refletindo na preferência por parte do consumidor (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008), alta resistência a enfermidades e estresse, rusticidade e baixos custos de produção, podendo ser cultivada em ambientes de altas taxas de salinidade e baixas temperaturas (VICENTE; FONSECA-ALVES, 2013). Sua produção no país se concentra na região Nordeste, especificamente nos reservatórios do Rio São Francisco e nos grandes açudes cearenses, no Noroeste paulista e no Oeste do Paraná, onde os tanques escavados prevalecem (SUSSEL, 2011).

A tilápia pode ser comercializada de diferentes formas, dentre as mais comuns: inteira, congelada ou fresca e em filés congelados ou frescos, este último é apontado como preferência no mercado nacional e internacional (BOSCOLO; FEIDEN, 2007; SUSSEL, 2013). Uma das formas de utilização do frio para conservar o pescado é a refrigeração, nesse método é possível diminuir a temperatura do alimento para valores até -1°C e 8°C , causando alterações no calor sensível do produto. Dessa forma, é possível diminuir a intensidade das alterações microbiológicas e bioquímicas nos alimentos, estendendo sua vida de prateleira por dias ou semanas. Outro modo de conservação dos alimentos através de temperaturas baixas é o congelamento (FELLOWS, 2006). Quanto mais baixas as temperaturas utilizadas nesse método de conservação do pescado, mais lento será o desenvolvimento microbiano, a atividade enzimática e as reações químicas (FREITAS; FIGUEIREDO, 2000).

3.3 Deterioração do pescado

De acordo com a Portaria n. 185, de 13 de maio de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997), o pescado fresco e inteiro ou eviscerados, adequados para a alimentação humana, devem apresentar as seguintes características organolépticas:

- Pele: úmida, rígida e bem aderida;
- Muco: o pescado que apresentar muco, este deverá ser aquoso e transparente;
- Escamas: unidas entre si, fortemente aderidas à pele, translúcidas e com brilho metálico. Não devem ser viscosas;
- Olhos: dentro da cavidade orbitária, convexos e brilhantes;
- Opérculo: rígido, resistente à sua abertura. A parte interna deve ser rosada e os vasos sanguíneos cheios e fixados;

- Abdômen: peritônio bem aderido às paredes, as vísceras internas diferenciadas, brilhantes e sem danos aparentes;
- Músculo: fortemente fixos aos ossos e de elasticidade marcante;
- Cor, odor e sabor: depende das características da espécie em questão.

O pescado é um alimento bastante perecível devido a alguns fatores como: sua composição química, o teor de gorduras, que estimula as reações de oxidação, e a elevada quantidade de água, que favorecerá o desenvolvimento de microrganismos. Portanto, é necessário cuidados adequados no manuseio, desde sua captura até o consumo ou industrialização (SOUZA *et al.*, 2015). O frescor do peixe pode ser indicado por parâmetros bioquímicos, bacteriológicos e sensoriais que demonstrarão as condições do pescado recém-capturado durante um determinado período (BORGES *et al.*, 2013).

A velocidade da deterioração do pescado pode ser interferida por fatores intrínsecos e extrínsecos. Dentre os fatores intrínsecos associados a decomposição do peixe, podem ser citados: o pH próximo da neutralidade, o elevado teor de água no músculo e a pouca quantidade de tecido conjuntivo, ocasionando na vulnerabilidade da musculatura aos ataques das enzimas endógenas e da atividade bacteriana. Entre os fatores extrínsecos relacionados a deterioração, podem ser apontados a forma de captura do animal, o acondicionamento e o transporte. Diante desses fatores, a análise do frescor do pescado é considerada fundamental durante a fase de armazenamento, devido sua alta perecibilidade (AMARAL; FREITAS, 2013).

A produção de compostos nitrogenados (trimetilamina, amônia e os ácidos voláteis) é resultado da ação de enzimas e de microrganismos presentes no pescado. O teor desses compostos é medido para determinar as bases voláteis totais (N-BVT), que é proporcional à deterioração do produto (ANDRADE *et al.*, 2012). O principal responsável pela alteração nos valores de N-BVT durante o período de acondicionamento do pescado no gelo é a trimetilamina (TMA). Essas bases são constituídas de uma mistura, onde prevalece a amônia, a dimetilamina e a trimetilamina, todas contendo o nitrogênio, por isso o resultado é expresso em mg de nitrogênio por 100 g de amostra (SCHERER *et al.*, 2005; ALMEIDA, 2006; DAMASCENO, 2009).

A quantidade e os tipos de microrganismos presentes em peixes recém-capturados variam conforme o local de captura, a sazonalidade, a temperatura da água e o método de captura (GONZAGA JUNIOR, 2010).

O crescimento acelerado da população de microrganismos durante a fase de degradação ocorre em consequência da proliferação acentuada de *Aeromonas* e *Pseudomonas*,

uma vez que esses gêneros se habituam rapidamente às condições de refrigeração e se utilizam de forma eficiente em extratos de carnes de pescado (HUSS, 1995; GONZAGA JUNIOR, 2010; MARINHO, 2011).

Para desacelerar as reações bioquímicas e o crescimento bacteriano é necessário manter o pescado em temperaturas baixas, e o gelo é utilizado como principal método de preservação ou de conservação temporária até que outra forma seja usada para manutenção do peixe, visto que alimentos perecíveis devem ser armazenados por tempo limitado no gelo (ECHEVENGUÁ *et al.*, 2008; CARVALHO, 2010).

3.4 Bactérias mesófilas e psicotróficas

O grupo dos microrganismos mesófilos é constituído por bactérias da família Enterobacteriaceae e de alguns gêneros como *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, entre outras. Em destaque estão as enterobactérias (*Salmonella*, *Shigella* e *E.coli*), causadoras de infecções intestinais, urinárias, septicemias e morte celular das hemácias devido a capacidade de produzir ácido láctico (FERRARI *et al.*, 2017).

As bactérias mesófilas representam a maior parte da microbiota relevante nos alimentos e sua contagem é comumente associada para indicar a qualidade sanitária em alimentos não fermentados (SILVA *et al.*, 2007).

Microrganismos aeróbios mesófilos crescem em temperaturas medianas, entre 45°C e 50°C, com temperatura ideal para desenvolvimento em torno de 30°C e 37°C (MOSSSEL; MORENO, 1982). A Contagem Padrão em Placa (CPP) dessas bactérias além de indicar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos, também fornece informações quanto ao seu tempo útil de conservação. Em alimentos não perecíveis, quando a contagem é elevada, indica que a matéria-prima foi contaminada ou seu processamento foi realizado de forma incorreta. Em casos de alimentos perecíveis, é indicativo de descontrole do binômio Tempo x Temperatura durante a fase de estocagem (ORDOÑEZ *et al.*, 2005).

As bactérias psicotróficas, de um modo geral, são aquelas que apresentam um bom crescimento em temperaturas de refrigeração (0°C), mesmo que sua temperatura ótima seja mais elevada, situada na faixa das mesófilas (ZACHAROV; HALPERN, 2007), portanto as psicotróficas são consideradas um subgrupo das bactérias mesófilas, sendo essas conhecidas por constituir microrganismos deteriorantes e alguns patogênicos, tais como, *Clostridium botulinum*, tipo E, B e F, *Bacillus cereus* e *Listeria* spp. (COUSIN, 2001).

3.5 Bactérias psicrófilas

A presença dos microrganismos psicrófilos no alimento é um dos fatores que contribuem para a ocorrência de um conjunto de alterações que levam a rejeição do pescado (NUNES; BATISTA, 2007). As psicrófilas são bactérias capazes de viver e se desenvolver em temperaturas baixas, com crescimento na faixa de -5°C a 20°C . *Micrococcus*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium* são alguns dos principais gêneros que constituem esse grupo (VASUT; ROBECI, 2009). Em pescado refrigerado, as bactérias psicrófilas agem diretamente na fase de decomposição do pescado, visto que crescem em baixas temperaturas (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

O desenvolvimento de métodos para identificação do progresso das psicrófilas durante o armazenamento do alimento é imprescindível, pois além dos patógenos, os microrganismos deteriorantes são de grande importância na indústria de alimentos (PERÉZ *et al.*, 2007).

3.6 Gelo utilizado para conservação do pescado

O uso do frio para conservação do pescado funciona de modo inibitório. Geralmente, as reações enzimáticas, químicas e o crescimento bacteriano são apenas impossibilitados com a diminuição de temperatura, ou seja, não melhora na qualidade do alimento. Portanto, somente tecidos sadios e de qualidade devem ser refrigerados, visto que manter a temperatura baixa não destrói os patógenos, apenas inibe a atividade. O emprego do frio pode ocorrer pelo resfriamento ou congelamento do produto *in natura* ou processado (ORDOÑEZ *et al.*, 2005).

A refrigeração é uma prática eficaz utilizada para conservar o pescado. Por meio do abaixamento de temperaturas é possível evitar ou retardar as reações químicas e enzimáticas que ocorrem no processo de autólise, assim como de microrganismos deteriorantes do alimento (ROSA, 2001).

Conforme o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL, 2017), o pescado, em natureza, pode ser: fresco, refrigerado ou congelado.

Compreende-se por “fresco”, o pescado que não foi submetido a nenhum processo de conservação, exceto pela ação do gelo ou através de métodos de conservação de efeito

similar, acondicionados em temperaturas próximas à do gelo fundente, com exceção do pescado comercializado vivo. Entende-se por “resfriado” o pescado embalado e mantido em temperatura de refrigeração. Por fim, entende-se por pescado “congelado” aquele submetido a processos de congelamento rápido, de forma que o produto exceda rapidamente os limites de temperatura de cristalização máxima. É primordial manter o pescado armazenado de forma adequada desde sua captura, processamento, até sua industrialização (ALVES; TEÓFILO, 2016).

O gelo empregado para conservação do pescado pode ser um dos principais veículos de contaminação microbiana. No Brasil, já foi observado a baixa qualidade do gelo usado para a refrigeração de alimentos, devido a presença de microrganismos em grandes quantidades (PIMENTEL, 2001). Diante da possibilidade de propagação de doenças causadas pelo consumo de gelo contaminado, a diretoria do Centro de Vigilância Sanitária da Secretária da Saúde, recomenda que todo gelo destinado ao consumo humano ou que seja utilizado para conservar alimentos deverá ser fabricado a partir de água que atenda ao padrão de potabilidade estabelecido, sendo cloro residual livre entre 0,5 e 2,0 ppm, pH de 6,0 a 9,5, turbidez inferior a 2,0 NTU, contagem de mesófilos de no máximo $5,0 \times 10^2$ UFC/mL e ausência de coliformes em 100 mL de água analisada (BRASIL, 2004).

3.7 Métodos utilizados na avaliação do frescor e qualidade de pescado

A aplicação de apenas um método para avaliação da qualidade do pescado não resulta em uma conclusão completamente fidedigna, visto que o desenvolvimento da deterioração do pescado sofre influência de muitas variáveis. Desta forma, a combinação de vários métodos é mais segura, podendo unir um método sensorial e um objetivo, tais como físicos-químicos (nitrogênio das bases voláteis totais, nitrogênio de trimetilamina, hipoxantina, aminas, histaminas, pH, valor de k, aminoácidos livres) e microbiológicos (GONÇALVES, 2011).

A trimetilamina é um composto orgânico, amina terciária, higroscópica e inflamável. Possui um forte odor de peixe em concentrações baixas, e odor similar a amoníaco em concentrações altas (LUNDBLAD; MACDONALD, 2018; NELSON; COX, 2018). As bases voláteis totais (N-BVT) são bastante utilizadas para estabelecer o grau de frescor do pescado e compreendem: a avaliação de trimetilamina (produzida por microrganismos deteriorantes), dimetilamina (produzida por enzimas autolíticas durante a estocagem em gelo), NH₃ (gerada pela degradação/desaminação bacteriana de proteínas,

peptídeos e aminoácidos, e na degradação autolítica de adenosina monofosfato) (HUSS, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 2014). Esses compostos são bastante usados como indicadores de vida útil, principalmente para mensurar estágios de degradação do pescado (OCAÑO-HIGUERA *et al.*, 2015).

O pescado é considerado um alimento de baixa acidez, com índices de pH próximos a neutralidade. Na avaliação do frescor do pescado, a verificação do pH do músculo é fundamental, pois os valores modificam com o início da degradação, seja de característica oxidativa, hidrolítica ou fermentativa, quanto maior o pH, maior a atividade dos microrganismos (GONÇALVES, 2011; SOARES; GONÇALVES, 2012). Porém, o pH não é um índice seguro para ser utilizado isoladamente de outras análises que avaliam a deterioração do peixe, por isso seu uso pode ser restrito por variar de amostra para amostra (OGAWA; MAIA, 1999).

A contagem de microrganismos viáveis totais (CVT) é apontada como índice de controle da deterioração de alimentos (MORSY *et al.*, 2016). CVT superior a 10^7 UFC/g em peixe resfriado é considerado um nível inaceitável (ICMSF, 1986). Contudo, não é toda carga microbiana que enumerada utilizando CVT é causadora de deterioração, tendo em vista que alguns peixes com níveis de CVT superior a 10^7 UFC/g ainda apresentam condições aceitáveis por análise sensorial (FUENTES-AMAYA *et al.*, 2016).

3.8 Método do Índice de Qualidade (MIQ)

Nos últimos anos, ocorreu um vasto progresso em relação a análise sensorial do pescado e, como consequência, na garantia de qualidade e sua comercialização, com grande destaque no âmbito internacional. O esquema conhecido como Método do Índice de Qualidade (MIQ) é julgado como um método de avaliar o pescado de forma rápida e objetiva (AMARAL; FREITAS, 2013).

O Método do Índice de Qualidade (MIQ) tem sido muito empregado como um conjunto funcional de qualificação do pescado, onde o produto passa por uma inspeção e os deméritos são registrados em um sistema de pontos. Neste sistema são avaliadas várias características sensoriais do pescado *in natura*, como: rigidez, aparência, olhos, aderência de escamas, odor, cor, brânquias e muco, e como ocorrem as mudanças destas características ao decorrer do tempo de estocagem. Em cada atributo sensorial é registrada uma pontuação, onde essas são somadas resultando em uma sensorial total, conhecido como Índice de Qualidade (ID). Quanto menor for essa pontuação, melhor será a qualidade do pescado. No Brasil, várias

instituições desenvolveram protocolos para as espécies mais consumidas no país, como é o exemplo do camarão marinho - *Litopenaeus vannamei* (OLIVEIRA, 2005), piramutaba - *Branchy platystoma vaillant* (MARINHO, 2011), beijupirá - *Rachycentron canadum* (FOGAÇA *et al.*, 2011), tambatinga - *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus* (BORGES *et al.*, 2014), pescada amarela - *Cynoscionacoupa* (SANTOS, 2011), beijupirá cultivado - *Rachycentron canadum* (FOGAÇA *et al.*, 2012), pacu - *Piaractus mesopotamicus* (BORGES *et al.*, 2013), corvina – *Micropogonias furnieri* (TEIXEIRA, 2009) e tilápia do Nilo - *Oreochromis niloticus* (RODRIGUES *et al.*, 2008). O MIQ também é relacionado ao tempo de estocagem do pescado no gelo, sendo possível predizer a duração da vida de prateleira (HUSS, 1998; SVEINSDÓTTIR *et al.*, 2003).

Com vantagem em relação a outros métodos de análise sensorial mais comuns, o MIQ proporciona informações específicas sobre as características sensoriais do pescado e considera diferenças existentes em cada espécie (MARTINSDÓTTIR *et al.*, 2004).

O método se tornou bastante relevante na Comunidade Europeia como uma possibilidade de ação superando as dificuldades encontradas nas tabelas sensoriais (“Esquema EU”, CEE - Regulamento n. ° 103/76) de avaliação do pescado fresco, nas quais utilizam 3 níveis de qualificação: E - extra, com alta qualidade; A - boa qualidade; B – satisfatória, desconsiderando as diferenças biológicas de cada espécie de pescado (NUNES; BATISTA, 2007; NUNES *et al.*, 2007).

4 METODOLOGIA

4.1 Local de coleta e obtenção das amostras

As amostras de peixes foram obtidas em uma empresa de revenda situada no município de Fortaleza (CE). Foram adquiridas um total de cinco (5) tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), pesando em torno de 600 a 700 g, comercializadas vivas. Após a obtenção, os espécimes frescos, inteiros e não-eviscerados foram colocados no interior de caixas de poliestireno (isopor) contendo gelo numa proporção de 2:1 (gelo/pescado). Em seguida as amostras foram transportadas ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado do Instituto de Ciências do Mar - Labomar, da Universidade Federal do Ceará – UFC.

Os peixes foram mantidos conservados em gelo (0°C) na caixa vedada, sem haver reposição e/ou remoção do gelo, as mesmas foram armazenadas em refrigerador, com temperatura controlada de 2°C. A cada 7 dias, uma amostra (peixe) era retirada do refrigerador para serem feitas as análises sensoriais, microbiológicas e físico-químicas. As análises iniciaram no mesmo dia da aquisição dos espécimes, correspondendo ao tempo zero (T₀) do experimento, e encerraram quando o pescado passou a apresentar características de decomposição de acordo com análise dos painelistas.

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

A análise sensorial do pescado foi realizada pelo Método do Índice de Qualidade, segundo pesquisa desenvolvida por “Tasmanian Food Research Unit”, da Austrália (GONÇALVES, 2011). Os peixes foram observados e analisados em condições laboratoriais por quatro painelistas com experiência. A cada 7 dias, uma nova amostra era retirada do refrigerador e posicionada em uma bandeja de fundo branco, posteriormente o pescado era avaliado individualmente por cada painalista com o auxílio de uma tabela (APÊNDICE 1) que continha parâmetros de qualidade, como: aparência (cor, brânquias, olhos, escamas, muco, pele e rigidez) e odor do peixe. Cada atributo era julgado e pontuado, os pontos apresentavam uma variação de 0 a 2, onde o limite mínimo da pontuação era de zero pontos e o máximo de dezoito pontos.

4.3 Análise microbiológica do gelo

4.3.1 Contagem Padrão em Placa de Bactérias Heterotróficas Cultiváveis (BHC)

A amostra de gelo utilizada para conservar o pescado foi coletada em uma fábrica de gelo localizada no município de Fortaleza-CE. O gelo foi mantido no próprio saco plástico oferecido pelo local de venda, sendo transferido para a caixa de isopor somente após a coleta das amostras de tilápia. Para quantificação das BHC foi utilizada a técnica *pour plate*, onde 1 mL da água proveniente do degelo foi adicionada em um tubo com 9mL de salina 0,85 NaCl (10^{-1}), a partir desta diluição foram feitas as diluições decimais até a 10^{-5} .

Em seguida, alíquotas das diluições das amostras foram plaqueadas em meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA) pela, em duplicata, e as placas incubadas por 48 horas a 35°C. Posteriormente foi procedida a Contagem Padrão em Placa (CPP) das bactérias mesófilas, preferencialmente das placas que apresentaram valores entre 25 e 250 Unidades Formadoras de Colônia (UFC). A média do número das UFC contadas nas duplicatas foi multiplicada pelo inverso do fator de diluição e os resultados foram expressos em UFC/mL da água (DOWNES; ITO, 2001).

4.3.2 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes (CT)

Para a contagem de Coliformes Termotolerantes (CT) foi realizada a técnica dos tubos múltiplos, em série de 5 tubos (FENG *et al.*, 2002). No teste presuntivo, a partir da amostra de gelo foram feitas as diluições seriadas com salina 0,85% (10^{-1} a 10^{-5}), em seguida foi inoculado 1 mL de cada diluição em 5 tubos contendo o meio de cultura Caldo Lauryl Triptose (LST), com tubo de Durham invertido, e incubados em uma estufa de 37°C a 48 horas. Para a prova confirmatória, foram retirados os inóculos dos tubos de LST com resultado positivo no teste presuntivo, em seguida foram semeados em caldo *Escherichia coli* (E.C.) com incubação de 44 - 45°C durante 48 horas. A positividade do teste foi observada pela produção de gás no interior dos tubos de Durham. O resultado do NMP foi obtido de acordo com a tabela de Garthright (2001), sendo considerados os tubos positivos na prova confirmatória.

4.4 Análise microbiológica do pescado

Após a análise sensorial, foi realizada a quantificação dos microrganismos mesófilos e psicrófilos das brânquias, do limo superficial e do músculo dos peixes. Todas as análises microbiológicas foram feitas em duplicata.

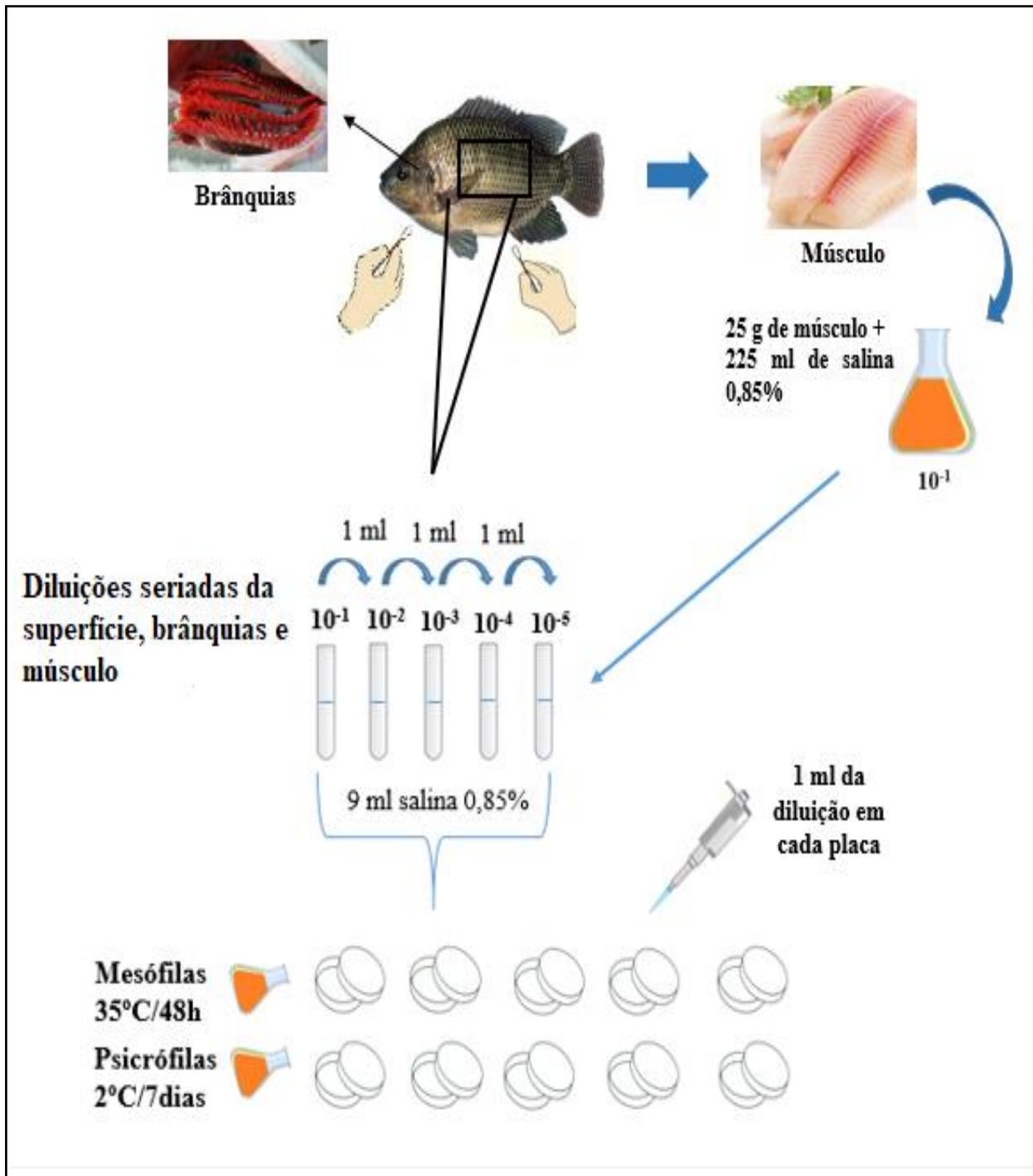
4.4.1 Superfície e brânquias do peixe

Para a superfície, foi colhido o muco de uma área de 100 cm² (10 x 10 cm) da pele da tilápia, com o auxílio de um *swab* imerso em solução salina 0,85% NaCl correspondendo a 10⁻¹, a partir desta foram feitas as demais diluições seriadas até 10⁻⁵. Após essas etapas, foram semeados em placas com meio Triptona Soja Agar (TSA) inóculos de 1 mL de cada diluição pela técnica de *pour plate*, em seguida essas placas foram incubadas a 35°C por 48 horas (microrganismos mesófilos), e a 2°C por 7 dias (microrganismos psicrófilos). Para as brânquias, foram realizados os mesmos procedimentos descritos na superfície, com a distinção que não foi delimitada área no uso do *swab*, o mesmo foi passado em toda brânquia do peixe.

4.4.2 Músculo do peixe

Foram pesadas assepticamente 25 g de músculo de cada amostra e acondicionadas em 225 mL de solução salina 0,85% de NaCl (10⁻¹). Após a homogeneização foram feitas as diluições seriadas até 10⁻⁵ usando solução salina 0,85% NaCl (FIGURA 1).

Figura 1 - Fluxograma da análise microbiológica da superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo



4.4.3 Contagem Padrão em Placa (CPP)

Após o tempo de incubação das placas foi realizada a Contagem Padrão em Placa (CPP) com o auxílio de um contador de colônias das placas que apresentaram entre 25 e 250 UFC. O resultado da CPP foi calculado pela expressão: número de colônias x inverso do fator de diluição da placa. O resultado foi expresso em UFC/g para músculo, brânquias e UFC/cm² para a superfície do pescado. Os resultados foram transformados em log de UFC para o resultado final (DOWNES; ITO, 2001).

4.4.4 Isolamento de colônias e técnica de coloração de Gram

Para o isolamento bacteriano, foram consideradas as seguintes características coloniais: tamanho, formato, coloração das colônias e suas características morfológicas. As colônias foram isoladas, perfazendo um total de 130 cepas, em tubos de ensaio contendo 5 mL do meio de cultura Triptona Soja Agar (TSA) e posteriormente incubadas a 35°C por 24h. A técnica de coloração de Gram foi utilizada para observação das características estruturais e morfológicas da parede celular da bactéria. Esta prática possibilita a divisão e visualização das bactérias em dois grandes grupos: as Gram positivas ou Gram negativas, de acordo com sua reação ao corante (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

4.4.5 Identificação das cepas bacterianas isoladas da superfície, brânquias e músculo

Conforme o manual de Bergey (STALEY *et al.*, 2005), as colônias bacterianas isoladas foram identificadas seguindo provas bioquímicas. As provas realizadas foram: oxidase, catalase, manitol, sensibilidade a O129, fermentação da glicose, lactose e sacarose, citrato, indol, teste do vermelho de metila (VM) e Voges Proskauer (VP), produção de H₂S, motilidade, produção de pigmentos, King F e King P.

4.5 Análises físico-químicas

4.5.1 Determinação das bases voláteis totais (N-BVT)

A análise físico-química, determinação das bases voláteis, foi realizada segundo os métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes - Métodos Físico-Químicos - Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA) (BRASIL, 1981).

A avaliação consistiu na homogeneização de 15 g do músculo do pescado com 135 mL da solução de tricloroacético (TCA) 7,5% v/v. Em seguida, foi feita a filtração do extrato com um funil acoplado a um erlenmeyer, com papel filtro Whatman nº 4. Os extratos do músculo foram armazenados em recipientes devidamente limpos e secos, em seguida foram encaminhados para o freezer, com objetivo de conservação através do congelamento, para serem utilizados posteriormente.

As bases voláteis totais foram medidas através da destilação a vapor do extrato do pescado com TCA, utilizando o método modificado de Malle e TAO (MALLE e POUMEYROL, 1989). Utilizou-se 25 mL de extrato com 5 mL de NaOH 10% para a destilação a vapor, o destilado foi recebido em um erlenmeyer contendo 15 mL de ácido bórico 4% com 40 µL de indicador misto (verde bromocresol + vermelho de metila), a destilação ocorreu até completar um volume final de 50 mL. A titulação foi realizada com solução aquosa de ácido sulfúrico 0,05 M utilizando uma pipeta automática até a viragem da cor. A quantidade de N-BVT é dada pela equação a seguir e os resultados foram expressos em miligramas de nitrogênio por 100 g de amostra.

$$\text{N-BVT} = \frac{14 \times a \times b \times 300}{25} \quad (1)$$

Sendo:

a = mL de H₂SO₄

b = normalidade do H₂SO₄

4.5.2 *Determinação do pH*

Para mensurar o pH, foi utilizado o Manual do Laboratório Nacional de Referência Animal - Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA) (BRASIL, 1981). Em um Becker foi pesado 50 g de músculo do pescado e homogeneizados com 10 mL de água destilada. Feito isto, procedeu-se a leitura com o auxílio de um pHmetro de bancada.

4.6 Análise de dados

Para a relação dos valores obtidos nas contagens das colônias de bactérias mesófilas e psicrófilas isoladas da superfície, brânquias e músculo do pescado com os parâmetros (pele, escama, muco, brânquias e rigidez) do MIQ, aplicou-se a correlação linear, determinada pelo coeficiente de Pearson e simbolizada por r^2 . O coeficiente é uma medida descritiva da proporção da variação de Y que pode ser explicada por variações em X. As análises de dados foram realizadas utilizando a Microsoft Office Excel.

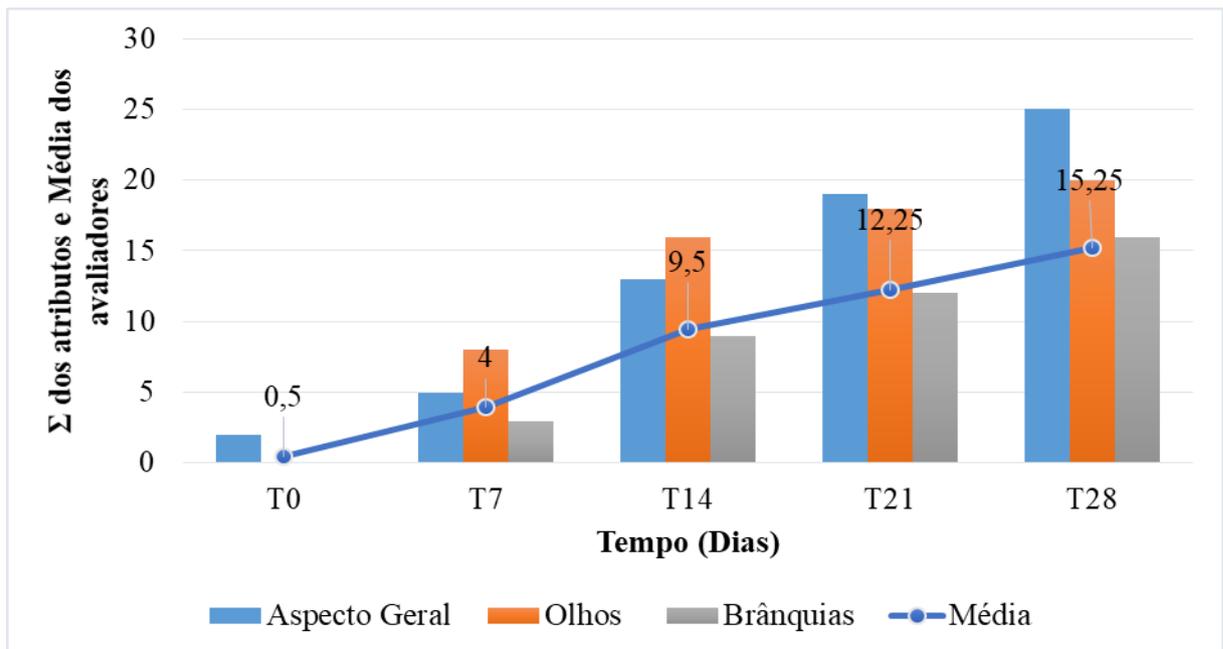
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

5.1.1 Média dos avaliadores

Para verificar a evolução e a importância no Somatório das Características Sensoriais (S.C.S) que compõem o MIQ, foram realizadas análises individuais específicas dos atributos (aspecto geral, olhos e brânquias) ao decorrer dos dias de análise (T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈). No Gráfico 1, pode-se observar que a medida que o tempo transcorria, o pescado perdia cada vez mais suas características de frescor, visto que o somatório dos atributos de qualidade e a média dos avaliadores aumentavam a cada análise.

Gráfico 1- Somatório dos atributos de qualidade e médias do Somatório das Características Sensoriais dos avaliadores



Em relação aos atributos de qualidade, os olhos e as brânquias do pescado não pontuaram no T₀, somente a partir do T₇ esses atributos obtiveram alterações sensoriais observadas pelos avaliadores. Entre o 7º e o 14º dia de análise, o S.C.S do aspecto geral e dos olhos duplicaram, já das brânquias triplicaram, alcançando valores significativos. O somatório

de todos os atributos de qualidade continuou a aumentar até o último dia de análise, podendo ser ressaltado o atributo aspecto geral, que entre os demais, alcançou a maior pontuação no T₂₈, e o atributo olhos, que apresentou a maior pontuação nos tempos T₇ e T₁₄. É importante citar que os atributos de qualidade abrangem parâmetros, como por exemplo: o aspecto geral do pescado, envolve pele, escama, rigidez e muco; os olhos (transparência da córnea, pupila e forma) e as brânquias (odor e cor). Isso também pode explicar o fato do aspecto geral ter apresentado uma alta pontuação no último dia de análise, visto que é o atributo que mais inclui parâmetros, seguido por olhos e brânquias.

No primeiro dia de análise (T₀) do peixe, a média dos painelistas foi menor que 1, indicando que o alimento estava com boa qualidade e ideal para consumo. No 14º dia, a média das notas dos avaliadores obteve um aumento considerável em comparação ao 7º dia de análise, que pode ser justificado pelo fato dos valores dos atributos terem duplicado (aspecto geral/olhos) e triplicado (brânquias) nos somatórios das características sensoriais. No último dia de avaliação (T₂₈), a média obtida foi de 15,25, sendo que o limite máximo de pontuação na tabela é 18 pontos.

No início da análise sensorial, os avaliadores verificaram uma tilápia com pele brilhosa, de coloração acinzentada com listras mais escuras, escamas bem aderidas, músculo rígido, olhos límpidos e convexos, com pupila bem delineada, brânquias com odor metálico e de coloração vermelho vivo. Ao longo do tempo de estocagem, os peixes apresentaram perdas de suas características iniciais. A partir do 14º dia, o índice de qualidade (IQ) demonstrou um aumento significativo até último dia de análise, quando já era observada a textura mole, o cheiro amoniacal e o muco viscoso na tilápia.

Rodrigues *et al.* (2016) realizaram um estudo em que o MIQ e a análise quantitativa descritiva foram utilizados como métodos para avaliar a qualidade da tilápia do Nilo armazenada em gelo. Nesse estudo, o pescado foi estocado até o 22º dia, e foi evidenciado que o peixe apresentou perda de qualidade sensorial a partir do 15º dia de análise. De acordo com os autores, um índice de qualidade entre 0 e 8 indica que a qualidade do peixe é garantida para o consumo, e um índice entre 16 e 19 aponta um armazenamento acima de 22 dias, o que é considerado como impróprio para o consumo.

Resultados semelhantes foram encontrados por Ritter *et al.* (2016) que adaptaram o MIQ para o peixe de água doce, tambatinga (*Collossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*) refrigerado, e estudaram sua vida de prateleira. Nesse trabalho, o índice de qualidade também foi menor que 1 no primeiro dia de análise, e ao alcançar o último dia de avaliação do pescado, 30º dia, o índice foi de 15,41. Pode-se afirmar que os atributos de

qualidade apresentaram uma tendência a ter uma pontuação mais alta à medida que o tempo de armazenamento aumentava, e que segundo esses autores, isso pode ser explicado, pelo fato de que quanto mais extensa for a estocagem em gelo, maior será a ação das bactérias que se desenvolvem em baixas temperaturas, assim como das reações físico-químicas que levam o peixe a alterações, afetando diretamente as características sensoriais, e conseqüentemente, acumulando mais pontos de deméritos.

Em um estudo feito por Borges *et al.* (2014) para avaliar o tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*) através do Método do Índice de Qualidade, a última análise ocorreu no 16º dia de armazenamento sob refrigeração, e o índice de qualidade obtido foi bastante elevado, de 22,4. Este resultado diverge do presente trabalho, que obteve a última análise no 28º dia com índice inferior a 22,4 mesmo no final da análise, quando o pescado já demonstrava decomposição em estágio avançado.

A utilização do MIQ para avaliação sensorial do pescado é de fundamental importância (NOOJUY; BOONPRAB, 2004), pois além de avaliar, o método permite a previsão da validade comercial da espécie estudada, com a vantagem do baixo custo, rapidez e eficiência (SVEINDÓTTIR *et al.*, 2003). O ponto de rejeição do peixe goraz (*Pagellus bogaraveo*), definido por análises sensoriais, microbiológicas e físico-químicas, foi de 12 a 13 dias em gelo (SANT'ANA *et al.*, 2011). No desenvolvimento do MIQ para a tilápia do Nilo, Rodrigues *et al.* (2008) recomendaram um prazo de validade comercial entre 15 e 18 dias para tilápia cultivada, eviscerada e estocada em gelo. O pirarucu apresenta suas características impróprias para o consumo a partir do 28º dia estocado em gelo (OLIVEIRA, 2007).

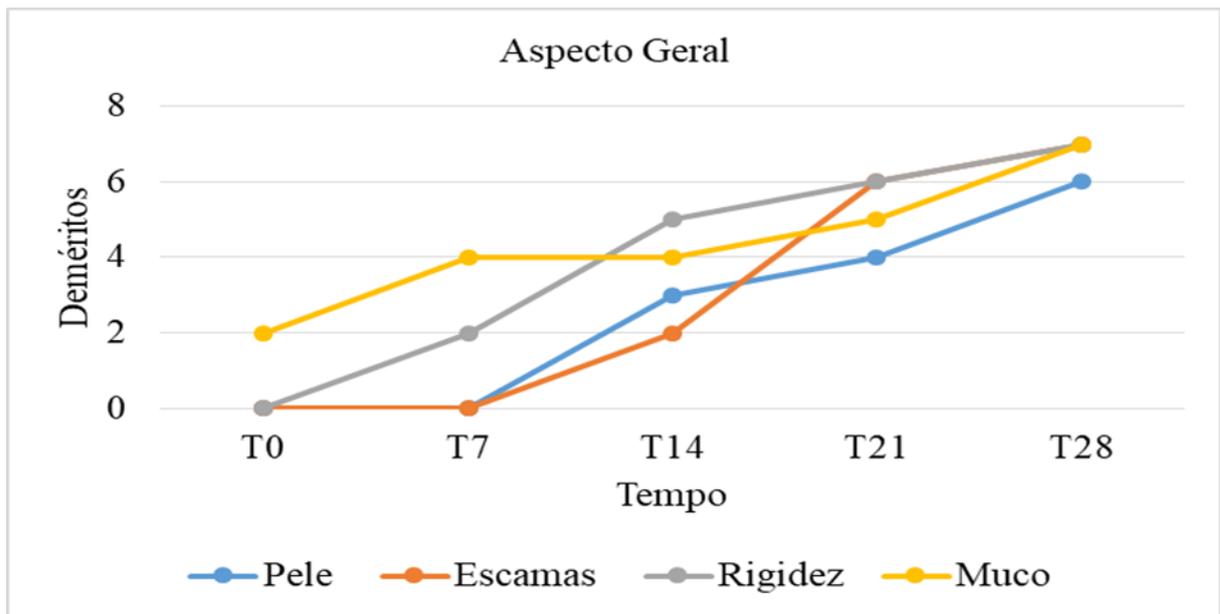
5.1.2 Atributos de qualidade em relação ao tempo de estocagem em gelo

A pontuação dos atributos do MIQ (aspecto geral, brânquias e olhos) foi relacionada com o tempo de estocagem em gelo. O aspecto geral é um atributo de qualidade do MIQ que envolve parâmetros como: pele, escamas, rigidez e muco. Da mesma forma as brânquias, que abrangem o odor e a cor, e os olhos que envolvem a transparência da córnea, pupila e forma.

O Gráfico 2 demonstra o comportamento dos parâmetros do atributo “aspecto geral”. Todos os parâmetros apresentaram aumento na pontuação à medida que o tempo de acondicionamento do pescado em gelo percorria, exceto as escamas, que continuaram bem aderidas mesmo após 7 dias de estocagem, tornando-se levemente aderidas a partir do 14º dia e apresentando perda de escamas no 28º.

Segundo Martinsdóttir *et al.* (2004), a rigidez do músculo do pescado geralmente é realizada por pressão do dedo no músculo, que retorna a sua forma inicial após a pressão ser liberada. Inicialmente, a pontuação relacionada a rigidez foi zero, devido ao endurecimento natural do músculo do pescado fresco, em seguida, a pontuação foi aumentando, pois, o músculo amolecia conforme a degradação do peixe.

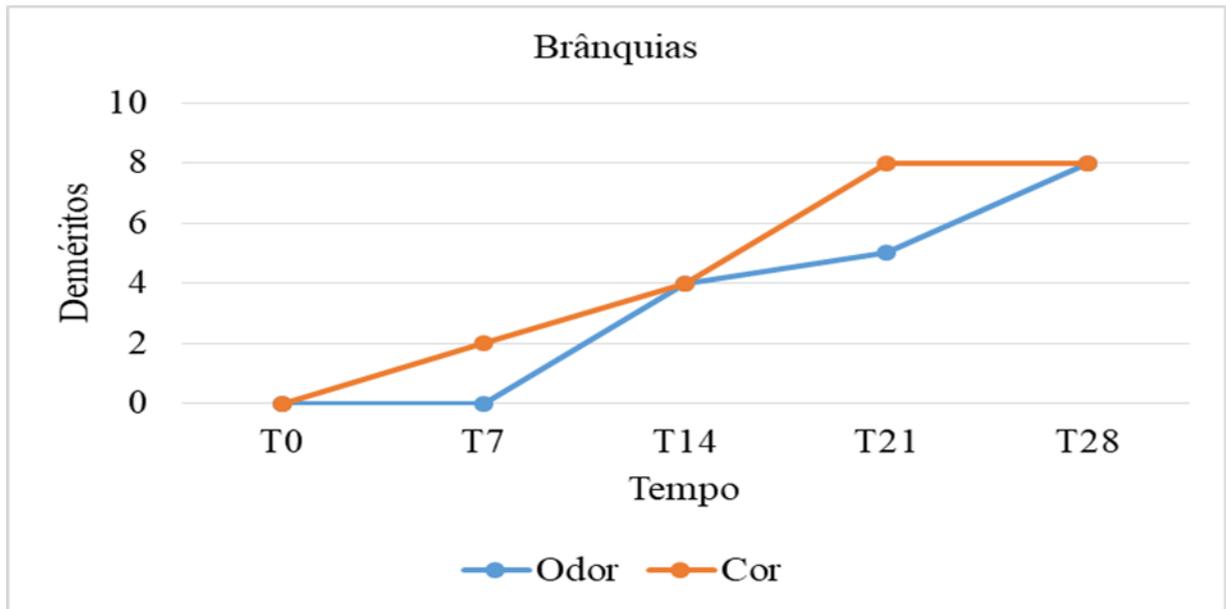
Gráfico 2- Relação da pontuação alcançada nos atributos relacionados ao “aspecto geral” de tilápias do Nilo (determinados pelo MIQ) e o tempo de estocagem em gelo



Rodrigues *et al.* (2008) analisaram os critérios para análise da qualidade da tilápia do Nilo cultivada, eviscerada e armazenada em gelo, e concluiu que parâmetros como escamas e rigidez do músculo pouco contribuem na soma total dos deméritos, comprovando que as alterações sensoriais não são decisivas na rejeição final do produto. A avaliação sensorial do pescado é uma ferramenta qualitativa e quantitativa descritiva de fundamental importância na inspeção do pescado e na indústria de alimentos, podendo ser aperfeiçoada. O uso de outras análises específicas, tais como a análise microbiológica, aumenta a confiabilidade dos resultados obtidos (MURRAY; DELAHUNTY; BAXTER, 2001).

Nas brânquias (Gráfico 3), o odor se manteve estável após 1 semana de armazenamento do pescado em gelo, porém a partir do 14º dia houve uma progressão significativa, atingindo pontuação máxima no último dia de avaliação. Nas primeiras análises a cor das brânquias era intensa, passando a perder sua coloração no 14º dia e assim sucessivamente, até se tornarem descoradas.

Gráfico 3 - Relação da pontuação alcançada nos atributos relacionados as “brânquias” de tilápias do Nilo (determinados pelo MIQ) e o tempo de estocagem em gelo

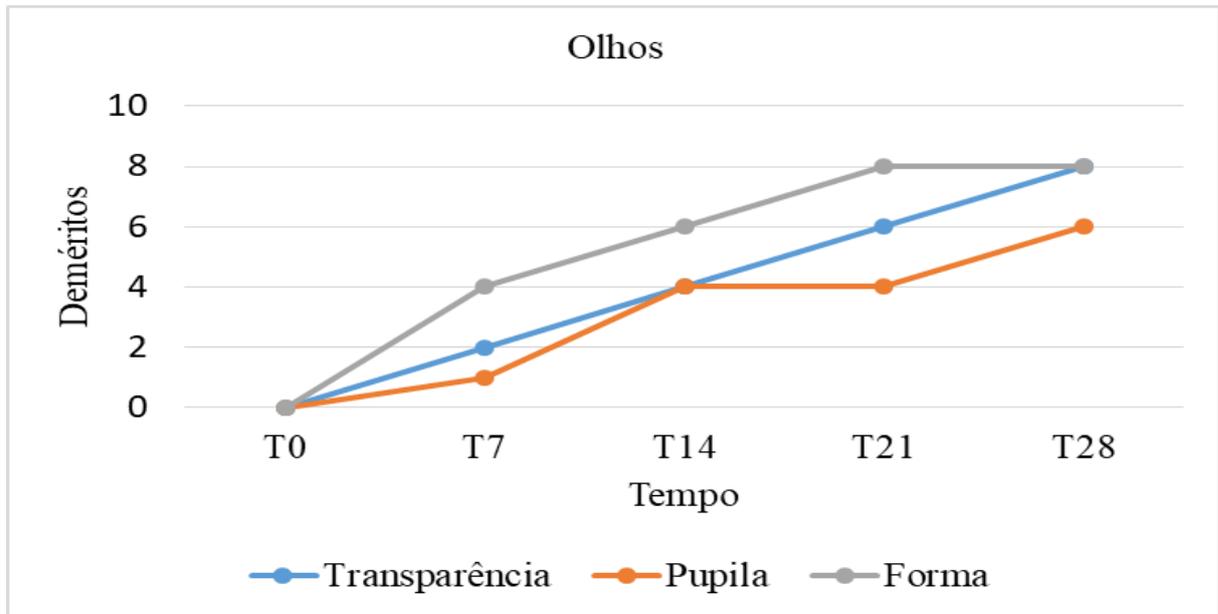


Ao avaliarem a estimativa de vida útil do pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) estocado em gelo pelo MIQ, Lanzarin *et al.* (2016) afirmaram que ao decorrer das análises, as brânquias do peixe foram perdendo sua cor devido a oxihemoglobina, pois o pescado estava perdendo seu frescor. O odor das brânquias se manteve estável nos primeiros dias, mas logo foi se tornando mais intenso no restante dos dias, resultados semelhantes ao presente estudo, onde o odor das brânquias permaneceu estável até o T₇.

Em alguns estudos com a sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) e a corvina (*Micropogonias furnieri*) foram verificados a perda da coloração das brânquias com o decorrer do tempo de armazenamento em gelo. Para a sardinha, a redução ocorreu a partir do 9º dia, e para a corvina a partir do 10º dia, passando de um vermelho intenso para marrom descorado (TEIXEIRA *et al.*, 2009; ANDRADE *et al.*, 2012).

A transparência da córnea, pupila e forma dos olhos (Gráfico 4) também mantiveram um aumento ascendente até o último dia de análise. A princípio, as córneas eram límpidas, as pupilas pretas e bem delineadas e a forma do olho convexa, passando a serem opaca, sem delineamento e côncavas, respectivamente, durante as análises seguintes. Diante do exposto, pode-se afirmar que a maioria dos parâmetros chegou a sua pontuação máxima no 28º dia, demonstrando que o peixe estava deteriorado e impróprio para o consumo humano.

Gráfico 4 - Relação da pontuação alcançada nos atributos relacionados aos “olhos” de tilápias do Nilo (determinados pelo MIQ) e o tempo de estocagem em gelo



Gurgel *et al.* (2016) utilizaram o MIQ para avaliar o frescor do mapará (*Hypophthalmus edentatus*) conservado em gelo. Os autores observaram que o atributo “olhos” avaliados no tempo inicial do armazenamento do pescado, encontrava-se íntegros e de boa qualidade até o 10º dia de armazenamento. No 20º dia de estocagem os parâmetros dos olhos atingiram escores que determinavam olhos côncavos, transparência da córnea opaca e pupila sem contorno.

Analisando a vida de prateleira da tilápia (*Chambo*) fresca em Malawi, Kapute (2012) determinou que os olhos e as brânquias do pescado são considerados os atributos mais confiáveis para avaliar o frescor do pescado, pois geralmente esses são os atributos mais utilizados pelos consumidores ao comprarem um peixe no mercado.

5.2 Determinação do NMP e contagem das colônias de bactérias mesófilas presentes no gelo

A contagem dos microrganismos mesófilos do gelo foi realizada apenas no dia da coleta (T₀), considerando que não houve remoção e/ou reposição do gelo utilizado para conservação do pescado. O resultado do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes (CT) foi de <math><1,8 \text{ NMP}/100 \text{ mL}</math> e da contagem das colônias presentes no gelo de conservação do pescado foi de $6,3 \times 10^3$.

O gelo tem como função manter o frescor do alimento, e por isso, a água utilizada para sua fabricação deve ser potável, com ausência de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em 100 mL de amostra de água. No presente trabalho, a amostra de gelo usado para conservar a tilápia estava isenta de microrganismos termotolerantes, em conformidade com os padrões de potabilidade estabelecidos pela Portaria nº 2914, do Ministério da Saúde, em 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011).

Carvalho e Oliveira (2018), elaboraram um estudo da avaliação físico-química, microbiológica e macroscópica de marcas de gelo comercializados em Teresina-PI. As análises microbiológicas revelaram que todas as amostras de gelo avaliadas estavam livres de coliformes totais e termotolerantes, ou seja, estavam de acordo com os padrões exigidos para o consumo humano, sendo condizentes aos resultados do ocorrente estudo. Os autores afirmaram que encontraram um teor de cloro maior que 0,1 mg/L, e que a concentração do mesmo foi suficiente para desinfecção da água, e como consequência a ausência de coliformes. Porém, Giampietro e Rezende-Lago (2009) ao estudarem a qualidade do gelo empregado para conservação do pescado fresco, encontraram 29 (96,7%) amostras positivas para coliformes totais e 22 (73,3%) amostras positivas para coliformes termotolerantes, ressaltando que o gelo não deve conter nenhuma substância que possa ser danosa para a saúde, obedecendo ao padrão de água potável.

No Maranhão, ao analisarem amostras de gelo, Ferreira *et al.* (2014) constataram que de 8 amostras, 6 (75%) estavam contaminadas por coliformes totais e termotolerantes, e duas (25%) por *E. coli*. Já Dorta *et al.* (2011), identificaram coliformes a 37°C e *E.coli* em todas as amostras de gelo provenientes de fábricas da cidade de Teresina, obtendo assim resultados diferentes do presente estudo.

De acordo com a legislação, também é recomendado populações de microrganismos heterotróficos $<500 \text{ UFC.mL}^{-1}$ (BRASIL, 2011). Observando a Tabela 1, pode-se afirmar que a amostra de gelo excedeu o limite de contagem de bactérias heterotróficas recomendado pelos padrões de potabilidade exigidos pela Portaria. Esse excesso de carga microbiana, pode ser adicionada ao pescado, acelerando o processo de deterioração, e conseqüentemente, causando riscos ao consumidor.

Baldin *et al.* (2016) avaliaram o gelo utilizado para conservação do pescado, conforme os resultados dos autores, em 61,90% das amostras de gelo foram encontrados microrganismos mesófilos, com contagem variando de 1,0 UFC mL⁻¹ a 3,0 x 10⁴ UFC/mL. Além disto, 19,05% dessas amostras apresentaram populações acima do permitido pela Portaria nº 2914, do Ministério da Saúde, em 12 de março de 2011. Os autores ainda

concluíram que mesmo que exista uma legislação específica para a qualidade da água, ainda é utilizada água não potável para a fabricação do gelo, tornando um risco para o consumidor, e admitiram a hipótese de a qualidade microbiológica do gelo influenciar diretamente na qualidade e vida útil do produto.

5.3 Análise microbiológica do pescado

5.3.1 Contagem das bactérias mesófilas isoladas da superfície, brânquias e músculo

A Tabela 2 apresenta as contagens totais das bactérias mesófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo durante o tempo de estocagem em gelo. As variações das contagens expressas por Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram: $2,6 \times 10^3$ a $2,4 \times 10^{13}$ UFC/cm², $2,6 \times 10^3$ a $1,5 \times 10^{12}$ UFC/g e $7,6 \times 10^3$ a $1,6 \times 10^{11}$ UFC/brânquia para superfície, músculo, e brânquias, respectivamente.

Tabela 1 - Contagem total das bactérias aeróbias mesófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia ao longo do período de estocagem em gelo

Tempo de estocagem	Bactérias Mesófilas		
	Superfície (UFC/cm ²)	Músculo (UFC/g)	Brânquias
T0	$2,6 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$7,6 \times 10^3$
T7	$7,8 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$
T14	$3,42 \times 10^5$	$3,43 \times 10^5$	3×10^5
T21	$1,8 \times 10^{11}$ (Est.)	$2,7 \times 10^8$ (Est.)	$5,8 \times 10^{10}$ (Est.)
T28	$2,4 \times 10^{13}$	$1,5 \times 10^{12}$	$1,6 \times 10^{11}$

* Est. = Estimada

Embora a legislação brasileira (BRASIL, 2001) não estabeleça um padrão para contagem total de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM), contagens deste grupo de microrganismos são indicativas da presença de patógenos e podem indicar qualidade sanitária deficiente do alimento em questão.

Um parâmetro muito utilizado por pesquisadores para contagem de BHAM é o da “International Commission on Microbiological Specifications for Foods” (ICMSF), que determina como tolerância 10^7 UFC/g (ICMSF, 1986). Segundo Franco e Landgraf (2008), contagens de bactérias mesófilas na carne crua entre 10^3 e 10^6 UFC/g indicam um produto

sem deterioração microbiana, portanto, a contagem do músculo do presente trabalho apresentou degradação bacteriana a partir do 21º dia de estocagem em gelo.

De acordo com Simões *et al.* (2007), as altas contagens de microrganismos mesófilos no pescado podem estar relacionadas com a falta de higiene do ambiente e seus manipuladores, e com a utilização de equipamentos e utensílios contaminados, ressaltando que manipuladores de alimentos possuem um papel importante na contaminação de microrganismos.

Em um estudo realizado por Reis *et al.* (2017), foi avaliado o perfil microbiológico do tambaqui e do pintado comercializado no município Rolim de Moura, tendo em foco a saúde pública. Nos dois pescados, foram encontradas contagens de mesófilas altas. Lanzarin *et al.* (2012), ao quantificarem bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em tambacu comercializado em Cuiabá, também alcançaram contagens elevadas, corroborando com os resultados do presente estudo.

Outros fatores que podem interferir na variação das contagens bacterianas é a qualidade da água e do sedimento do habitat, já que os dois estão relacionados. Um estudo relacionado ao cultivo de tilápias, onde consideraram a água e o sedimento do cultivo, brânquias e intestinos dos animais, revelaram que os microrganismos *Aeromonas hydrophyla*, *Bacillus* spp., *Plesiomonas shigelloides*, *Shewanella putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus* spp. e *Vibrio cholerae* foram bactérias dominantes nas brânquias e intestinos dos animais, assim como na água e sedimento do cultivo, com exceção da *S. putrefaciens* e *V. cholerae* na água, indicando que bactérias que residem na água e sedimento da piscicultura são as mesmas que caracterizam a microbiota das brânquias e do intestino do peixe (PAKINGKING *et al.*, 2015).

5.3.2 Contagem das bactérias psicrófilas isoladas da superfície, brânquias e músculo

As contagens totais das bactérias psicrófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo durante o tempo de 28 dias de estocagem em gelo, estão expostas na Tabela 3. As variações das contagens expressas por Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram: $3,5 \times 10^3$ a $1,3 \times 10^{12}$ UFC/cm², zero a $1,4 \times 10^9$ UFC/g e $1,4 \times 10^3$ a $1,3 \times 10^{10}$ UFC/brânquia para superfície, músculo, e brânquias respectivamente.

Tabela 2- Contagem total das bactérias aeróbias psicrófilas presentes na superfície, músculo brânquias e da tilápia ao longo do período de estocagem em gelo

Tempo de estocagem	Bactérias Psicrófilas		
	Superfície (UFC/cm ²)	Músculo (UFC/g)	Brânquias
T0	3,5 x 10 ³	SC*	1,4 x 10 ³
T7	2 x 10 ⁴	SC*	1,4 x 10 ⁴
T14	2,45 x 10 ⁵	3,42 x 10 ⁵	3,85 x 10 ⁵
T21	2,4 x 10 ⁹ (Est.)**	1,4 x 10 ⁸	2,3 x 10 ⁹ (Est.)**
T28	1,3 x 10 ¹²	1,4 x 10 ⁹	1,3 x 10 ¹⁰

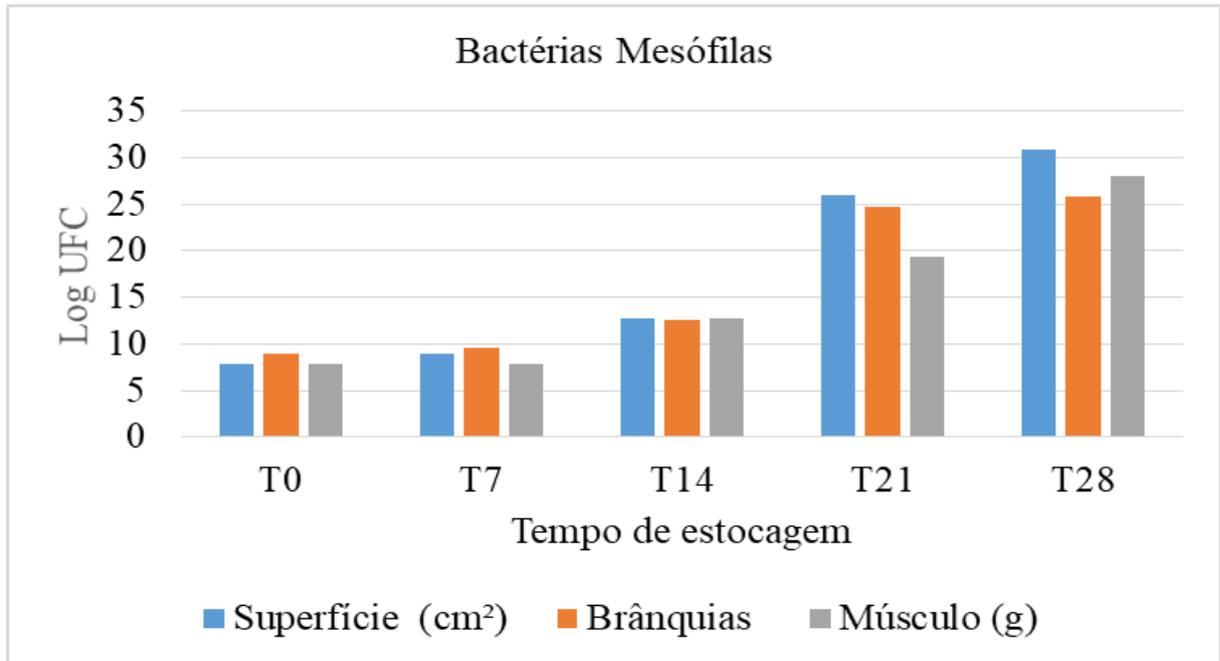
*SC = sem crescimento; ** Est. = Estimada

Adalid *et al.* (2017) estudaram o controle microbiológico do panga (*Pangasius hypophthalmus*), da tilápia (*Oreochromis spp.*) e da merluza (*Merluccius merluccius*) ultracongelados para verificar a presença de bactérias patogênicas. Assim como o presente estudo nos 14 primeiros dias de acondicionamento, os autores verificaram contagem das bactérias psicrófilas baixas nas tilápias, variando entre 1,3 x 10³ UFC/g e 7,6 x 10⁵, mesmo o pescado em congelamento. Os autores ressaltam que os microrganismos psicrófilos são os maiores causadores das alterações que ocorrem durante o armazenamento de alimentos refrigerados.

5.3.3 Comparativo das contagens das bactérias mesófilas e psicrófilas, expresso em Log, presentes na superfície, brânquias e músculo ao longo do período de estocagem em gelo

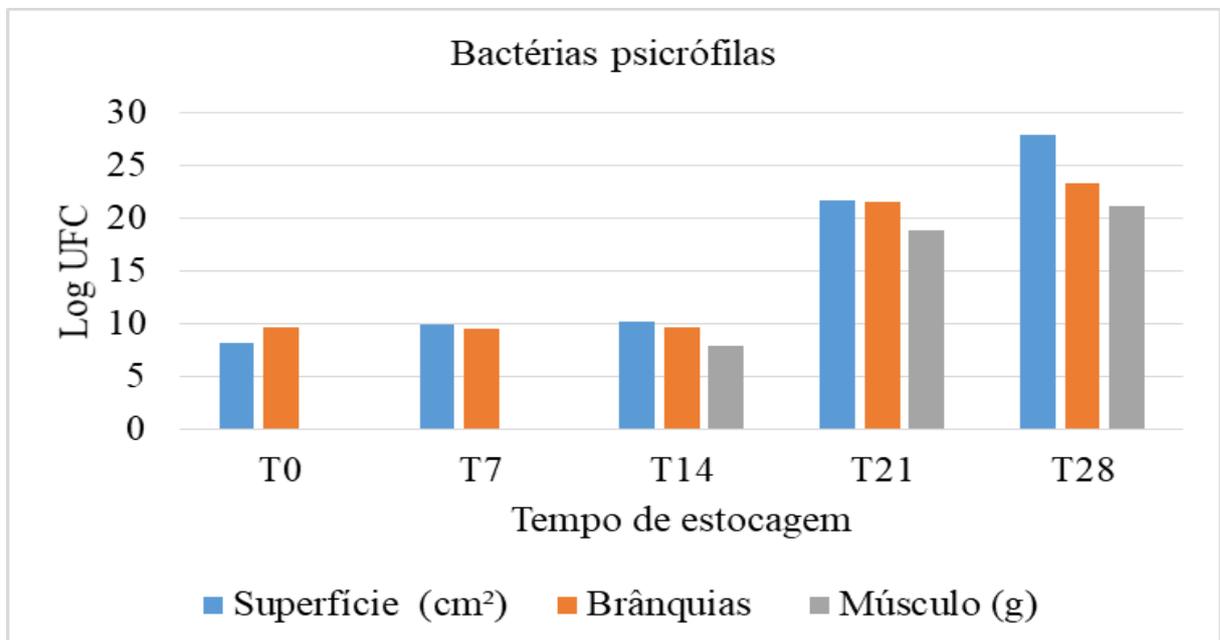
Os resultados das contagens das colônias de bactérias mesófilas e psicrófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo estão representados no Gráfico 5 e 6, respectivamente. A variação expressa em logaritmo por Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foi de 7,84 a 30,81 Log UFC/cm², 8,94 a 25,80 Log UFC/brânquia e 7,88 a 28,04 Log UFC/g para superfície, brânquias e músculo, respectivamente, das bactérias mesófilas.

Gráfico 5 - Contagens das colônias de bactérias mesófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo ao longo da estocagem em gelo



As psicrófilas apresentaram uma variação de 8,16 a 27,89 Log UFC/cm², 9,59 a 23,29 Log UFC/brânquia e zero a 21,06 Log UFC/g para superfície, brânquias e músculo, respectivamente.

Gráfico 6 - Contagens das colônias de bactérias psicrófilas presentes na superfície, brânquias e músculo da tilápia do Nilo ao longo da estocagem em gelo



Pode-se observar nos gráficos 5 e 6 que as contagens bacterianas, tanto das mesófilas bem como das psicrófilas, tiveram aumento progressivo ao longo do período de estocagem. No início do período de armazenamento, as contagens foram baixas, indicando que o pescado ainda estava em boas condições sensoriais. A partir do 14º dia, as contagens começaram a apresentar comportamentos ascendentes, prosseguindo assim até o 28º dia, com contagens bastante altas, demonstrando a degradação do peixe estocado em gelo.

Pode-se constatar nos gráficos que a contagem das bactérias mesófilas se sobressaiu a das psicrófilas em todas as análises (T_0 , T_7 , T_{14} , T_{21} e T_{28}). Santos *et al.*, (2018) estudaram a estabilidade da pirapitinga em diferentes tempos de estocagem, constatando que as contagens das bactérias psicrótróficas prevaleceram, podendo ser explicado pelo fato dessas bactérias serem as principais causadoras de deterioração do pescado. É importante ressaltar que as bactérias psicrótróficas apresentam um bom crescimento em temperaturas de refrigeração (0°C), mas a temperatura ideal para o seu crescimento é situada na faixa das mesófilas, por isso esse grupo de microrganismos é considerado um subgrupo das mesófilas. Os microrganismos psicrótróficos em números elevados são responsáveis pela diminuição da vida útil do pescado, por constituírem seus principais deterioradores (BARTOLOMEU, *et al.*, 2011).

Um fato relevante para se destacar é que na legislação brasileira não consta limite para contagem de bactérias heterotróficas mesófilas e psicrófilas, mas por serem significativas na qualidade sanitária e no grau de deterioração do pescado, é utilizado como referência o limite de 10^7 UFC.g⁻¹ ($7 \log$ UFC.g⁻¹) estabelecido pela ICMSF (1986). Em experimento com piramutuba (*Brachyplatystoma vaillantii*) estocada em gelo, Marinho (2011) encontrou valores iniciais ($3,78 \log$ UFC.g⁻¹) e finais ($7,31 \log$ UFC.g⁻¹) para contagem de bactérias psicrófilas do músculo, diferindo dos resultados do presente estudo, onde a contagem dos microrganismos psicrófilos foi ausente após 7 dias de estocagem em gelo, surgindo a partir das análises do décimo quarto dia (T_{14}). Em relação a deterioração do pescado sob refrigeração, o desenvolvimento bacteriano é apontado como principal responsável, principalmente as bactérias psicrófilas. A determinação de grupos de microrganismos viáveis pode ser útil na avaliação da eficiência de métodos para conservar o peixe (SCHERER *et al.*, 2005).

5.3.3 Correlação (r^2) entre as contagens bacterianas da superfície, brânquias e músculo do pescado e os parâmetros do MIQ

Os parâmetros do MIQ foram correlacionados com as contagens das bactérias mesófilas e psicrófilas, a correlação linear foi dada através do coeficiente de Pearson (r^2), segundo Toledo e Ovale (1985), os valores de r variam entre 1 e -1, sendo que o valor zero representa a ausência de correlação linear. A correlação pode ser considerada baixa ($r < 0,30$), moderada (r entre 0,3 e 0,6) ou elevada ($r > 0,60$) (SAMPAIO, 2010). Na Tabela 4 estão expostos os coeficientes, e todos apresentaram correlação elevada, mostrando que à medida que as contagens bacterianas da superfície, das brânquias e do músculo aumentavam, os parâmetros (Pele + escama + muco, brânquias e músculo) também evoluíam, respectivamente. Essa evolução representa a deterioração do peixe à medida que o tempo percorria.

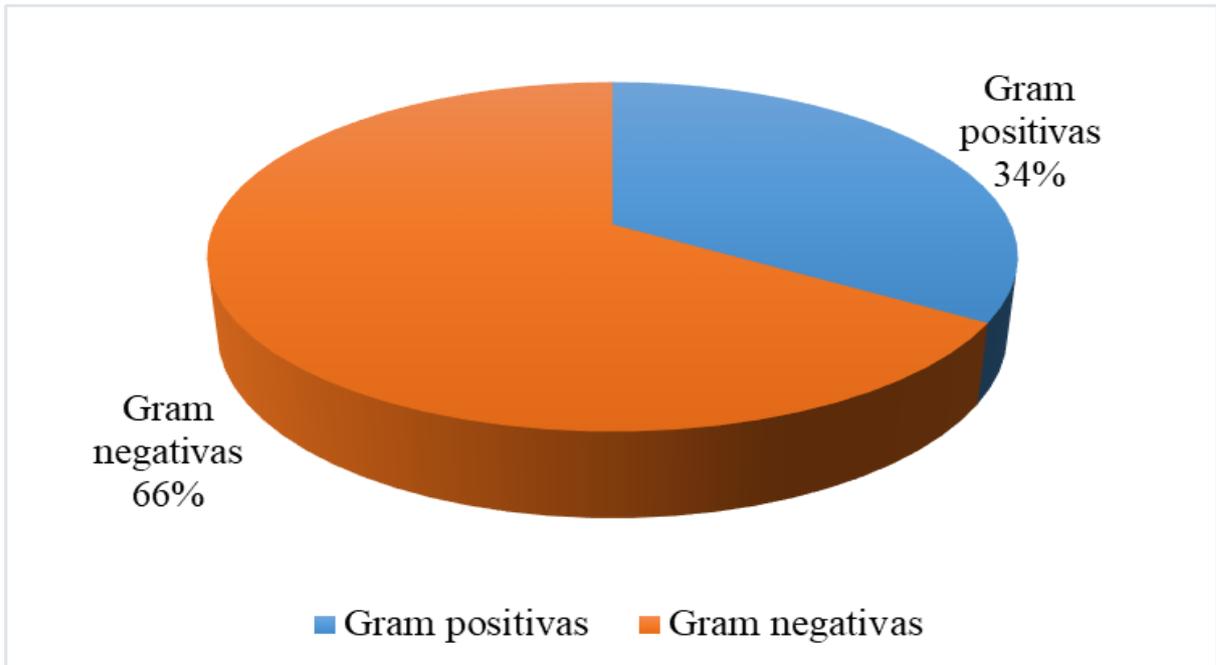
Tabela 3 - Correlação entre os parâmetros sensoriais e contagem de bactérias

PARÂMETRO X CONTAGEM	Mesófilas		Psicrófilas	
	Equação	r^2	Equação	r^2
Pele + Escama + Muco x Log UFC Superfície	$y = 3,3641x + 1,0853$	0,95	$y = 4,1928x + 0,8857$	0,90
Brânquias x Log UFC Brânquias	$y = 7,0084x + 1,1677$	0,84	$y = 7,2784x + 0,9287$	0,73
Rigidez x Log UFC Músculo	$y = 4,8040x + 2,5945$	0,91	$y = - 3,9067x + 3,3$	0,88

5.4 Características morfotintoriais das cepas isoladas

Através da técnica de Gram, as bactérias isoladas foram divididas em 2 grandes grupos: Gram negativas e Gram positivas. Das 130 cepas isoladas da superfície, brânquias e músculo do pescado, 86 foram Gram negativas e 44 positivas. No Gráfico 7 pode ser visualizado o valor em percentual do Gram, onde 66% dos microrganismos tiveram sua estrutura de parede celular Gram negativa e 34% Gram positivo.

Gráfico 7 - Percentual de cepas isoladas da superfície, brânquias e músculo de tilápias do Nilo de acordo com a característica de parede das bactérias.



A microbiota do peixe fresco está relacionada diretamente com a microbiota da água do ambiente que ele habita, podendo sofrer mudanças físicas, químicas e biológicas (CONCEIÇÃO *et al.*, 2012). A importância da presença de bactérias Gram negativas no solo, na água, nas brânquias e tegumento dos peixes, reside no fato de ser um indicativo de contaminação de origem fecal, onde as toxinas oriundas de bactérias Gram negativas são grandes responsáveis por intoxicações alimentares veiculadas pelo pescado em humanos (CARNEIRO *et al.*, 2007).

Cagua-Montaña *et al.*, (2017) verificaram a prevalência de bactérias Gram negativas em tilápias comercializadas na Espanha, o experimento foi realizado com 48 amostras de pescado para isolar as bactérias do buco-nasal e das brânquias, e cerca de 75% das estirpes isoladas foram Gram negativas, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo. Os autores afirmaram que bactérias Gram negativas são encontradas de forma abundante no solo, na água e vegetação, fazendo parte da microbiota intestinal de seres humanos e animais.

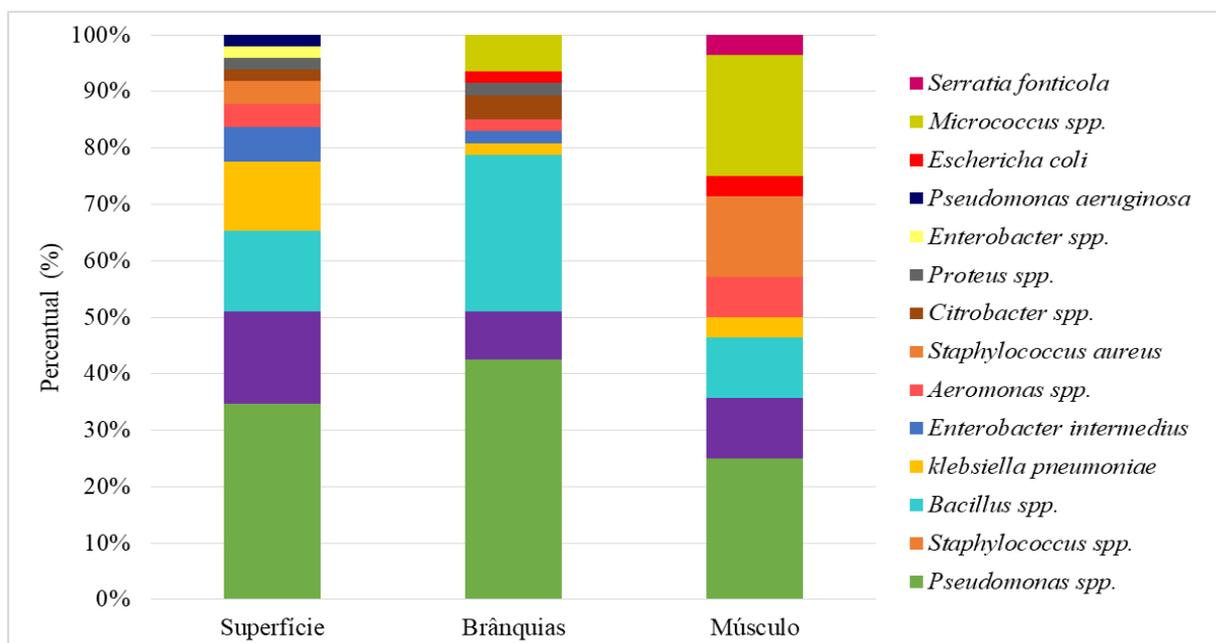
5.5 Identificação das cepas isoladas da superfície, brânquias e músculo da tilápia

De 130 cepas isoladas, 123 foram identificadas fenotipicamente, 82% foram em nível de gênero e 18% em nível de espécie (Gráfico 8). As 7 cepas não identificadas apresentaram estado de viáveis, mas não cultiváveis (VNC). Bactérias que se enquadram nessa categoria não apresentam capacidade de crescer em meios de cultura convencionais, embora, metabolicamente permaneçam ativas (FERNANDES, 2013).

Segundo ZHONG *et al.* (2009) e DHIAF *et al.* (2008) essa mudança de estado pode vir a ocorrer devido a permanência bacteriana em ambientes estressantes, com temperaturas extremas, ausência de nutrientes, além de diferenças nas concentrações osmóticas e de oxigênio. Dessa forma, alguns organismos podem vir a perder a culturabilidade em determinadas circunstâncias ambientais e ainda apresentar vestígios de atividade metabólica.

O gênero predominante foi *Pseudomonas* spp. (36%), seguido por *Bacillus* spp. (19%), *Staphylococcus* spp. (11%), *Micrococcus* spp. (7%), *Aeromonas* spp. (4%), *Citrobacter* spp. (2%) e *Enterobacter* spp. (1%). Referente ao nível espécie, *Klebsiella pneumoniae* (7%) foi a espécie que prevaleceu, seguido por *Staphylococcus aureus* (6%), *Enterobacter intermedius* (3%), *Escherichia coli* (2%), *Serratia fonticola* (1%) e *Pseudomonas aeruginosa* (1%).

Gráfico 8 - Abundância relativa de bactérias isoladas de superfície, brânquias e músculo de tilápias do Nilo mantidas em gelo



Analisando a diversidade da microbiota aquática em cultivo de tilápia do Nilo, Silva *et al.* (2016) utilizaram 4 tipos de tratamento na água do cultivo. O gênero predominante das cepas isoladas no tratamento 1 (apenas bioflocos) foi *Aeromonas* spp. representando 41% das cepas. No tratamento 2 (água com presença de bioflocos e perifíton), 3 (água de cultivo tradicional) e tratamento 4 (presença apenas do perifíton) foi *Pseudomonas* spp, com percentual elevado de 60%, 42,9% e 70%, respectivamente, tornando os resultados dos autores similares ao presente trabalho. A presença de microrganismos na água do cultivo dos peixes influencia na composição da microbiota das diferentes partes do peixe, entretanto não indica diretamente a presença de patógenos (EL-SHAFAI *et al.*, 2004).

Ao caracterizar espécies de *Pseudomonas* isoladas de tilápias do Nilo nos lagos situados no Egito, Eissa *et al.*, (2010) verificaram a presença de *Pseudomonas* em 30,83% dos 480 peixes analisados, principalmente na fase de mortalidade em massa, quando os pescados apresentaram sinais típicos de septicemias, como: vermelhidão em todo corpo, inchaço abdominal, nebulosidade dos olhos, perda de escamas e brânquias congestionadas, causadas por *Pseudomonas*.

Lima Júnior *et al.* (2016), isolaram bactérias presentes na pele e na cavidade oral de tilápias do Nilo comercializadas no Brasil, e em seguida foi realizada a identificação das estirpes. A espécie que predominou, estando presente em amostras de peixes coletadas, foi a *Pseudomonas aeruginosa*, sendo esses resultados divergentes aos do presente trabalho. Presente na água e no solo, a *Pseudomonas aeruginosa* possui a capacidade de formar biofilmes nas superfícies e substratos do meio ambiente nos quais vive. É pertencente à microbiota natural da superfície de plantas, da pele do homem e animais, porém a sua importância está em seu papel de patógeno oportunista, podendo causar infecções no hospedeiro (MAIA *et al.*, 2009).

Isolando do trato gastrointestinal da carpa rohu (*Labeo rohita*) bactérias do gênero *Bacillus* spp. para avaliar seus atributos probióticos, Thankappan *et al.* (2015) identificaram 74 estirpes em nível espécie, sendo encontradas *Bacillus subtilis*, *Bacillus aerophilus* e *Bacillus firmus*, evidenciando a caracterização morfológica e fisiológica. O gênero *Bacillus*, assim como a *Pseudomonas*, são considerados bactérias bem adaptadas a viver em solo e água. Também podem estar presentes em água doce outros microrganismos como membros da família Enterobacteriaceae, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* e ainda bactérias anaeróbias como *Clostridium* spp. (DAL PUPO, 2006).

A qualidade microbiológica de tilápias do Nilo cultivadas e selvagem no sudoeste da Nigéria foi avaliada, investigando a ocorrência e a sensibilidade antibiótica de cepas isoladas do pescado. Tiamiyu *et. al* (2015) encontraram resultados opostos aos do presente estudo, com relação a espécie, ao isolarem microrganismos da pele e do estômago do peixe, constatando a predominância de espécies como *Staphylococcus aureus*, seguidas de *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Bacillus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Micrococcus spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella spp.* e *Streptococcus spp.* Todos esses microrganismos são potenciais patógenos para o homem, podendo causar uma variedade de doenças.

Em relação a contaminação de *S. aureus* no pescado, é importante salientar que essa bactéria é frequentemente encontrada em pele e mucosas humanas (SALES; SILVA, 2012), existindo a estimativa que cerca de 20 a 30% da população do mundo, em geral, seja portadora deste patógeno facultativo (PLATA *et al.*, 2009).

A contaminação pelo *S. aureus* pode ser associada a fatores ambientais como a contaminação do meio aquático por esgoto e a microbiota permanente e transitória do pescado, onde o *S. aureus* pode ser tanto um comensal como um contaminante ambiental (COSTA, NASCIMENTO, SILVA JÚNIOR, 2018). Entretanto, é muito difícil ter conhecimento da origem da bactéria, mas alguns trabalhos demonstraram que em carpas (*Cuprinus carpi*) e siluro (*Sirlus glanis*), o *S. aureus* é comum na pele, no intestino, fígado e músculos (ALI, 2014). Em um estudo que verifica a quantidade de *S. aureus* presentes no ambiente aquático, Abdel-Gawad *et al.* (2015) afirmaram que a ocorrência da bactéria é bem maior em tilápias do Nilo oriundas de ambientes aquáticos de corpos de água eutrofizados, do que de águas com características físico-químicas, biológicas e bioquímicas mais conservadas.

Makino *et al.* (2016) analisaram o perfil da microbiota intestinal de tilápias do Nilo cultivadas em diferentes sistemas de criação. Os autores isolaram 100 cepas de 2 tipos distintos de sistema de criação, identificando diversos gêneros e espécies de bactérias, prevalecendo *Enterobacter spp.*, seguido por *Citrobacter spp.*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Edwardsiella spp.*, *Providencia spp.*, *Klebsiella spp.*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.*, *Proteus vulgaris* e *Proteus spp.*, assim tornando esses resultados próximos aos do presente estudo, onde o gênero *Proteus spp.* foi um dos microrganismos com menor ocorrência nas amostras.

A contaminação de peixes por bactérias entéricas de origem animal ou humana pode ser causadora de graves intoxicações transmitidas por alimentos. Os peixes carregam um amplo número de bactérias no trato intestinal provenientes da água, sedimento e fontes alimentares (MANDAL *et al.*, 2009). Apesar de muitos gêneros da família

Enterobacteriaceae não causarem diretamente doenças no pescado, como por exemplo a *Salmonella* spp. e *Klebsiella* spp., tais gêneros podem agir como fontes de doenças graves para os humanos (LORENZON, 2009).

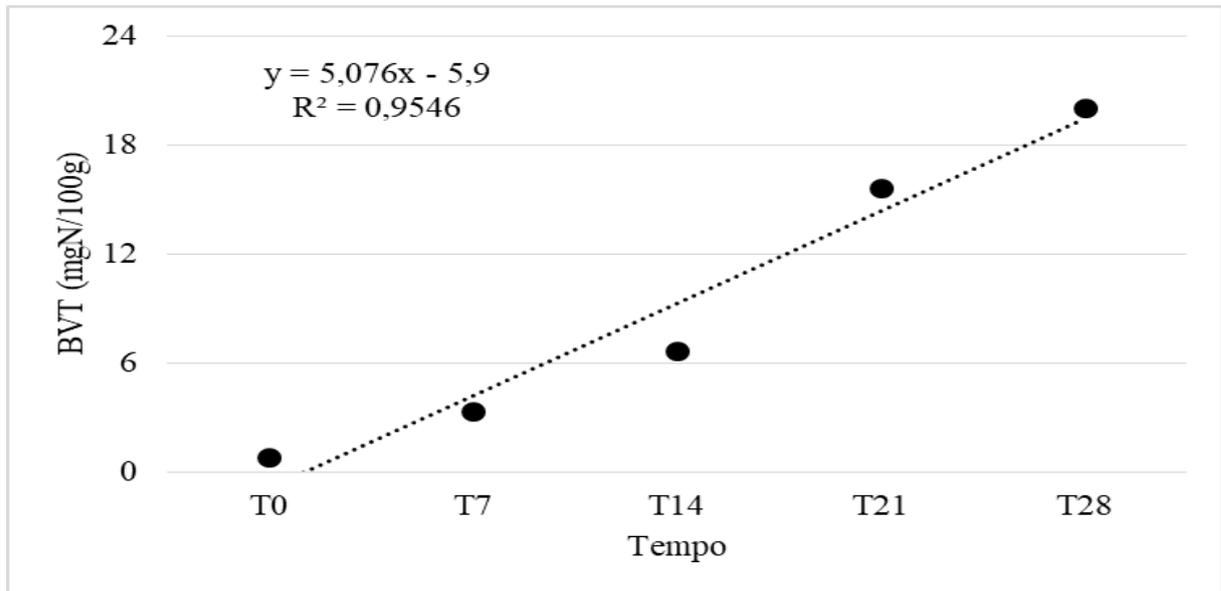
No presente trabalho, foram identificadas apenas 5 cepas do gênero *Aeromonas*, e apesar da pouca representatividade do microrganismo em relação aos demais gêneros, é importante destacá-lo devido as septicemias em peixes, sendo comuns no sistema de cultivo. São bactérias oportunistas e geralmente prejudicam os peixes quando estão com sua imunidade baixa (KUBITZA, 2008).

5.6 Análises Físico-químicas

5.6.1 N-BVT

A determinação das bases voláteis totais pode ser vista no Gráfico 9, onde os resultados estão expressos por miligrama de nitrogênio/100g de amostra. A variação das BVT foi de: 0,84, 3,36, 6,72, 15,64 e 20,08 N/100g, para o T₀, T₇, T₁₄, T₂₁ e T₂₈, respectivamente. O coeficiente de Pearson r^2 também é observado no gráfico, indicando uma correlação elevada de 0,9546 das BVT com o tempo de armazenamento do pescado, apontando que as bases voláteis do músculo aumentavam ao longo do tempo de estocagem, e o pescado cada vez mais perdia seu frescor. De acordo com o RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, o pescado fresco é aquele que possui as bases voláteis totais inferiores a 30 mg de nitrogênio/100g de tecido muscular, sem prejuízo da avaliação das características sensoriais (BRASIL, 2017). Portanto, nenhuma das amostras continha valores acima do limite considerado para o consumo.

Gráfico 9 – Linha do crescimento exponencial das bases voláteis totais (N-BVT) do músculo da tilápia do Nilo conservadas em gelo



Ao avaliarem as alterações físico-químicas e microbiológicas de tilápias do Nilo coletadas de um supermercado durante o armazenamento refrigerado, Gutiérrez Guzmán *et al.* (2015) obtiveram resultados das bases voláteis totais elevados desde o início, cerca de 28,75 mgN/100g no T₀, se mantendo estável durante o tempo de estocagem, e atingindo 31,14 mgN/100g no T₇. Os autores concluíram que o comportamento das N-BVT não pode ser relacionado as mudanças da qualidade do pescado, visto que muitos trabalhos com peixes de água doce mostraram uma correlação fraca das N-BVT com o tempo de estocagem e a qualidade sensorial do pescado.

Análises de bases voláteis totais feitas para peixes de água salgada diferem dos de água doce, devido ao fato da trimetilamina estar presente em quantidades variáveis, dependendo da espécie, em peixes de água salgada, porém é ausente ou em quantidades muito baixas, em peixes de água doce (LAPA GUIMARÃES, 2005). Gonçalves e Soares (2017), analisaram os valores das BVT de carapebas frescas, e encontraram valores estáveis até os primeiros 5 dias de estocagem, aumentando significativamente a partir do 6º dia, alcançando valores de 30,43 mg 100 g, próximo ao limite de aceitabilidade.

Segundo Soáres e Gonçalves (2012), a forma da captura que o pescado é submetido influencia na qualidade do alimento. Se a captura estressar muito o pescado, irá esgotar suas reservas de glicogênio, ocasionando em um *rigor mortis* mais acelerado e uma degradação mais rápida. Portanto, quanto maior a quantidade de glicogênio reservado, maior

o tempo de vida útil do peixe.

Em contrapartida, Borges *et al.* (2013) encontraram valores abaixo do limite de aceitabilidade ao avaliarem os valores de BVT do pacu durante 17 dias de estocagem em gelo, variando de 8,82 a 18,90 mgN/100g, resultados estes, semelhantes aos do presente trabalho.

A legislação brasileira determina que poderão ser estipulados valores de bases totais diferentes dos que estão na resolução para algumas espécies, a serem definidas em normas complementares, caso haja indícios científicos de que os valores naturais dessas espécies diferem dos fixados (BRASIL, 2017).

5.6.2 Correlação (r^2) entre as contagens bacterianas da superfície, brânquias e músculo do pescado e as N-BVT

A correlação (r^2) entre a determinação das N-BVT e as contagens bacterianas da superfície, brânquias e músculo do pescado está exposta na Tabela 5. Os resultados oscilaram de 0,96 a 0,99 para mesófilas e 0,92 a 0,97 para as psicrófilas. Todas as correlações foram elevadas, com coeficientes próximos a 1, isto indica que ao longo do período de estocagem do pescado, as bases voláteis totais e as contagens das colônias bacterianas progrediram de modo concomitante, indicando que os grupos bacterianos possuíam uma relação com os níveis de N-BVT e que o pescado perdia cada vez mais o seu frescor a cada tempo de armazenamento.

Tabela 4 - Correlação entre as N-BVT e as contagens bacterianas na superfície, brânquias e músculo da tilápia ao longo do período de estocagem em gelo

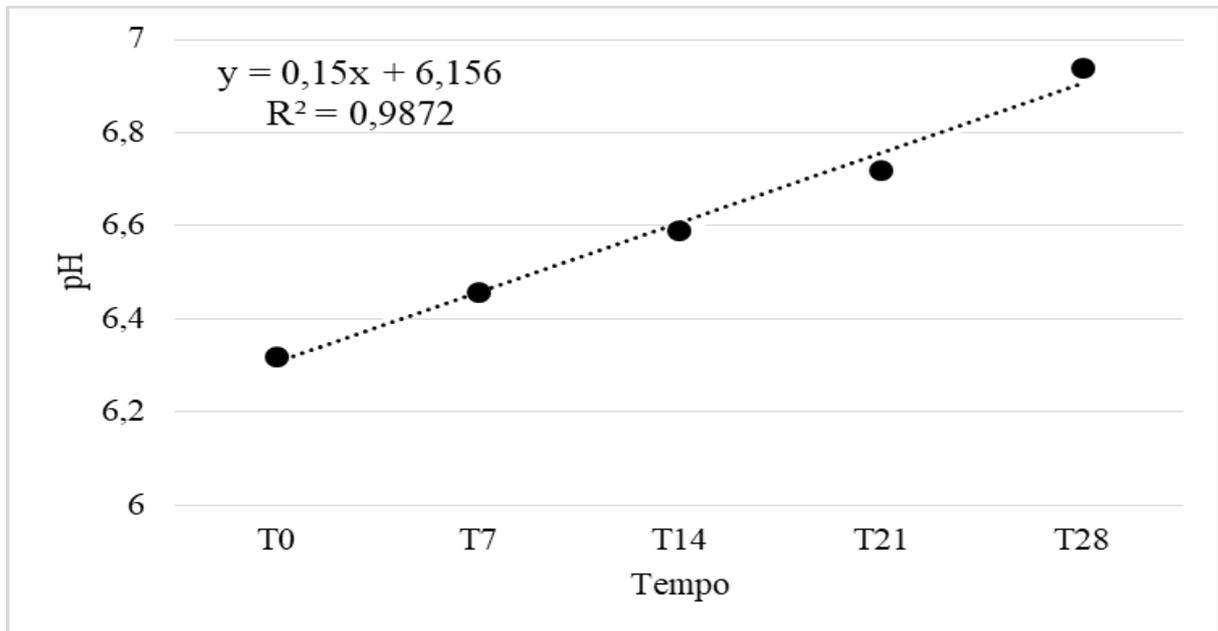
N-BVT X CONTAGEM	Mesófilas		Psicrófilas	
	Equação	r^2	Equação	r^2
N-BVT x UFC Superfície	$y = 0,9903x + 1,2655$	0,99	$y = 5,7994x + 1,0431$	0,96
N-BVT x Log UFC Brânquias	$y = 7,1008x + 0,9915$	0,97	$y = 6,9897x + 0,8274$	0,92
N-BVT x Log UFC Músculo	$y = 5,6055x + 1,0266$	0,96	$y = 1,4399x + 1,0216$	0,97

5.6.3 pH

A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) é vista no Gráfico 10, os valores variam de 6,32 a 6,94, e possuem correlação alta de 0,9872 entre o pH e o tempo de armazenamento do pescado. O pH é um dos índices mais utilizados para avaliar o frescor do pescado, devido a rapidez dos seus resultados e a praticidade na aferição.

Conforme o RIISPOA - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, o pH do pescado fresco deve ser: <6,8 para a porção muscular externa e <6,5 para interna (BRASIL,2017), portanto os valores do presente estudo ultrapassaram o limite recomendado a partir do 14º dia de avaliação das amostras.

Gráfico 10 - Comportamento do pH no músculo de tilápias do Nilo ao longo do período de estocagem em gelo



Segundo Albuquerque *et al.* (2004), os valores de pH encontrados no músculo da tilápia variam de 6,18 a 6,77, essas mudanças ocorrem pelas atividades enzimáticas e bacterianas alterando a concentração de íons H^+ livres. Ao realizarem uma avaliação de filés de tilápias comercializados em diferentes tipos de embalagem, Kawakita *et al.*, (2018) constataram uma oscilação de pH de 6,32 a 6,8 no tratamento 1, em que os filés eram mantidos em gelo no interior de uma caixa isotérmica. Os autores afirmam que outro fator importante para alterações no pH é a produção de amônia por degradação de nucleotídeos e a desaminação de aminoácidos, que leva o pescado a perder o frescor.

O pH próximo da neutralidade torna o pescado susceptível a decomposição, com curto período de conservação. Conforme os valores passam de neutros a alcalinos, o pescado vai se tornando impróprio para o consumo. A variação de pH pode ser influenciada por fatores como a carga microbiana, a resistência do pescado a captura, o padrão de decomposição proteica e suas condições de armazenamento e manipulação (CHAGAS *et al.*, 2010; FARIAS; FREITAS, 2011).

Araújo *et al.* (2017) desenvolveram e aplicaram o MIQ para o tambaqui eviscerado e refrigerado por 30 dias, as alterações do pH foram significativas a partir do 9º dia e atingiu no 22º dia o limite de 6,5 estabelecido pela legislação brasileira. Segundo os mesmos autores, os valores de pH tendem a aumentar com o tempo de acondicionamento, devido ao acúmulo de bases voláteis totais formadas pela atividade autolítica e bacteriana.

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto pode-se concluir que:

- ✓ Através da análise de atributos sensoriais do pescado, a base do Método do Índice de Qualidade, foi possível determinar um período de mais de sete (7) dias para que o pescado sofresse alterações perceptíveis aos sentidos dos analistas. No vigésimo oitavo dia, as alterações alcançaram a pontuação elevada em deméritos determinando a rejeição do pescado;
- ✓ O gelo utilizado na conservação do pescado não representou uma fonte de contaminação por bactérias do grupo dos coliformes, estando dentro dos padrões de potabilidade estabelecidos pela Portaria nº 2914 e sendo próprio para o consumo humano e conservação de alimentos;
- ✓ As contagens de bactérias mesófilas e psicrófilas ao longo do tempo de estocagem dos peixes apresentaram comportamentos semelhantes com pouco crescimento nas duas primeiras semanas e elevação do número a partir daí, até o final do período de estocagem indicando um período de adaptação dessas bactérias às condições de temperatura;
- ✓ Houve correlação elevada entre as contagens bacterianas e os parâmetros do MIQ, indicando a ação das bactérias na deterioração do pescado, com uma relação direta entre a concentração bacteriana e redução das características de frescor do pescado;
- ✓ As bases voláteis totais mostraram ser uma análise físico-química de baixa eficiência para a tilápia do Nilo, visto que o pescado perdeu todas suas qualidades sensoriais e microbiológicas e ainda assim apresentou valores dentro do limite estabelecido como seguro para o consumo humano;
- ✓ A análise da qualidade do pescado através do monitoramento do pH do músculo foi coerente com os parâmetros sensoriais e microbiológicos, indicando alterações significativas após a primeira semana de estocagem.
- ✓ Bactérias do gênero *Pseudomonas* foram as mais frequentes entre os isolados de superfícies, brânquias e músculos de tilápias. Também houve a presença de bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Bacillus*. De modo geral, as mesmas bactérias foram isoladas do corpo das tilápias mas com abundâncias relativas diferentes.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-GAWAD, F. K. *et al.* Detection of *Staphylococcus aureus* from fish and water samples collected from Lake Qarun. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 6, n. 8, p. 366-372, 2015.
- ADALID, R. I. *et al.* **Control microbiológico de panga (*Pangasius hypophthalmus*), tilapia (*Oreochromis spp.*) y merluza (*Merluccius merluccius*) ultracongelado. Análisis de presencia de bacterias patógenas.** 2017. Dissertação (Mestrado em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Tècnica Superior D'Engenyeria Agrnòmica I Del Medi Natural, Universitat politècnica de València, València, 2017.
- ALBUQUERQUE, W. F. *et al.* Estado de frescor, textura e composição muscular da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) abatida com dióxido de carbono e armazenada em gelo. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 35, p. 264-271, 2004.
- ALI, H. H. Isolation and identification of *Staphylococcus* bacteria from fish of fresh water and its antibiotics sensitivity in mosul city. **Basrah Journal of Veterinary Research**, v.1, n. 1, p. 33-42, 2014.
- ANDRADE, S. DA C. S. *et al.* Validade comercial de sardinhas inteiras e refrigeradas avaliada por análises físico-químicas, bacteriológicas e sensorial. **Ciência Rural**, v. 42, n. 10, p. 1901-1907, 2012.
- ALMEIDA, M. N. *et al.* Alterações *post-mortem* em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo. **Ciência Rural**, v.36, n. 4, p. 1288-1293, 2006.
- AMARAL, G. V.; FREITAS, D. D. G. C. Método do índice de qualidade na determinação do frescor de peixes. **Ciência Rural**, v.43, n. 11, p. 2093-2100, 2013.
- ALVES, G. L.; TEÓFILO, T.S. Aspectos higiênicos sanitários de estabelecimentos de comercialização de pescados no “Mercado do Peixe” em São Luís - MA. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 26, p. 1-8, 2016.
- ARAÚJO, W. S. C. *et al.* Development and Application of the Quality Index Method (QIM) for Farmed Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Stored Under Refrigeration. **Journal of Food Safety**, v. 37, n. 1, p.1-9, 2017.
- BALDIN, C. J. *et al.* Microbiological quality of the ice used in the conservation of seafood. **Global Science and Technology**, v. 09, n. 2, p.74-78, 2016.
- BARTOLOMEU, D. A. F. S. *et al.* Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Archives of Veterinary Science**, v.16, n. 1, p. 21-30, 2011.
- BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. 2007. **Industrialização de tilápias**. Toledo: GFM Gráfica & Editora, BR. 172 p.

- BORGES, A. *et al.* Quality Index Method (QIM) developed for pacu *Piaractus mesopotamicus* and determination of its shelf life. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 311-317, 2013.
- BORGES, A. *et al.* Quality Index Method (QIM) for the hybrid tambacu (*Colossoma macropomum*×*Piaractus mesopotamicus*) and the correlation among its quality parameters. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 432-439, 2014.
- BORGES, A. *et al.* Quality parameters of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) and tambaqui (*Colossoma macropomum*) gutted and stored on ice for different periods. **International Food Research Journal**, v. 21, n. 2, p. 589-596, 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). **Métodos analíticos oficiais para o controle de Produtos de Origem Animal e seus ingredientes**. II - Métodos físicos e químicos. LANARA. Brasília, 1981. 123p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 185, de 13 de maio de 1997. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF.
- BRASIL 2001. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF. Seção 1, p. 46-53, 10 jan. 2001. Disponível em:http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf63767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 03 de mar. de 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº518, de 25 de mar. 2004, Norma de qualidade para água de consumo humano. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 59, 2004. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/portaria_518_2004.pdf. Acesso em: 11 de mar. de 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília - DF, 2011.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico de pesca e aquicultura do Brasil 2011**. Brasília: República Federativa do Brasil 2013. Disponível em:https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/biblioteca/download/estatistica/est_2011_bol__bra.pdf/ Acesso: 10 de jan. de 2019.
- BRASIL, 2017. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/diariooficial-publica-decreto-do-novo-regulamento-de-inspecao-industrial-e-sanitaria>. Acesso: em 07 de maio de 2018.
- CAGUA-MONTAÑO, L. *et al.* Prevalencia de bacterias *Gram* negativas en tilapias comercializadas en el cantón Milagro. [*s.l.*]. 2013, v. 4, n. 1, p. 43-48, 2017.

CARNEIRO, D. O. *et al.* Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 869-876, 2007.

CARVALHO, I. T. Microbiologia dos alimentos. Recife, EDUFRPE, 2010, 86 p.

CARVALHO, S. M. L.; OLIVEIRA, A. E. Avaliação físico-química, microbiológica e macroscópica do gelo comercializado no município de Teresina - PI. **Cadernos Cajuína**, v. 3, n. 1, p. 183-194, 2018.

CHAGAS, V. R. S. *et al.* Qualidade física e química de sardinhas em pré e pós processamento. **Revista de Ciência da Vida**, v. 30, n. 2, p. 29-42, 2010.

CHENG, J. H. *et al.* Recent advances in methods and techniques for freshness quality determination and evaluation of fish and fish fillets: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** v. 55, n. 7, p. 1012-1225, 2015.

CONCEIÇÃO, N. *et al.* Variação espacial e sazonal de microrganismos associados ao cultivo do *Zungaro jahu* (Ihering, 1898), na Estação Ambiental de Volta Grande, no Estado de Minas Gerais. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 30, n. 2, p. 186-190, 2012.

COSTA, A. L. P. DA; NASCIMENTO, J. F. DO; SILVA JUNIOR, C. A. S. DA. Perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* isolados de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializada em feira pública. **Pubvet**, v. 12, n. 5, p. 1-6, 2018.

COUSIN, M. A. Presence and activity of Psychrotrophic bacteria in South East Queensland dairy products. **The Australian Journal of Dairy Technology**. v. 37, p. 147, 2001.

DAL PUPO, H. D. **Diversidade da microbiota Gram-negativa em sistemas de cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2006. 42p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2006.

DAMASCENO, A. **Qualidade (sensorial, microbiológica e físico-química e parasitológica) de salmão (*Salmo salar*, Linnaeus 1778) resfriado, comercializado em Belo Horizonte - MG**. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Departamento de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

DAUDA, A. B.; FOLORUNSO, L. A.; DASUKI, A. Use of probiotics for sustainable aquaculture production in Nigeria. **Journal of Agriculture and Social Research (JASR)**, v. 13, n. 2, p. 42-52, 2013.

DHIAF, A.; BAKHROUF, A.; WITZEL, K., P., 2008. Resuscitation of eleven year VBNC *Citrobacter*. **Journal of Water and Health**, p.565-568, 2008.

DORTA, V. F. *et al.* Condições higiênico-sanitárias do gelo utilizado para conservação do pescado nos mercados de Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 25, n. 196/197, p. 124-128, 2011.

DOWNES, M. P.; ITO, K. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed., Washington: Ed. APHA, p. 676, 2001.

ECHEVENGUÁ, M. M. *et al.* Qualidade da polpa da carpa Húngara transportada viva ou no gelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 2004-2010, 2008.

EISSA, N. M. E. *et al.* Characterization of pseudomonas species isolated from tilapia “*Oreochromis niloticus*” in Qaroun and Wadi-El-Rayan Lakes, Egypt. **Global Veterinaria**, v. 5, n. 2, p. 116-121, 2010.

EL-SHAFAI, S. A. *et al.* Microbial quality of tilapia reared in fecal-contaminated ponds. **Environmental Research**, v. 95, n. 2, p. 231-238, 2004.

FARIA, R.H.*et al.* Manual de Criação de Peixes em Viveiros. Brasília: CODEVASF. 2013.

FARIAS, M. C.; FREITAS J. A. Avaliação sensorial e físico-química de pescado processado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 2, p. 175-179, 2011.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016.** Disponível em: <https://www.fao.org/3/ai5555e.pdf>. Acesso em: 10 de jan. de 2019.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals.** [s. l: s. n.]. v. 35. Disponível em: <https://www.fao.org/3/i9540en.pdf>. Acesso em: 10 de jan. de 2019.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: princípios e práticas.** São Paulo: Artmed; 2006. 602 p.

FENG, P. *et al.* Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. Food and drug administration – FDA/CFSAN. **Bacteriological Analytical Manual online.** 2002. Disponível: <https://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>. Acesso em: 15 de jan. de 2019.

FERNANDES, E. R. **Development of a phage - based biosensor to detect *Salmonella* in food stuff.** 2013. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Biológica) - Escola de Engenharia, Universidade do Minho. 2013.

FERRARI, M. *et al.* Evaluation of the occurrence of mesophilic bacteria in raw milk. **Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 4, n. 2, p. 30-42, 2017.

FERREIRA, E. M. *et al.* Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 49-54, 2014.

FIGUEIREDO JUNIOR C.A., VALENTE A.S.J. **Cultivo de tilápias no Brasil: Origens e cenário atual.** Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural; 2008; Acre, Brasil. Acre: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural; 2008. p. 1-9.

FOGAÇA, F. H. *et al.* Development of quality index for wild cobia *Rachycentron canadum*. In World Aquaculture Society. In: World Aquaculture Society 2011, Natal. **Anais do WAS 2011**, 2011.

FOGAÇA, F.H. *et al.* Development of a quality index method (QIM) sensory scheme of ice-storage cobia *Rachycentron canadum*. In 16th World Congress of Food Science and Technology - IUFoST, 2012, **Anais do 16th World Congress of Food Science and Technology**, 2012.

FUENTES-AMAYA, L. F. *et al.* Sensory, Microbiological and Chemical Changes in Vacuum-Packaged Blue Spotted Emperor (*Lethrinus* sp), Saddletail Snapper (*Lutjanus malabaricus*), Crimson Snapper (*Lutjanus erythropterus*), Barramundi (*Lates calcarifer*) and Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fillets Stored at 4°C. **Food Science & Nutrition**. v. 4, n. 3, p. 479-489, 2016.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.182p.

FREITAS, A.C.; FIGUEIREDO, P. **Conservação por Utilização de Baixas Temperaturas**. In: Conservação de Alimentos. Lisboa, p. 129-136, 2000.

GARTHRIGHT, W. E. US Food and Drug Administration. Center for Disease Control and Prevention. **Bacteriological Analytical Manual Online**. January, 2001. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm>. Acesso em: 28 de mar. de 2018.

GHALY, A.E. *et al.* Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. **American Journal of Applied Sciences**, v. 7, n. 7, p. 859-877, 2010.

GIAMPIETRO, A.; REZENDE - LAGO, N. C. M., Qualidade do gelo utilizado na conservação de pescado fresco. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 505-508, 2009.

GONÇALVES, P.M.R. **O pescado e as bactérias do seu meio ambiente**. Higiene Alimentar; v. 18, n. 116/117, p. 29-32, 2004.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2011. 624 p.

GONÇALVES, A. A.; SOARES, K. M. de P. Quality Index Method scheme for whole fresh carapeba (*Eucinostomus gula*, Quoy & Gaimard, 1824) stored in ice. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 20, 2017. Não paginado.

GONZAGA JUNIOR, M. A. **A avaliação da qualidade de filés de pirarucu (*Arapaima Gigas*, Cuvier, 1829) refrigerados e embalados sob atmosfera modificada**. 2010. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Instituto de Oceanografia. 2010.

GURGEL, A. O.; SOUZA, S. C. R.; PIRES, C. R. F. Método do índice de qualidade para avaliação do frescor do mapará. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 3, n. 2, p. 103-112, 2016.

GUTIÉRREZ GUZMÁN, N. *et al.* Physico-chemical and microbiological changes in commercial tilapia (*Oreochromis niloticus*) during cold storage. **Revista Vitae**, v.22, n.2, p.140-147, 2015.

HUSS, H.H. Quality and quality changes in fresh fish. Rome: **FAO** - Food and Agriculture Organization of United Nations. Fisheries Technical Paper, p. 195, 1995.

HUSS, H.H. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. **FAO** - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - Documento técnico de pesca nº 348. Roma, 202 p., 1998.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. **Blackwell Scientific Publications**, 2 ed., 1986.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa pecuária municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2016. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatistica/>. Acesso em: 09 de jan. de 2018.

KAPUTE, F *et al.* Shelf life of whole Lake Malawi Tilapia (*Chambo*) stored in ice. **Third RUFORUM Biennial Meeting**, Entebbe, v. 13, n. 1, p. 24-28, 2012.

KAWAKITA, E. T. *et al.* Evaluating Tilapia Fillets Traded in Different Packed Methods. **Nucleus**, v. 15, n. 2, p. 237-249, 2018.

KUBITZA, F. Sanidade aquícola. **Panorama da aquicultura**, v. 18, n. 107, p. 1-8, 2008.

LANZARIN, M *et al.* Quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e ocorrência de Salmonella spp. em híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* x *Colossoma macropomum*), comercializado em Cuiabá, MT. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 1500. 2012.

LANZARIN, M. *et al.* Quality Index Method (QIM) for ice stored gutted Amazonian Pintado (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) and estimation of shelf life. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 363–370, 2016.

LAPA GUIMARÃES. **Aminas biogénicas, aminas voláteis, triptofano livre e ureia como índices químicos de qualidade e frescor do pescado**. 2005. 125p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. 2005.

LIMA JÚNIOR, E.M.L. *et al.* Characterization of the microbiota of the skin and oral cavity of *Oreochromis niloticus*. **Journal of Health & Biological Sciences**. v. 4, n. 3, p. 193-197, 2016.

LORENZON, C.S. **Perfil microbiológico de peixe e água de cultivo em pesque-pagues situados na região nordeste do Estado de São Paulo**. 2009. 42 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP). 2009.

LUNDBLAD, R.L.; MACDONALD, F. **Handbook of biochemistry and molecular biology**. 5ªed.CRC Press, p. 1017, 2018.

MAIA, A.A. *et al.* Satisfação profissional dos enfermeiros... Que realidade?! Serviço de Cuidados Inrensvivo versus Serviço de Medicina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.29, n.1, p. 114-119, 2009.

MANDAL, S.C. *et al.* Coliform bacteria in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* of shrimp-gher, pond and fishmarket. **World Journal of Fish and Marine Sciences**, Dubai, v. 1, n. 3, p. 160-166, 2009.

MAKINO, L., C. *et al.* Perfil da microbiota intestinal Gram negativa de tilápias nilóticas cultivadas em diferentes sistemas de criação. **Ciência e Tecnologia: Fatec-JB, Jaboticabal (SP)**, v.8, p.8-13, 2016.

MALLE, P. AND POUMEYROL, M. 1989. A new chemical criterium for the quality control of fish: Trimethylamine /Total Volatile Basic Nitrogen (%). **Journal of Food Protection** v. 52, p. 419-423, 1989.

MARINHO, L. S. **Crítérios para avaliação da qualidade da piramatuba (*Brachyplatistoma vaillantii*) inteira estocada em gelo**. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Fluminense, 2011.

MARTINSDÓTTIR, E. *et al.* **Sensory evaluation of fish freshness**. Reference manual for the fish sector, QIM-Eurofish, Svanspret ehf, Islândia, 58 p., 2004.

MOL S. *et al.* Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. **Journal of Muscle Foods**, v. 18, p. 120-128, 2007.

MORO, G. *et al.*; Espécies de peixes para a piscicultura. In: RODRIGUES, A.P.O.; LIMA, A.F.; ALVES, A.L. *et al.* (Ed.). **Piscicultura de Água Doce, Multiplicando Conhecimentos**. Brasília: EMBRAPA, p. 29-70, 2013.

MORSY, M.K. *et al.* Development and validation of a colorimetric sensor array for fish spoilage monitoring. **Food Control**, v. 60, p. 346-352, 2016.

MOSSEL, D.A.A.; MORENO, B.G. **Microbiologia de los alimentos: fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y la calidad de los alimentos**. Zaragoza-España: Acribia S.A. 1982. p.04.

MURRAY A J. M.; DELAHUNTY B C.M.; BAXTER, I.A. Descriptive sensory analysis: past, present and future. **Food Research International**, Barking, v. 34, p. 461-471, 2001.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 6ªed. Free download, 2018.

NOOJUY, N.; BOONPRAB, K. Quality index method (QIM) and its related indexes NUNES, M. L.; BATISTA, E. I. Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. **Ipimar**, n. 29,2004.

NUNES, M.L.; BATISTA, I. **Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado**. Divulgação IPIMAR, Algés, 2007. Disponível em: <http://ipimar-iniap.ipimar.pt/servicos/biblioteca/edicoes/ipimar-divulgacao/Folheto29.pdf> Acesso em: 12 de abril de 2018.

NUNES, M. L. *et al.* Aplicação do Índice de Qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. **Ipimar**, v. 4, n. 15, p.51, 2007.

OCAÑO-HIGUERA, V. M. *et al.* Quality and shelf life of the gonad of lion's paw scallop transported and stored whole in refrigeration. **Food Technology**, v. 45, n. 5, p. 6-20, 2015.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. 1. ed. São Paulo: Editora Varela, 1999.

OLIVEIRA, V.M. **Estudo da qualidade do camarão branco do Pacífico (*Litopennaeus vannamei*)**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Fluminense, 2005.

OLIVEIRA, P.R. 2007. **Qualidade do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) procedente da piscicultura, estocado em gelo, congelado e de seus produtos derivados**. Tese (Doutorado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) INPA/UFAM, Manaus, AM, 144p.

OLIVEIRA, P. R. *et al.* Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) durante estocagem em gelo. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 67-74, 2014.

ORDOÑEZ, J. A. *et al.* **Tecnologia dos alimentos** - Vol. 2, Porto Alegre: Artmed, 2005, 280p.

PAKINGKING JR. R., P. PALMA, R. USERO. Quantitative and qualitative analyses of the bacterial microbiota of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in earthen ponds in the Philippines. **World Journal Microbiology Biotechnology**. v. 31, n. 2, p. 265-275, 2015.

PERÉZ, A. C. A. *et al.* Procedimentos Higiênico-Sanitários para a Indústria e Inspectores de Pescado: Recomendações. FAPESP, Santos, p. 12, 2007.

PIMENTEL, L.P.S. **Características físico-químicas e microbiológicas do gelo utilizado na conservação do pescado comercializado em supermercados da Grande São Paulo, Brasil**. 2001. 72f. Dissertação (Mestrado em Prática de Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PLATA, K. *et al.* *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. **Acta Biochimica Polonica**, v. 56, p. 597-612, 2009.

RALL, V. L. M. *et al.* Enumeração de coliformes termotolerantes em pescados frescos e congelados. **PUBVET**, Londrina, v. 2, n. 39, p. 95, outubro, 2008.

REIS, D. H. C. *et al.* Avaliação do perfil microbiológico do peixe *Pseudoplatystoma corruscans* e *Colossoma macropomum* (pintado e tambaqui), comercializado no município de rolim de moura, tendo em foco a saúde pública. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia**, v. 6, n. 1, p. 1-62, 2017.

RITTER, D. O. *et al.* Quality Index Method (QIM) for gutted ice-stored hybrid tambatinga (*Colossoma macropomum*×*Piaractus brachypomum*) and study of shelf life. **LWT - Food Science and Technology**, v. 67, p. 55-61, 2016.

RODRIGUES, P. T. *et al.* Avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada, eviscerada e conservada em gelo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 1, p.67-71, 2008.

RODRIGUES, P. T. *et al.* Quality index method (QIM) and quantitative descriptive analysis (QDA) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) quality indices. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 3, p. 209-216, 2016.

ROSA, M. P. **Os fatores que influenciam na qualidade do pescado**. São Paulo. Tese (Doutorado em Saúde Pública) Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, 2001.

SALES, L. M.; SILVA, T. M. *Staphylococcus aureus* metilina resistente: Um desafio para a saúde pública. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 3, p. 1-13, 2012.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, p. 264, 2010.

SANT'ANA, L. S. *et al.* Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life office-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2253-2259, 2011.

SANTOS, A. P. B. **Índices químicos, sensoriais e microbiológicos para avaliação do frescor de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) armazenada em gelo**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Engenharia de Alimentos), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.

SANTOS, T. T. *et al.* Estabilidade da caranha em diferentes períodos de armazenamento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 14, p. 1316-1324, 2018.

SCHERER, R. *et al.* Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyn godonidella*). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, n. 4, p. 680-684, 2005.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Evolução Da Piscicultura No Brasil: Diagnóstico E Desenvolvimento Da Cadeia Produtiva De Tilápia**. **Instituto de pesquisa Econômica Aplicada - Ipea**, p. 35, 2017.

SEBRAE - SERVIÇO DE APOIO ÀS MICROS E PEQUENAS EMPRESAS. **Criação de tilápias em tanques escavados**. Natal: Sebrae, 2014.

SEBRAE - SERVIÇO DE APOIO ÀS MICROS E PEQUENAS EMPRESAS. **Aquicultura no Brasil: série estudo mercadológico**. Brasil, BR. 2015.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007. 552p.

SILVA, G. F. DA *et al.* **TILÁPIA-DO-NILO Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná**. 2015. 290p.

SILVA, J. L. S. DA *et al.* Aquatic microbiota diversity in the culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using bioflocs or periphyton: virulence factors and biofilm formation. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 3, p. 233, 2016.

SIMÕES, M. R *et al.* Physicochemical and microbiological composition and yield of thai-style tilapia fillets (*Oreochromis niloticus*). **Ciência de Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 27, n.3, p. 608- 613, 2007.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. Aplicação do método do índice de qualidade (MIQ) para o estudo da vida útil de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sem pele, armazenados em gelo. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2289-2300, 2012.

SOUSA, S.C.; NETO, E.B.; LEITE, M.A. Piscicultura e o custo de produção de peixe redondo em tanque escavado. **Qualia: a ciência em movimento**, v. 2, n. 2, p. 01-25, 2015.

SOUZA, A. L. M. DE *et al.* Histamina e rastreamento de pescado: revisão de literatura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, p. 1-11, 2015.

STALEY, J. T. *et al.* **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: The Proteobacteria**. 2th ed. New York: Springer, 2005. v. 2, part B, 1388p.

SUSSEL, F.B. Criação de tilápia cresce vigorosamente no Brasil. Anuário de Pecuária Brasileira, Anualpec, 2011. Disponível em:http://ftp.sp.gov.br/ftppesca/Tilapia_2011.pdf/. Acesso em: 10 de jan. de 2019.

SUSSEL, F.R. Burocracia atrasa a produção de tilápias. **Anualpec**, v. 20, n. 3, p. 294, 2013.

SVEINSDÓTTIR, K. *et al.* Quality index method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 237-245, 2003.

THANKAPPAN, B. *et al.* Characterization of *Bacillus* spp. From the Gastrointestinal Tract of *Labeo rohita* Towards to Identify Novel Probiotics Against Fish Pathogens. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 1, p. 340-353, 2015.

TAVARES, G.C.; PALHARES, M.M. Epidemiologia, diagnóstico e controle das principais bacterioses que afetam a tilapicultura no Brasil. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, v. 12, p. 34-39, 2011.

- TEIXEIRA, M. S. *et al.* Método do Índice de Qualidade (MIQ): protocolo sensorial para corvina (*Micropogonias furnieri*). **Revista Brasileira Ciência Veterinária**. v. 16, n. 2, p. 83-88, 2009.
- TIAMIYU, A.M. *et al.* Occurrence and Antibiotic Sensitivity of Bacterial Strains Isolated from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) obtained in Ibadan, Southwest Nigeria. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 3, p. 19-26, 2015.
- TOLEDO, G. L.; OVALLE, I, J. **Estatística Básica**. 2^a Ed. São Paulo: Atlas, 1985.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10 ed. Artmed, cap. 3, p. 69 - 70, cap. 14, p. 400 - 403, 2012.
- VASUT, R.G; ROBECCI, M. D. Food contamination with psychrophilic bacteria. **Lucrari Stiintifice Medicina Veterinara**, Timisoara, v. 42, 2009.
- VICENTE, I.S.T; FONSECA-ALVES, C.E. Impact introduced Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on Non-native Aquatic Ecosystems. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 16, n. 3, p. 121-126, 2013.
- ZACHAROV, E. H.; HALPERN, M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 22, p. 7162-7168, 2007.
- ZHONG, L. *et al.* Entry of *Vibrio cincinnatiensis* into viable but nonculturable state and its resuscitation. **Letters Applied Microbiology**, v. 48, p. 247-252, 2009.

APÊNDICE A – TABELA DO MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE

Tabela do método do índice de qualidade, p. 24.

Atributos de qualidade	Parâmetro	Características	Pontos
ASPECTO GERAL	Pele	Com brilho, coloração acizentadas com listras mais escuras intercaladas e bem definidas	0 <input type="checkbox"/>
		Brilho menos intenso, com diminuição da definição das listras	1 <input type="checkbox"/>
		Sem brilho, com perda de definição das listras, cores desvanecidas	2 <input type="checkbox"/>
	Escamas	Aderidas	0 <input type="checkbox"/>
		Levemente aderidas	1 <input type="checkbox"/>
		Perda de escamas	2 <input type="checkbox"/>
	Rigidez	Tenso	0 <input type="checkbox"/>
		Menos tenso	1 <input type="checkbox"/>
		Mole	2 <input type="checkbox"/>
	Muco	Ausente	0 <input type="checkbox"/>
		Presente	1 <input type="checkbox"/>
		Excessivo	2 <input type="checkbox"/>
OLHOS	Transparência da córnea	Límpida	0 <input type="checkbox"/>
		Ligeiramente opaca	1 <input type="checkbox"/>
		Leitosa, opaca	2 <input type="checkbox"/>
	Pupila	Preta, bem delineada	0 <input type="checkbox"/>
		Enevoada, ainda com delineamento	1 <input type="checkbox"/>
		Enevoada, sem delineamento	2 <input type="checkbox"/>
	Forma	Protuberante, convexa	0 <input type="checkbox"/>
		Achatada, plana	1 <input type="checkbox"/>
		Côncava, afundada	2 <input type="checkbox"/>
BRÂNQUIAS	Odor	Metálico	0 <input type="checkbox"/>
		Sangue	1 <input type="checkbox"/>
		Rançoso	2 <input type="checkbox"/>
	Cor	Vermelho vivo	0 <input type="checkbox"/>
		Vermelho escuro	1 <input type="checkbox"/>
		Marrom a descoradas	2 <input type="checkbox"/>
TOTAL		18	

Fonte: Adaptado Rodrigues *et al.* (2008).