



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

**GABRIEL BEZERRA SANTOS**

**ALTERAÇÕES SENSORIAL, MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE**  
**CAMARÕES (*Litopenaeus vannamei*) INTEIROS E PROCESSADOS**  
**ARMAZENADOS EM GELO**

**FORTALEZA**

**2020**

GABRIEL BEZERRA SANTOS

ALTERAÇÕES SENSORIAL, MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE  
CAMARÕES (*Litopenaeus vannamei*) INTEIROS E PROCESSADOS ARMAZENADOS  
EM GELO

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<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Oscarina Viana de Sousa.

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.

FORTALEZA

2020

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)

---

S235a Santos, Gabriel Bezerra.  
Alterações sensorial, microbiológica e físico-química de camarões (*Litopenaeus vannamei*) inteiros e processados armazenados em gelo / Gabriel Bezerra Santos. – 2020.  
78 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Oscarina Viana de Sousa.

Coorientação: Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes.

1. Índice de qualidade. 2. Crustáceos. 3. Resfriamento. 4. Vida útil. I. Título.

CDD 639.2

---

GABRIEL BEZERRA SANTOS

ALTERAÇÕES SENSORIAL, MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DE  
CAMARÕES (*Litopenaeus vannamei*) INTEIROS E PROCESSADOS ARMAZENADOS  
EM GELO

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<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Oscarina Viana de Sousa (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Silvana Saker Sampaio  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosa Helena Rebouças  
Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr)

A Deus.

Aos meus pais, Luis Filho dos Santos e Maria  
Valtelina Bezerra Santos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por todo ensinamento divino e aos meus pais, Luis Filho dos Santos e Maria Valtelina Bezerra Santos, por estarem sempre ao meu lado me apoiando e me dando suporte, em todos os sentidos, para que eu continue a carreira acadêmica, como também os meus irmãos Rafael Bezerra Santos e Raquel Bezerra Santos.

A toda família do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP), que me ajudou a conseguir realizar este experimento. Em especial a Larissa Nunes, Alexandra Sampaio, Jhones Lima, Tereza e Alef Vasconcelos que foram peças fundamentais para que o experimento fosse executado com sucesso, participando assiduamente das análises e das demais atividades do laboratório.

Ao Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE) por ter cedido o espaço para realização de análises físico-químicas, em especial ao Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza, ao Diego Alves do Vale e a Jaqueline Alves de Matos pela dedicação do seu tempo em me auxiliar nas análises.

Agradecer imensamente a minha orientadora, a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Oscarina Viana de Sousa e a minha co-orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes, por todo ensinamento durante esse período de mestrado, pelos saberes e experiências compartilhadas. Obrigado por toda ajuda, ensinamentos, conselhos e paciência dedicados a mim.

As professoras participantes da banca examinadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Silvana Saker Sampaio, Dr<sup>ª</sup>. Fátima Cristiane Teles de Carvalho e Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rosa Helena Rebouças, pelo tempo dedicado à participação, leitura e pelas valiosas colaborações e sugestões para melhoria do trabalho.

A todos os meus colegas de turma de pós-graduação pelas reflexões, críticas, debates dentro e fora da sala de aula e por todas as sugestões recebidas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano.” **Isaac Newton**

## RESUMO

O camarão é um alimento altamente perecível quando comparado a outras fontes de proteína animal. Portanto, para retardar o início do processo de degradação e garantir a qualidade do pescado, alguns procedimentos são adotados, como a evisceração e o resfriamento em gelo. A qualidade do pescado pode ser avaliada através de parâmetros sensoriais, microbiológicos e físico-químicos que, em conjunto, fornecem informações sobre tempo de vida útil do produto e segurança para o consumidor. Esses parâmetros apresentam prós e contras e podem ter ou não relações entre si. Buscando aprimorar os procedimentos para o monitoramento de camarões refrigerados, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de camarões submetidos a diferentes processamentos e mantidos sob refrigeração através de análises sensorial, microbiológica e físico-química, identificar a influência da microbiota do gelo e identificar a sucessão de grupos bacterianos cultiváveis ao longo do período de armazenamento. Foram realizados dois experimentos, o primeiro em março/2019 e o segundo em outubro/2019, dividindo os camarões em grupos de acordo com o pré-tratamento ao qual foram submetidos: camarões inteiros (T1), camarões descabeçados e eviscerados (T2) e camarões descascados, descabeçados e eviscerados (T3). Os camarões, analisados quanto aos aspectos sensoriais pelo MIQ, microbiológicos com contagens de bactérias viáveis mesófilas (CBV<sub>m</sub>) e psicrófilas (CBV<sub>p</sub>) e determinação de pH, foram mantidos refrigerados a 2 °C durante 20 dias. A análise sensorial mostrou que os camarões T1 apresentaram tempo de vida útil mais curto que os dos outros dois tratamentos em ambos os experimentos. O quantitativo de CBV<sub>m</sub> e CBV<sub>p</sub> foi similar com contagens estáveis até o 14º dia e crescimento acelerado a partir daí com contagens excedendo valores de 10<sup>6</sup> para CBV<sub>m</sub> e 10<sup>7</sup> para CBV<sub>p</sub> no primeiro experimento. O segundo experimento apresentou baixas contagens, em todos os tratamentos, até o 12º dia para mesófilas e 8º para psicrófilas e excedendo 10<sup>7</sup> para CBV<sub>m</sub> e 10<sup>8</sup> para CBV<sub>p</sub> aos 20 dias. O T2 apresentou maior carga bacteriana ao final do experimento em ambos experimentos. Apesar da legislação brasileira não estabelecer um limite máximo para bactérias mesófilas em pescado, o ICMSF (ICMSF, 1986) recomenda que este número não ultrapasse 10<sup>7</sup> UFC/g. As bactérias predominantes ao final dos 20 dias foram pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* e *Vibrio*, reconhecidos como degradadores de pescado de origem marinha. O MIQ se mostrou uma ferramenta eficaz para análise de qualidade de camarões mantidos em gelo, entretanto deve ser adaptado para o tipo de processamento aplicado ao produto.

**Palavras-chave:** Índice de qualidade. Crustáceos. Resfriamento. Vida útil.



## ABSTRACT

Shrimp is a highly perishable food when compared to other animal protein sources. Therefore, to delay or start the degradation process and guarantee the quality of the fish, some procedures are adopted, such as evisceration and ice cooling. The quality of the fish can be assessed through sensory, microbiological and physical chemical parameters, together with information on the product's useful life and safety for the consumer. These parameters presented are pros and cons and may or may not have relations between them. Seeking to improve the procedures for monitoring refrigerated shrimp, the objective was to evaluate the quality of the shrimp, the different processes and kept under refrigeration through sensory, microbiological and physical-chemical analyzes, to identify the influence of the ice microbiota and to use the succession of cultivable bacterial groups throughout the storage period. Two experiments were carried out, the first in march/2019 and the second in october/2019, dividing the groups into groups according to the pretreatment treatment and the following groups: whole groups (T1), headed and eviscerated groups (T2) and groups shelled, headed and gutted (T3). The shrimps analyzed for sensory aspects by the QIM, microbiological with counters of viable mesophilic bacteria (CBV<sub>m</sub>) and psychrophilic (CBV<sub>p</sub>) and pH determination were kept refrigerated at 2 °C for 20 days. The sensory analysis showed that the T1 prawns show a shorter shelf life than the other two used in the two experiments. The quantity of CBV<sub>m</sub> and CBV<sub>p</sub> was similar with stable counters up to 14th day and accelerated growth thereafter with surplus values of 10<sup>6</sup> for CBV<sub>m</sub> and 10<sup>7</sup> for CBV<sub>p</sub> in the first experiment. The second experiment shows low counts, in all movements, until the 12th day for mesophiles and 8th for psychrophils and a surplus of 10<sup>7</sup> for CBV<sub>m</sub> and 10<sup>8</sup> for CBV<sub>p</sub> up to 20 days. T2 showed a higher bacterial load at the end of the experiment in both experiments. Although Brazilian legislation does not establish a maximum limit for mesophilic bacteria, the ICMSF (ICMSF, 1986) recommends that this number should not exceed 10<sup>7</sup> CFU/g. The predominant cultivable bacteria at the end of the 20 days belonged to the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* and *Vibrio*, involved in the degradation of marine fish. The QIM proved to be an effective tool for analyzing quality of shrimp kept on ice, however, it must be adapted to the type of processing applied to the product.

**Keywords:** Quality index. Crustaceans. Cooling. Shelf Life.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma para procedimento de quantificação e identificação de bactérias mesófilas e psicrófilas presentes em gelo usado para armazenamento de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ).....	35
Figura 2 – Fluxograma para detectar a presença ou ausência de coliformes e <i>Escherichia coli</i> no gelo usado para armazenamento de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) através da técnica de tubos múltiplos em séries de 5 tubos.....	36
Figura 3 – Fluxograma para análise microbiológica para quantificação de bactérias mesófilas e psicrófilas presentes nos camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) pertencentes ao T1, T2 e T3 armazenado em gelo.....	37
Figura 4 – Fluxograma para medição do pH em camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) armazenados em gelo.....	38
Figura 5 – Evolução do processo de deterioração dos camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos aos tratamentos: tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c).....	44

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Parâmetros e pontuação utilizados para avaliação sensorial de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) inteiros (T1) e posterior determinação do Método do Índice de Qualidade (MIQ).....	33
Quadro 2 – Parâmetros e pontuação utilizados para avaliação sensorial de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) descabeçados e eviscerados (T2) e posterior determinação do Método do Índice de Qualidade (MIQ).....	34
Quadro 3 – Parâmetros e pontuação utilizados para avaliação sensorial de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) descabeçados, descascados e eviscerados (T3) e posterior determinação do Método do Índice de Qualidade (MIQ).....	34
Quadro 4 – Quantificação dos representantes em cada gênero isolado em cada experimento, incluindo todo o grupo de bactérias mesófilas e psicrófilas dos três tratamentos e dos dois experimentos.....	65

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Índice de qualidade (IQ) relatado pelos painelistas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) armazenados em gelo, para cada dia de análise.....	41
Gráfico 2 – Modelo de regressão linear de parâmetros avaliados sensorialmente por painelistas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) ao longo do período de armazenamento em gelo.....	42
Gráfico 3 – Comportamento do número de bactérias mesófilas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do primeiro experimento ao longo do período de estocagem em gelo em escala logarítmica.....	50
Gráfico 4 – Comportamento do número de bactérias mesófilas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do primeiro experimento ao longo do período de estocagem em gelo em escala logarítmica.....	51
Gráfico 5 – Comportamento do número de bactérias mesófilas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do segundo experimento ao longo do período de estocagem em gelo em escala logarítmica.....	53
Gráfico 6 – Comportamento do número de bactérias psicrófilas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do segundo experimento ao longo do período de estocagem em gelo em escala logarítmica.....	53
Gráfico 7 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias mesófilas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) ao longo do período de armazenamento em gelo.....	57
Gráfico 8 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias psicrófilas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) ao longo do período de armazenamento em gelo.....	58
Gráfico 9 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias mesófilas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) relacionado ao índice de qualidade (IQ) no primeiro experimento.....	59

Gráfico 10 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias mesófilas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 2 relacionado ao índice de qualidade (IQ) no segundo experimento.....	60
Gráfico 11 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias psicrófilas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) relacionado ao índice de qualidade (IQ) no primeiro experimento.....	61
Gráfico 12 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias psicrófilas para os camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) submetidos ao tratamento 2 (a), tratamento 3 (b) relacionado ao índice de qualidade (IQ) no segundo experimento.....	62
Gráfico 13 – Diversidade microbiana mesofílica (a) e psicrófila (b) isolada de camarão ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) ao longo de 20 dias de armazenamento em gelo no primeiro experimento.....	63
Gráfico 14 – Diversidade microbiana mesofílica (a) e psicrófila (b) isolada de camarão ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) ao longo de 20 dias de armazenamento em gelo no segundo experimento.....	64
Gráfico 15 – Comportamento do pH nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ), ao longo do período de estocagem em gelo, primeiro experimento.....	68
Gráfico 16 – Comportamento do pH nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ), ao longo do período de estocagem em gelo, segundo experimento.....	70

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios $\pm$ desvio padrão do índice de qualidade (IQ), obtidos para camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ), relatados pelos painelistas no primeiro experimento desde a análise do dia 0 até o dia 20, com intervalo de 4 dias para cada tratamento.....	40
Tabela 2 – Valores médios $\pm$ desvio padrão do índice de qualidade (IQ), obtidos para camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ), relatados pelos painelistas no segundo experimento desde a análise do dia 0 até o dia 20, com intervalo de 4 dias para cada tratamento.....	40
Tabela 3 – Principais alterações sensoriais relatadas pelos painelistas durante o período de armazenamento em gelo nos dois experimentos.....	45
Tabela 4 – Análise microbiológica do gelo utilizado para conservação de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ), no primeiro experimento.....	47
Tabela 5 – Contagem de bactérias mesofílicas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do primeiro experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.....	49
Tabela 6 – Contagem de bactérias psicrófilas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do primeiro experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.....	50
Tabela 7 – Contagem de bactérias mesofílicas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do segundo experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.....	52
Tabela 8 – Contagem de bactérias psicrófilas nos tecidos de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) do segundo experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.....	52
Tabela 9 – Valores de pH encontrados no tecido de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) para os três tratamentos, primeiro experimento.....	67
Tabela 10 – Modelo de regressão linear dos valores de pH em função do tempo de estocagem e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para os 3 tratamentos, primeiro experimento.....	68
Tabela 11 – Valores de pH encontrados no tecido de camarões ( <i>Litopenaeus vannamei</i> ) para os três tratamentos, segundo experimento.....	69

Tabela 12 – Modelo de regressão linear dos valores de pH em função do tempo de estocagem e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para os 3 tratamentos, segundo experimento.....	69
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aw	Atividade de água
C	Celsius
CBV <sub>m</sub>	Bactérias Viáveis Mesófilas
CBV <sub>p</sub>	Bactérias Viáveis Psicrófilas
est.	Estimada
g	Gramma
IQ	Índice de qualidade
lag	Fase de latência
log	Fase exponencial
MIQ	Método do Índice de Qualidade
mL	Mililitro
NTU	Unidade Nefelométrica de Turbidez
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partículas por milhão
UFC	Unidades Formadoras de Colônias



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	22
<b>2.1</b>	<b>Produção mundial de pescado</b> .....	22
<b>2.1.1</b>	<i>Carcinicultura</i> .....	23
<b>2.2</b>	<b>Processos de deterioração de crustáceos</b> .....	24
<b>2.3</b>	<b>Análise sensorial</b> .....	25
<b>2.3.1</b>	<i>Método do Índice de Qualidade (MIQ)</i> .....	26
<b>2.4</b>	<b>Análises microbiológicas</b> .....	27
<b>2.4.1</b>	<i>Gelo</i> .....	28
<b>2.4.2</b>	<i>Bactérias mesófilas</i> .....	29
<b>2.4.3</b>	<i>Bactérias psicrófilas</i> .....	30
<b>2.5</b>	<b>Análise físico-química</b> .....	30
<b>2.5.1</b>	<i>pH</i> .....	30
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	32
<b>3.1</b>	<b>Local de coleta e obtenção das amostras</b> .....	32
<b>3.2</b>	<b>Procedimentos em laboratório</b> .....	32
<b>3.2.1</b>	<i>Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ)</i> .....	33
<b>3.2.2</b>	<i>Análises microbiológicas do gelo</i> .....	35
<b>3.2.3</b>	<i>Análises microbiológicas do pescado</i> .....	37
<b>3.2.3.1</b>	<i>Preparo das amostras para análise microbiológica</i> .....	37
<b>3.2.4</b>	<i>Isolamento e identificação bacteriana</i> .....	38
<b>3.3</b>	<b>Análise físico-química</b> .....	38
<b>3.3.1</b>	<i>Determinação do pH</i> .....	38
<b>3.4</b>	<b>Análise estatística</b> .....	39
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
<b>4.1</b>	<b>Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ)</b> .....	40
<b>4.2</b>	<b>Análises microbiológicas</b> .....	46
<b>4.2.1</b>	<i>Análise microbiológica do gelo</i> .....	46
<b>4.2.1.1</b>	<i>Primeiro experimento</i> .....	46
<b>4.2.1.2</b>	<i>Segundo experimento</i> .....	47
<b>4.2.1.3</b>	<i>Comparativo entre os experimentos</i> .....	47

<b>4.2.2</b>	<b><i>Análise microbiológica do camarão</i></b> .....	49
4.2.2.1	<i>Primeiro experimento</i> .....	49
4.2.2.2	<i>Segundo experimento</i> .....	52
4.2.2.3	<i>Comparativo entre os experimentos</i> .....	54
4.2.2.4	<i>Análise de regressão exponencial de crescimento</i> .....	57
<b>4.2.3</b>	<b><i>Isolamento e identificação bacteriana</i></b> .....	62
4.2.3.1	<i>Primeiro experimento</i> .....	63
4.2.3.2	<i>Segundo experimento</i> .....	64
4.2.3.3	<i>Comparativo entre os experimentos</i> .....	65
<b>4.3</b>	<b>Análise físico-química</b> .....	67
<b>4.3.1</b>	<b>pH</b> .....	67
4.3.1.1	<i>Primeiro experimento</i> .....	67
4.3.1.2	<i>Segundo experimento</i> .....	69
4.3.1.3	<i>Comparativo entre os experimentos</i> .....	70
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	72
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	74

## 1 INTRODUÇÃO

O pescado possui características que favorecem o crescimento microbiano, alterando a natureza química do produto. Dentre essas características podemos destacar a elevada atividade de água ( $A_w$ ) nos tecidos, elevado teor de nutrientes, presença de enzimas tissulares e pH próximo da neutralidade (SOUZA *et al.*, 2013). Vale destacar ainda que o processo de deterioração do pescado resulta na produção de odores derivados de compostos voláteis e ranço (KAYIM *et al.*, 2011).

O camarão é considerado um alimento altamente perecível, principalmente quando comercializado *in natura* e, por esta razão, métodos de conservação como a salga, secagem, resfriamento, congelamento e defumação são necessários para retardar o processo e aumentar a vida útil do produto (EVANGELISTA-BARRETO *et al.*, 2016).

A indústria está cada vez mais preocupada em desenvolver tecnologias para melhorar a conservação de pescados. A conservação em baixas temperaturas, como o resfriamento e o congelamento, é capaz de preservar as características microbiológicas, sensoriais e físico-químicas. Mesmo nessas condições, o processo de deterioração dos tecidos continua devido a fatores como a queima pelo frio, a oxidação lipídica e a perda de água, sendo importante a utilização de outras técnicas como o glaciamento e a utilização de filmes para minimizar esses fatores (REBOUÇAS; GONÇALVES, 2017).

Alguns micro-organismos são reconhecidos como causadores de deterioração. *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens* e *Micrococcus* estão entre os gêneros associados à deterioração do camarão fresco. Para camarões armazenados em gelo, as bactérias psicrófilas Gram negativas se destacam no processo de deterioração (KHODANAZARY, 2019; LU, 2009).

Muitos métodos de avaliação de qualidade, como a avaliação sensorial, microbiológica e físico-química, são utilizados devido à complexidade em se determinar a qualidade do pescado. A análise sensorial é uma ferramenta de avaliação importante para o controle e garantia de qualidade para o pescado. É esperado que o Método do Índice de Qualidade (MIQ) seja o principal método de avaliação sensorial adotado por pesquisadores e pela indústria (GONÇALVES; LIMA; PAULA, 2015).

Para a análise microbiológica, os resultados são mais demorados, necessitando habilidade para execução e interpretação (KAPUTE, 2016). Essa análise constitui uma ferramenta importante para avaliar as condições de saúde do pescado, reduzindo assim o risco

de contaminação biológica para a saúde do consumidor (GONÇALVES; LIMA; PAULA, 2015).

Dentre os métodos físico-químicos, as bases voláteis totais (BVT) e trimetilamina (TMA) são indicadores de deterioração, mas não são adequados para todas as espécies de pescado, pois em algumas, os valores se mantêm constantes nos primeiros dias de armazenamento (KAPUTE, 2016).

Já o potencial hidrogeniônico (pH) é um indicador rápido de frescor, sendo neutro no músculo do pescado vivo, mas aumentando à medida que a deterioração do pescado armazenado avança, podendo indicar inadequação para consumo antes mesmo de atingir limites microbianos inaceitáveis. Estas diferenças entre os parâmetros usados para avaliar a qualidade de alimentos mostram que é necessário utilizar mais de um método de avaliação (sensorial, físico-químico e microbiológico), pois em conjunto, o frescor e a qualidade de peixes armazenados são avaliados com maior fidelidade (KAPUTE, 2016).

O conjunto dessas análises poderá informar sobre a qualidade do pescado e, com isso, ser possível inferir o tempo de armazenamento ou vida de prateleira, garantindo a segurança para os consumidores. Apenas uma análise, quando aplicada individualmente, seja ela microbiológica, sensorial ou físico-química, não é suficiente para aprovar ou rejeitar um alimento (GONÇALVES; SANTOS, 2019).

A pesquisa teve como objetivo geral aplicar e adaptar o MIQ para a qualidade de camarões submetidos a diferentes processamentos e mantidos sob refrigeração através de análises sensorial, microbiológica e físico-química. Os objetivos específicos consistiam em aplicar e adaptar o protocolo do método do índice de qualidade, avaliar a qualidade microbiológica do gelo utilizado na conservação de camarões, verificar através de análise de regressão a interferência de gelo de baixa qualidade microbiológica na conservação de camarões, identificar a sucessão de grupos bacterianos cultiváveis ao longo do período de armazenamento e verificar a eficiência avaliativa do pH como parâmetro de qualidade.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Produção mundial de pescado

De acordo com a FAO (2016), o pescado, seja ele oriundo da pesca ou da aquicultura, compõe uma fonte importante de alimento, nutrição, renda e meios de vida para milhares de pessoas no mundo todo. Segundo a FAO (2018), o consumo *per capita* de peixe aumentou de 9,0 kg em 1961 para 20,2 kg em 2016, elevação de 1,5% ao ano aproximadamente. De acordo com a última publicação do Anuário da FAO (2019), o consumo *per capita* em 2017 foi de 20,3 kg. Esse acréscimo no consumo é decorrente não só da elevação na produção, mas também devido à redução de desperdício e melhor aproveitamento no beneficiamento do pescado.

Em 2017, a produção mundial de peixes foi de 172,6 milhões de toneladas, a aquicultura correspondeu a 92,5 milhões de toneladas (FAO, 2019). Em 2016 a produção total foi de 171 milhões de toneladas com a aquicultura respondendo por 80,4 milhões de toneladas de pescado (FAO, 2018). O volume total de produção foi similar em 2016 e 2017, mas pode ser observado que a aquicultura vem crescendo e teve um salto de um ano para o outro.

O Brasil é o maior produtor de pescado da América do Sul, mas os dados de produção não são repassados desde 2014. Assim, estima-se que a produção brasileira foi de 225 mil toneladas de pescado (FAO, 2018).

Segundo a Embrapa (2017), existem algumas espécies mais comumente cultivadas no Brasil, esse cultivo também varia de acordo com a região do País. Na região Norte, as mais comuns são tambaqui, pirarucu e pirapitinga; na região Nordeste, predominam os cultivos de tilápia e camarão marinho; na região Centro-Oeste se destacam o tambaqui, pacu e pintado; na região Sudeste a tilápia, pacu e pintado; e, por fim, a região Sul a carpa, tilápia, jundiá, ostra e mexilhão.

O camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) é uma espécie de água quente nativa da costa leste do Pacífico, do Golfo da Califórnia, México ao norte do Peru. É um organismo de grande importância econômica e responde por aproximadamente 70% da produção mundial de camarão devido ao seu alto teor de nutrientes como aminoácidos, peptídeos, ácidos graxos poli-insaturados e outros nutrientes importantes (JIA *et al.*, 2019).

### 2.1.1 Carcinicultura

A sociedade enfrenta um grande desafio com relação ao fornecimento de alimentos para a população em um futuro próximo, no qual se estima que haverá 9 bilhões de pessoas, além disso, o mundo vem passando por constantes transformações climáticas e degradação ambiental e, com isso, é de suma importância aumentar e aprimorar formas alternativas de produção de alimentos e preservação do meio ambiente (FAO, 2018).

A carcinicultura marinha é recente quando comparada a outros segmentos da aquicultura e atualmente é o principal vetor para o desenvolvimento de tecnologias e serviços, favorecendo o crescimento acelerado da produção em diversos países, inclusive no Brasil. A carcinicultura marinha brasileira vem passando por diversas transformações desde 1978 quando se deu início a produção comercial do camarão do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) (TAHIM; DAMACENO; ARAÚJO, 2019).

A produção da carcinicultura brasileira em 2018 de acordo com a Pesquisa Pecuária Municipal (PPM) do IBGE (2018) foi de 45,8 mil toneladas, representando aumento de 11,4% em relação ao ano anterior. A produção havia sofrido uma queda em decorrência do Vírus da Síndrome da Mancha Branca no ano de 2016 para 2017, o que acarretou uma redução de 21,2% na produção. A produção de 2018 mostrou que houve uma recuperação, mas ainda longe do que foi alcançado em 2015. A região Nordeste se destacou com 99,4% do total produzido, sendo o estado do Rio Grande do Norte o maior produtor com 43,2% da produção e o Ceará em segundo com 28,5%.

O consumo interno de camarão no Brasil cresceu bastante nos últimos anos, retendo quase toda a produção, porém a carcinicultura ainda tem muito espaço para crescer, pois o consumo deste alimento é muito menor quando comparado com outras fontes de proteína animal. A maior parte da produção é comercializada em bares, restaurantes e comércios de peixes e afins (VIDAL; XIMENES, 2016). As exportações de camarão no período de 2008 a 2017 representaram cerca de US\$ 153 milhões, correspondendo a 24,21 mil toneladas neste período (XIMENES; VIDAL, 2018).

O aumento na produção de camarões deve estar associado a condições adequadas de armazenamento para que preserve por mais tempo as suas características sensoriais, microbiológicas e físico-químicas, sendo de suma importância para que não apresente riscos à saúde do consumidor final (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2005; GIMÉNEZ *et al.*, 2010; JIA *et al.*, 2019).

## 2.2 Processos de deterioração de crustáceos

O pescado é conhecido como uma fonte de proteína de alta digestibilidade. Os produtos pesqueiros são variados podendo incluir peixes, crustáceos, moluscos etc., diferindo de diversas formas, como *habitat*, composição química, odor e sabor. O conteúdo lipídico e a proporção dos diferentes grupos de ácidos graxos variam conforme o hábito alimentar e o ambiente de cada tipo de pescado. A composição proteica dos peixes, moluscos e crustáceos é diferente e interfere também no processamento, até mesmo a qualidade de peixes eviscerados e não eviscerados é diferente durante o armazenamento (MEHTA; NAYAK, 2017).

O processo de deterioração para crustáceos é muito similar ao dos peixes e, o processo de deterioração para camarões, lagostas, caranguejos e lagostins, que são os crustáceos mais consumidos, parece ser essencialmente o mesmo (JAY, 2005). Quando armazenados em gelo, a principal alteração ocorre no aspecto físico com o aparecimento de manchas pretas, conhecidas como melanose. A melanose surge como resultado da oxidação dos fenóis a quinonas pela enzima polifenoloxidase e, as quinonas reagem com as amins ou com o oxigênio e formam as melaninas (GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2005; GIMÉNEZ *et al.*, 2010).

Mehta e Nayak (2017) relataram que o teor de proteína bruta em camarões (*Litopenaeus vannamei*) é de 20% enquanto a corvina (*Johnius dussumieri*) possui apenas 15,4%. O teor de lipídios também é maior no camarão (1,8%) que na corvina (1,3%). Com relação à umidade, a corvina possui 81,4%. Estes fatores juntos caracterizam a corvina como um peixe magro, apresentando também teor de cinzas de 1%. Com relação ao nitrogênio total, os autores relataram que a corvina apresentou 641 mg/100 g de carne e o camarão apresentou 298 mg/100 g de carne.

O crescimento bacteriano é influenciado diretamente pelo pH do músculo do pescado (CANIZALES-RODRÍGUEZ *et al.*, 2013). O estado nutricional e nível de estresse elevado do pescado durante a captura e abate exercerão influência direta na qualidade final do alimento, modificando a concentração de glicogênio presente no músculo interferindo diretamente no pH (MEHTA; NAYAK, 2017).

O camarão fresco possui um corpo curvo, com apêndices e cefalotórax bem aderidos. Pelo fato da carapaça ser transparente, a coloração do músculo deve ser facilmente visualizada, com ausência de pigmento rosa, deve apresentar carne firme, olhos negros e bem destacados e a carapaça deve estar aderente ao corpo (GONÇALVES, 2011).

O camarão possui compostos nitrogenados não proteicos e enzimas autolíticas que favorecem a deterioração dos seus tecidos e suas alterações pós-morte ocorrem rapidamente, o

que pode resultar em odor e sabor de ranço e uma textura mais macia da carne (JIA *et al.*, 2019). Outros fatores estão envolvidos com a deterioração, como a elevada atividade de água ( $A_w$ ) dos tecidos, pH próximo a neutralidade, teor de nutrientes elevado e enzimas tissulares (SOUZA *et al.*, 2013).

O pH próximo à neutralidade, como ocorre nos crustáceos, favorece o crescimento bacteriano, porém esse crescimento também altera o valor do pH durante o processo de deterioração. Já com relação à umidade, os micro-organismos necessitam de uma alta  $A_w$  para seu crescimento. As maiorias dos alimentos possuem  $A_w$  acima de 0,99, o valor de  $A_w$  ideal para o crescimento microbiano é variável, as bactérias Gram negativas necessitam de  $A_w$  maiores que as Gram positivas, porém a maioria das bactérias deteriorantes não crescem com  $A_w$  menor que 0,91. Com relação aos nutrientes, os micro-organismos necessitam de energia para seu desenvolvimento e esta energia é adquirida por meio de açúcares, álcoois e aminoácidos (JAY, 2005).

As bactérias podem utilizar aminoácidos como fonte de energia. Foi relatada a síntese do triptofano (Trp) por bactérias de vida livre, este aminoácido é essencial para mamíferos, algumas plantas e eucariontes inferiores e a via biossintética do Trp parece ser altamente conservado. Foi relatada também a utilização da lisina pelas bactérias e a síntese desse aminoácido é realizada via ácido diaminopimélico (DAP) a partir de aspartato e piruvato (GUTIÉRREZ-PRECIADO; ROMERO; PEIMBER, 2010).

### **2.3 Análise sensorial**

A análise sensorial tem papel fundamental em programas de controle de qualidade, sendo determinante na aceitação do produto. Nessa análise, algumas características são avaliadas como o aspecto, a cor, o cheiro/odor, a textura e até mesmo o sabor e as modificações que ocorrem no decorrer do tempo de estocagem. Com o passar do tempo de estocagem, o pescado apresentará alterações nos parâmetros citados e, dependendo do grau dessas alterações, ele poderá ser considerado impróprio para consumo (KHODANAZARY, 2019).

Esta análise é bastante vantajosa por ser um método não invasivo, preservando a amostra, também por gerar a estimativa do tempo que o pescado está armazenado em gelo e calcular o tempo que ele poderá continuar armazenado em condições de consumo (GONÇALVES, 2011; SVEINSDOTTIR *et al.*, 2002; TAVARES *et al.*, 1988).

A avaliação sensorial é bastante utilizada para verificar e determinar a qualidade do pescado *in natura* e é considerada a principal metodologia para avaliar o frescor de pescados



acondicionados em gelo. Os métodos de avaliação devem ser rápidos, confiáveis, de fácil aplicação e levar em consideração as características da espécie analisada (BOGDANOVIĆ *et al.*, 2012).

A análise sensorial e a determinação de peixe fresco considerado próprio para consumo no Brasil são regulamentadas por algumas legislações como a Portaria nº 185 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1997) e o RIISPOA (BRASIL, 2017). Porém esses regulamentos são abrangentes para pescado no geral, deixando de lado as especificidades, eximindo a expressão real da qualidade sensorial do frescor do pescado (ARAÚJO *et al.*, 2016).

Apesar de ser fácil e rápida, a análise sensorial é considerada subjetiva, pois podem haver diferentes avaliações de acordo com o painalista. Para minimizar os erros de avaliação, foram desenvolvidos vários esquemas de análise sensorial, sendo os mais conhecidos a escala de *Torry Research Station*, o esquema da União Europeia (UE) e o Método do Índice de Qualidade (MIQ) — *Tasmanian Food Research Unit* (BREMNER, 1985; BREMNER; OLLEY; VAIL, 1987; HUSS, 1998).

### **2.3.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ)**

O MIQ é considerado muito importante para que se determine a qualidade e o nível de frescor de alimentos, além de ser bastante utilizado por indústrias pesqueiras e também pelo setor de vigilância sanitária. É um método bastante eficaz e rápido e pode ser utilizado em várias espécies desde que seja adaptado para a espécie analisada (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Foi desenvolvido com base em um esquema elaborado pela *Tasmanian Food Research Unit* na Austrália (BREMNER, 1985), visando a avaliação de peixes refrigerados e atualmente é usado para outros produtos como filés congelados. É uma ferramenta de análise padronizada e confiável para avaliação do frescor de pescados, e as mudanças que ocorrem durante o armazenamento geram uma pontuação que podem indicar a equivalência em dias de armazenamento e vida útil do alimento (ODEYEMI *et al.*, 2018).

A aplicação do método se dá por meio de uma ficha esquematizada, com uma escala estruturada elaborada para avaliação do frescor de pescados (CAMPUS *et al.*, 2011). Essa ficha contém diversos atributos de qualidade que devem ser analisados, como a aparência geral, textura da carne, presença de melanose, cor, odor e as alterações que esses atributos sofrem com o decorrer do tempo de estocagem. Cada atributo pode receber uma pontuação de 0 podendo chegar até 3, sendo 0 o melhor e 3 o pior, fazendo o somatório ao final para indicar o índice de qualidade (IQ) (ODEYEMI *et al.*, 2018; SVEINSDOTTIR *et al.*, 2002).

Os produtos pesqueiros possuem padrões próprios de qualidade e indicadores de deterioração característicos, necessitando de uma metodologia de avaliação sensorial diferente de acordo com a espécie. Visando isto, vários autores desenvolveram o MIQ para diversas espécies, principalmente as emergentes na aquicultura, e a elaboração do MIQ envolve uma série de atributos mais apropriados para que possam identificar o aumento linear do IQ correlacionado com o tempo de estocagem em gelo, ou seja, a perda de frescor com o tempo de armazenamento (SANT'ANA; SOARES; VAZ-PIRES, 2011; SVEINSDOTTIR *et al.*, 2002).

Atualmente existem diversos protocolos MIQ para diferentes espécies, como sardinha (*Sardina pilchardus*) e polvo (*Octopus vulgaris*) (NUNES *et al.*, 2007), sardinha (*Sardinella brasiliensis* e *Cetengraulis edentulus*) (ANDRADE *et al.*, 2012), tambaqui cultivado (*Colossoma macropomum*) (ARAÚJO *et al.*, 2016) e camarão cultivado (*Litopenaeus vannamei*) (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

## 2.4 Análises microbiológicas

As alterações no pescado se iniciam logo após a sua captura e favorecem o crescimento e a multiplicação dos micro-organismos que estão presentes na microbiota natural do pescado. Porém, a velocidade do processo de deterioração dependerá de uma série de medidas adotadas com relação ao tempo, temperatura e higiene (VIEIRA *et al.*, 2004). A composição dos peixes, moluscos e crustáceos é diferente, interferindo no processamento, na qualidade e velocidade da deterioração do produto armazenando, como também a qualidade difere se o pescado foi eviscerado ou não (MEHTA; NAYAK, 2017).

Vale ressaltar que nem sempre um pescado eviscerado possuirá uma menor carga bacteriana do que um não eviscerado. A qualidade microbiológica do pescado eviscerado irá depender de uma série de fatores, como o cuidado no momento da remoção do trato intestinal, pois se for rompido, poderá aumentar a contaminação como também de água de boa qualidade para limpeza do pescado. Durante o procedimento de retirada das vísceras e trato intestinal, o músculo do pescado fica exposto à água ou ao ar, tornando-o suscetível à ação microbiana e oxidação (ERIKSON *et al.*, 2019).

Germano e Germano (2006) relataram que o camarão, assim como o músculo, representa uma contaminação inicial pequena e o local de beneficiamento implica diretamente na qualidade do alimento, principalmente se exposto a diversas fontes de contaminação.

A microbiota natural do pescado depende do *habitat*, espécie, grau de contaminação da água, proximidade da costa e temperatura. Os organismos de áreas tropicais e subtropicais

têm microbiota mesófila (*Micrococcus*, *Bacillus* e *Corynebacterium*), região na qual o Brasil está inserido. Peixes tropicais, quando armazenados em gelo, possuem vida de prateleira superior quando comparado com peixes de regiões temperadas e isto se dá justamente por conta da microbiota mesofílica nestas espécies (CHAILLOU *et al.*, 2014; GONÇALVES, 2011; JIA *et al.*, 2019).

Alguns fatores podem influenciar a velocidade em que ocorre a multiplicação dos micro-organismos no alimento como o estresse no momento da captura, a forma de abate e o processamento, a redução do pH, as mudanças durante o período pós-morte e o tempo armazenado em gelo (CHURCH, 1998).

A decomposição das proteínas pela ação bacteriana é responsável pela formação de uma grande quantidade de compostos tóxicos e com odor desagradável. As bactérias também são capazes de decompor lipídios formando peróxidos, aldeídos, cetonas e ácidos graxos de cadeia curta. A decomposição de compostos nitrogenados é mais rápida que esses processos e, portanto, é a principal causa de alterações perceptíveis no pescado durante o armazenamento (PEREDA *et al.*, 2005).

Existem bactérias que são reconhecidas como deterioradoras de pescado. As principais bactérias que atuam na deterioração do pescado armazenado em gelo são psicrófilas Gram negativas. Os principais gêneros envolvidos nesse processo de deterioração de camarões são *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens* e *Micrococcus* (KHODANAZARY, 2019; LU, 2009).

Outras bactérias podem estar presentes nesse processo. Jia *et al.* (2019) relataram que as bactérias presentes no final do prazo de validade de camarões armazenados em gelo correspondiam a *Photobacterium*, *Vibrio*, *Aliivibrio*, *Moritella* e *Pseudoalteromonas*.

#### **2.4.1 Gelo**

Por estar em contato direto com o alimento, o gelo utilizado deve possuir boa qualidade microbiológica para que não haja contaminação do alimento a ser armazenado. De acordo com Pimentel (2001), o gelo pode ser um veículo de contaminação do pescado e, no Brasil, já foi relatada a baixa qualidade do gelo utilizado na refrigeração em decorrência da quantidade elevada de micro-organismo.

A baixa qualidade do gelo utilizado é tão recorrente que em trabalho publicado por Giampietro e Rezende-Lago (2009), trinta amostras de gelo, obtido em estabelecimentos comerciais e utilizado na conservação de pescado, foram analisadas e delas, 29 apresentaram

contaminação por coliformes totais e 22, por coliformes termotolerantes. De acordo com a Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), a água destinada ao consumo humano deve obedecer aos padrões microbiológicos que, para água potável é a ausência de coliformes totais (Ct) e termotolerantes (CT) em 100 mL de amostra de água, para as bactérias heterotróficas a legislação preconiza que a contagem não deverá exceder a  $5,0 \times 10^2$  Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL).

Existem diversos métodos de conservação do pescado como o resfriamento, congelamento, salga, adição de filmes, embalagens com atmosfera modificada entre outros. Dessas metodologias, as mais comuns são: o resfriamento e o congelamento. A vantagem de usar o resfriamento se dá pelo fato de que os consumidores procuram alimento fresco e o pescado armazenado em gelo é considerado fresco. A definição de pescado fresco, de acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) (BRASIL, 2017), consiste em “aquele que não foi submetido a qualquer processo de conservação, a não ser pela ação do gelo ou por meio de métodos de conservação de efeito similar, mantido em temperaturas próximas à do gelo fundente, com exceção daqueles comercializados vivos.”.

#### **2.4.2 Bactérias mesófilas**

As bactérias mesófilas estão amplamente distribuídas e são as mais estudadas, pois são facilmente encontradas em animais de sangue quente, no solo e na água de locais de clima temperado ou tropical, pois possuem crescimento ótimo em temperaturas em torno de 30 °C. Um exemplo amplamente conhecido de bactéria mesófila é *Escherichia coli* que cresce em temperaturas entre 8 e 48 °C, com um ótimo em 39 °C (MADIGAN *et al.*, 2016).

A maioria das bactérias deste grupo possui importância em alimentos, pois inclui a maioria dos patógenos de interesse (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Utiliza-se a contagem de bactérias mesófilas como indicativo da qualidade e da segurança ao consumir o alimento, bactérias estas que possuem crescimento ótimo entre 35 e 37 °C. As principais bactérias pertencentes a esse grupo são Enterobacteriaceae, como também bactérias do gênero *Salmonella*, *Streptococcus* e *Enterococcus* (VIEIRA, 2004).

Como a maioria é patogênica, alguns gêneros devem estar ausentes no alimento, como é o caso da *Salmonella*, que deve estar ausente em 25 g de alimento de acordo com a RDC 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001).

A legislação brasileira não exige limite para a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas em pescado, mas há uma recomendação da Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos - ICMSF que essa contagem não ultrapasse  $10^7$  UFC/g de pescado (ICMSF, 1986).

### **2.4.3 Bactérias psicrófilas**

As bactérias psicrófilas são as responsáveis pelas alterações no pescado acondicionado a baixas temperaturas, como no caso do gelo (VIEIRA, 2004). Essas bactérias crescem em temperaturas entre 0 e 20 °C, com um crescimento ótimo de 15 °C ou menos (MADIGAN *et al.*, 2016).

Como o pescado é normalmente comercializado acondicionado em gelo, os micro-organismos de interesse são as bactérias psicrófilas, já que a temperatura de refrigeração em gelo é entre 0 e 7°C e, nessa temperatura, os micro-organismos mesófilos não conseguem se desenvolver bem. Alguns micróbios causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTA) conseguem se desenvolver e produzir toxinas em temperaturas baixas causando sérios riscos à saúde do consumidor, por exemplo, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* e *Clostridium botulinum* tipo E (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

## **2.5 Análise físico-química**

### **2.5.1 pH**

O valor pH pode ser uma informação valiosa sobre o estado de conservação dos alimentos, pois o processo de decomposição é capaz de alterar a concentração dos íons hidrogênio presentes, e no caso do pescado, é importante realizar a determinação por se tratar de um alimento próximo à neutralidade (TAVARES *et al.*, 1988).

Um dos fatores que limita o crescimento bacteriano é o pH e, no pescado, ele determina o início da proliferação bacteriana, sendo assim este parâmetro tem sido utilizado para avaliação do frescor em experimentos realizados com pescado refrigerado ou mantido em gelo (KAPUTE *et al.*, 2013; MOURA *et al.*, 2009).

Processos de decomposição como a hidrólise, oxidação ou fermentação são capazes de alterar o pH, e a medida deste parâmetro em pescado é um indicativo do seu estado de

conservação, porém é necessária a realização de análises microbiológicas, química e sensorial para que se obtenha uma avaliação mais segura (IAL, 2008).

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Local de coleta e obtenção das amostras**

As amostras de camarão foram adquiridas em uma fazenda de carcinicultura localizada no município de Beberibe, Ceará. Após a coleta dos camarões do viveiro, foram transferidos para caixas isotérmicas contendo gelo na proporção 3:1 (gelo:camarão) e levadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) da Universidade Federal do Ceará para início das análises. O tempo de traslado da fazenda para o laboratório foi de 1 hora e 30 minutos.

Foram realizadas duas coletas, uma para cada experimento. A primeira ocorreu em março de 2019 e a segunda, em outubro de 2019. Os animais coletados foram obtidos da mesma fazenda de cultivo e apresentavam peso médio de  $10 \pm 1,13$  g no primeiro experimento e  $10 \pm 1,32$  no segundo experimento.

A segunda coleta foi realizada para verificar se o gelo utilizado no primeiro experimento interferiu na carga microbiana inicial presente nos camarões analisados como também no período de validade.

#### **3.2 Procedimentos em laboratório**

Os camarões foram divididos em três tratamentos (T) de acordo com o beneficiamento ao qual foram submetidos: Tratamento 1 (T1) – camarão armazenado inteiro, Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado e Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

O beneficiamento foi realizado no LAMAP e foi realizado com os camarões dispostos em bandejas contendo gelo. A retirada da cabeça, carapaça e trato intestinal foi realizado com auxílio de pinças, tesouras e bisturi. O beneficiamento foi realizado com auxílio do bico de Bunsen para evitar contaminação pelo ar, todos os manipuladores usaram máscara e luva para evitar contaminação cruzada.

Cada tratamento continha 1 kg de camarão. Os camarões foram dispostos em bandejas cobertos por gelo em escamas e mantidos em refrigerador a 2 °C.

As análises em laboratório foram iniciadas no mesmo dia da coleta, correspondendo ao dia zero e a partir daí, a cada 4 dias. Foram realizadas análises sensorial, microbiológica e físico-química. Foram retirados três camarões de cada tratamento para realização das análises.

### 3.2.1 Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ)

As análises ocorreram a cada 4 dias por um período de 20 dias. Os painelistas já possuíam conhecimento prévio acerca da aplicação do MIQ, porém antes do início da execução experimental, foi realizada uma prévia com camarões frescos para que fossem lembrados os pontos a serem analisados.

Foram realizados o total de seis análises com quatro painelistas no primeiro experimento e sete painelistas no segundo experimento. Para esta análise, os painelistas receberam uma ficha com os atributos a serem analisados e pontuados para cada grupo de tratamento. A pontuação variava de 0 podendo chegar até 3 pontos de deméritos, gerando no final o somatório da pontuação dos atributos, fornecendo o índice de qualidade.

O MIQ é específico para o camarão *Litopenaeus vannamei* e foi elaborado por Oliveira *et al.* (2009), tendo sido desenvolvido para o camarão inteiro e para o camarão sem cabeça, correspondendo a T1 e T2 (QUADROS 1 e 2), respectivamente. Para o T3 (QUADRO 3), o MIQ foi adaptado.

Quadro 1 – Parâmetros e pontuação utilizados para avaliação sensorial de camarões (*Litopenaeus vannamei*) inteiros (T1) e posterior determinação do Método do Índice de Qualidade (MIQ).

Parâmetros de Qualidade	Descrição	Pontos
Aroma	Fresco, suave de algas marinhas	0
	Fraco, lembrando mar (maresia)	1
	Amoniacal fraco	2
	Amoniacal forte, pútrido	3
Cor	Acinzentado com pontos escuros e bem definidos	0
	Cinza amarelado com pontos escuros pouco definidos	1
Melanose	Ausência de melanose	0
	Presença de alguma melanose na cabeça	1
	Presença de muita melanose na cabeça e corpo	2
Aderência da carapaça	Fortemente aderida	0
	Aderência média	1
	Aderência fraca	2
Aderência da cabeça ao corpo	Fortemente aderida	0
	Aderência média	1
	Aderência fraca	2
Índice de qualidade total		0-10

Fonte: OLIVEIRA *et al.* (2009).



Quadro 2 – Parâmetros e pontuação utilizados para avaliação sensorial de camarões (*Litopenaeus vannamei*) descabeçados e eviscerados (T2) e posterior determinação do Método do Índice de Qualidade (MIQ).

Parâmetros de Qualidade	Descrição	Pontos
Aroma	Fresco, suave de algas marinhas	0
	Fraco, lembrando mar (maresia)	1
	Amoniacal fraco	2
	Amoniacal forte, pútrido	3
Cor	Acinzentado com pontos escuros e bem definidos	0
	Cinza amarelado com pontos escuros pouco definidos	1
Melanose	Ausência de melanose	0
	Presença de alguma melanose no corpo	1
	Presença de muita melanose no corpo	2
Aderência da carapaça	Fortemente aderida	0
	Aderência média	1
	Aderência fraca	2
Índice de qualidade total		0-8

Fonte: OLIVEIRA *et al.* (2009).

Quadro 3 – Parâmetros e pontuação utilizados para avaliação sensorial de camarões (*Litopenaeus vannamei*) descabeçados, descascados e eviscerados (T3) e posterior determinação do Método do Índice de Qualidade (MIQ).

Parâmetros de Qualidade	Descrição	Pontos
Aroma	Fresco, suave de algas marinhas	0
	Fraco, lembrando mar (maresia)	1
	Amoniacal fraco	2
	Amoniacal forte, pútrido	3
Cor	Acinzentado com pontos escuros e bem definidos	0
	Cinza amarelado com pontos escuros pouco definidos	1
Firmeza da carne	Muito rígida e firme	0
	Ligeiramente mole	1
	Flácida/Borrachuda	2
Índice de qualidade total		0-6

Fonte: Adaptado de OLIVEIRA *et al.* (2009).

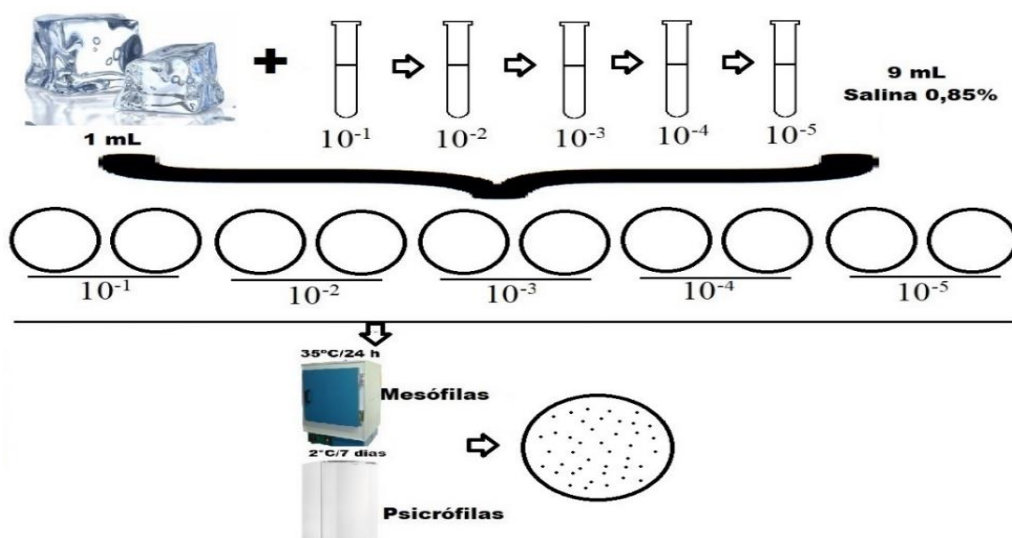
Ao final dos dias de armazenamento, foi gerada a média destas pontuações para que fosse possível analisar os dados obtidos e estimar o prazo de validade dos camarões de acordo com a avaliação sensorial.

Os parâmetros de qualidade analisados foram: aroma, cor, melanose, aderência da carapaça e aderência da cabeça ao corpo para o T1, podendo o índice de qualidade variar de 0 a 10 pontos de deméritos; aroma, cor, melanose e aderência da carapaça para o T2 podendo o índice de qualidade variar de 0 a 8 pontos de deméritos; e aroma, cor e firmeza da carne para o T3 podendo o índice de qualidade variar de 0 a 6 pontos de deméritos.

### 3.2.2 Análises microbiológicas do gelo

O gelo utilizado para a conservação dos camarões do primeiro experimento foi adquirido em duas fábricas de gelo, uma localizada em Beberibe – CE e a outra localizada em Fortaleza – CE. Já para o segundo experimento, o gelo foi adquirido em uma fábrica de gelo diferente, localizada em Fortaleza – CE. Após aquisição, foi avaliada a sua qualidade através da quantificação microbiana de bactérias mesófilas e psicrófilas (FIGURA 1) seguindo as recomendações da *American Public Health Association* (APHA), na quarta edição do *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (DOWNES; ITO, 2001).

Figura 1 – Fluxograma para procedimento de quantificação e identificação de bactérias mesófilas e psicrófilas presentes em gelo usado para armazenamento de camarões (*Litopenaeus vannamei*).

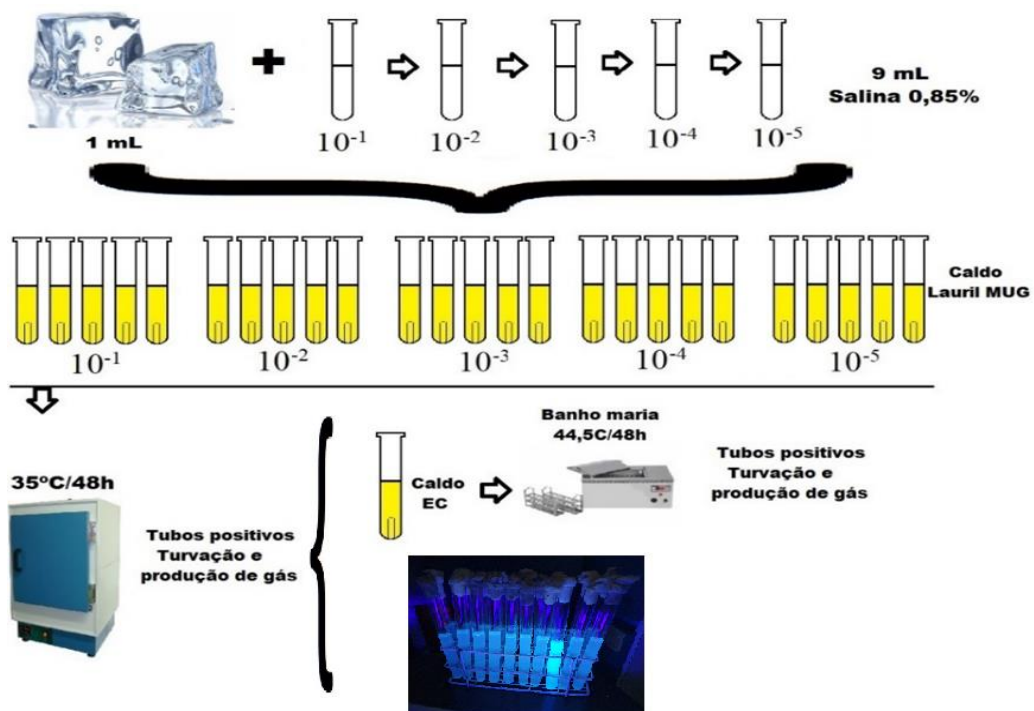


Fonte: Autor (2020).

Foi adicionado 1 mL de água do gelo, previamente derretido em temperatura ambiente e, em seguida, foram realizadas as diluições seriadas, para plaqueamento e incubação das placas a 35 °C por 48 h e a 2 °C por 7 dias para quantificar bactérias mesófilas e psicrófilas respectivamente (FIGURA 1). Ao final do período de incubação, prosseguiu-se com a contagem das colônias com auxílio de um contador eletrônico de colônias, e multiplicação pelo inverso do fator da diluição para expressar os resultados em UFC/mL de água.

Para detectar a presença ou ausência de coliformes e *Escherichia coli*, foi realizado o teste para Coliformes Termotolerantes (CT) através da técnica de tubos múltiplos em séries de 5 tubos (FENG *et al.*, 2002) (FIGURA 2).

Figura 2 – Fluxograma para detectar a presença ou ausência de coliformes e *Escherichia coli* no gelo usado para armazenamento de camarões (*Litopenaeus vannamei*) através da técnica de tubos múltiplos em séries de 5 tubos.



Fonte: Autor (2020).

Para o teste, foi utilizado o caldo lauril sulfato MUG para a prova presuntiva, partindo das diluições previamente preparadas, foi retirado 1 mL de cada diluição e transferido para tubos contendo o caldo lauril sulfato MUG com tubos de Durham invertidos que foram incubados a 35 °C por 48 h. Após a incubação, os tubos que tivessem turvação com presença de gás no interior do tubo de Durham foram positivos para coliformes e, em seguida, foram realizado dois testes, o primeiro foi para os tubos positivos que foram passados para a prova

confirmatória em caldo EC a 44,5 °C por 48 h, os tubos que apresentaram turvação do meio com produção de gás no interior do tubo de Durham foram positivos e, o segundo teste foi a detecção fluorogênica para detecção de *Escherichia coli* dos tubos de ensaio contendo o caldo laurel sulfatado MUG. Para fins de cálculo do Número Mais Provável (NMP), os tubos positivos foram anotados e levados para consulta na tabela de NMP de Garthright (2001).

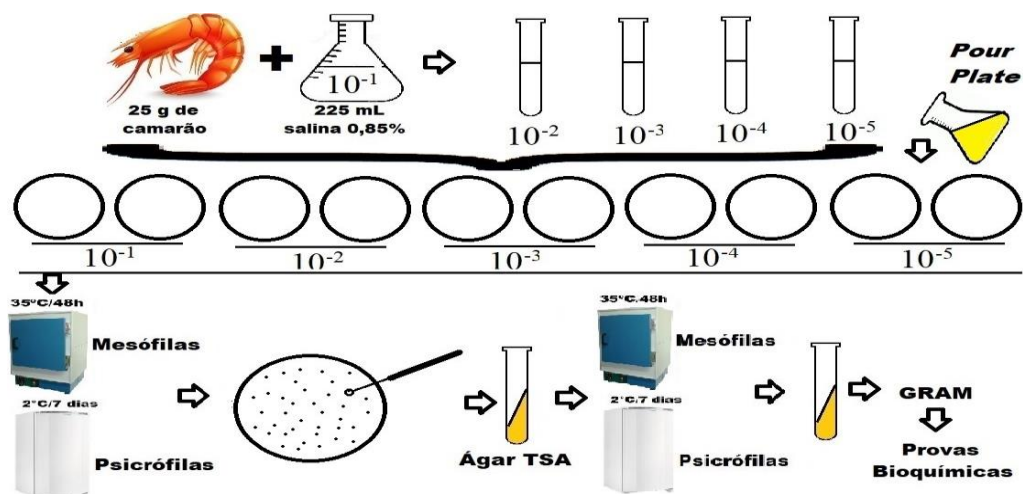
### 3.2.3 Análises microbiológicas do pescado

A análise microbiológica dos camarões foi realizada para quantificar as bactérias mesófilas e psicrófilas seguindo as recomendações da *American Public Health Association* (APHA) (DOWNES; ITO, 2001).

#### 3.2.3.1 Preparo das amostras para análise microbiológica

Foram pesados 25 g de camarão de forma asséptica e homogeneizados com 225 mL de solução salina 0,85% por 1 min, perfazendo a primeira diluição. Dessa diluição, foi retirada uma alíquota de 1 mL, transferida e homogeneizada em um tubo contendo 9 mL de solução salina 0,85%, perfazendo a diluição  $10^{-2}$ . Estes passos foram repetidos até a diluição  $10^{-5}$  (FIGURA 3).

Figura 3 – Fluxograma para análise microbiológica para quantificação de bactérias mesófilas e psicrófilas presentes nos camarões (*Litopenaeus vannamei*) pertencentes ao T1, T2 e T3 armazenado em gelo.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

Depois de preparadas as diluições, foi realizado o plaqueamento dos inóculos bacterianos com a adição de 1 mL de cada diluição com 15 mL de *Plate Count Agar* (PCA) em placas de Petri, em duplicata, por meio da técnica de *pour-plate*. As placas foram homogeneizadas e em seguida, aquelas destinadas ao crescimento de bactérias mesófilas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica a 35 °C por 48 h e, as placas para crescimento de bactérias psicrófilas foram incubadas invertidas em refrigerador a 2 °C por 7 dias (FIGURA 3).

### 3.2.4 Isolamento e identificação bacteriana

Foram isoladas 5 colônias de cada grupo bacteriano (mesófilas e psicrófilas), de cada tratamento e em cada dia de análise. Após o isolamento e purificação, as estirpes seguiram para os testes de identificação de acordo com a chave de identificação de *Bergey's manual of determinative bacteriology* (BUCHANAN; GIBBONS, 1974). O procedimento foi realizado igualmente para as duas coletas.

## 3.3 Análise físico-química

### 3.3.1 Determinação do pH

Para medição do pH, seguiu-se a metodologia de Kirschnik (2007). Foram pesados 10 g de músculo em um béquer e homogeneizados com 40 mL de água destilada e procedeu-se a leitura em potenciômetro (pH Meter, Hanna 211) (FIGURA 4).

Figura 4 – Fluxograma para medição do pH em camarões (*Litopenaeus vannamei*) armazenados em gelo.



Fonte: Autor (2020).

### 3.4 Análise estatística

Os dados obtidos das análises sensorial, microbiológica e físico-química foram submetidos a análise de regressão. O coeficiente de correlação de Pearson foi usado para verificar a existência de correlação significativa entre x e y, ou seja, entre o índice de qualidade e o período de armazenamento em gelo e também para verificar a relação do pH com o período de armazenamento em gelo, foi utilizado para verificar a relação do crescimento bacteriano, tanto para bactérias mesófilas como psicrófilas com o tempo de armazenamento em gelo, e foi utilizado também para verificar a relação do crescimento bacteriano, tanto mesofílico como psicrófilo, como o índice de qualidade.

Havendo correlação estatística, os modelos linear e exponencial foram usados para o índice de qualidade com o período de armazenamento em gelo e com o pH e para o crescimento bacteriano com o tempo de armazenamento em gelo como também o crescimento bacteriano com o índice de qualidade, respectivamente.

Após a determinação das equações (linear ou exponencial), os coeficientes angulares e lineares foram comparados, considerando o nível de significância de 5%, pelo programa livre BioEstat 5.3. Os gráficos de regressão foram realizados pelo programa Origin PRO 8.5, versão de teste.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise sensorial pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ)

A análise sensorial é um método amplamente utilizado na indústria para avaliação do frescor do pescado por ser rápido e fácil de ser aplicado (GONÇALVES; LIMA; PAULA, 2015). As TABELAS 1 e 2 mostram os valores médios acompanhados dos desvios padrão do índice de qualidade (IQ) relatados pelos painelistas para cada tratamento durante 20 dias de análise.

Tabela 1 – Valores médios  $\pm$  desvio padrão do índice de qualidade (IQ), obtidos para camarões (*Litopenaeus vannamei*), relatados pelos painelistas no primeiro experimento desde a análise do dia 0 até o dia 20, com intervalo de 4 dias para cada tratamento.

	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
T1	0,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,82	5,50 $\pm$ 1,29	7,00 $\pm$ 0,82	8,80 $\pm$ 0,50	9,50 $\pm$ 0,58
T2	0,00 $\pm$ 0,00	1,30 $\pm$ 0,96	2,30 $\pm$ 0,96	4,30 $\pm$ 0,50	4,00 $\pm$ 1,15	5,80 $\pm$ 1,26
T3	0,00 $\pm$ 0,00	1,50 $\pm$ 1,29	1,00 $\pm$ 0,82	3,30 $\pm$ 0,96	2,50 $\pm$ 0,58	4,00 $\pm$ 0,82

Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

Tabela 2 – Valores médios  $\pm$  desvio padrão do índice de qualidade (IQ), obtidos para camarões (*Litopenaeus vannamei*), relatados pelos painelistas no segundo experimento desde a análise do dia 0 até o dia 20, com intervalo de 4 dias para cada tratamento.

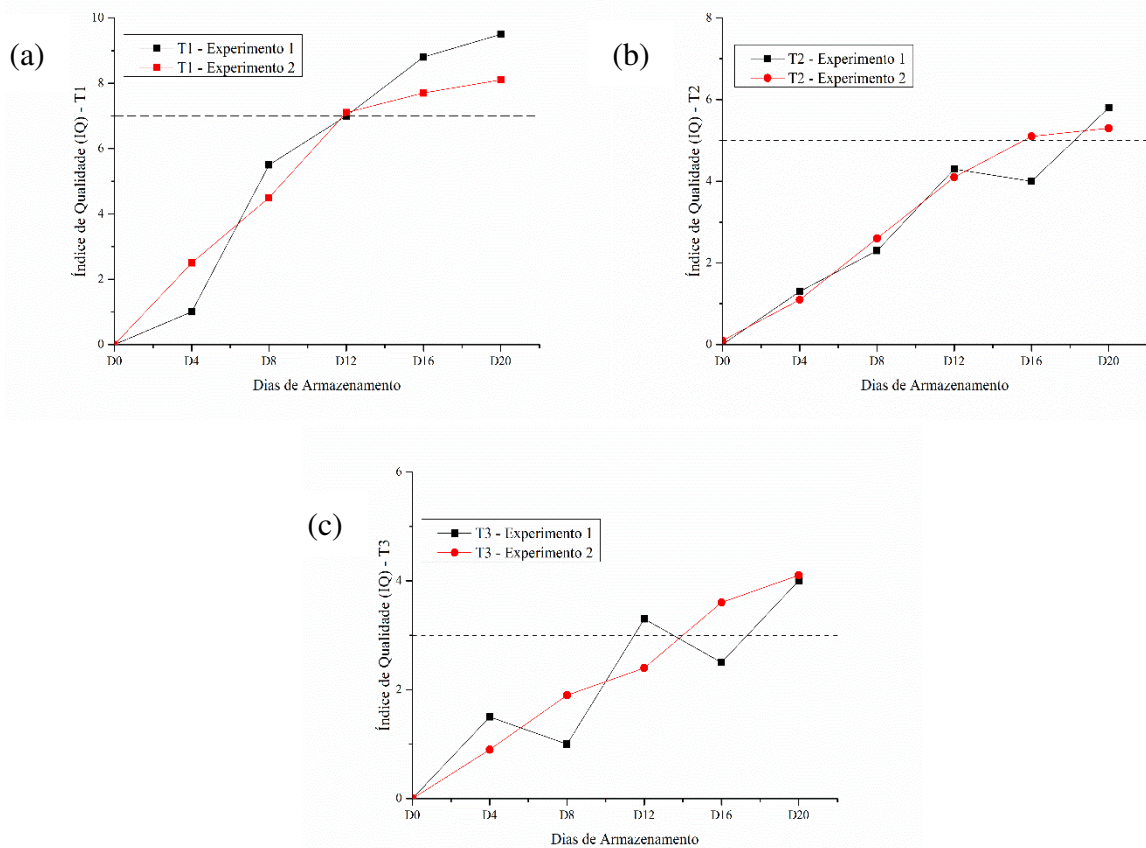
	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
T1	0,00 $\pm$ 0,00	2,50 $\pm$ 0,98	4,50 $\pm$ 0,79	7,10 $\pm$ 1,07	7,70 $\pm$ 0,95	8,10 $\pm$ 0,38
T2	0,10 $\pm$ 0,38	1,10 $\pm$ 0,70	2,60 $\pm$ 1,13	4,10 $\pm$ 1,46	5,10 $\pm$ 1,07	5,30 $\pm$ 0,49
T3	0,00 $\pm$ 0,00	0,90 $\pm$ 0,48	1,90 $\pm$ 1,80	2,40 $\pm$ 2,30	3,60 $\pm$ 1,60	4,10 $\pm$ 0,14

Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

O GRÁFICO 1 (a, b, c) mostra a evolução da pontuação do IQ relatado pelos painelistas ao longo do período de armazenamento.

Gráfico 1 – Índice de qualidade (IQ) relatado pelos painelistas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) armazenados em gelo, para cada dia de análise.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. A linha pontilhada representa o limite e aceitação sensorial

Era esperado que houvesse um avanço gradual nas alterações dos atributos sensoriais analisados durante o período de armazenamento, e este avanço foi observado em todos os tratamentos, com exceção do T3 do primeiro experimento.

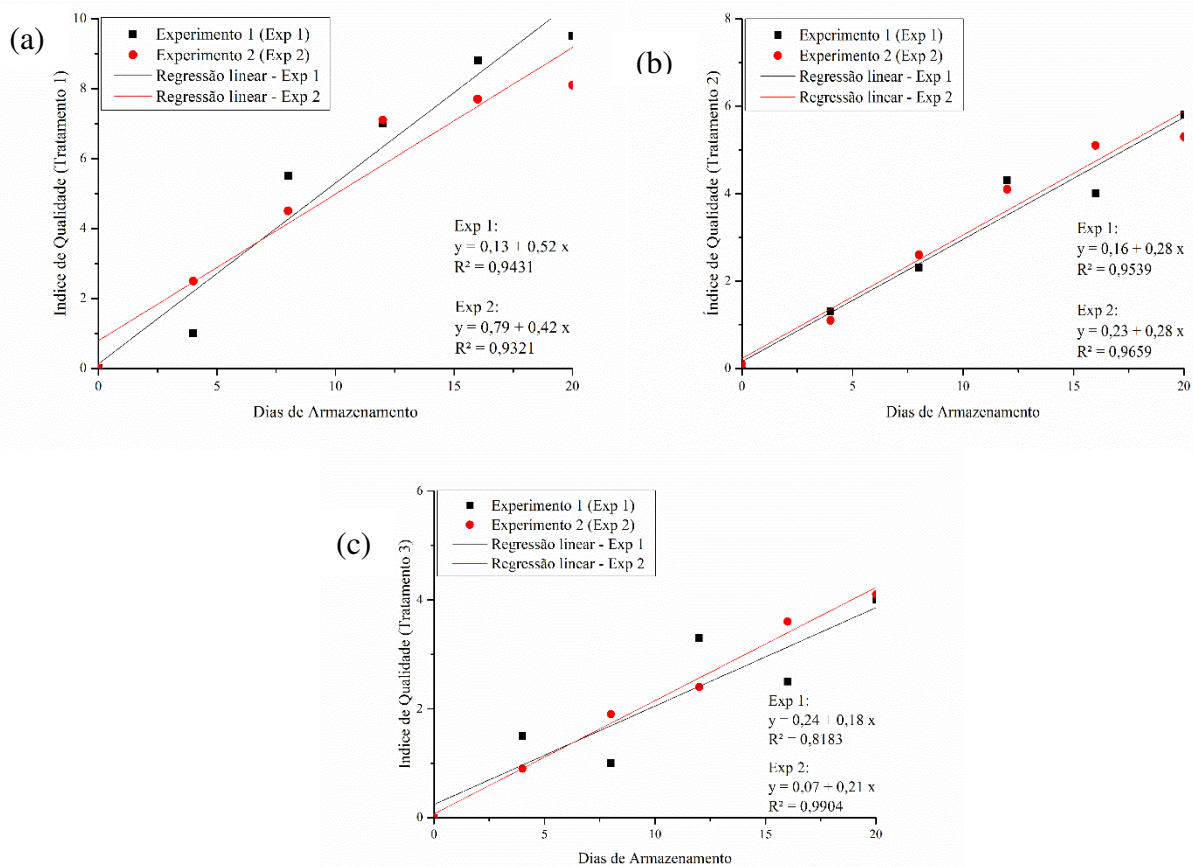
Foi observado que para T3, os painelistas apontaram maior dificuldade para detectar as alterações, pois essas não foram tão perceptíveis quanto em T1 e T2. Essa dificuldade foi associada ao fato de os camarões não apresentarem cabeça e carapaça, que são as estruturas que apresentam maior alteração visível em camarões armazenados em gelo, como a presença de melanose.

O índice de qualidade apresentou correlação significativa com o tempo de estocagem em gelo para os três tratamentos. Foi possível observar que à medida que o tempo



de armazenamento (x) foi se prolongando, os pontos de demérito do índice de qualidade (y) aumentaram, indicando perda de qualidade com o passar dos dias. Também foi possível verificar pelos valores de  $R^2$  que o modelo linear foi adequadamente aplicado para os pares xy (GRÁFICO 2).

Gráfico 2 – Modelo de regressão linear de parâmetros avaliados sensorialmente por painelistas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) ao longo do período de armazenamento em gelo.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

De acordo com os resultados observados no gráfico 2, o tempo de armazenamento irá influenciar diretamente na qualidade sensorial do camarão, quanto maior o tempo, pior a qualidade sensorial.

Em todos os três tratamentos dos dois experimentos, as regressões foram comparadas entre os tratamentos de cada experimento, o teste t dos coeficientes angular e linear não evidenciam diferenças, pois todos apresentaram p-valor maior que 0,05. Sendo assim, não

houve diferença significativa na qualidade sensorial dos camarões (T1, T2 e T3) entre os experimentos 1 e 2.

Foi observado que o limite de aceitação sensorial para os camarões inteiros (T1) era de até 7 pontos de deméritos, para os camarões descabeçados e eviscerados (T2) era de até 5 pontos de deméritos e para os camarões descabeçados, descascados e eviscerados (T3) era de até 3 pontos de deméritos. Esses valores foram estabelecidos após as análises de regressão, como também a comparação com a carga microbiana e pH.

Os camarões referentes ao gráfico 1(a) estavam aptos para consumo até o 12º dia e até o 11º dia para os do segundo experimento. Os resultados encontrados foram melhores do que os relatados por Gonçalves e Santos (2019), tendo projetado que os camarões inteiros (*Litopenaeus vannamei*) embalados com oxigênio e refrigerados estavam próprios para consumo até 7,57 dias de armazenamento. Khodanazary (2019) verificou que o prazo de validade do camarão inteiro (*Metapenaeus affinis*) armazenado em gelo foi de até 9 dias.

A temperatura influencia diretamente na velocidade com que as alterações ocorrem, portanto temperaturas mais elevadas propiciam crescimento bacteriano mais acelerado, podendo deteriorar o camarão mais rapidamente (ODEYEMI *et al.* 2018).

Oliveira *et al.* (2009) determinaram o tempo de vida útil para o camarão inteiro (*Litopenaeus vannamei*) armazenado em gelo em 12 dias, sendo o prazo de validade que mais se aproximou dos resultados deste trabalho, apresentando o mesmo período encontrado no primeiro experimento.

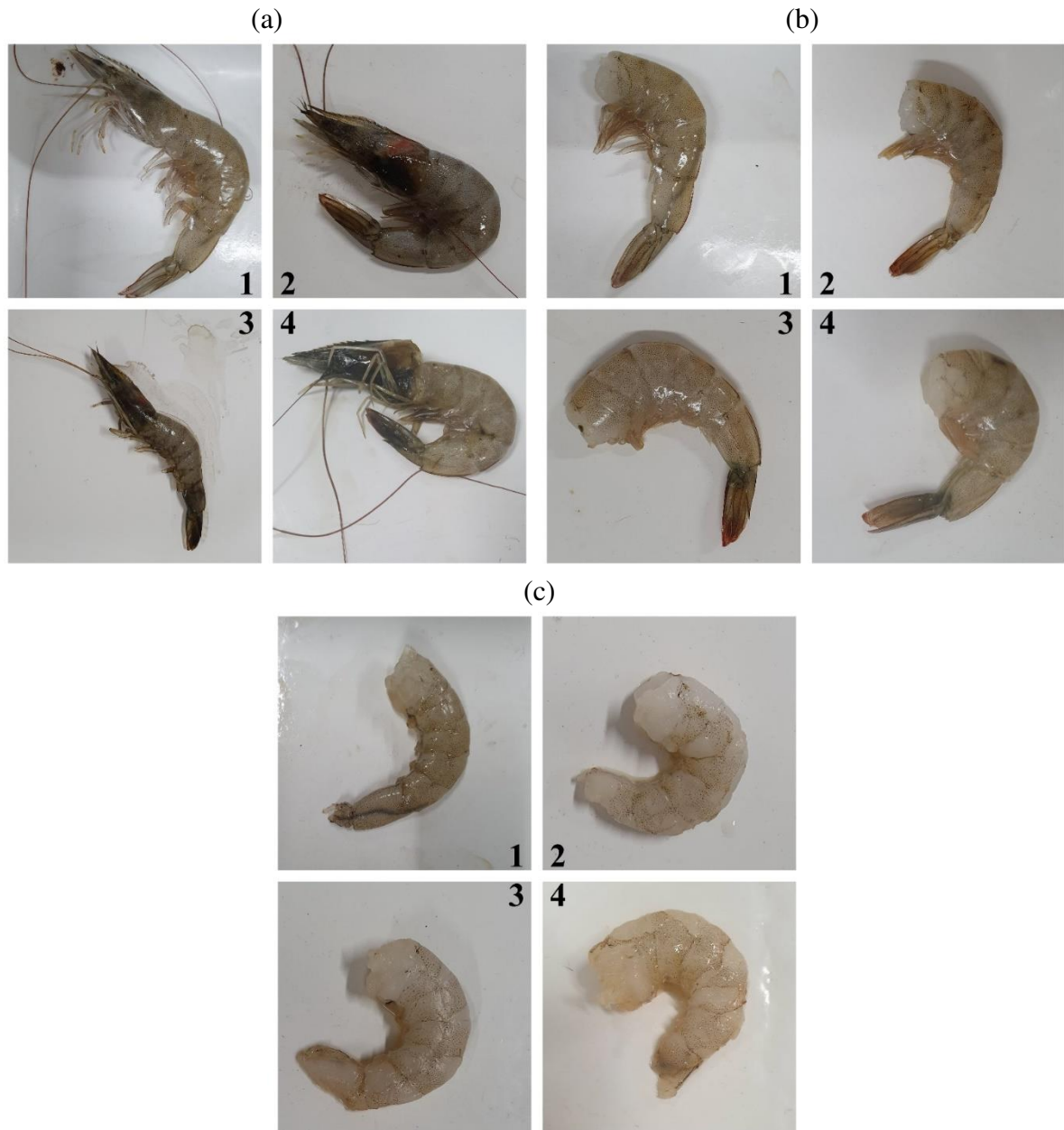
Os camarões referentes ao gráfico 1 (b), a aceitação no primeiro experimento foi até o 16º dia enquanto os do segundo experimento estavam aptos ao consumo até o 15º dia de armazenamento. Oliveira *et al.* (2009) obtiveram valores similares ao do presente estudo, projetando para camarões (*Litopenaeus vannamei*) descabeçados vida útil de 14 dias armazenados em gelo. Já Lu (2009) relatou que o camarão chinês (*Fenneropenaeus chinensis*) apresentou prazo de validade de 17 dias quando refrigerado.

Os camarões referentes ao gráfico 1 (c), a aceitação no primeiro experimento, até o 11º dia, enquanto o do segundo experimento estiveram aptos ao consumo até o 14º dia. Soares e Gonçalves (2012) relataram que os filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) armazenados em gelo apresentaram rejeição sensorial aos 15 dias, sendo similar ao encontrado no segundo experimento. Yu *et al.* (2016) relataram que os filés de carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*) apresentaram vida útil de aproximadamente 10 dias quando refrigerados.

A FIGURA 5 mostra o processo de alteração física dos camarões armazenados nos três tratamentos do segundo experimento. A alteração foi mais nítida nos camarões T1

(FIGURA 5a) com o surgimento de melanose na cabeça e o desprendimento da cabeça do cefalotórax. Para os camarões T2 (FIGURA 5b), foi possível observar o surgimento de melanose na carapaça. Em T3 (FIGURA 5c), as alterações foram menos visíveis, mas foi notado um clareamento do músculo ao longo dos dias.

Figura 5 – Evolução do processo de deterioração dos camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos aos tratamentos: tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c).



Fonte: Autor (2020)

Legenda: 1 – Dia 0; 2 – Dia 8; 3 – Dia 12; 4 – Dia 20. Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

A tabela a seguir (TABELA 3) mostra as principais alterações sensoriais relatadas pelos painelistas nos dois experimentos de acordo com o dia que em foi observada pela primeira vez.

Tabela 3 – Principais alterações sensoriais relatadas pelos painelistas durante o período de armazenamento em gelo nos dois experimentos.

Parâmetros de Qualidade	Descrição	T1-E1 (dia)	T1-E2 (dia)	T2-E1 (dia)	T2-E2 (dia)	T3-E1 (dia)	T3-E2 (dia)
Aroma	Fraco	4	4	4	4	4	4
	Amoniacal fraco	8	8	12	12	16	12
	Amoniacal forte, pútrido	12	*	16	*	20	*
Cor	Cinza amarelado com pontos escuros pouco definidos	8	12	8	8	12	8
Melanose	Melanose na cabeça	4	4	X	X	X	X
	Melanose no corpo	8	8	12	12	X	X
Aderência da carapaça	Aderência média	8	4	8	4	X	X
	Aderência fraca	20	12	20	16	X	X
Aderência da cabeça ao corpo	Aderência média	4	8	X	X	X	X
	Aderência fraca	8	12	X	X	X	X
Firmeza da carne	Ligeiramente mole	X	X	X	X	12	8
	Flácida/Borrachuda	X	X	X	X	*	12

Fonte: Autor (2020)

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. E1 – experimento 1; E2 – experimento 2.

X – parâmetro de qualidade não se aplica ao camarão analisado. \* - parâmetro de qualidade não foi observado durante o período de armazenamento.

Comparando com os camarões inteiros analisados, os resultados deste trabalho corroboram com os dados relatados por Khodanazary (2019) que também descreveu mudanças nos atributos analisados para o camarão inteiro (*Metapenaeus affinis*) com o tempo de estocagem, a cor da carapaça, o aspecto físico e a textura da carne apresentaram alterações já no 3º dia de análise, enquanto a cor da carne só apresentou alterações no 6º dia. Já Gonçalves e Santos (2019) relataram alterações mais significativas no camarão (*Litopenaeus vannamei*) aos 6 dias de armazenamento apresentando muco mais viscoso, odor forte de amônia e textura macia.

Para os camarões descabeçados e eviscerados, os dados encontrados no presente estudo apresentaram similaridade com os dados de Oliveira *et al.* (2009), que relataram que os camarões descabeçados (*Litopenaeus vannamei*) apresentavam odor inicial fraco e passando para pútrido nos estágios finais. Mostraram também que a presença de melanose foi menos intensa quando comparada com os camarões inteiros, as alterações na cor e a aderência da carapaça foram mais intensas no 8º dia.

Para os camarões descabeçados, descascados e eviscerados, os resultados deste trabalho foram similares aos encontrados por Yu *et al.* (2016), no qual relataram que os filés de carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*) apresentaram inicialmente aparência lustrosa e odor fresco, apresentando gradualmente coloração amarelada e odor forte aos 11 dias de armazenamento.

## **4.2 Análises microbiológicas**

### ***4.2.1 Análises microbiológicas do gelo***

O gelo pode ser um veículo de contaminação do pescado, portanto é importante realizar análise microbiológica para que seja verificada a qualidade do gelo, evitando que ele contribua para uma contaminação cruzada (ECONOMOU *et al.*, 2016).

#### ***4.2.1.1 Primeiro experimento***

O gelo foi adquirido inicialmente em Beberibe – CE e, ao chegar em Fortaleza, foi necessária uma nova aquisição porque a quantidade de gelo inicial foi insuficiente para o armazenamento do pescado. Houve ainda uma terceira aquisição no 12º de análise, na mesma fábrica de gelo de Fortaleza, totalizando três análises de gelo.

Os resultados das análises microbiológicas do gelo adquirido em Beberibe e Fortaleza estão apresentados na TABELA 4. Foi realizada a análise do gelo por meio da contagem padrão em placas para bactérias mesófilas e psicrófilas, além da análise para coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*. Não houve crescimento bacteriano nas placas para contagens de bactérias psicrófilas nas amostras de gelo das duas procedências.

Tabela 4 – Análise microbiológica do gelo utilizado para conservação de camarões (*Litopenaeus vannamei*), no primeiro experimento.

Procedência do gelo	UFC de bactérias mesófilas/mL	NMP de coliformes/100mL	<i>Escherichia coli</i>
Beberibe	$3,20 \times 10^4$	$2,0 \times 10$	Ausente
Fortaleza 1	$3,50 \times 10^3$	$3,50 \times 10^3$	Presente
Fortaleza 2	$7,05 \times 10^4$	$1,10 \times 10^3$	Presente

Fonte: Autor (2020).

#### 4.2.1.2 Segundo experimento

Para seleção do gelo para o armazenamento dos camarões, foi realizada uma análise microbiológica prévia com a finalidade de encontrar um gelo que estivesse de acordo com a legislação vigente. Apesar da pesquisa, o gelo escolhido foi o que mais se aproximou dos valores de referência, apresentando ausência de coliformes e contagem de bactérias mesófilas  $9,65 \times 10^2$  UFC/g, tendo em vista que o limite máximo aceitável é de  $5,0 \times 10^2$  UFC/g e a ausência de coliformes em 100 mL de água (BRASIL, 2004). Com relação à pesquisa de *Escherichia coli* por meio de fluorescência, a amostra apresentou ausência.

#### 4.2.1.3 Comparativo entre os experimentos

As contagens mostraram que a água utilizada para a fabricação do gelo do primeiro experimento era de baixa qualidade devido a uma elevada carga microbiana e isto influenciou diretamente na qualidade microbiológica dos camarões armazenados neste gelo, gerando uma contaminação cruzada pelo contato dos camarões com o gelo de baixa qualidade microbiológica.

Em contrapartida, a água utilizada para a fabricação do gelo do segundo experimento apresentou uma qualidade microbiológica muito superior, ou seja, ausência de coliformes, ausência de bactérias psicrófilas e baixa contagem de bactérias mesófilas.

De acordo com a Portaria nº 2.914 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011), os parâmetros de qualidade de água destinada ao consumo humano não devem exceder a contagem de bactérias heterotróficas de 500 UFC/g e deve apresentar ausência de coliformes. De acordo com o que Ministério da Saúde preconiza, pode ser inferido que a água utilizada na fabricação do gelo pode ter contribuído para a má qualidade microbiológica do gelo utilizado, excedendo

não só nas contagens de unidades formadora de colônias bacterianas mesófilas em todas as quatro amostras de água, como também a presença de coliformes nas três amostras de água utilizadas no primeiro experimento.

Vale ressaltar que há um grande risco de transmissão de doenças de veiculação hídrica através do consumo e uso de gelo contaminado, portanto de acordo com o Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Saúde, o gelo que se destina ao consumo humano ou que seja utilizado para contato com alimento deverá respeitar alguns padrões de potabilidade como cloro residual livre entre 0,5 e 2,0 ppm, pH de 6,0 a 9,5, turbidez menor que 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). Além desses parâmetros, é importante ressaltar que a água potável não deve apresentar bactérias indicadoras de contaminação fecal.

A análise das três amostras de gelo do primeiro experimento estava completamente fora dos padrões microbiológicos estabelecidos pela Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004). As contagens de unidades formadoras de colônias bacterianas mesófilas para o gelo adquirido em Beberibe excederam em 64 vezes o limite estabelecido, enquanto a segunda coleta de gelo de Fortaleza excedeu em 141 vezes esse limite.

A amostra de gelo pertencente ao primeiro experimento que se encontrava mais próxima do padrão microbiológico estabelecido pela Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004) era a primeira coleta de Fortaleza, que ainda assim estaria imprópria para consumo, excedendo 7 vezes o valor máximo permitido. Com relação às contagens de coliformes, todas as amostras foram reprovadas, pois deveria ser ausência em 100 mL de amostra. Para a pesquisa de *Escherichia coli*, apenas a amostra de Beberibe apresentou ausência, comprovando a contaminação cruzada desse gelo já que é uma bactéria de origem fecal.

Já a análise de gelo do segundo experimento estaria aprovada com relação à ausência de coliformes e ausência de *Escherichia coli*, porém quanto à contagem padrão em placas de bactérias heterotróficas, reprovada, pois apresentou quase o dobro do limite máximo estabelecido pelo padrão microbiológico da Vigilância Sanitária (BRASIL, 2004).

Os dados encontrados no presente trabalho foram similares aos encontrados por Economou *et al.* (2016) e por Settanni *et al.* (2017), tanto para o gelo utilizado no segundo experimento como também em parte do gelo que foi utilizado no primeiro experimento, em que se pôde observar ausência de bactérias psicrófilas e contagem de bactérias mesófilas próximas ao intervalo relatado.

Economou *et al.* (2016) relataram que de sessenta amostras analisadas, nove estavam em desacordo com a legislação brasileira, excedendo 500 UFC/g. Com relação a

presença de coliformes, 55 amostras foram positivas, estando fora de conformidade. Os autores relataram que o padrão microbiológico para gelo embalado é de até 500 UFC/g e ausência de coliformes, sendo a mesma exigência adotada pela legislação brasileira (BRASIL, 2004).

Settanni *et al.* (2017) encontraram contagens de bactérias mesófilas em gelos produzidos industrialmente que variaram de  $1,30 \times 10^2$  a  $3,99 \times 10^3$  UFC/100 mL. Foi relatado ainda pelos autores que, das cinco amostras de gelo analisadas, duas não apresentaram bactérias psicrófilas.

#### 4.2.2 Análises microbiológicas do camarão

Pode ser verificado que o desenvolvimento bacteriano foi crescente com o tempo de armazenamento em gelo a 2 °C. Uma das formas de avaliar a qualidade do pescado é através das análises microbiológicas (GONÇALVES; LIMA; PAULA, 2015).

##### 4.2.2.1 Primeiro experimento

A carga bacteriana mesófila inicial, para todos os tratamentos foi relativamente elevada, com contagens superiores a  $10^3$  UFC/g (TABELA 5). Os valores para o primeiro dia de análise foram similares ao encontrado por Okpala (2014), cuja carga inicial para camarões inteiros foi de  $10^4$  UFC/g. Para bactérias psicrófilas, não houve crescimento de bactérias no primeiro dia de análise, apresentando contagens já superiores a  $10^3$  no segundo dia de análise (TABELA 6).

Tabela 5 – Contagem de bactérias mesofílicas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do primeiro experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.

	UFC/g					
	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
T1	$4,15 \times 10^3$	$1,65 \times 10^3$	$1,64 \times 10^4$	$2,10 \times 10^5$	$9,10 \times 10^5$	$1,35 \times 10^6$
T2	$2,90 \times 10^4$	$4,30 \times 10^4$	$2,70 \times 10^4^*$	$3,20 \times 10^5$	$3,15 \times 10^6^*$	$3,80 \times 10^6$
T3	$1,40 \times 10^4$	$3,10 \times 10^4$	$2,78 \times 10^4^*$	$2,37 \times 10^5^*$	$1,66 \times 10^6$	$2,70 \times 10^6$

Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. \* estimada



Tabela 6 – Contagem de bactérias psicrófilas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do primeiro experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.

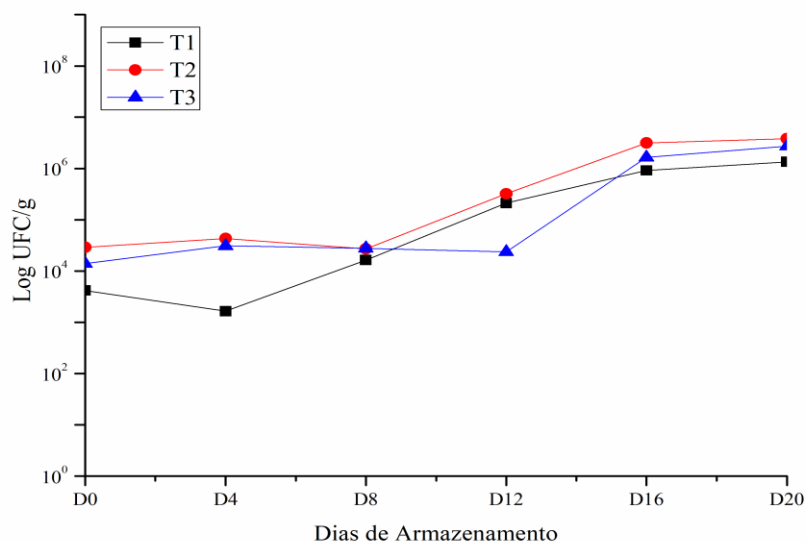
	UFC/g					
	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
T1	< 10	$1,80 \times 10^3$	$2,39 \times 10^{4*}$	$6,20 \times 10^6$	$3,00 \times 10^6$	$4,35 \times 10^7$
T2	< 10	$4,30 \times 10^4$	$3,50 \times 10^4$	$1,57 \times 10^6$	$7,10 \times 10^6$	$5,75 \times 10^7$
T3	< 10	$2,74 \times 10^4$	$4,70 \times 10^4$	$1,28 \times 10^6$	$1,18 \times 10^7$	$4,85 \times 10^7$

Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. \* estimada

Os GRÁFICOS 3 e 4 mostram o comportamento do crescimento bacteriano nos camarões armazenados em gelo durante 20 dias. O GRÁFICO 3 representa o comportamento das bactérias mesófilas e o GRÁFICO 4, o comportamento das psicrófilas. Em ambos foi possível observar que houve crescimento logarítmico da população, o que é comumente observado no crescimento microbiano.

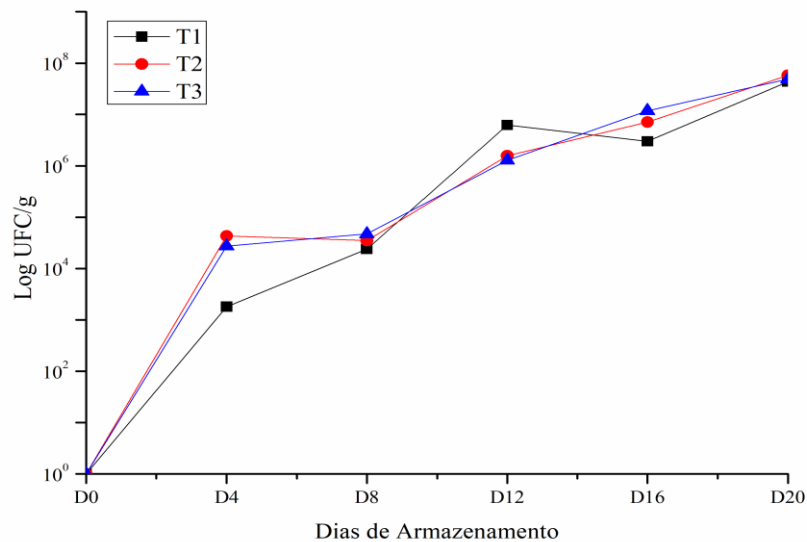
Gráfico 3 – Comportamento do número de bactérias mesófilas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do primeiro experimento ao longo do período de estocagem em gelo em escala logarítmica.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

Gráfico 4 – Comportamento do número de bactérias psicrófilas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do primeiro experimento ao longo do período de estocagem em gelo escala logarítmica.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

No crescimento bacteriano, primeiramente ocorre a fase de latência do crescimento, na qual as bactérias estão se adaptando ao novo ambiente, no caso os camarões estavam nos tanques de cultivo e passaram para o gelo que interfere no metabolismo celular retardando o crescimento das bactérias mesófilas. Em seguida a fase logarítmica é aquela que registra o crescimento no qual as bactérias começam a se multiplicar, elevando o crescimento bacteriano no alimento até que se atinja o máximo, chegando na fase estacionária, fase em que o crescimento se mantém constante, ocorrendo a redução dos nutrientes presentes, juntamente com a mudança de pH e, por fim, a fase de morte, fase em que as bactérias começam a morrer, havendo redução drástica dos nutrientes e mudanças no pH (HUSS, 1998).

A fase lag, para as bactérias mesófilas (GRÁFICO 3) foi observada até 4º dia em T1, até o 8º dia em T2 e até o 12º dia em T3, dando início então a fase log a partir deste dia até o 16º dia, iniciando então a fase estacionária. Não foi possível observar a fase de morte até o final do período de armazenamento. Para as bactérias psicrófilas (GRÁFICO 4), a fase lag foi observada até o 4º dia para T1 e até o 8º dia para T2 e T3. Em seguida foi observada a fase log até o final do período de armazenamento. Não foi possível observar a fase estacionária e de morte.

#### 4.2.2.2 Segundo experimento

A carga microbiana inicial foi menor quando comparada à do primeiro experimento realizado, o que pode ter sido influenciada pela menor carga microbiana inicial do gelo utilizado. As TABELAS 7 e 8 mostram a carga microbiana de bactérias mesófilas e psicrófilas, respectivamente, durante o período de armazenamento em gelo.

Tabela 7 – Contagem de bactérias mesofílicas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do segundo experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.

	UFC/g					
	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
T1	$8,5 \times 10^3$	$1,79 \times 10^3$	$2,75 \times 10^3$	$5,90 \times 10^3$	$1,42 \times 10^5$	$5,10 \times 10^6$
T2	$5,75 \times 10^2$	$1,22 \times 10^3$	$8,40 \times 10^2$	$4,85 \times 10^{3*}$	$6,50 \times 10^5$	$3,70 \times 10^{7*}$
T3	$6,35 \times 10^2$	$2,50 \times 10^2$	$6,65 \times 10^2$	$6,40 \times 10^2$	$2,00 \times 10^{5*}$	$1,50 \times 10^6$

Fonte: Autor (2020)

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. \* estimada

Tabela 8 – Contagem de bactérias psicrófilas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do segundo experimento ao longo do tempo de armazenamento em gelo.

	UFC/g					
	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
T1	$1,46 \times 10^3$	$1,15 \times 10^{2*}$	$4,85 \times 10^2$	$9,70 \times 10^2$	$3,75 \times 10^5$	$1,39 \times 10^7$
T2	$1,50 \times 10^*$	$2,50 \times 10^*$	$2,55 \times 10^2$	$1,47 \times 10^4$	$3,10 \times 10^{6*}$	$6,05 \times 10^{8*}$
T3	$2,50 \times 10^*$	<10	$1,05 \times 10^{2*}$	$5,65 \times 10^2$	$8,20 \times 10^5$	$3,00 \times 10^6$

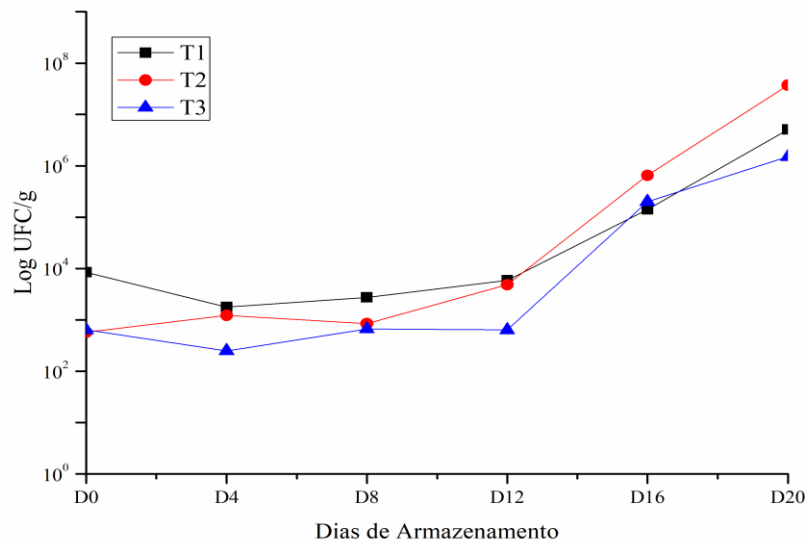
Fonte: Autor (2020)

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. \* estimada

De acordo com as contagens obtidas, é possível verificar que o crescimento microbiano é mais acentuado no tratamento 2, tanto para as bactérias mesófilas quanto para as bactérias psicrófilas, seguida pelo tratamento 1 e, por último o tratamento 3.

Os gráficos a seguir ilustram melhor o comportamento microbiano que foi relatado anteriormente. O GRÁFICO 5 representa o comportamento das bactérias mesófilas e o GRÁFICO 6 o comportamento das psicrófilas. Assim como no primeiro experimento, aqui também foi possível observar que houve crescimento logarítmico da população.

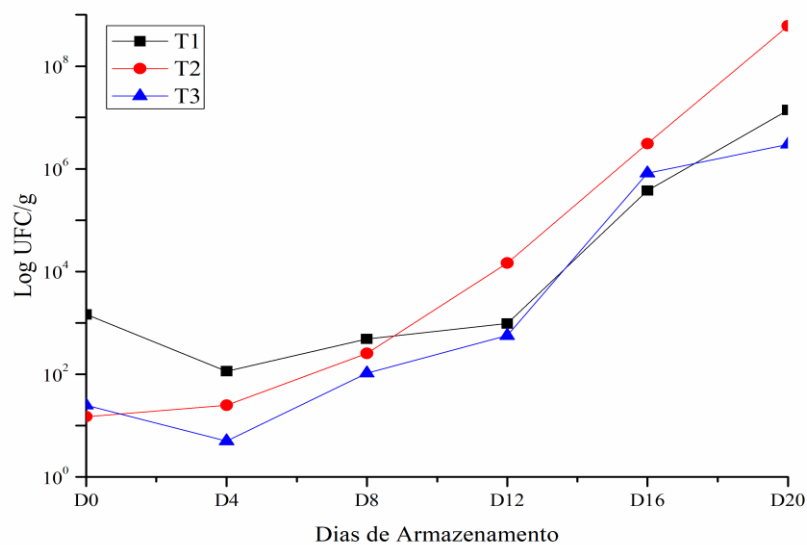
Gráfico 5 – Comportamento do número de bactérias mesófilas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do segundo experimento ao longo do período de estocagem em gelo em escala logarítmica.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

Gráfico 6 – Comportamento do número de bactérias psicrófilas nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*) do segundo experimento ao longo do período de estocagem em gelo em escala logarítmica.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

A fase lag, para as bactérias mesófilas (GRÁFICO 5) foi observada até a 12º dia de armazenamento, dando início então a fase log a partir deste dia até o 20º dia. Não foi possível observar a fase estacionária até o final do período de armazenamento. Para as bactérias psicrófilas (GRÁFICO 6), a fase lag foi observada até o 8º dia para T2 e até o 12º dia para T1 e T3. Em seguida foi observada a fase log até o final do período de armazenamento. Assim como nas mesófilas, também não foi possível observar a fase estacionária para as bactérias psicrófilas.

#### **4.2.2.3 Comparativo entre os experimentos**

Pode ser observado nas TABELAS 5 e 7 que no T1 de ambos os experimentos e no T3 do segundo experimento, no 4º dia de análise, a carga bacteriana mesófila teve um leve decréscimo que pode ser atribuído a adaptação das bactérias a baixas temperaturas e, para os camarões pertencentes ao segundo experimento, pode também estar atribuído ao derretimento do gelo que pode contribuir para a lixiviação das bactérias, diminuindo a carga microbiana presente (HUANG *et al.*, 2012).

No 8º dia, observou-se um aumento no crescimento bacteriano mesofílico, podendo ser explicado pela adaptação das bactérias à baixa temperatura e também pela propagação das bactérias presentes no intestino do camarão (WANG *et al.*, 2015).

O mesmo pode ser observado no segundo experimento para as bactérias mesófilas e psicrófilas, ambas pertencentes aos T1 e T3, reduzindo seu crescimento no 4º dia e voltando a aumentar no 8º dia. Também foi observada essa redução na carga microbiana para mesófilas do T2 no 8º dia, voltando a aumentar no 12º dia.

O ICMSF (1986) recomenda que a contagem de bactérias mesófilas não ultrapasse  $10^7$  UFC/g de pescado. Apenas o T2 do segundo experimento ultrapassou esse valor ao final dos 20 dias. Foi observado que, mesmo o camarão com contagens inferiores ao máximo estabelecido, eles não estavam aptos ao consumo. Esse fato pode ocorrer porque existem outros fatores que influenciam a degradação de pescados armazenados em gelo, como processos enzimáticos e proteolíticos (GIMÉNEZ *et al.*, 2010; GÓMEZ-GUILLÉN *et al.*, 2005; MEHTA; NAYAK, 2017).

Dessa forma, os camarões de ambos os experimentos apresentaram uma carga microbiana inferior ao estabelecido pelo ICMSF (1986) ao final do prazo de validade. Para o primeiro experimento, T1 apresentou carga microbiológica mesofílica de  $2,10 \times 10^5$  UFC/g e psicrófila de  $6,20 \times 10^6$  UFC/g. Em T2 a carga microbiana foi de  $3,15 \times 10^6$  UFC/g e  $7,10 \times 10^6$

UFC/g para bactérias mesófilas e psicrófilas, respectivamente. Para o T3, a carga mesófila foi de  $2,05 \times 10^5$  UFC/g, enquanto a psicrófila foi de  $2,92 \times 10^5$  UFC/g.

No primeiro experimento, o camarão inteiro (T1) estava apto ao consumo até o 12º dia, o camarão descabeçado e eviscerado (T2) estava apto até o 16º dia, e o camarão descascado, descabeçado e eviscerado (T3) atingiu o prazo máximo de validade no 11º dia.

Já para o segundo experimento, os camarões T1 apresentaram contagens de bactérias mesófilas de aproximadamente  $5,90 \times 10^3$  UFC/g e  $1,43 \times 10^4$  UFC/g para psicrófilas. Para o T2, a carga microbiana mesofílica foi de  $1,96 \times 10^5$  UFC/g e  $1,09 \times 10^6$  UFC/g para psicrófilas. Em T3, a carga microbiana foi  $2,79 \times 10^4$  UFC/g e  $2,53 \times 10^4$  UFC/g para bactérias mesófilas e psicrófilas, respectivamente.

No segundo experimento, o camarão inteiro (T1) estava apto ao consumo até o 11º dia, o camarão descabeçado e eviscerado (T2) estava apto até o 15º dia e o camarão descascado, descabeçado e eviscerado (T3) alcançou o prazo de validade no 14º dia.

Wang *et al.* (2015), estudando a conservação do camarão (*Litopenaeus vannamei*) em gelo fabricado com água eletrolisada ácida por 7 dias, em comparação com aquele fabricado com água da torneira, obtiveram contagens de bactérias viáveis totais de  $1,10 \times 10^6$  UFC/g, enquanto Gonçalves e Santos (2019), aos 12 dias de armazenamento de camarões (*Litopenaeus vannamei*) embalados em sacos de polietileno sob refrigeração a 4 °C, obtiveram contagens de  $2,27 \times 10^5$  UFC/g.

Esses dados mostraram que o camarão utilizado no presente estudo obteve melhor avaliação microbiológica do que os camarões analisados por Wang *et al.* (2015) e Gonçalves e Santos (2019) e, isto pode estar associado a diversos fatores, como a qualidade da água na qual os camarões estavam sendo cultivados e a melhor qualidade do gelo utilizado. A avaliação apresentou melhor desempenho no segundo experimento, no qual o camarão T1 até o 12º dia, apresentava contagens menores que  $10^4$  UFC/g tanto para bactérias mesófilas quanto para psicrófilas.

Apesar de não haver um limite de contagens para bactérias psicrófilas, os camarões apresentavam sinais claros de deterioração e a carga microbiana estava aumentando rapidamente, seguindo a escala logarítmica do crescimento bacteriano. Os resultados obtidos no presente trabalho foram superiores, quando comparados ao mesmo período de armazenamento para o primeiro experimento, enquanto os do segundo experimento estavam bem abaixo deste valor relatado por Gonçalves e Santos (2019) que observaram um crescimento de bactérias psicrófilas, aos 12 dias, de  $2,50 \times 10^5$  UFC/g.

A decomposição do camarão era visível não só na análise sensorial, mas também nas análises microbiológicas, pois as placas contendo PCA das primeiras diluições, com o passar do tempo de armazenamento, mostravam-se incontáveis, inviabilizando a contagem em diluições iniciais. Foi necessário realizar diluições maiores para atingir intervalos de contagem que compreendessem entre 25 e 250 colônias.

Os camarões pertencentes ao segundo experimento mantiveram baixas contagens até o 12º dia de armazenamento, apresentando crescimento logarítmico a partir deste dia. A carga microbiana baixa pode estar associada à boa qualidade microbiológica do gelo empregado no armazenamento, como também pode estar associada a uma baixa carga microbiana natural do camarão utilizado.

Os resultados obtidos no segundo experimento comprovaram que a carga microbiana presente no gelo influenciou diretamente na qualidade inicial dos camarões armazenados. Portanto, foi possível inferir que a alta carga microbiana inicial no primeiro experimento pode ser decorrente da contaminação cruzada com o gelo utilizado no acondicionamento dos camarões. Economou *et al.* (2016) relataram que o gelo, para que possa prolongar a vida útil do pescado, deve ser de excelente qualidade para evitar que seja uma fonte de contaminação, sendo assim, a qualidade do gelo deve ser examinada a partir de limite estabelecidos pela legislação vigente.

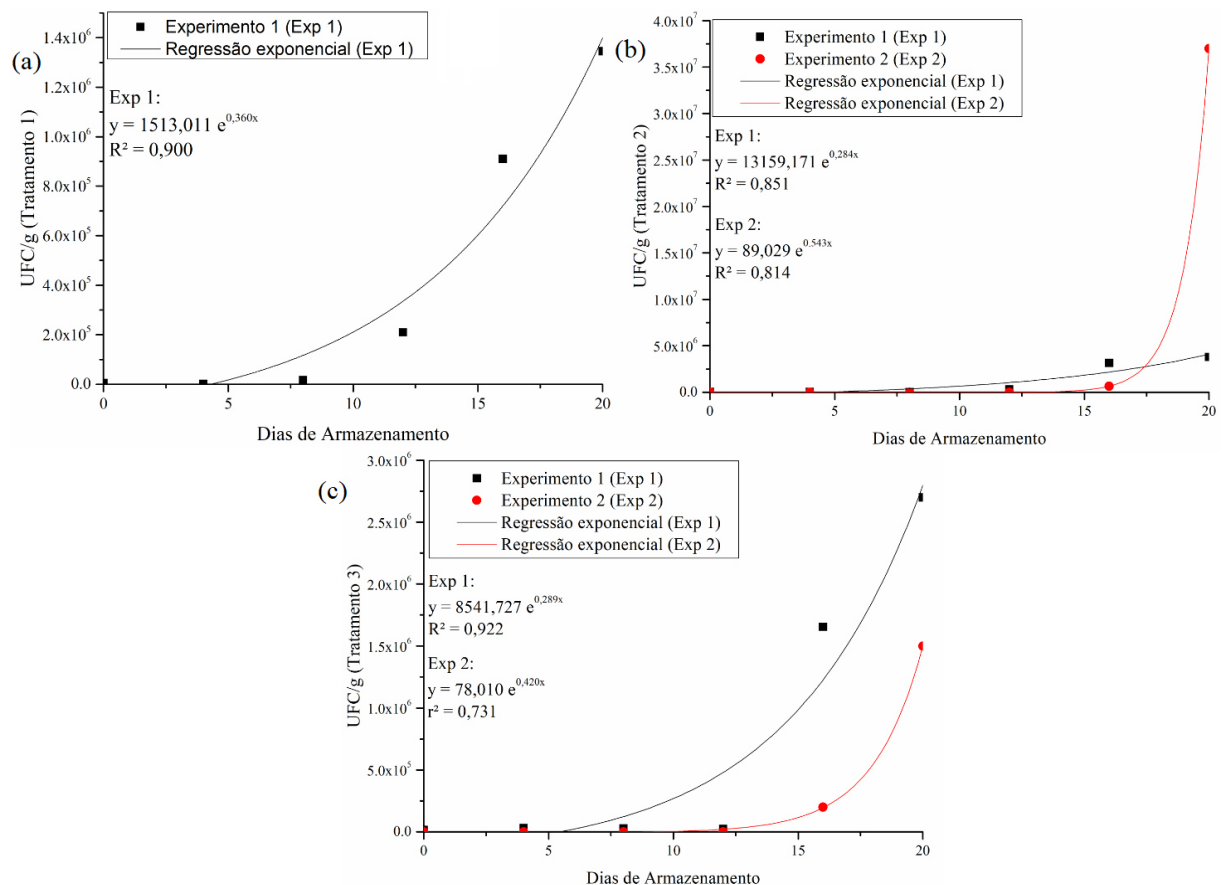
Além da deterioração provocada por processos enzimáticos e proteolíticos que foi citada neste tópico, foi relatado também que os principais gêneros bacterianos responsáveis pela deterioração do pescado refrigerado são bactérias psicrófilas Gram negativas como *Aeromonas* e *Pseudomonas*. Esses gêneros bacterianos foram identificados em ambos os experimentos e estão diretamente relacionados com o processo de deterioração dos camarões analisados, por mais que a carga microbiana fosse baixa, estes gêneros predominavam durante o período de armazenamento.

Esses aspectos são importantes de serem avaliados para que seja fornecido um alimento de boa qualidade microbiológica para o consumidor, evitando risco à saúde. A avaliação quantitativa é importante, mas também deve ser avaliada qualitativamente para verificar potenciais microrganismos prejudiciais à saúde humana. A avaliação deve ser conjunta, verificando a qualidade do camarão, como também a qualidade do gelo/água utilizada no processamento e a higiene dos manipuladores (MACÊDO *et al.*, 2017).

#### 4.2.2.4 Análise de regressão exponencial de crescimento

A carga microbiana (mesófila e psicrófila) apresentou correlação significativa com o tempo de estocagem em gelo para os três tratamentos. Foi possível observar que à medida que o tempo de armazenamento (x) foi se prolongando, a carga microbiana (y) aumentou exponencialmente com o passar dos dias. Também foi possível verificar pelos valores de  $R^2$  que o modelo exponencial ( $y = Ae^{bx}$ ) foi adequadamente aplicado para os pares xy (GRÁFICOS 7 e 8).

Gráfico 7 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias mesófilas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) ao longo do período de armazenamento em gelo.

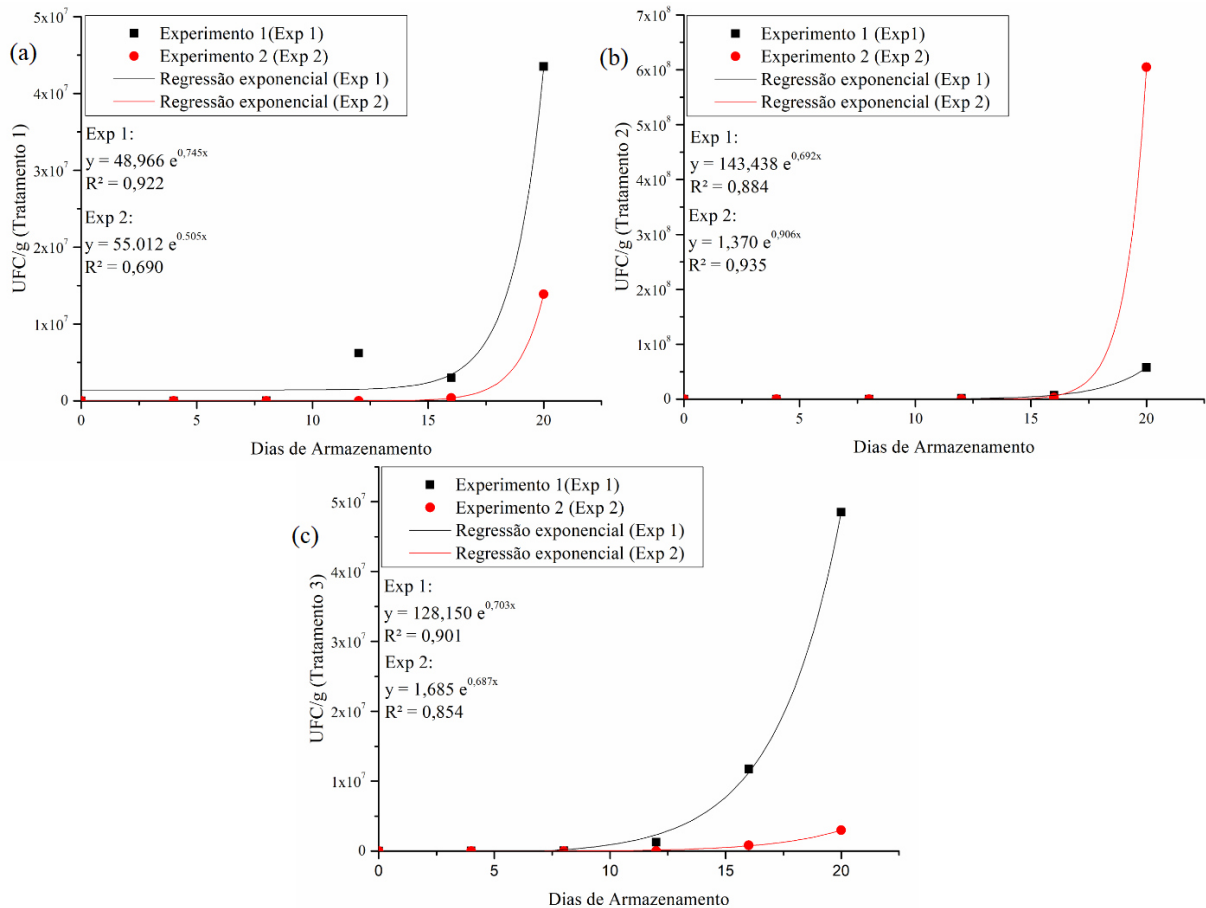


Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.



Gráfico 8 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias psicrófilas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) ao longo do período de armazenamento em gelo.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

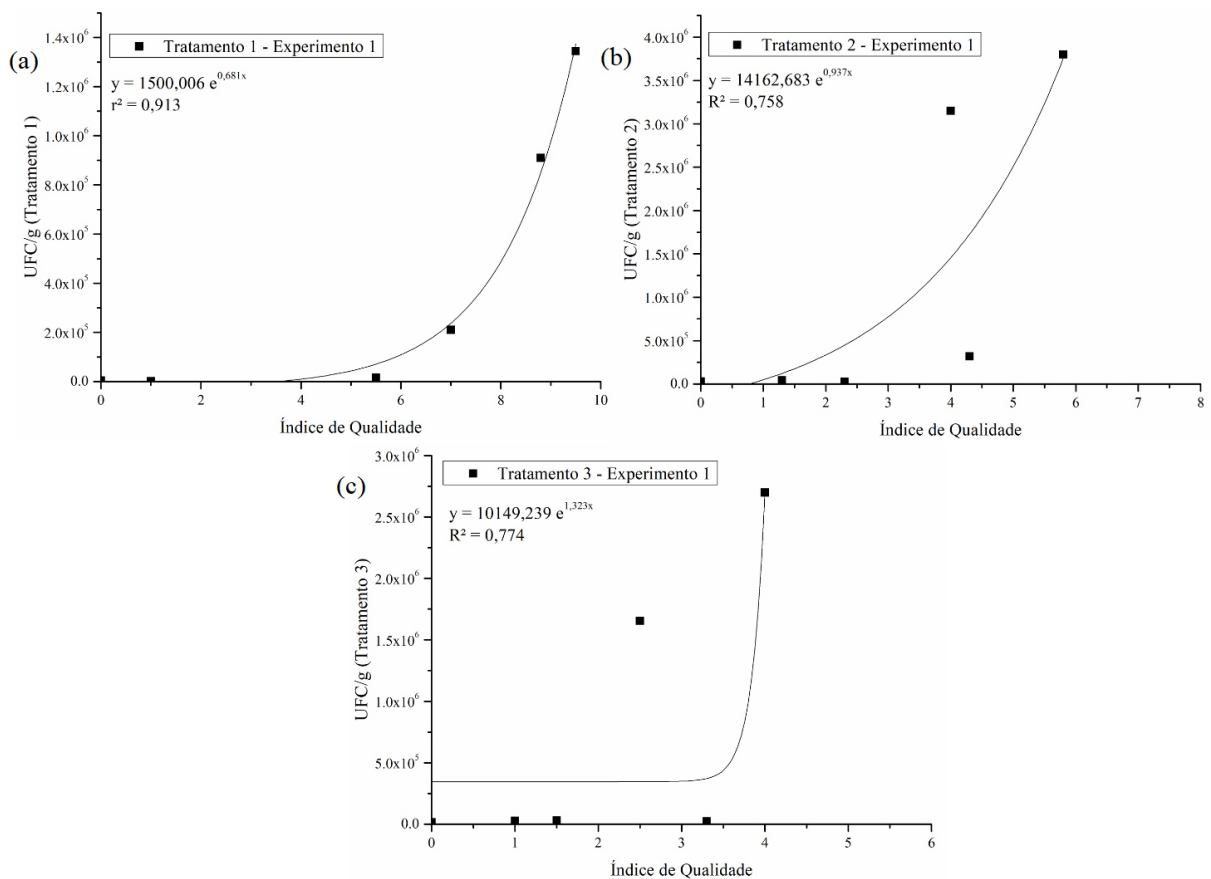
As correlações foram melhores explicadas para bactérias mesófilas pertencentes ao primeiro experimento. Os três tratamentos apresentaram relação entre o crescimento de bactérias mesófilas com o tempo de armazenamento, sendo essa relação mais forte no tratamento 1 com  $R^2$  de 0,900 (GRÁFICO 7).

Para o segundo experimento, não foi observada relação no tratamento 1, apenas nos tratamentos 2 e 3, sendo a relação em T3 alta com  $R^2$  de 0,922 (GRÁFICO 7).

Para as bactérias psicrófilas, todos os três tratamentos dos dois experimentos apresentaram relação do crescimento microbiano com o tempo de armazenamento em gelo. Essas relações foram melhor explicadas em T1 e T3 do primeiro experimento, em T2 do segundo experimento. Todos esses tratamentos citados anteriormente apresentaram  $R^2$  superior a 0,900 (GRÁFICO 8).

Com relação a carga microbiana de bactérias mesófila e psicrófila com o índice de qualidade, a correlação foi significativa para os três tratamentos. Foi possível observar que à medida que o índice de qualidade (x) aumentou, indicando perda de qualidade, já que se trata de pontos de demérito, a carga microbiana (y) aumentou exponencialmente com o passar dos dias. Também foi possível verificar pelos valores de  $R^2$  que o modelo exponencial ( $y = Ae^{bx}$ ) foi adequadamente aplicado para os pares xy (GRÁFICOS 9 e 10).

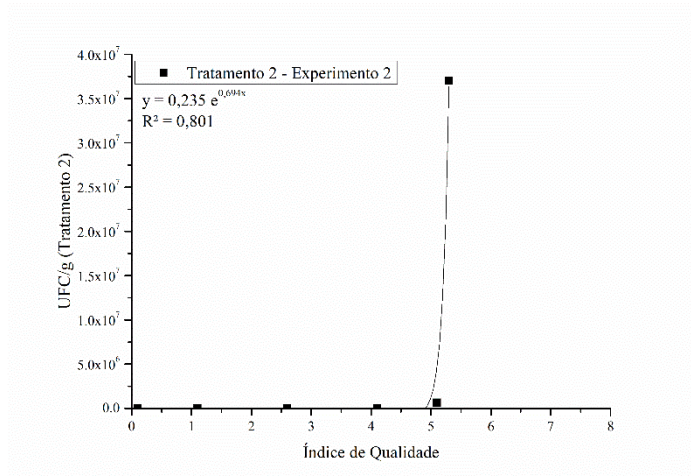
Gráfico 9 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias mesófilas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) relacionado ao índice de qualidade (IQ) no primeiro experimento.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

Gráfico 10 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias mesófilas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 2 relacionado ao índice de qualidade (IQ) no segundo experimento.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado.

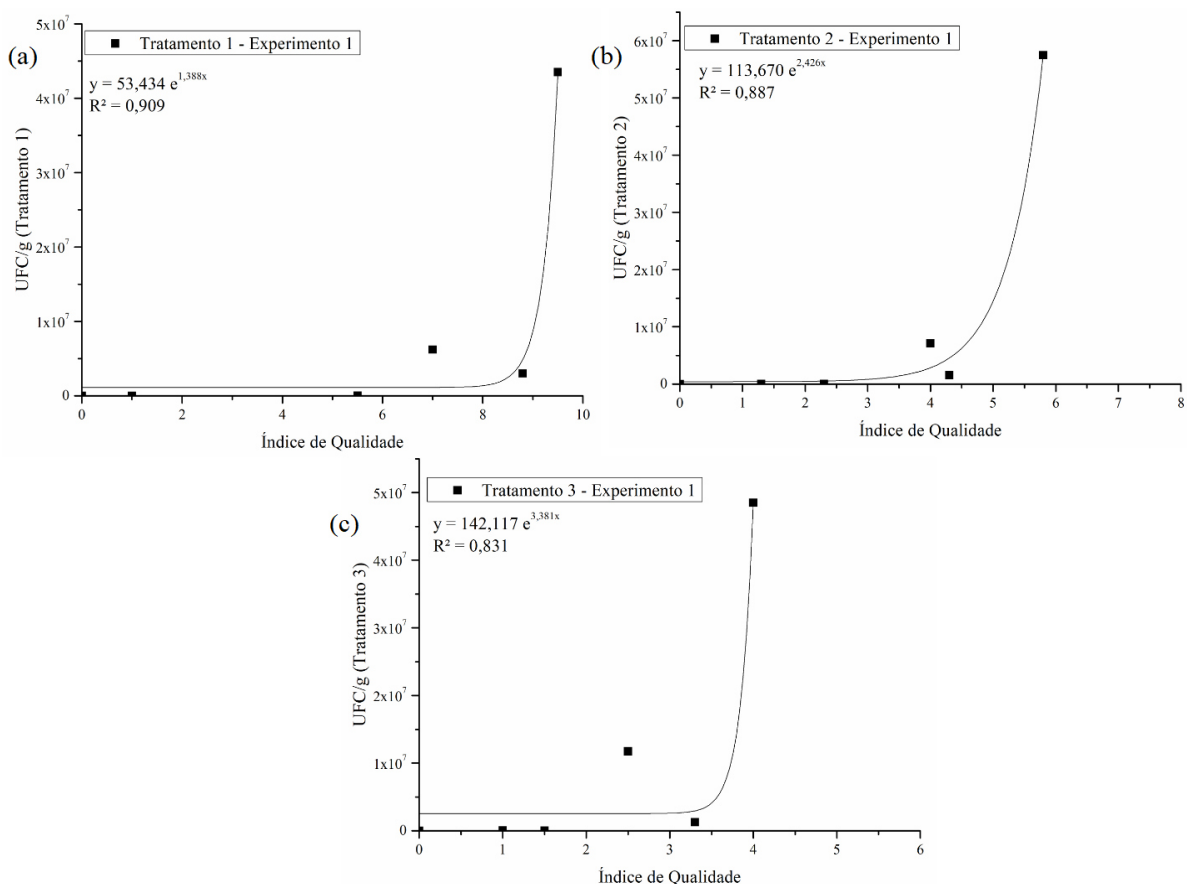
Comparando as regressões do primeiro experimento entre o crescimento mesófilico com o tempo de armazenamento (GRÁFICO 7) e o crescimento mesofílico com o índice de qualidade (GRÁFICO 9), pode-se observar que todos apresentam relação superior a  $R^2 = 0,700$ , mostrando que o crescimento de bactérias mesófilas aumenta com o passar do tempo de armazenamento e com o aumento dos pontos de deméritos relatados pelos painelistas. Porém, essa relação foi melhor observada quando relacionado o crescimento microbiano de bactérias mesófilas com o índice de qualidade (GRÁFICO 7).

Já a relação entre o crescimento mesofílico e o índice de qualidade relatado pelos painelistas no segundo experimento, apenas o tratamento 2 apresentou relação entre os parâmetros com  $R^2 = 0,801$  (GRÁFICO 10). Quando comparada a regressão do crescimento microbiano mesofílico com o tempo de armazenamento em gelo (GRÁFICO 7) com o crescimento microbiano mesofílico com o índice de qualidade (GRÁFICO 10), a relação foi muito próxima. Esses dados mostram que o crescimento microbiano com o tempo de armazenamento ocorre juntamente com a perda de frescor relatada pelos painelistas.

Para as bactérias psicrófilas, as relações entre o crescimento de bactérias psicrófilas e o índice de qualidade relatado pelos painelistas (GRÁFICO 11) mostrou que a relação esteve presente nos três tratamentos analisados. Quando comparamos as regressões de crescimento psicrófilo com o tempo de armazenamento (GRÁFICO 8) e o crescimento psicrófilo com o

índice de qualidade (GRÁFICO 11), podemos observar que em ambas as análises, as relações entre os parâmetros são fortes. Ou seja, a medida que o tempo de armazenamento se prolonga, a quantidade de bactérias psicrófilas aumenta exponencialmente como também há uma elevação da pontuação do índice de qualidade.

Gráfico 11 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias psicrófilas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 1 (a), tratamento 2 (b) e tratamento 3 (c) relacionado ao índice de qualidade (IQ) no primeiro experimento.



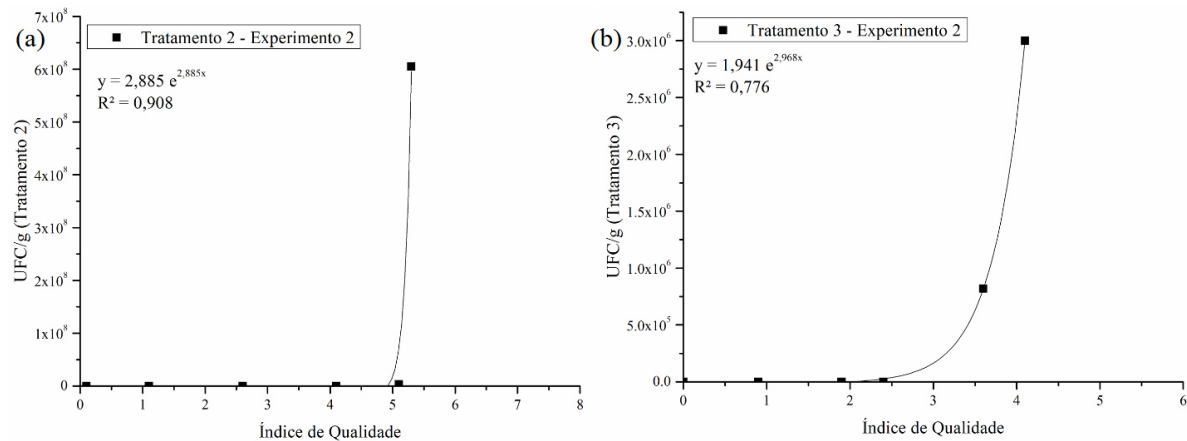
Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

Já para a análise de regressão do crescimento de bactérias psicrófilas com o índice de qualidade relatado pelos painelistas no experimento 2 (GRÁFICO 12), a relação só foi observada para os tratamentos 2 e 3. E quando comparadas com as regressões obtidas entre o crescimento psicrófilo com o tempo de armazenamento (GRÁFICO 8), as relações foram próximas, mostrando também que a carga microbiana aumenta com o tempo de

armazenamento, assim como também há a perda de frescor do camarão que é representada pela elevação dos pontos de deméritos.

Gráfico 12 – Modelo de regressão exponencial de crescimento para parâmetros microbiológicos de bactérias psicrófilas para os camarões (*Litopenaeus vannamei*) submetidos ao tratamento 2 (a), tratamento 3 (b) relacionado ao índice de qualidade (IQ) no segundo experimento.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

As regressões foram comparadas entre os experimentos, tanto a regressão exponencial de crescimento dos parâmetros microbiológicos (bactérias mesófilas e psicrófilas) com o tempo de armazenamento, quanto com o índice de qualidade, para verificar se a carga microbiana foi influenciada pela qualidade do gelo utilizado.

A análise de comparação de regressões mostrou que há diferença significativa entre os dois experimentos. Todas as relações foram presentes nos camarões analisados no primeiro experimento, já para o segundo experimento o mesmo não ocorreu. Esse fato pode estar associado a diversos fatores como, por exemplo, uma melhor qualidade do gelo utilizado na conservação dos camarões.

Os resultados obtidos corroboram com os dados relatados por Khodanazary (2019), afirmando que as análises de regressão para bactérias mesófilas e psicrófilas presentes em camarões inteiros (*Metapenaeus affinis*) foram de  $R^2 = 0,954$  e  $R^2 = 0,985$ , respectivamente.

#### 4.2.3 Isolamento e identificação bacteriana

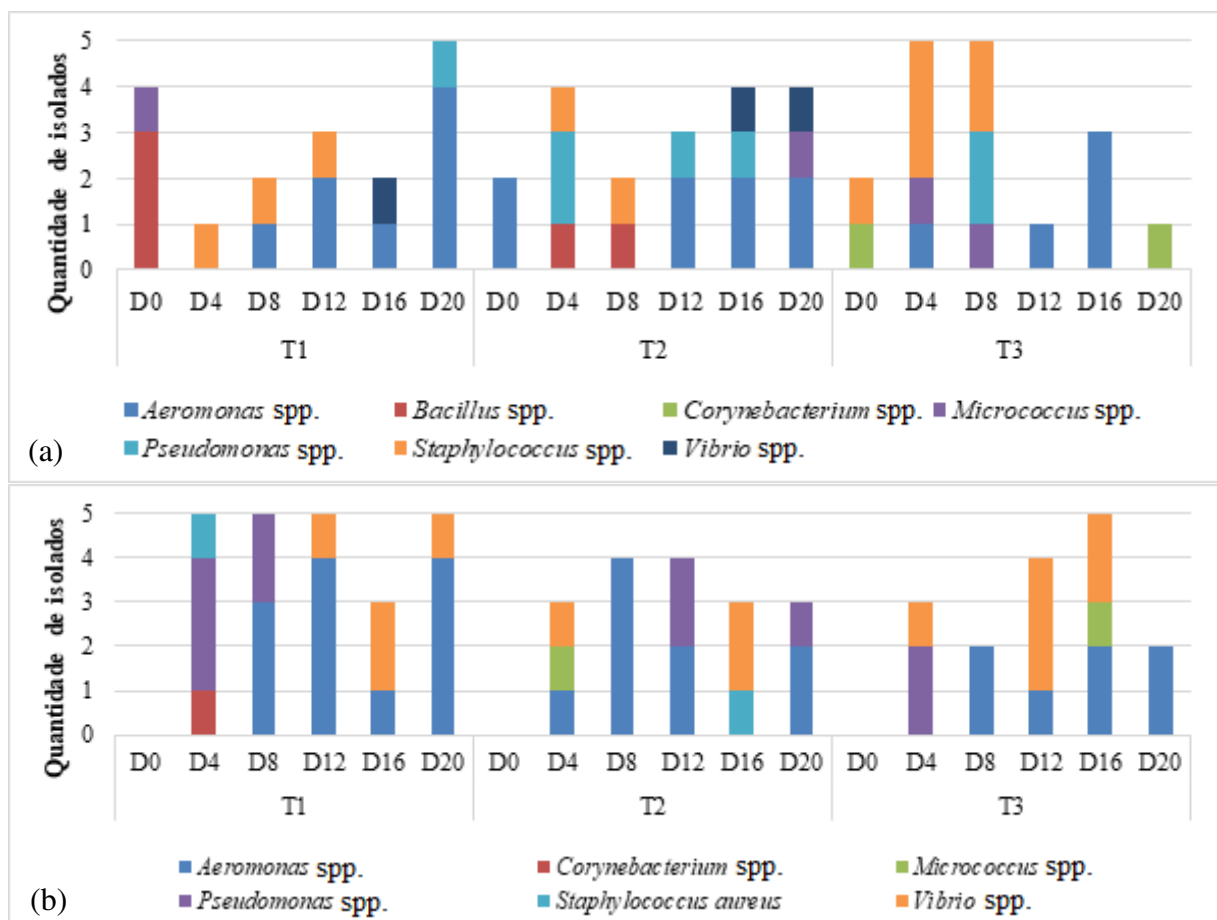
Foram isoladas cinco colônias de cada tratamento a cada dia de análise, perfazendo um total de 90 colônias mesófilas e 75 colônias psicrófilas no primeiro experimento e, 90

colônias mesófilas e 90 psicrófilas no segundo experimento. Não houve crescimento bacteriano no dia 0 para bactérias psicrófilas do primeiro experimento. Após o isolamento, foi realizada a coloração de Gram para dar início aos testes bioquímicos de identificação bacteriana.

#### 4.2.3.1 Primeiro experimento

No primeiro experimento foi possível realizar a identificação de 66% das estirpes isoladas, apresentando 33% de bactérias heterotróficas viáveis mas não cultiváveis. O gênero que teve maior representatividade foi *Aeromonas* spp. correspondendo a 30% do total isolado nos tecidos de camarões, sendo 13% encontradas no grupo das mesófilas (GRÁFICO 13a) e 17% no grupo das psicrófilas (GRÁFICO 13b).

Gráfico 13 – Diversidade microbiana mesofílica (a) e psicrófila (b) isolada de camarão (*Litopenaeus vannamei*) ao longo de 20 dias de armazenamento em gelo no primeiro experimento.



Fonte: Autor (2020).

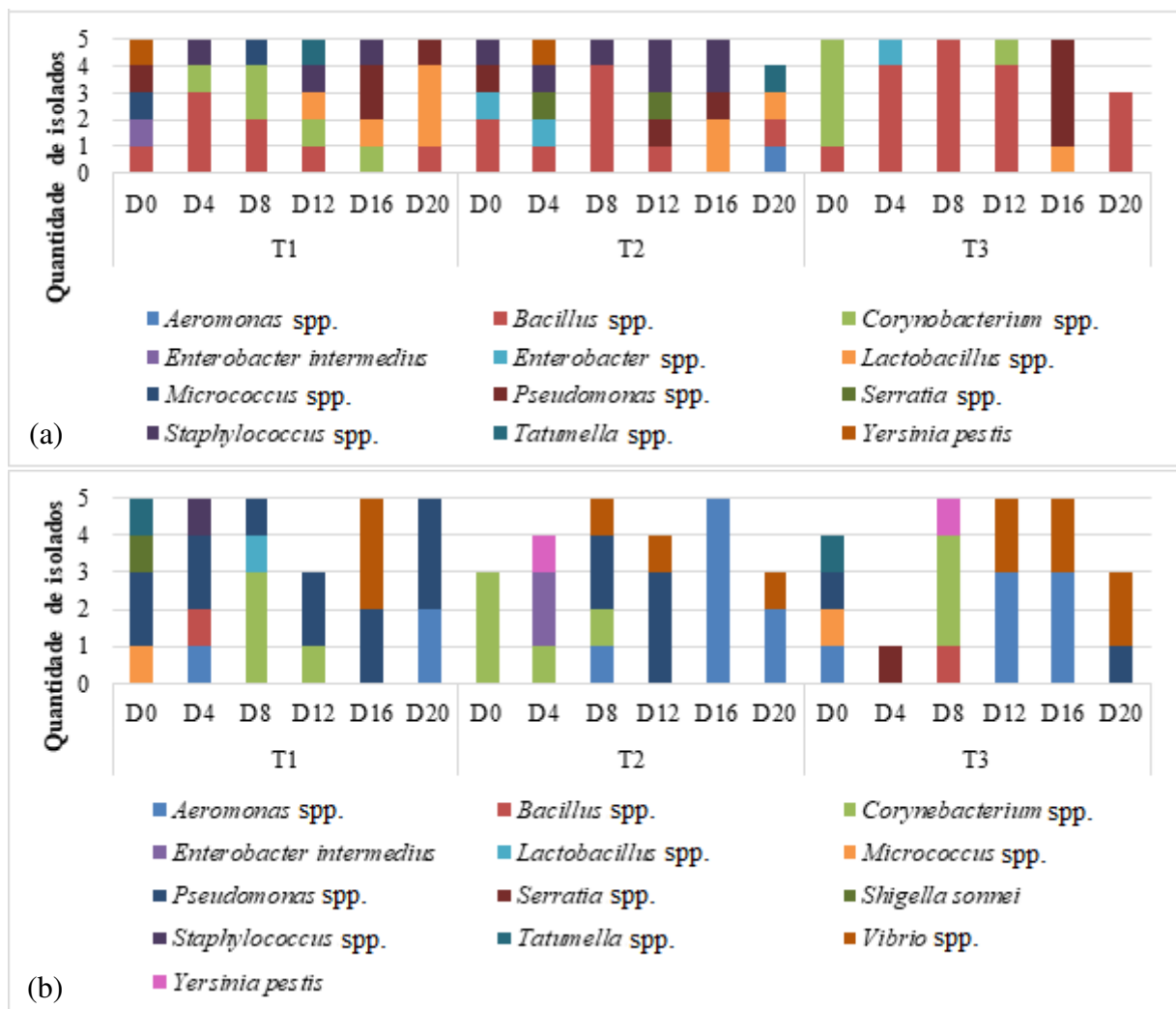
Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

D0 – Dia 0; D4 – Dia 4; D8 – Dia 8; D12 – Dia 12; D16 – Dia 16; D20 – Dia 20

#### 4.2.3.2 Segundo experimento

Foi possível identificar 90% dos isolados, apresentando 10% de bactérias heterotróficas viáveis mas não cultiváveis. O gênero que apresentou maior representatividade foi *Bacillus* correspondente a 20% dos isolados, com 19% correspondendo ao grupo das mesófilas (GRÁFICO 14a), enquanto apenas 1% correspondiam ao grupo das psicrofílas (GRÁFICO 14b).

Gráfico 14 – Diversidade microbiana mesofílica (a) e psicrofílica (b) isolada de camarão (*Litopenaeus vannamei*) ao longo de 20 dias de armazenamento em gelo no segundo experimento.



Fonte: Autor.

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

D0 – Dia 0; D4 – Dia 4; D8 – Dia 8; D12 – Dia 12; D16 – Dia 16; D20 – Dia 20

Em seguida vieram *Pseudomonas* spp. que são bactérias produtoras de biofilme, consideradas as primeiras bactérias a darem início ao processo de deterioração de alimento (CARVALHO, 2010) e que representam um grande problema na indústria de processamento de pescado devido a esta característica.

#### 4.2.3.3 Comparativo entre os experimentos

Foi verificada a presença das bactérias deterioradoras *Pseudomonas* desde o dia 0 até o 20º dia de armazenamento em gelo em ambos os experimentos, comprovando o que foi relatado por diversos autores que afirmam que as primeiras alterações são produzidas por bactérias psicrófilas (*Pseudomonas* e *Achromobacter*), em seguida outras espécies tenderam a entrar em ação como *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e as leveduras (CARVALHO, 2010; KHODANAZARY, 2019; LU, 2009). No primeiro experimento, *Pseudomonas* correspondeu a 10% dos isolados e, no segundo experimento, 17%.

Algumas bactérias são capazes de produzir biofilmes e aderir a superfícies, como é o caso das *Pseudomonas*. Esse biofilme gera problema na indústria de processamento de alimentos, constituindo um risco potencial de contaminação cruzada dos utensílios com o alimento, tendo em vista que podem favorecer o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes de alimento, sendo de suma importância a limpeza e desinfecção do ambiente com sanitizantes apropriados (MEDINA-RODRÍGUEZ *et al.*, 2020).

O quadro 4 mostra a quantidade de isolados pertencentes a cada gênero bacteriano em cada um dos experimentos, podendo ser observado vários gêneros que são reconhecidos como deterioradores de pescado armazenado em gelo (CARVALHO, 2010; KHODANAZARY, 2019; LU, 2009)

Quadro 4 – Quantificação dos representantes em cada gênero isolado em cada experimento, incluindo todo o grupo de bactérias mesófilas e psicrófilas dos três tratamentos e dos dois experimentos (continua).

Gênero bacteriano	Experimento 1	Experimento 2
	Quantidade de isolados	Quantidade de isolados
<i>Aeromonas</i> spp.	49	19
<i>Bacillus</i> spp.	5	36



Quadro 4 – Quantificação dos representantes em cada gênero isolado em cada experimento, incluindo todo o grupo de bactérias mesófilas e psicrófilas dos três tratamentos e dos dois experimentos (conclusão).

Gênero bacteriano	Experimento 1	Experimento 2
	Quantidade de isolados	Quantidade de isolados
<i>Corynebacterium</i> spp.	3	22
<i>Enterobacter</i> spp.	-	3
<i>Enterobacter intermedius</i>	-	3
<i>Micrococcus</i> spp.	6	4
<i>Lactobacillus</i> spp	-	10
<i>Pseudomonas</i> spp.	17	30
<i>Serratia</i> spp.	-	3
<i>Shigella sonnei</i>	-	1
<i>Staphylococcus</i> spp.	11	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	-
<i>Tatumella</i> spp.	-	4
<i>Vibrio</i> spp.	16	12
<i>Yersinia pestis</i>	-	4
BHCNV	56	18

Fonte: Autor.

Legenda: BHCNV – Bactérias heterotróficas cultiváveis mas não viáveis.

A diversidade e a abundância microbiana presente nos tecidos de camarões podem variar devido a fatores como época do ano em que os camarões foram analisados, local de captura, arte de pesca utilizada no momento da captura e/ou despesca, utilização ou não de prebióticos e probióticos, como também o manuseio e manipulação desde a captura e/ou despesca até o consumo final (CHAILLOU *et al.*, 2014; JIA *et al.*, 2019).

Microrganismos como *Escherichia*, *Shigella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Bacillus* costumam estar associados a contaminação cruzada com as condições de manuseio do alimento. Essa contaminação pode ocorrer através da utilização de equipamentos contaminados, do solo, da água, gelo ou até mesmo da pele humana. A presença dessas bactérias indica uma má qualidade na higiene de utensílios e manipuladores, afetando a qualidade e a segurança do pescado. O consumo de alimento contendo esses microrganismos potencialmente patogênicos em grandes quantidades pode trazer risco para a saúde do

consumidor, principalmente se consumidos crus ou mal cozidos, podendo causar doenças transmitidas por alimentos (PARLAPANI *et al.*, 2020).

Os resultados do presente trabalho corroboram com o relatado por Don *et al.* (2018) sobre os camarões (*Litopenaeus vannamei*) oriundos de uma fazenda de camarões localizada no distrito de Raighad, Maharashtra, Índia e que foram armazenados em gelo a 1 °C. Os autores relataram como principais organismos deterioradores *Aeromonas salmonicida*, *Enterococcus faecalis*, *E. thailandicus*, *Vibrio* sp., *Pseudomonas fluorescens* e *Klebsiella pneumoniae*.

Por sua vez, Jia *et al.* (2019) relataram que a microbiota inicial de camarões (*Litopenaeus vannamei*) que foram adquiridos no mercado de Pequim e armazenados em gelo a 0 °C era, em sua maioria, composta por *Photobacterium* e *Candidatus Bacilloplasma*, à medida que o tempo de armazenamento aumentou, a composição da microbiota passou por mudanças significativas, apresentando aos 7 dias de armazenamento, predominância dos gêneros microbianos *Aliivibrio*, *Moritella* e *Pseudoalteromonas*.

### 4.3 Análise físico-química

#### 4.3.1 pH

##### 4.3.1.1 Primeiro experimento

No primeiro experimento, o pH aumentou gradativamente em todos os tratamentos. No T1 o pH aumentou até o 8º dia, decaindo no 12º dia e subindo novamente até o 20º dia; no T2, os valores de pH aumentaram até o 12º dia, apresentando o valor máximo neste dia e foi diminuindo até o 20º dia; no T3 teve queda de pH até o 8º, aumentando no 12º e diminuindo novamente no 16º dia e voltando a subir no 20º dia, atingindo seu valor máximo (TABELA 9).

Tabela 9 – Valores de pH encontrados no tecido de camarões (*Litopenaeus vannamei*) para os três tratamentos, primeiro experimento.

Tratamentos	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16	Dia 20
T1	6,97	7,41	7,75	7,24	7,66	8,32
T2	6,69	7,27	7,42	8,05	8,00	7,82
T3	6,81	6,76	6,65	6,76	6,76	7,23

Fonte: Autor (2020)

Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

Foi realizada também a análise de correlação de Pearson para verificar a existência de correlação estatisticamente significativa entre o pH (y) e os dias de armazenamento em gelo (x), para os três tratamentos do primeiro experimento. A confirmação de correlação foi seguida da obtenção da equação linear entre as variáveis x e y (TABELA 10).

Tabela 10 – Modelo de regressão linear dos valores de pH em função do tempo de estocagem e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para os 3 tratamentos, primeiro experimento.

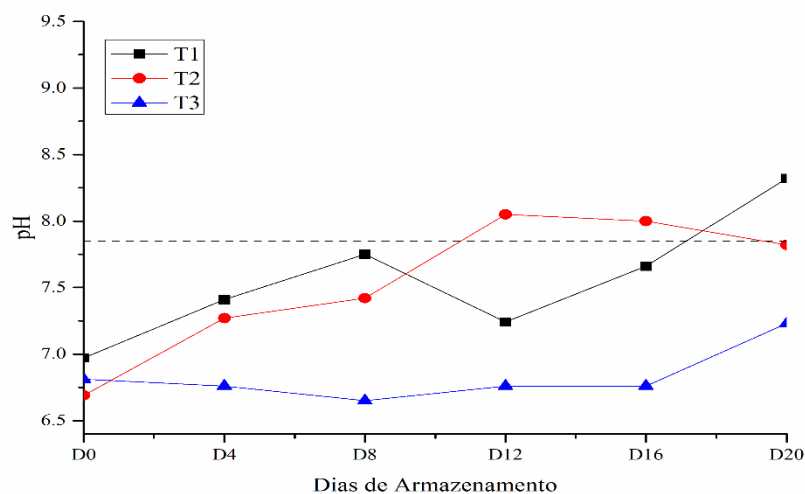
Tratamentos	Coefficiente de correlação de Pearson (r)	Coefficiente de determinação ( $R^2$ )	Equação linear
T1	0,798 <sup>NS</sup>	0,637	-
T2	0,868*	0,754	$y = 6,94 + 0,06 x$
T3	0,580 <sup>NS</sup>	0,336	-

Fonte: Autor (2020).

Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. \* existência de correlação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre pH e dias de armazenamento em gelo. <sup>NS</sup> inexistência de correlação estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre pH e dias de armazenamento em gelo.

A variação do pH nos três tratamentos foi diferente e todos apresentaram pH próximo à neutralidade no primeiro dia de análise (GRÁFICO 15).

Gráfico 15 – Comportamento do pH nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*), ao longo do período de estocagem em gelo, primeiro experimento.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. D0 – Dia 0; D4 – Dia 4; D8 – Dia 8; D12 – Dia 12; D16 – Dia 16; D20 – Dia 20. Linha pontilhada – limite de aceitação de pH para crustáceos proposto pela legislação brasileira (BRASIL, 2017).

#### 4.3.1.2 Segundo experimento

Todos os tratamentos mostraram pH superior a 7 no dia 0. T1 e T2 atingiram pH superior a 8 no 8º dia, aumentando até valores superiores a 9 no 16º dia, enquanto o pH em T3 mostrou valor máximo de 7,87 no 16º dia de armazenamento. Como todos os tratamentos já haviam ultrapassado o limite estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2017), a análise foi realizada apenas até o 16º dia de armazenamento em gelo (TABELA 11).

Tabela 11 – Valores de pH encontrados no tecido de camarões (*Litopenaeus vannamei*) para os três tratamentos, segundo experimento.

Tratamentos	Dia 0	Dia 4	Dia 8	Dia 12	Dia 16
T1	7,36	7,87	8,22	8,18	9,12
T2	7,31	7,88	8,05	8,37	9,26
T3	7,21	7,12	7,35	7,26	7,87

Fonte: Autor (2020)

Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado.

A análise de correlação de Pearson para realizada para verificar a existência de correlação estatisticamente significativa ente o pH (y) e os dias de armazenamento em gelo (x), para os três tratamentos do segundo experimento. A confirmação de correlação foi seguida da obtenção da equação linear entre as variáveis x e y (TABELA 12).

Tabela 12 – Modelo de regressão linear dos valores de pH em função do tempo de estocagem e seus respectivos coeficientes de determinação (R<sup>2</sup>) para os 3 tratamentos, segundo experimento.

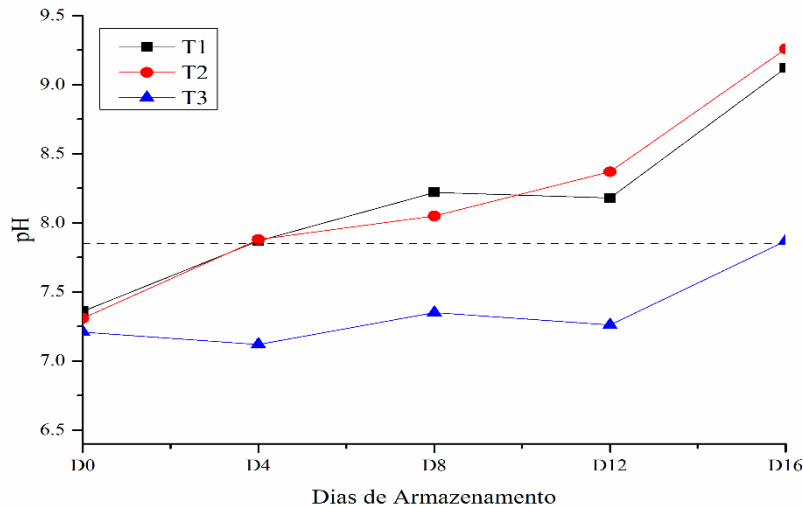
Tratamentos	Coeficiente de correlação de Pearson (r)	Coeficiente de determinação (R <sup>2</sup> )	Equação linear
T1	0,943*	0,890	$y = 7,38 + 0,10 x$
T2	0,966*	0,933	$y = 7,30 + 0,11 x$
T3	0,780 <sup>NS</sup>	0,609	-

Fonte: Autor (2020).

Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. \* existência de correlação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre pH e dias de armazenamento em gelo. <sup>NS</sup> inexistência de correlação estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre pH e dias de armazenamento em gelo.

Todos os valores de pH aumentaram gradativamente, ultrapassando o valor máximo já no 4º dia para T1 e T2 e no 16º dia para T3 (GRÁFICO 16).

Gráfico 16 – Comportamento do pH nos tecidos de camarões (*Litopenaeus vannamei*), ao longo do período de estocagem em gelo, segundo experimento.



Fonte: Autor (2020).

Legenda: Tratamento 1 (T1) – camarão inteiro; Tratamento 2 (T2) – camarão descabeçado e eviscerado; Tratamento 3 (T3) – camarão descascado, descabeçado e eviscerado. D0 – Dia 0; D4 – Dia 4; D8 – Dia 8; D12 – Dia 12; D16 – Dia 16. Linha pontilhada – limite de aceitação de pH para crustáceos proposto pela legislação brasileira (BRASIL, 2017).

#### 4.3.1.3 Comparativo entre os experimentos

O primeiro experimento apresentou valores de pH menores do que o segundo experimento.

O T1 do primeiro experimento teve pH inicial de 6,97 e final de 8,32 e, o do segundo experimento, com pH inicial de 7,36 e máximo de 9,12. Oliveira *et al.* (2009) encontraram valores de pH menores comparados ao do estudo, cujos valores de pH para o camarão inteiro variaram de 6,54 a 7,0 no intervalo de 20 dias.

Wang *et al.* (2015) encontraram valores de pH mais próximos dos encontrados no T1 do primeiro experimento, relatando que camarões inteiros e estocados em gelo por 7 dias, o pH variou de 6,90 a 7,65 no 7º dia. Gonçalves e Santos (2019) encontraram valores de pH que variaram de 6,45 a 7,73 em camarões armazenados a 4 °C por 12 dias, os valores foram os que estão mais próximos dos encontrados, em ambos os experimentos, aos 12 dias de estocagem.

O T2, do primeiro experimento, apresentou valor de pH inicial de 6,69 e final de 7,82, enquanto o do segundo experimento iniciou com 7,31 e final de 9,26. Oliveira *et al.* (2009)

encontraram valores de pH para o camarão sem cabeça que variaram de 6,75 a 7,24 no intervalo de 20 dias, estando próximo do encontrado no primeiro experimento.

Para T3, o pH inicial no primeiro experimento foi de 6,81 e final de 7,23 e no segundo experimento, o valor inicial foi de 7,21 e final de 7,87. Este tratamento foi o que apresentou valores de pH mais próximos da neutralidade e teve pouca variação durante o período de armazenamento (TABELA 9). Queiroga *et al.* (2014) relataram que o pH do camarão congelado em *freezer* doméstico por 90 dias variou de 6,63 a 7,27 enquanto o congelado em nitrogênio líquido variou de 7,01 a 7,42. Apesar de condições de armazenamento diferentes, foi possível observar que o pH variou de acordo com o tempo de armazenamento.

Oliveira *et al.* (2009) verificaram que os camarões foram rejeitados na avaliação sensorial quando o pH encontrava-se superior a 7,0. Entretanto, a legislação brasileira (BRASIL, 1997) tem como base para o pescado fresco pH de até 6,8. Porém, para crustáceos, a legislação brasileira (BRASIL, 2017) mostra que o limite aceitável de pH para crustáceos é de até 7,85.

O modelo de regressão linear para os camarões do primeiro experimento (TABELA 10) mostrou que houve fraca ou inexistência de relação entre o pH e o tempo de armazenamento, comprovando que ele não é um índice de mensuração de qualidade forte para os camarões analisados. Para os camarões do segundo experimento (TABELA 12), houve um melhor ajuste dos dados ao modelo de regressão linear no tratamento 1 e 2, porém não pôde ser observada no tratamento 3. Essa baixa relação também foi relatada por Oliveira *et al.* (2009).

## 5 CONCLUSÕES

De acordo com os achados, o valor máximo aceitável, de acordo com o Método do Índice de Qualidade (MIQ), para camarões inteiros (Tratamento 1) foi de 7 pontos de deméritos, para os camarões descabeçados e eviscerados (Tratamento 2) foi de 5 pontos de deméritos e para os camarões descascados, descabeçados e eviscerados (Tratamento 3) foi de 3 pontos de deméritos. Esse método se apresentou como uma ferramenta bastante eficaz para análise de qualidade de camarões mantidos em gelo, entretanto os aspectos com maior influência sobre o índice de qualidade final dependeram do processamento ao qual os camarões foram submetidos.

Houve correlação significativa entre o índice de qualidade e o tempo de armazenamento em gelo, e essas variáveis foram descritas pelo modelo linear para todos os tratamentos dos dois experimentos.

As análises microbiológicas realizadas nos gelos utilizados em ambos experimentos evidenciaram que todos estavam fora dos padrões microbiológicos adotados pela legislação brasileira, gerando um fato preocupante por ser um gelo de uso comercial.

Concluimos que a carga microbiológica inicial nos camarões é diretamente influenciada pela qualidade do gelo utilizado.

A análise de regressão exponencial mostrou que o crescimento de bactérias mesófilas e psicrófilas nos camarões estava diretamente relacionado com o tempo de armazenamento em gelo nos dois experimentos, exceto pelas bactérias mesófilas do T1 do segundo experimento que não apresentou relação.

Essa relação também foi observada, no primeiro experimento, quando comparado o crescimento de bactérias mesófilas e psicrófilas com o índice de qualidade relatado pelos painelistas. Já para o segundo experimento essa relação não foi tão eficiente, sendo inexistente em alguns tratamentos.

Essa diferença está relacionada com a qualidade microbiológica inicial, tanto do camarão quanto do gelo utilizado no processo de conservação desses camarões. Como foi observado ao longo do trabalho, a carga microbiana inicial do camarão e do gelo no primeiro experimento foi superior ao do segundo experimento.

Com fundamentação nos resultados obtidos das análises de regressões exponenciais, pôde-se concluir que o tempo de armazenamento está correlacionado com o crescimento bacteriano nos camarões. Em contrapartida, a relação entre o crescimento bacteriano (mesófilo e psicrófilo) com o índice de qualidade pode não apresentar relação como medida comparativa.

Baseado na frequência de isolamentos, pôde-se perceber uma sucessão na abundância de bactérias cultiváveis ao longo do período de estocagem com menor diversidade ao longo do período e maior presença de espécies dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas* e *Vibrio*. Com exceção de *Bacillus* (Gram positivo), todos são Gram negativos e reconhecidos como degradadores de tecidos de pescado marinho.

Foi observado que o pH não apresentou aumento contínuo ao longo dos dias de análise. No geral, o comportamento foi oscilante com valores registrados mais elevados e em seguida mais baixos. Isso mostra que o pH é um atributo de baixo impacto na decisão de aceitação ou rejeição dos camarões.



## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S. C. S. *et al.* Validade comercial de sardinhas inteiras e refrigeradas avaliada por análises físico-químicas, bacteriológicas e sensorial. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 10, p. 1901-1907, 28 ago. 2012. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782012001000030&lng=pt&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782012001000030&lng=pt&tlng=pt). Acesso em: 10 jan. 2020.
- 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**, Califórnia, v. 37, n. 1, p. 1-9, 4 abr. 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfs.12288>. Acesso em: 11 jan. 2020.
- BOGDANOVIĆ, T. *et al.* Development and Application of Quality Index Method Scheme in a Shelf-Life Study of Wild and Fish Farm Affected Bogue (*Boops boops*, L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 77, n. 2, p.99-106, 17 jan. 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1750-3841.2011.02545.x>. Acesso em: 25 nov. 2019.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_12\\_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b). Acesso em: 31 jan. 2019.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. **Regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, Brasília, 2017. Disponível em: <https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=NzU2NQ%2C%2C>. Acesso em: 02 jul. 2019.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria MAPA nº 185, de 13 de maio de 1997. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). **Diário Oficial da União**, Brasília, 19 mai. 1997. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-mapa-185-de-13-05-1997,670.html>. Acesso em: 29 jan. 2019.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. **Diário Oficial da União**, Brasília, de 26 de março de 2004. Seção I, p.266
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2011. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914\\_12\\_12\\_2011.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html). Acesso em: 29 jan. 2019.
- BREMNER, H. A. A convenient, easy-to-use system for estimating the quality of chilled seafood. **Fish Processing Bulletin**, Nelson, 1985, p. 59-70.

BREMNER, H. A.; OLLEY, J.; VAIL, A. M. A. Estimating time-temperature effects by rapid systematic sensory methods. *In*: Kramer, D. E.; Liston, J. (ed.). **Seafood Quality Determination**. Elsevier, Amsterdam, New York, p. 413-434, 1987.

BUCHANAN, R. E.; GIBBONS, N. E. (ed.), **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8. ed. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, 964p. 1974.

CAMPUS, M. *et al.* Effect of Modified Atmosphere Packaging on Quality Index Method (QIM) Scores of Farmed Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.) at Low and Abused Temperatures. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 3, p.185-191, 14 mar. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21535858>. Acesso em: 20 mar. 2019.

CANIZALES-RODRÍGUEZ, D. F. *et al.* Biochemical, physical, chemical, and microbiological assessment of blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*) stored in ice. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, Monterrey, v. 24, n. 3, p.259-269, 11 Out. 2013. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10498850.2013.771390>. Acesso em: 05 jul. 2019.

CARVALHO, I. T. **Microbiologia de Alimentos**. Recife: E-tec Brasil, 2010. /86 p. Disponível em: [http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia\\_dos\\_Alimentos.pdf](http://pronatec.ifpr.edu.br/wp-content/uploads/2013/06/Microbiologia_dos_Alimentos.pdf). Acesso em: 30 mai 2019.

CHAILLOU, S. *et al.* Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. **The ISME Journal**, Toronto, v. 9, n. 5, p.1105-1118, 21 out. 2014. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ismej2014202>. Acesso em: 05 abr. 2020.

CHURCH, N. Modified-atmosphere packaging fish and crustaceans sensory enhancement. **Food Science and Technology Today**, v.2, n.12, p. 73-83. 1998.

DON, S. *et al.* Identification of potential spoilage bacteria in farmed shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Application of Relative Rate of Spoilage models in shelf life-prediction. **Lwt - Food Science and Technology**, Georgia, v. 97, p.295-301, nov. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643818305760?via%3Dihub>. Acesso em: 15 out. 2019.

DOWNES, F. P., ITO K. **Compendium of methods for Microbiological Examination of foods**. 4. ed. Washington: APHA. 2001. p. 676.

ECONOMOU, V. *et al.* Microbial Quality and Histamine Producing Microflora Analysis of the Ice Used for Fish Preservation. **Journal of Food Safety**, v. 37, n. 1, p.12285-12293, 3 abr. 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfs.12285>. Acesso em: 12 out. 2019.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Pesca e aquicultura**. Palmas: Embrapa, 2017. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-pesca-e-aquicultura/>. Acesso em: 19 jan. 2019.

ERIKSON, U. *et al.* Harvesting procedures, welfare and shelf life of ungutted and gutted shortfin pompano (*Trachinotus falcatus*) stored in ice. **Aquaculture**, v. 498, p.236-245, jan. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0044848617323578?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jan. 2020.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S. *et al.* Qualidade microbiológica e físico-química do camarão salgado, seco e defumado comercializado em Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia / Microbiological quality and physical-chemical of dried, salted and smoked shrimps in Cruz das Almas, Recôncavo da Bahia, Brazil. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, p. 1-7, jul. 2016. Disponível em: <https://www.tib.eu/en/suchen/id/awi:doi~10.2312%252FActaFish.2016.4.2.1-7/>. Acesso em: 10 out. 2019

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2016. Relatório: The State of World Fisheries and Aquaculture 2016: **Contributing to food security and nutrition for all**. Rome, 200p., 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2019.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2018. Relatório: The State of World Fisheries and Aquaculture 2018: **Meeting the sustainable development goals**. Rome, 227p., 2018. Disponível em: <http://www.fao.org/3/I9540EN/i9540en.pdf>. Acesso em: 31 jan. 2019.

FAO. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. 2019. Relatório anual: **Fishery and Aquaculture Statistics 2017/FAO annuaire**. Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca5495t/ca5495t.pdf>. Acesso em: 09 jan. 2020.

FENG, P. *et al.* Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria. In: **Bacteriological analytical manual online**. FDA, 2002. Chapter 4. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm> . Acesso em: 05 jan. 2019.

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

GARTHIGHT, R. Appendix 2: most probable number from serial dilutions. *In*: Food and Drug Administration – FDA. **Bacteriological Analytical Manual online**. FDA/CFSAN, 2001. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>. Acesso em: 10 mar. 2019.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Comércio varejista de pescado: qualidade higiênico sanitária. *In*: SILVA-SOUZA, A.T. **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil**. Maringá: ABRAPOA, 2006. p. 369-387.

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

GIMÉNEZ, B. *et al.* Characterization of phenoloxidase activity of carapace and viscera from cephalothorax of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*). **Lwt - Food Science and Technology**, Georgia, v. 43, n. 8, p.1240-1245, out. 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/202992142\\_Characterization\\_of\\_phenoloxidase\\_activity\\_of\\_carapace\\_and viscera\\_from\\_cephalothorax\\_of\\_Norway\\_lobster\\_Nephrops\\_norvegicus](https://www.researchgate.net/publication/202992142_Characterization_of_phenoloxidase_activity_of_carapace_and viscera_from_cephalothorax_of_Norway_lobster_Nephrops_norvegicus). Acesso em: 06 jul. 2019.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. *et al.* Melanosis inhibition and SO<sub>2</sub> residual levels in shrimps (*Parapenaeus longirostris*) after different sulfite-based treatments. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 85, n. 7, p.1143-1148, 1 fev. 2005. Disponível em: <http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/J.Sci.Food%20and%20Agri/2005v85/no.7/2005v85no7p1143-1148.pdf>. Acesso em: 05 jul. 2019.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e legislação**. Atheneu, 2011.

GONÇALVES, A. A.; LIMA, J. T. A. X.; PAULA, F. E. R. Development of quality index method (QIM) scheme for spiny lobster (*Panulirus argus*, Latreille, 1804) stored in ice. **Food Control**, v. 47, p.237-245, jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713514003867?via%3Dihub>. Acesso em: 13 out. 2019.

GONÇALVES, A. A.; SANTOS, T. C. L. Improving quality and shelf-life of whole chilled Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by ozone technology combined with modified atmosphere packaging. **Lwt - Food Science and Technology**, Georgia, v. 99, p.568-575, jan. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643818308156?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jan. 2020.

GUTIÉRREZ-PRECIADO, A.; ROMERO, H.; PEIMBERT, M. An Evolutionary Perspective on Amino Acids. **Nature Education** 3(9):29. 2010. Disponível em: [https://www.nature.com/scitable/topicpage/an-evolutionary-perspective-on-amino-acids-14568445/#TB\\_inline?height=300&width=400&inlineId=trOutline](https://www.nature.com/scitable/topicpage/an-evolutionary-perspective-on-amino-acids-14568445/#TB_inline?height=300&width=400&inlineId=trOutline). Acesso em: 05 abr. 2020

HUANG, J. *et al.* Chitosan-based Edible Coatings for Quality Preservation of Postharvest Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 77, n. 4, p.491-496, abr. 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1750-3841.2012.02651.x>. Acesso em: 15 jan. 2020.

HUSS, H. H. **Quality and quality changes in fresh fish**. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations, Fisheries Technical Paper, n.348. 1995. 195p.

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 n. 348**. Roma, p. 202. 1998.

IBGE. **Produção da Pecuária Municipal 2018**. Rio de Janeiro, 2018. 8 p. Disponível em: [https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\\_2018\\_v46\\_br\\_informativo.pdf](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2018_v46_br_informativo.pdf). Acesso em: 03 mai. 2020.

- 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.
- IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**, 2008. 1020 p. Disponível em: [http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016\\_3\\_19/analisedealimentosial\\_2008.pdf](http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf). Acesso em: 30 jan. 2019.
- JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2009. 712p.
- JIA, S. *et al.* Effect of  $\epsilon$ -polylysine and ice storage on microbiota composition and quality of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) stored at 0 °C. **Food Microbiology**, v. 83, p.27-35, out. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002018309262?via%3Dihub>. Acesso em: 16 jan. 2020.
- KAPUTE, F. Sensory, microbiological, biochemical and physico-chemical assessment of freshness and quality of fresh lake Malawi tilapia (Chambo) stored in ice. **International Journal of Aquaculture**, Canadá, v. 6, n. 19, p.1-10, 2016. Disponível em: <http://biopublisher.ca/index.php/ija/article/html/2604/>. Acesso em: 06 jul. 2019
- KAPUTE, F; J *et al.* Shelflife of whole fresh Lake Malawi tilapia (*Oreochromis* species – Chambo) stored in ice. **Ajfund**, Nairóbi, v. 13, n. 1, p. 7138-7156, jan. 2013. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajfund/article/view/85311>. Acesso em: 15 jan. 2020.
- KAYIM, M. *et al.* Biochemical taste parameters in meat and sea products. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Estados Unidos, v. 6, n. 3, p.233-237, 1 mar. 2011. Disponível em: <https://scialert.net/abstract/?doi=ajava.2011.233.237>. Acesso em: 08 jan. 2020.
- KHODANAZARY, A. Freshness assessment of shrimp *Metapenaeus affinis* by quality index method and estimation of its shelf life. **International Journal of Food Properties**, Estados Unidos, v. 22, n. 1, p.309-319, 1 jan. 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2019.1580719>. Acesso em: 30 jan. 2020.
- KIRSCHNIK, P. G. **Avaliação da estabilidade de produtos obtidos de carne mecanicamente separada de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)**. 2007. 92 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas e Veterinárias, Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal. 2007.
- LU, S. Effects of bactericides and modified atmosphere packaging on shelf-life of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). **Lwt - Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p.286-291, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2008.03.004>.
- MACÊDO, I. M. E. *et al.* Relação fitoplâncton-zooplâncton em ambiente oligotrófico (fitoplankton-zooplankton relationship in oligotrophic environment). **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, 10, p. 1368-1376, 2017. Disponível em: <https://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/234138>. Acesso em: 15 fev. 2020.

MADIGAN, M. T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 960 p.

MEDINA-RODRÍGUEZ, A. C. *et al.* Clean-in-place disinfection of dual-species biofilm (*Listeria* and *Pseudomonas*) by a green antibacterial product made from citrus extract. **Food Control**, v. 118, p. 1-7, dez. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713520303388>. Acesso em: 08 out. 2020.

MEHTA, N. K.; NAYAK, B. B. Bio-chemical composition, functional, and rheological properties of fresh meat from fish, squid, and shrimp: A comparative study. **International Journal of Food Properties**, Estados Unidos, v. 20, n. 1, p.707-721, 10 jul. 2017. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2017.1308955>. Acesso em: 06 jul. 2019

MOURA, M. A. M. *et al.* Caracterização físico-química e de frescor de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) oriundas da pesca extrativista no médio rio tietê/SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 487-495, 2009.

NUNES, M. L. *et al.* Aplicação do Índice de Qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. Lisboa: **IPIMAR**, 2007. 51p.

ODEYEMI, O. A. *et al.* Seafood spoilage microbiota and associated volatile organic compounds at different storage temperatures and packaging conditions. **International Journal of Food Microbiology**, Netherlands, v. 280, p.87-99, set. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160517305603>. Acesso em: 06 jul. 2019.

OKPALA, C. O. R. Quality evaluation and shelf life of minimal ozone-treated Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) stored on ice. **Journal Für Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit**, v. 10, n. 1, p.49-57, 2 ago. 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00003-014-0904-x>. Acesso em: 15 jan. 2020.

OLIVEIRA, V. M. *et al.* Método do índice de qualidade (MIQ) desenvolvido para camarão (*Litopenaeus vannamei*) cultivado. **Revista de Ciências da Vida**, Seropédica, 2009. cap.29: p.60-71. Disponível em: <http://www.ufrj.br/SEER/index.php?journal=rcv&page=article&op=view&path%5B%5D=91>. Acesso em: 18 jan. 2019

PARLAPANI, F. F. *et al.* Microbiota and volatilome profile of fresh and chill-stored deepwater rose shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **Food Research International**, v. 132, p. 1-8, jun. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399692030082X>. Acesso em: 08 out. 2020.

PEREDA, J. A. O. *et al.* **Tecnologia de alimentos: Alimentos de Origem Animal**. v. 2. Editora Artmed. São Paulo. 2005. 279p.

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.

QUEIROGA, I. M. B. N. *et al.* Qualidade sensorial do camarão *Litopenaeus vannamei* congelado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 1801-1812, 27 ago. 2014. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/15643>. Acesso em: 30 jan. 2020.

REBOUÇAS, L. O. S.; GONÇALVES, A. A. The Effectiveness of Official Methods to Measure the Real Glazing Percentage in Frozen Seafood: An Analysis with Frozen Pacific White Shrimp (*L. vannamei*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, Estados Unidos, v. 26, n. 8, p.949-957, 8 ago. 2017. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/318995750\\_The\\_Effectiveness\\_of\\_Official\\_Methods\\_to\\_Measure\\_the\\_Real\\_Glazing\\_Percentage\\_in\\_Frozen\\_Seafood\\_An\\_Analysis\\_with\\_Frozen\\_Pacific\\_White\\_Shrimp\\_L\\_vannamei](https://www.researchgate.net/publication/318995750_The_Effectiveness_of_Official_Methods_to_Measure_the_Real_Glazing_Percentage_in_Frozen_Seafood_An_Analysis_with_Frozen_Pacific_White_Shrimp_L_vannamei). Acesso em: 06 jul. 2019.

RUSSELL, J. B. The energy spilling reactions of bacteria and other organisms. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, v. 13, n. 1-3, p.1-11, 2007. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/103591>. Acesso em: 10 nov. 2019.

SANT'ANA, L. S.; SOARES, S.; VAZ-PIRES, P. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). **Lwt - Food Science and Technology**, Georgia, v. 44, n. 10, p.2253-2259, dez. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643811002052?via%3Dihub>. Acesso em: 15 jan. 2020.

SETTANNI, L. *et al.* Presence of pathogenic bacteria in ice cubes and evaluation of their survival in different systems. **Annals of Microbiology**, Milão, v. 67, n. 12, p.827-835, 18 nov. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13213-017-1311-1>. Acesso em: 16 jan. 2020.

SOARES, K. M. P.; GONCALVES, 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. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p.2289-2300, 5 dez. 2012. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/12122>. Acesso em: 16 jan. 2020.

SOUZA, M. M. M. de *et al.* Avaliação do frescor do pescado congelado comercializado no mercado municipal de São Francisco do Conde- BA. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 4, n. 39, p.359-368, abr. 2013. Disponível em: [https://pdfs.semanticscholar.org/cbc0/65338131c6c39f238e7f34943b049ffe5fce.pdf?\\_ga=2.241340738.1139775918.1562512040-150627122.1562512040](https://pdfs.semanticscholar.org/cbc0/65338131c6c39f238e7f34943b049ffe5fce.pdf?_ga=2.241340738.1139775918.1562512040-150627122.1562512040). Acesso em: 05 jul. 2019.

SVEINSDOTTIR, K. *et al.* Application of Quality Index Method (QIM) Scheme in Shelf-life Study of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 67, n. 4, p.1570-1579, maio 2002. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10324.x>. Acesso em: 16 jul. 2020.

TAVARES, M. *et al.* Métodos sensoriais, físicos e químicos para análise de pescado. *In: Controle de Qualidade do pescado*. [Trabalhos apresentados em seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado] Editora Leopoldianum. 1988, p.117-134.

TAHIM, E. F.; DAMACENO, M. N.; ARAÚJO, I. F. Trajetória tecnológica e sustentabilidade ambiental na cadeia de produção da carcinicultura no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 57, n. 1, p.93-108, 6 mai. 2019. Disponível em: [https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-20032019000100093&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-20032019000100093&tlng=pt). Acesso em: 15 jul. 2020.

VIDAL, M. F.; XIMENES, L. J. F. Carcinicultura no Nordeste: **Velhos desafios para a geração de emprego e de renda sustentáveis, até quando?**. Fortaleza: Etene - Bnb, 2016. 45 p. Disponível em: [https://www.bnb.gov.br/documents/80223/1095131/5\\_Carcinicultura.pdf/e7b5180d-59a0-47fc-adc0-2bbfa2451259](https://www.bnb.gov.br/documents/80223/1095131/5_Carcinicultura.pdf/e7b5180d-59a0-47fc-adc0-2bbfa2451259). Acesso em: 29 jan. 2019.

VIEIRA, R. H. S. F. *et al.* **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Varela, 2004. 380p.

WANG, M. *et al.* Preliminary mechanism of acidic electrolyzed water ice on improving the quality and safety of shrimp. **Food Chemistry**, v. 176, p.333-341, jun. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614020020?via%3Dihub>. Acesso em: 30 jan. 2020.

XIMENES, L. J. F.; VIDAL, M. F. **Pescado no brasil: produzir bem e vender melhor**. 49. ed. Fortaleza: Etene - Bnb, 2018. 25 p. Disponível em: [https://www.bnb.gov.br/documents/80223/4141162/49\\_aquipesca.pdf/12f1d694-e694-21ac-7085-40cc571bf95c](https://www.bnb.gov.br/documents/80223/4141162/49_aquipesca.pdf/12f1d694-e694-21ac-7085-40cc571bf95c). Acesso em: 29 jan. 2019.

YU, D. *et al.* Freshness assessment of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during storage at 4 °C by physicochemical, microbiological and sensorial evaluations. **Journal of Food Safety**, v. 37, n. 2, p.12305-12314, 23 ago. 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfs.12305>. Acesso em: 30 jan. 2020.