

AVALIAÇÃO ORGANOLEPÓTICA, QUÍMICA E BACTERIOLÓGICA DA
LAGOSTA *Panulirus laevicauda* (Latreille) ESTOCADA EM GELO

REGINE HELENA SILVA DOS FERNANDES VIEIRA

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO CURSO DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - 1985

"Este é o momento de todas as mulheres postularem o trabalho como primeira etapa da igualdade com o homem, na certeza de que foi o trabalho que deu ao macho da espécie a inteligência operatória. E foi atribulado pelas condições desse mesmo trabalho que ele pôde reconhecer a sua situação de explorado e tentar mudá-la".

Heloneida Studart, 1974.

Esta Dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 10/04/1985

Prof. Carlos Brunet Martins
Orientador da Dissertação

Prof. Humberto Ferreira Oriá

Prof. José Cals Gaspar Júnior

Prof. Maria Ecilda Lima de Vasconcellos

Ao Gustavo, por tudo que significa na
minha vida científica e emocional.

Ao meu pai e minha mãe com carinho.

A Ivana, na qual eu continuo.

Ao Dax e Gustavo Júnior, como exemplo.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor CARLOS BRUNET MARTINS pela orientação valiosa, amizade e dedicação demonstradas no decorrer deste trabalho.

Ao Professor GUSTAVO HITZSCHKY FERNANDES VIEIRA pelas idéias, segurança e desprendimento provados, quando requisitado para orientação nesta pesquisa.

A SILVANA SAKER SAMPAIO e ALEXANDRE HOLANDA SAMPAIO pela ajuda sincera, descomprometida e eficiente que me deram durante todo o desenvolvimento desta tese.

Aos Professores CARLOS ARTUR SOBREIRA ROCHA, ROBERTO CLÁUDIO FROTA BESSERRA e JOÃO BATISTA FERREIRA GOMES NETO pela orientação objetiva e dedicada na estatística desse trabalho.

Aos Professores MARIA ECILDA LIMA DE VASCONCELLOS e JOSÉ CALS GASPAR JÚNIOR pela orientação, sugestões e apoio em diversas ocasiões ao longo do curso, e particularmente no desenvolvimento dessa pesquisa.

Ao Professor HUMBERTO FERREIRA ORIÁ pela delicadeza, simplicidade e saber que sempre demonstrou no decorrer de todo o curso de Mestrado.

Ao Professor ANTONIO RENATO CASIMIRO pelas sugestões apresentadas e acolhidas no desenvolver desta pesquisa.

Ao Professor JÁDER ONOFRE DE MORAIS por ter concordado que essa pesquisa fosse realizada no Laboratório de Ciências do Mar.

Ao Coordenador do Mestrado em Tecnologia de Alimentos Professor GERALDO ARRAES MAIA pelo apoio no decorrer do curso.

A todos os professores do curso e em especial ao Professor LUCIANO FLÁVIO FROTA DE HOLANDA pela amizade e carinho com que sempre me distinguiu.

Ao Professor CARLOS TASSITO CORREA IVO e CARLOS GEMINIANO NOGUEIRÀ COELHO pela grande demonstração de amizade e ajuda no desenvolvimento dessa tese.

À NORMA BARRETO PERDIGÃO, ANA CÉLIA SOUSA MENESSES e DORASILVIA PONTE LIMA pela amizade e ajuda sinceras a mim dedicadas.

Ao FERNANDO ARAÚJO ABRUNHOSA pelo auxílio técnico prestado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Fundo de Incentivo à Pesquisa Técnico e Científico (FIPEC) pelos auxílios concedidos e que desta forma suportaram financeiramente parte dessa investigação.

Aos Professores ANTONIO ADAUTO FONTELES FILHO e ARTUR EDUARDO BENEVIDES, pela amizade, presteza e auxílio na revisão geral do texto.

À Bibliotecária MARLENE MENEZES ALBUQUERQUE pela ajuda segura na revisão bibliográfica.

À RITA DE CARVALHO FÉITOSA e REGINA FÁTIMA ALVES DA COSTA pela seriedade e desempenho nos serviços datilográficos dessa tese.

A todas as pessoas que me deram suporte científico e concorreram para a minha estabilidade emocional ao longo de toda a minha carreira técnico-científica.

SUMÁRIO

	Página
<u>LISTA DE TABELAS</u>	ix
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	xii
<u>RESUMO</u>	xvi
<u>ABSTRACT</u>	xviii
1 - <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2 - <u>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</u>	4
2.1 - <u>Modificações no pescado após a morte</u>	4
2.2 - <u>Bases nitrogenadas</u>	7
2.3 - <u>Hipoxantina</u>	14
2.4 - <u>pH</u>	18
2.5 - <u>Alterações microbiológicas</u>	20
2.6 - <u>Avaliação sensorial</u>	27
3 - <u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	29
3.1 - <u>Material</u>	29
3.1.1 - Preparo das amostras para as análises: sensorial, bacteriológica e química.....	29
3.2 - <u>Métodos</u>	30
3.2.1 - Análise organoléptica.....	30
3.2.2 - Testes bacteriológicos.....	32
3.2.2.1 - Contagem padrão em placa de microrganis mos aeróbio estrito e facultativo viá vel.....	32

3.2.2.2 - Número mais provável (NMP) de coliformes totais.....	33
3.2.2.3 - Número mais provável (NMP) de coliformes fecais.....	33
3.2.2.4 - Contagem e prova de coagulase para <i>Staphylococcus aureus</i>	34
3.2.2.5 - Pesquisa de <i>Salmonella</i>	34
3.2.3 - Análises químicas.....	35
3.2.3.1 - Nitrogênio de base volátil total (N-BVT) .	35
3.2.3.2 - Nitrogênio da trimetilamina (N-TMA)	36
3.2.3.3 - Nitrogênio do óxido de trimetilamina (N-TMAO)	37
3.2.3.4 - Hipoxantina.....	39
3.2.3.5 - pH.....	42
3.2.4 - Análises estatísticas.....	42
4 - <u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	45
5 - <u>CONCLUSÕES</u>	107
6 - <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	109

LISTA DE TABELAS

TABELA

Pagina

1	Análise Sensorial - Parâmetros para Avaliação Sensorial segundo o modelo de "TORY RESEARCH STATION, apud NORT (1973) e adaptado para lagosta.....	31
2	Dados relativos às análises organolépticas e químicas de fêmeas de lagosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.....	46
3	Dados relativos às análises organolépticas e químicas de machos de lagosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.....	47
4	Análise de variância para as diferentes determinações organolépticas, químicas e bacteriológicas de lagostas machos e fêmeas da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.....	53
5	Equações de regressão das diversas variáveis em função dos dias no gelo(D.G.) e valores de coeficiente de correlação de Pearson(r)..	57
6	Percentual das notas para Soma dos Caracteres Organolépticos (S.C.O.). de amostras de lagostas <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), relacionado com o intervalo conceitual de aceitação do produto.....	62

TABELA

Página

7	Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis organolépticas e químicas de lagosta macho e fêmea da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille) estocadas em gelo em laboratório relativos ao primei ro experimento.....	64
8	Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis organolépticas e químicas de lagosta macho e fêmea da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille) estocadas em gelo em laboratório, relativos ao segun do experimento.....	67
9	Matriz dos coeficientes de correlação de Pearson das variáveis químicas, bacterioló gicas e organolépticas de lagosta da espé cie <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille) esto cadas em gelo em laboratório.....	71
10	Equações de regressão das diversas varia veis em função da Soma dos Caracteres Orga nolépticos (S.C.O.) e valores do coeficien te de correlação de Pearson (r)	73
11	Contagem padrão em placas, de fêmeas de la gosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (La treille), estocadas em gelo em laboratório.	91
12	Contagem padrão em placas, de machos de la gosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (La treille), estocadas em gelo em laboratório..	92
13	Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis bacteriológicas de la gosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (La treille), estocadas em gelo em laboratório, relativos ao primeiro experimento.....	93

TABELA

Página

14	Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis bacteriológicas de lagosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (<u>Latreille</u>), estocadas em gelo em laboratório, relativos ao segundo experimento.....	94
15	Dados bacteriológicos de fêmeas de lagosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (<u>Latreille</u>), estocadas em gelo em laboratório.....	104
16	Dados bacteriológicos de machos de lagosta da espécie <i>Panulirus laevicauda</i> (<u>Latreille</u>), estocadas em gelo em laboratório.....	105

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
1 Curva padrão de nitrogênio da trimetilamina (N-TMA)	38
2 Curva padrão de nitrogênio do óxido de trimetilamina (N-TMAO)	40
3 Curva padrão da hipoxantina (Hx)	41
4 Média dos valores de cor, relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	48
5 Média dos valores do odor, relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	49
6 Média dos valores do odor, relativa aos experimentos com lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	50
7 Média dos valores de textura, relativa à machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	51
8 Média dos valores de textura, relativa aos experimentos com lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	52

FIGURA

Página

9	Média dos valores da Soma de Caracteres Organolépticos (S.C.O.), relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	59
10.	Média dos valores da S.C.O., relativa aos experimentos de lagosta <i>Panulirus laevicarda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	60
11	Média dos valores de pH, relativa à lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	70
12	Média dos valores de pH, relativa à lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função da Soma de Caracteres Organolépticos (S.C.O.).....	74
13	Média dos valores de Base Volátil Total (N-BVT), relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	75
14	Média dos valores de N-BVT, relativa à lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função da Soma de Caracteres Organolépticos (S.C.O.).....	77
15	Média dos valores do óxido de trimetilamina (TMAO), relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo...	79
16	Média dos valores do TMAO, relativa aos experimentos com lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	80

FIGURA

Página

17	Média dos valores de trimetilamina (N-TMA), relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	82
18	Média dos valores de N-TMA, relativa aos experimentos com lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	83
19	Média dos valores de N-TMA, relativa a lagosta <i>Panulirus laevicarda</i> (Latreille), em função da Soma de Caracteres Organolépticos (S.C.O.).....	84
20	Média dos valores de hipoxantina (Hx), relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	86
21	Médias dos valores de Hx, relativa aos experimentos com lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	87
22	Média dos valores de Hx, relativa a lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função da S.C.O.....	89
23	Média do número de bactérias obtido à 35°C, expresso em logaritmo, relativo aos experimentos com lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	95
24	Média do número de bactérias obtido à 25°C, expresso em logaritmo, relativa a lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	96

FIGURA

Página

25	Média do número de bactérias obtido à 5°C, expresso em logarítmico, relativa a machos e fêmeas de lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	97
26	Média do número de bactérias obtido à 5°C, expresso em logarítmico, relativa aos experimentos com lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.....	98
27	Variação do número de bactérias obtido à 25°C, expresso em logarítmico, relativa à lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função da Soma de Caracteres Organolépticos (S.C.O.).....	99
28	Variação do número de bactérias obtido à 5°C, expresso em logarítmico, relativa à lagosta <i>Panulirus laevicauda</i> (Latreille), em função da Soma de Caracteres Organolépticos (S.C.O.).....	100

RESUMO

Foram adquiridas lagostas machos e fêmeas da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille) na Enseada do Mucuripe - Entreposto de vendas de pescado em Fortaleza, Estado do Ceará.

Trazidas para o Laboratório, as lagostas vivas foram descabeçadas, evisceradas, lavadas e estocadas em caixa esotérmica contendo gelo picado.

Estudou-se no decorrer de 17 dias as mudanças organolépticas, químicas e bacteriológicas das caudas estocadas.

Os testes organolépticos constituíram-se de observações da textura, odor e cor das caudas estocadas, traduzidas em valores numéricos.

Os testes químicos aplicados foram, Base Volátil Total (BVT), Trimetilamina (TMA), Óxido de Trimetilamina (TMAO), Hipoxantina (Hx) e pH.

Os testes bacteriológicos constaram de contagem padrão em placas (CPP) às temperaturas de 5°, 25° e 35°C, Número Mais Provável (NMP), de coliformes totais e fecais, contagem de *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella*.

Nos dados obtidos, foram aplicados os seguintes testes estatísticos: variância e índice de correlação de Pearson.

Dos parâmetros usados para aferir as modificações nas caudas de lagosta, ao longo da estocagem e os que mais se correlacionaram com a Soma dos Caracteres Organolépticos (S.C.O.) foram a contagem padrão em placas a 5°C, a Hipoxantina, a Base Volátil Total e a contagem padrão em placas a 25°C.

O óxido de trimetilamina e a contagem padrão a 35°C, não apresentaram uma boa correlação com o tempo de estocagem.

Considerando a S.C.O. e os vários parâmetros investigados, observou-se uma correlação inversa.

Foi observado que as caudas de lagosta se mantiveram em estado de aceitabilidade para consumo por 13 dias.

O valor 10, para a S.C.O. foi o valor mínimo para conferir a aceitabilidade da lagosta.

Valores superiores para contagem padrão em placas a 5°C de 398×10^8 bac/g; hipoxantina de 1,75 μ mol/g; contagem padrão em placas a 25°C de 251×10^7 bac/g e base volátil total de 30 mg/100g sugerem uma inaceitabilidade das lagostas da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille) para o consumo.

ABSTRACT

The material used in this research work is comprised of lobsters, both male and female, of species *Panulirus laevicauda* (Latreille). Brought to laboratory, live lobsters were beheaded, gutted, washed and stored in isothermic boxes containing brittled ice.

Along a period of 17 days, organoleptic, chemical and bacteriological changes were studied in the stored tails.

The organoleptic tests consisted of observations on texture, smell and colour of the tails, measured in numerical values.

The chemical tests were: Total Volatile Bases (TVB), Trimethylamine (TMA), Trimethylamine Oxide (TMAO), Hypoxantine (Hx) and pH.

The bacteriological tests were: Standard Plate Count (SPC) at 5°, 25° and 35°C temperatures, Most Probable Number (MPN) of total coliforms and fecal coliforms, counts of *Staphylococcus aureus* and search for *Salmonella*.

The following statistical methods were applied to the date: Analysis of Variance and Pearson's correlation index.

Among the parameters used to assess the modifications in lobster tails throughout the storage period, the ones showing the highest correlation with the Sum of Organoleptic Characters were the following: Standard Plate Count at 5°C temperature, Hypoxanthine, Total Volatile Bases and Standard Plate Count at 25°C temperature. Trimethylamine Oxide and Standard Plate Count at 35°C temperature did not hold a good correlation with storage time.

An inverse correlation was found to occur between the Sum of Organoleptic Characters and the various above mentioned parameters.

The value of 10 for the Sum of Organoleptic Characters has been considered as the limit of acceptance of lobsters for human consumption. On the other hand, lobsters tails have maintained acceptability condition for up to 13 days.

Values higher than 398×10^8 bac/g for Standard Plate Count at 5°C ; Hypoxanthine of 1,75 mol; Standard Plate Count at 25°C of 251×10^7 bac/g and Total Volatile Base of 30 mg/100 g, suggest an inadequacy of *P. laevicauda* tails for human consumption.

1 - INTRODUÇÃO

A lagosta é uma das principais fontes de divisas para o Estado do Ceará. Somente no ano de 1984 o Ceará, através do seu porto do Mucuripe, exportou duas mil duzentas e quatorze toneladas de caudas de lagosta, perfazendo um total de trinta e nove milhões, trezentos e cinqüenta mil dólares*.

A exploração deste crustáceo é feita em algumas regiões do mundo: nas costas da Irlanda, Inglaterra, França, no Mediterrâneo até a Itália, África do Sul, nas costas do Pacífico desde o Oregon até o México e nas costas do Brasil.

No Brasil, a exportação teve início no ano de 1955 e praticamente toda a pesca da lagosta se restringe à região nordestina, concentrando-se nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco (PAIVA, 1970).

A exportação deste crustáceo é feita em forma de caudas congeladas e a manutenção da qualidade do produto é o maior problema enfrentado pelos exportadores.

A qualidade da lagosta depende principalmente do seu tratamento antes de chegar à indústria, começando no ato da captura e tendo grande relevância os cuidados que lhe são dispensados a bordo, durante o tempo de permanência no mar.

As lagostas oriundas de barcos geleiros, os quais representam a grande maioria da frota lagosteira, recebem

* - Dados fornecidos pela Associação do Sindicato da Indústria de Frio e Pesca no Estado do Ceará.

tratamentos nem sempre condizentes com as boas normas de processamento, sendo estocadas, na maioria das vezes, em gelo de má qualidade e numa proporção gelo/lagosta inadequada, principalmente nos últimos dias de captura.

Os barcos pesqueiros, que utilizam somente gelo para a conservação das lagostas, demoram até 18 dias numa pesca ria, sendo que nos últimos dias as condições higiênicas do barco estão seriamente comprometidas, tendo em vista o acúmulo de lagostas e a diminuição do gelo.

As lagostas ao chegarem à indústria são mantidas em câmara de espera, em temperaturas próximas de 0°C até o momento do seu beneficiamento.

A inspeção das lagostas, que ocorre durante o beneficiamento na indústria, é feita superficialmente levando em conta, principalmente, o odor, sem entretanto distinguir este critério em suas diversas fases, restringindo-o a aceitável ou inaceitável.

Considerando que, após o beneficiamento, ainda demandará um longo tempo até que a lagosta chegue ao consumidor, necessário seria um exame mais acurado para distinguir as várias fases de aceitabilidade, pois que aquelas no limite poderão estar inaceitáveis quando do seu consumo. Entretanto até o momento não foi adotado um quadro sensorial capaz de informar, mesmo com relativa precisão, o estágio da qualidade das lagostas a serem beneficiadas, principalmente daquelas com qualidade suspeita.

Além disto, são muito insuficientes as informações que relacionam os estágios de degradação da lagosta com parâmetros indicativos de deterioração. Muitas dessas informações pecam por apresentar dados obtidos através de metodologias inadequadas, principalmente aquelas relativas à contagem bacteriana.

Em virtude dessas informações que além de escassas são, em grande parte, inconsistentes, ainda não se têm dados suficientes, no Brasil, capazes de permitir o estabele-

cimento de padrões químicos, microbiológicos e/ou organolépticos para lagostas, que possibilitem detectar os vários estágios de aceitabilidade.

Considerando, portanto, a necessidade de maiores informações sobre a matéria, o presente trabalho foi desenvolvido abordando estudos de parâmetros químicos, bacteriológicos e organolépticos indicativos de deterioração e suas correlações.

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - Modificações no pescado após a morte

As qualidades iniciais de um crustáceo ou de qualquer outro pescado estão na dependência das condições de refrigeração. Uma boa refrigeração possibilita um prolongamento das características físicas, químicas, físico-químicas e sensoriais do pescado. Entretanto, essa refrigeração não impede que a longo prazo as próprias enzimas existentes no sistema digestivo do pescado possam promover uma autodecomposição. Por outro lado, as bactérias que porventura tenham contaminado o produto, ainda que de maneira lenta, continuam se desenvolvendo e contribuindo também para a decomposição do pescado.

FIEGER & FRILOUX, (1954), estudaram camarões estocados em gelo sob o ponto de vista organoléptico, e mostraram que existem mudanças sensíveis na palatabilidade daqueles crustáceos ao longo da estocagem, culminando com o início de deterioração denunciado pelas modificações ocorridas com o "flavour".

Essas mudanças de natureza autolítica e/ou bacteriana têm início logo após a morte do pescado. Fatores como condições fisiológicas, modo de captura, armazenamento e até a espécie influem decisivamente na velocidade de deterioração do pescado.

Antes que se instalem mudanças organolépticas acentuadas no pescado, as transformações iniciais de certos compostos poderiam ser índices úteis na avaliação objetiva da qualidade, desde que mensurados quantitativamente.

Entre as transformações, que parecem ser de utilida de encontram-se as mudanças químicas e físico-químicas sofridas pelas proteínas e aminoácidos, as transformações sofridas pelos nucleotídeos ou nucleosídeos e ainda a redução do óxido de trimetilamina (TMAO) com formação de trimetilamina (TMA) (MENDES, 1974).

Logo após a morte do pescado, em curto espaço de tempo o tecido muscular entra em estado de endurecimento e rigidez chamado de *rigor mortis*. Segundo BENDALL (1951), o *rigor mortis* e a contração muscular são essencialmente o mesmo processo, exceto que o rigor é irreversível sob condições normais.

NEWBOLD (1966) observou que as mudanças químicas que ocorrem durante o *rigor mortis*, incluem um decréscimo nos valores de pH e também nos níveis de fosfato de creatina e de Adenosina Trifosfato (ATP). O decréscimo de creatina ocorre logo após a morte do pescado, o mesmo acontecendo com o pH em face da formação do ácido láctico. Os níveis de ATP, entretanto, permanecem estáveis até que haja uma considerável diminuição da concentração de creatina. Então, a velocidade de depleção do ATP aumenta rapidamente e o músculo, em consequência, vai perdendo rápida e progressivamente a propriedade de extensibilidade, instalando-se, dessa forma, a rigidez no músculo do pescado.

O decréscimo de creatina e de ATP conduz à formação de uma ligação estável entre actina e miosina, da qual resulta a actomiosina (HUXLEY, 1960).

NAUSS & DAVIES (1966) afirmam que as pontes cruzadas, formadas entre os filamentos de actina e miosina, são reversíveis no processo de contração muscular, uma vez que o nível de ATP permanece alto. No *rigor mortis*, a ligação actina-miosina é irreversível de vez que há uma carência de ATP para possibilitar a separação destas duas proteínas miofibrilares.

O fenômeno dá deterioração ligado às modificações

das proteínas foi estudado por ESAM et al. (1971), os quais observaram dois aspectos que levam à deterioração do pescado, qual seja a putrefação e a degradação total. A putrefação, que produz odores pútridos e prejuízos no "flavour", é causada pela ação dos microrganismos sobre peptídeos e aminoácidos de baixo peso molecular, enquanto que a degradação se relaciona com as modificações de constituintes protéicos, constatadas pela coagulação e liquefação das proteínas, pelo desenvolvimento da podridão e destruição de estruturas protéicas como o colágeno e elastina. Esses processos de deterioração podem ser considerados através de vários estágios: 1) uma contaminação inicial de alimentos protéicos por microrganismos deteriorantes com formação de colônias no alimento; 2) uma rápida utilização e metabolização de compostos de baixo peso molecular, tais como aminoácidos, dipeptídeos, ácido láctico e açúcares presentes na carne ou peixe. O efeito dessa metabolização é a produção de compostos indicativos de deterioração como cadaverina, putrescina, ácidos orgânicos, dióxidos de carbono, gás sulfídrico e amônia; 3) a elaboração de proteases microbianas, as quais têm significância em estágios posteriores, quando os aminoácidos, peptídeos e outros compostos de baixo peso molecular no alimento já foram consumidos. A quebra proteolítica de proteínas de alto peso molecular, para oligoproteínas e aminoácidos, proporciona um suplemento continuado de nutrientes para o crescimento microbiano.

Entre os testes bioquímicos utilizados para se acompanhar essas mudanças no pescado, pareceram ser os de maior utilidade, àqueles que se relacionam com o comportamento físico e químico das proteínas, aminoácidos, nucleotídeos ou nucleosídeos e ainda a formação de bases voláteis.

Os nucleotídeos, inicialmente, sofrem modificações de natureza autolítica e, em seguida, de natureza bacteriana, sendo os produtos formados usados como índices de qualidade do pescado (MENDES, 1974).

FLICK & LOVELL (1972) estudando as modificações dos

nucleotídeos no pós-morte, observaram que as vias de degradação eram as mesmas para peixes e mamíferos. Os níveis iniciais de ATP encontrados em músculo de camarão não estavam fadados, foram semelhantes àqueles determinados para outros animais marinhos não exercitados e vertebrados terrestres.

O nível inicial de Inosina Monofosfato (IMP), em camarão e em outras espécies marinhas, foi consideravelmente maior do que aquele encontrado em músculos de mamíferos. É provável que a IMP tenha uma importante contribuição nas características do "flavour" do camarão. A hipoxantina, resíduo da degradação do ATP, é acumulada em quantidades apreciáveis no músculo do pescado após a sua morte, fato que possibilita a utilização desse composto como um indicador de qualidade.

2.2 - Bases nitrogenadas

As transformações nas quais ocorre produção de bases voláteis totais (BVT), como TMA, dimetilamina (DMA) e outras, são as que têm sido mais estudadas. Na maioria das espécies marinhas, segundo AMANO & YAMADA (1965), as bases referidas são apresentadas principalmente por TMA, DMA e amônia (NH_3) sendo que, geralmente, a DMA só aparece em pequenas quantidades.

Embora o aumento no conteúdo de TMA possa freqüentemente ser correlacionado com o frescor dos teleósteos do oceano (peixes ósseos), existem opiniões conflitantes a este respeito (FIEGER & FRILOUX, 1954).

Segundo VELANKAR & GOVINDAN (1960), o conteúdo de TMA de camarão varia com a espécie e salinidade da água.

Estas observações sugerem que a produção de TMA depende de muitos fatores e que pode não ser um indicador seguro de deterioração (IYENGAR *et al.*, 1960).

MILLER et al. (1972) aconselham a utilização de outros métodos físicos e químicos em conjunção com a determinação de TMA para se avaliar a qualidade de um pescado.

Segundo SHEWAN et al. (1971), um dos traços mais característicos das mudanças químicas que ocorrem no músculo do peixe, durante a deterioração, é a produção de bases voláteis, tais como a amônia e outras aminas menores. Todas as evidências parecem mostrar que, na maioria das espécies de peixes marinhos, estas bases voláteis consistem principalmente de NH_3 e TMA.

REAY (1937); SHEWAN (1937, 1938); GRONINGER (1958); HUGHES (1959); YAMADA & AMANO (1965) e YAMADA & HARADA (1969), citam que em vários tipos de pescado, tais como gadídeos (bacalhau, "haddock", pescada polaca e arenques) uma certa quantidade de DMA é também produzida, além de TMA.

A presença de peixes de TMAO, TMA e DMA foi constatada por muitos pesquisadores e as investigações foram feitas através de muitos métodos. GRUGER JÚNIOR (1972), trabalhando com salmão (*Orcohyynchus kisutch*), com "ovas de salmão" e com "sable fish" (*Anoploma fimbria*) congelados a -28°C , conseguiu, por cromatografia gasosa e espectrofotofluorometria, identificar 27 compostos, entre os quais TMA e DMA. Verificou, também, que em peixes frescos essas aminas estavam presentes mas em pequenas quantidades, na ordem de 3,6 a 6,6 mcg/g.

Ainda por cromatografia gasosa, MILLER et al. (1972) identificaram TMA e DMA em amostras de merluza (*Merluccius productus*), solha (*Microtomas pacificus*) e bacalhau (*Gadus macrocephalus*) após o armazenamento a -12°C e -14°C . Esses autores observaram também que havia correlação entre os teores de DMA e o tempo de armazenamento, o mesmo não ocorrendo com os de TMA.

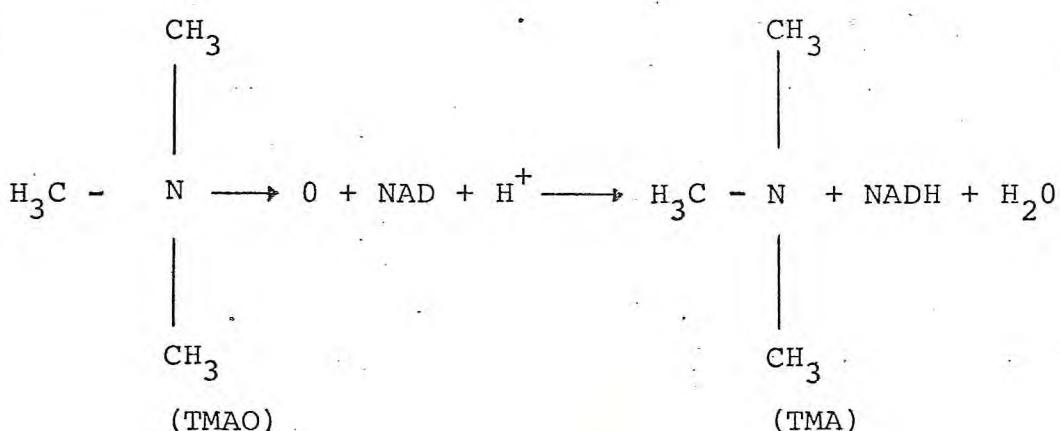
Segundo BYSTEDT et al. (1959), todos os peixes do mar examinados, contêm TMAO, sendo sua concentração variável em algumas centenas de miligramas (mg) de nitrogênio de TMAO por 100 gramas (g) de músculo de peixe. Esta variação

está na dependência da espécie, considerando-se o meio ambiente e, em alguns casos, de acordo com a estação do ano e a idade do pescado. O TMAO é também encontrado no pescado de água doce somente em pequenas concentrações.

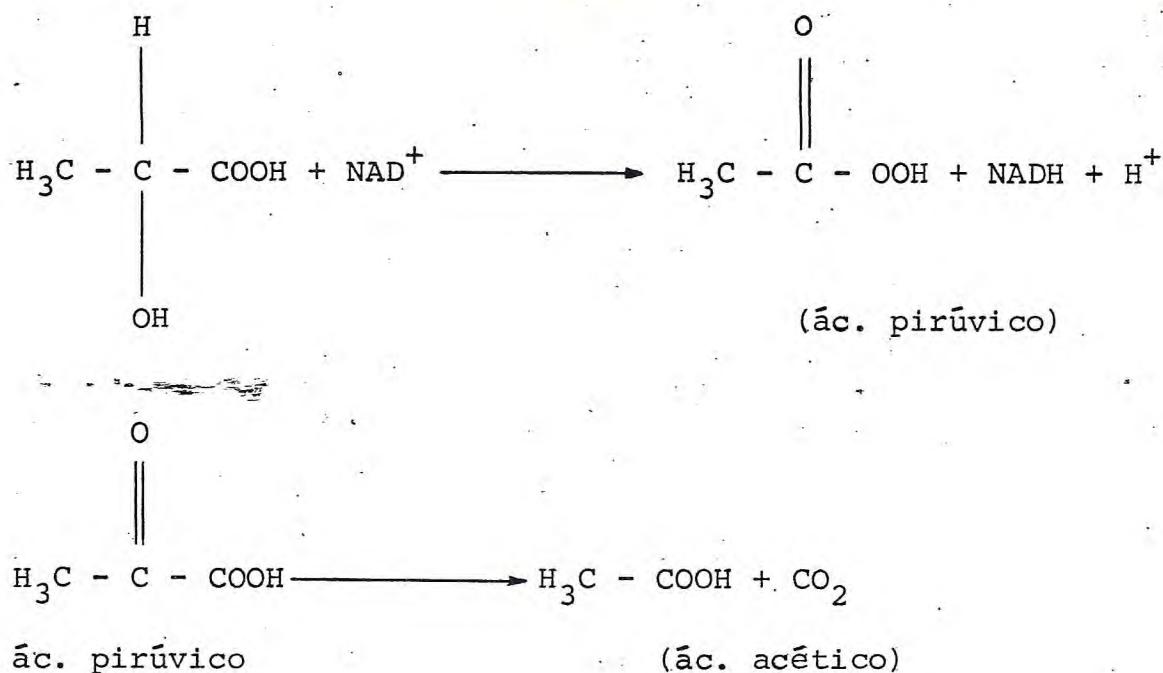
No manuseamento do peixe, o TMAO é de interesse, principalmente porque ele pode ser reduzido por enzimas bacterianas a TMA. Esse tipo de redução parece ter lugar somente no músculo do peixe morto e normalmente ocorre paralelo à deterioração.

Em experimentos feitos por RONOLD & JAKOBSEN (1947), foi observado que o TMAO poderia variar de acordo com as estações do ano. Esses resultados mostraram que o conteúdo daquele composto era maior no inverno do que no verão. Uma variação semelhante foi constatada na sardinha e no arenque norueguês. Os arenques, no inverno, quando jovens, pareciam possuir um conteúdo mais baixo de TMAO do que os peixes "Peterhead" e "Lowestoft" quando maduros. Ainda, segundo esses pesquisadores, poderia ocorrer uma correlação entre o comprimento, idade do peixe e o seu conteúdo em TMAO, o qual aumentou com a idade.

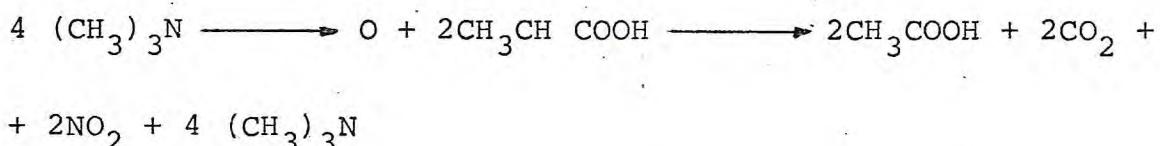
A formação do TMA ocorre pela decomposição do TMAO existente no músculo de espécies marinhas, sendo o seu mecanismo proposto por COLLINS (1941) através das seguintes reações:



por sua vez o NADH é regenerado de acordo com o esquema:



A equação total será:



A ação de algumas enzimas de determinadas bactérias que se multiplicam nos peixes, são responsáveis por essas transformações..

O TMAO, de acordo com KONOSU et al. (1974), SUYAMA & SUZUKI (1975), é um composto naturalmente presente em muitos animais marinhos. Seu papel fisiológico acredita-se ser semelhante ao da uréia ou ácido úrico nos animais terrestres e é excretado para manter o balanço do nitrogênio. Uma avaliação na distribuição do TMAO, em vários animais marinhos, mostrou que sua concentração variou amplamente entre as diversas espécies consideradas. Geralmente o TMAO é extremamente escasso ou completamente ausente em peixes de água doce e os elasmobrânquios (peixes cartilaginosos) contém uma quantidade muito mais alta do que os teleósteos (peixes ósseos).

SHENOUDA (1980) cita que os moluscos, tais como a

lula e octópodes, assemelham-se aos elasmobrânquios, tendo uma alta quantidade de TMAO, enquanto os crustáceos, camarão e caranquejo contêm moderadas quantidades de TMAO.

Para algumas espécies de peixes marinhos, a quantidade de TMAO que foi reduzida a TMA, estabelece uma indicação da atividade total bacteriana, a qual resulta na produção de odores e "flavour" indesejáveis (CASTELL et al. 1973).

Na grande maioria dos moluscos, o TMAO está presente e vários estudos têm sido realizados, enfocando a ação de bactérias na redução deste óxido à TMA. Este último composto, por esta razão, é usado como índice da qualidade de alimentos do mar (BEATTY, 1938; TARR, 1938; WATSON, 1939; COLLINS, 1941; RONOLD & JAKOBSEN, 1947; SIGURDSSON, 1947; LAYCOCK & REGIER, 1971).

FLORES & CRAWFORD (1973) aventam a possibilidade de que nos peixes gadídeos haveria dois sistemas diferentes, atuando na degradação redutiva do TMAO. Um sistema seria a redução bacteriana ou enzimática exógena de TMAO a TMA. O segundo sistema envolveria a redução endógena enzimática do TMAO e DMA e formaldeído (FA). O que ainda não estaria cl_aro, para os dois pesquisadores, é se o TMA seria um substrato para a redução ou um intermediário no sistema.

Entretanto SPINELLI & KOURY (1979) citam o fato de que no músculo do pescado o que se acumula é o TMA e não DMA.

TOZAWA et al. (1970) afirmam que a presença de DMA é indesejável, mesmo quando aparece em pequenas quantidades, pelo fato de interferir com as análises de TMA.

TOKUNAGA (1965) e CASTELL et al. (1973a), justificam o interesse dos pesquisadores em relação a presença de DMA nos peixes em decomposição, porque este composto é acompanhado pela formação de FA o qual suspeita-se que tenha importante papel nas alterações de textura que ocorrem no pescado.

Por outro lado, parece que o DMA tem um papel impõ

tante para as espécies gadídeos como bacalhau e pescada-pelaca, mas não para a maioria das espécies comerciais (SPINELLI & KOURY, 1979).

O fato dos gadídeos formarem DMA em grandes quantidades, levou BABBITT et al. (1972) a sugerirem que nestas espécies estocadas congeladas, fosse usado DMA e não TMA como testes de qualidade.

As observações feitas por muitos pesquisadores sobre a formação de DMA durante a estocagem de pescado congelado levaram os cientistas a creditar que o mecanismo responsável pela formação do DMA é enzimático. Suspeita-se que a enzima que degrada o TMAO em DMA e FA seja encontrada no tecido e em vários órgãos do peixe (SPINELLI & KOURY, 1979),

YAMADA & AMANO (1965) estudaram a formação biológica do DMA e FA no bacalhau. Os resultados de vários experimentos mostraram que a formação de DMA e FA era catalizada por uma enzima do próprio peixe. Mostraram, ainda, que o ceco pilórico, o estômago e um homogenato de baço poderiam converter TMAO em DMA e FA.

A partir desses experimentos, outros pesquisadores demonstraram que homogenatos de rins e de sangue de peixes gadídeos também exibiam uma alta atividade na conversão de TMAO a DMA e FA (DINGLE & HINES, 1975).

Apesar de muitos trabalhos indicarem a formação do DMA a partir da catálise enzimática de TMAO, essas enzimas nem foram isoladas nem purificadas a um grau necessário para permitir o conhecimento de características específicas (SPINELLI & KOURY, 1979).

Segundo MURRAY & GIBSON (1972), a característica de alguns peixes marinhos é o acúmulo, na carne, de TMA produzido por bactérias a partir de TMAO. O TMA pode ser medido por testes químicos e sua concentração é expressa como mg de nitrogênio TMA/100g de músculo de pescado e é usada como um indicador de qualidade em muitos países. Este teste é adotado largamente tanto em laboratórios de pesquisa, como de

controle de qualidade, embora as concentrações de TMA pos sam não se correlacionar com os caracteres organolépticos.

Nos peixes, a formação de TMA a partir de TMAO é atribuída à ação de bactérias (LISTON et al., 1968) ou de enzimas encontradas nos cecos pilóricos (AMANO & YAMADA, 1964).

LISTON et al. (1968) indicam a enzima triaminase como responsável pela redução de TMAO a TMA, causada por bactéria principalmente as do gênero *Pseudomonas*.

Embora seja sabido que as bactérias são as responsáveis pela redução do TMAO, existem poucas informações acerca do mecanismo dessa redução (SAKAGUCHI & KAWAI, 1975).

A distribuição da enzima TMAOase, a qual é usualmente detectada pela medida do seu produto final (DMA e FA) foi estudada por muitos pesquisadores (CASTELL et al. 1970, 1971, 1973; BABBITT et al. 1972; HARADA, 1975; HILTZ et al. 1974, 1976).

A TMAOase é uma enzima que, a temperaturas de congelamento, hidroliza o TMAO em DMA e FA. O FA tem sido condenado pelo seu efeito prejudicial na qualidade da estocagem de certos grupos de peixes (SHENOUDA, 1980).

SOUDAN apud AMANO & YAMADA (1964), relatou a presença de FA nos produtos preparados a partir de peixes, os quais normalmente contêm TMAO.

VAISEY (1956) comprovou a produção "in vitro" de FA a partir de TMAO por ação redutiva da cisteína na presença de íons ferro ou hemoglobina, encontrando DMA como um dos produtos de decomposição do TMAO.

BEATTY & COLLINS (1940) não detectaram a presença de DMA no extrato de bacalhau, obtido por filtração através de filtro Seitz. Eles supuseram que a ação bacteriana poderia estar associada com a formação de DMA e como o extrato estava livre de bactérias consequentemente não haveria formação de DMA.

ARAÚJO et al. (1975) estudando a redução do TMAO por

bactérias encontraram que a atividade triaminásica apresentava um pico máximo em pH 7.0, semelhante ao encontrado por WOOD & BAIRD (1943). Isto pareceu indicar que somente uma enzima estaria participando do sistema TMAO-TMA. Dentre as bactérias estudadas a que apresentou maior atividade triaminásica foi a *Escherichia coli*, seguida das pertencentes aos gêneros *Proteus*, *Klebsiella* e *Staphylococcus*, em ordem de crescente.

2.3 - Hipoxantina

As rápidas mudanças que ocorrem nas degradações pós-morte dos nucleotídeos do músculo do peixe, sugeriram que a medida desses produtos degradativos pode se correlatar com o tempo em que o peixe foi mantido em estocagem (SPINELLI et al. 1964).

SHEWAN & JONES (1957) determinaram a presença de ribose em peixe congelado e correlacionaram-na com o tempo de estocagem.

SAITO & ARAI (1957) estudaram a via de degradação do músculo da carpa congelada durante o congelamento e estoçagem e determinaram uma constante matemática de frescor, baseada na medida da densidade ótica do extrato e dos conteúdos de Hx e inosina presentes neste extrato.

Pesquisas realizadas ao longo de vários anos, no TORRY RESEARCH STATION (1959, 1960, 1961), permitiram a identificação do maior e menor constituintes nucleotídeos presentes no músculo do pescado, sob várias condições de estoçagem e sugeriram que a formação de Hx a partir de ácido inosínico, via inosina, pode fornecer um importante índice de qualidade, particularmente para pescado estocado em gelo.

JONES & MURRAY (1962) observaram modificações na composição dos nucleotídeos em bacalhau estocado a frio e suas implicações sobre o "flavour".

CREELMAN & TOMLINSON (1960) estudaram a taxa de degradação completa dos nucleotídeos para algumas espécies. Estes investigadores encontraram somente pequenas quantidades de ribosa e Hx presentes no salmão após 10 dias de estoquegem no gelo e atribuíram isso a uma aparente falta de nucleotídeo hidrolase.

MARTIN et al. (1978) revisaram alguns métodos químicos usados para avaliar a qualidade do peixe fresco e sugeriram que o controle da acumulação da Hx tem várias vantagens, inclusive reflete as atividades autolítica e bacteriana no tecido do peixe.

SPINELLI et al. (1964) e JAHNS et al. (1976) demonstraram o aumento na ordem de 5 a 10 vezes no conteúdo de Hx para perca e linguado após 9 dias de estocagem a 0°C.

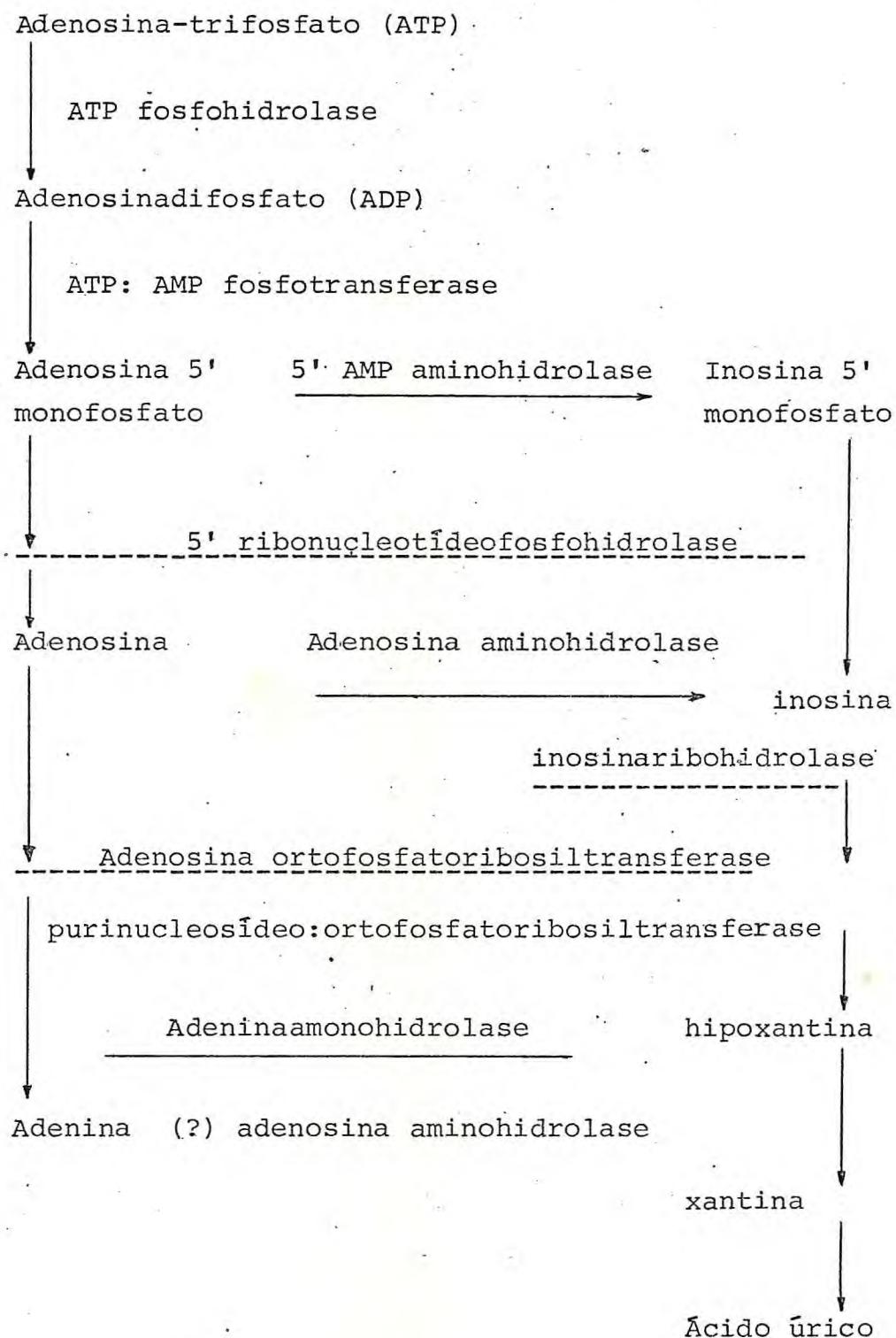
Em bacalhau e "haddock" foi observado através dos estudos de JONES et al. (1964), que havia uma boa correlação entre a acumulação de Hx e os testes sensoriais.

Procedimentos para medidas de Hx em tecidos de peixe têm sido baseados primariamente no princípio da reação enzimática que converte Hx em xantina e eventualmente em ácido úrico. Após extração de Hx dos tecidos, xantina oxida-se é adicionada ao extrato e o aumento do ácido úrico pode ser medido espectrofotometricamente (WARTHESEN et al. 1980).

GISSEL & PIZZOCARO apud CATTANEO et al. (1979), propuseram utilizar a determinação da Hx do músculo como parâmetro para exprimir o estado de frescor e o tempo de conservação da carne de várias espécies animais.

Considerável desfosforilação enzimática do (IMP), via inosina para Hx ocorre dentro do período da edibilidade do pescado durante a sua estocagem em gelo. Estas mudanças estão implicadas na perda do "flavour" característico do peixe fresco como também no desenvolvimento de outras mudanças indesejáveis em várias espécies de peixe (JONES et al. 1964; SPINELLI et al. 1964; JONES, 1965; SPINELLI, 1965; DYER et al. 1966).

Segundo CATTANEO et al. (1979) a seqüência degradativa de ATP na carne de peixe, crustáceo e molusco, inicia-se com a perda do grupo fosfato terminal do ATP e procede de acordo com o seguinte esquema:



SHAW & BOTTA (1975) investigando a qualidade de peixes *Mallotus villosus* estocados em gelo por 14 dias, utilizaram parâmetros químicos e os compararam como mudanças no gosto e textura. A produção de TMA coincidiu com o ponto de rejeição da análise sensorial e a produção de Hx estava intimamente relacionada com as mudanças na qualidade.

FLICK & LOVELL (1972) estudando as mudanças bioquímicas durante a pós-morte no músculo de camarão *Penaeus aztecus*, encontraram um baixo nível de Hx, cerca de 0,4 mol/g nas primeiras 48h. Entretanto este nível aumentou significativamente nos 10 dias seguintes do experimento com a Hx atingindo 4,5 mol/g. Os dados indicam que a Hx é um produto de degradação do ATP e que após um período de estocagem, mesmo à baixa temperatura, o pescado acumula este composto em quantidades substanciais.

LEE & WEBSTER (1963) estudaram o efeito da temperatura, congelamento, estocagem em frio e efeitos do pH na taxa de produção de Hx no tecido de carne de mamíferos e observaram que um aumento na temperatura e pH e/ou descongelamento de amostras estimulava a taxa de produção de Hx.

FRASER *et al.* (1968) verificaram que durante a autólise enzimática a desfosforilação do IMP e produção da Hx é rápida e completa na espécie *Sebastodes marinus*, não ocorrendo acúmulo de inosina durante o período de 4 dias de estocagem. Este fato ocorreu alguns dias antes do limite de aceitabilidade, portanto, quando tem início o ataque bacteriano. Os autores concluíram que para a espécie acima a Hx não deve ser usada como índice de frescor.

BURT & SIMMONDS (1971), estudando a conservação da merluza, *Merluccius capensis* refrigerada e congelada, verificaram que a concentração de Hx aumentou até o 16º dia de estocagem em gelo e que o limite de aceitabilidade ocorreu no 12º dia. O processo de congelação e decomposição desta espécie mostrou que a Hx aumentava numa faixa equivalente a 4 dias de armazenamento em gelo.

Os mesmos autores verificaram que a descongelação e

refrigeração em gelo proporcionaram um aumento de Hx em ritmo constante e maior do que observado na congelação.

RIED (1973) objetivando estabelecer um índice de frescor para espécie *Merluccius gavi*, com base em um painel organoléptico e índice de concentração de Hx, verificou, que, quando tomado o valor 4,5 como limite de aceitação na escala sensorial e 0,85 mol Hx/g de músculo, estabelecia-se uma faixa de segurança de 80% e quando tomado o valor 0,34 μ mol Hx/g de músculo, esta faixa de segurança evoluía para 95%.

Em lagostas *Homarus americanus* foi constatada uma fraca atividade de AMP aminohidrolase responsável pela formação do IMP (DINGLE *et al.* 1968); esta enzima é fortemente ativa nas espécies vertebradas, tais como o bacalhau (DINGLE & HINES, 1975).

Segundo JONES & MACKIE (1970), existem muitos fatores que podem afetar não somente a taxa de produção de Hx, mas também seu valor inicial. Entre esses fatores estão incluídos: a demora no pré-resfriamento, as temperaturas de estocagem, as variações na atividade enzimática, variações sazonais, tamanho do peixe e pH da carne.

Apesar de todos esses fatores, a concentração de Hx no pescado parece ser um bom índice de qualidade, já que há uma correlação entre o aumento de Hx e o estado de deterioração do pescado analisado, sendo assim a determinação química desse composto um ponto de auxílio nas decisões dos testes organolépticos.

2.4 - pH

É sabido que a partir de um determinado tempo da morte do pescado, este sofre modificações químicas que alterarão sua qualidade organoléptico. As rupturas das ligações protéicas, as reduções de compostos tipos TMAO, a liberação

de bases voláteis, o ataque bacteriano, são fatores que contribuirão para o aumento no pH da carne do pescado.

A determinação desse parâmetro, por si só, não define o estado de decomposição do pescado mas reveste-se de algum valor quando é usado concomitantemente com outras determinações, tais como índice de TMA, quantificação do BVT e da Hx.

A medida da qualidade do peixe tem sido sempre um dos mais sérios problemas da indústria pesqueira. A determinação do pH superficial estabelece um rápido índice de qualidade para filetes estocados, mas não é satisfatório para peixe não filetado ou para filetes imediatamente após o corte, já que o pH da superfície depende da acumulação de produto oriundo da ação bacteriana (DYER *et al.* apud SIGURDSSON, 1947).

BETHEA & AMBROSE (1962), estudando o conteúdo de TMA, o pH e a turbidez em ácido pícrico de camarão congelado, verificaram que, no homogenato de camarão fresco o pH era de 7,24. Este aumentou para 7,8 no 5º dia de estocagem e para 8,2 no 8º dia permanecendo entre 8,0 e 8,2 durante o limite da ceitabilidade. Quando a deterioração ocorreu, o pH do camarão excedeu a 8,2.

O pH do camarão sem cutícula foi determinado na superfície e dentro do músculo. O pH inicial da superfície foi de 7,3 a 7,5 e o do interior do músculo foi de 6,8. O pH da água do mar onde se capturou o camarão foi de 8,0 e isto influenciou consideravelmente o pH da superfície do camarão. O pH superficial decresceu de 7,35 para 7,2, possivelmente devido à lixivação das bases voláteis. Estes valores persistiram quase que estacionários ou flutuando entre 7,0 e 7,2 do 7º ao 16º dia. Após esse período, houve um aumento de pH de 7,2 a 7,6 e no fim do 21º dia aumentou de 7,2 a 8,0. Foi determinado então que valores de pH de 7,1 ou menores dentro do músculo do camarão, eram indicativos de ótima qualidade; valores de 7,2 a 7,6 indicavam um estágio de deterioração inicial e valores maiores que 7,6 indicavam uma deterioração definitiva (BAILEY *et al.* 1956).

2.5 - Alterações microbiológicas

→ Muitas pesquisas têm sido feitas sobre a conservação de pescados no gelo. Entretanto, poucas estão relacionadas com a lagosta.

→ Na maioria dos barcos de pesca, as lagostas são descabecadas logo após a captura, sendo as caudas lavadas com água do mar e acondicionadas em gelo nos porões, onde permanecem durante um período de até 20 dias. Muitas vezes, as caudas de lagostas são desembarcadas em estado precário de conservação, depreciadas tanto pelas más condições de temperatura como pelo aparecimento da mancha preta, causando prejuízos aos armadores e/ou empresários de pesca (OGAWA et al. 1970).

→ A qualidade sanitária do pescado depende, em grande parte, das condições higiênicas existentes a bordo dos barcos pesqueiros. Com relação às lagostas, não se tem dado a devida atenção a esse aspecto, por vários motivos, de modo que o produto chega à indústria já em estado de elevada contaminação bacteriológica. Acrescente-se a isso o excessivo manuseio durante as fases de processamento, desde a recepção até o congelamento, constituindo um fator adicional de contaminação, tendo-se como resultado um produto de qualidade sanitária duvidosa que, em se tratando de ítem de exportação como as lagostas, pode ter reduzida sua cotação comercial no mercado externo (VIEIRA & CARDONHA, 1979).

* A microflora do pescado depende, em grande parte, do grau de contaminação das águas que constituem seu habitat (VIEIRA & TELLES, 1977).

→ Segundo CALAND-NORONHA & MORAIS (1972), a faixa costeira em frente a Fortaleza encontra-se altamente poluída por bactérias de origem fecal, e os peixes e crustáceos que nela habitam, tornam-se, naturalmente, contaminados, sofrendo uma drástica redução em suas condições sanitárias ideais.

→ CASTELL (1954) cita que o pescado se rapidamente

resfriado, mesmo contendo bactérias na parte externa do músculo, não haverá de imediato penetração desta flora na parte interna. Isto indica que se o peixe for bem conservado em gelo, esta condição continuará, no mínimo, de uma semana a dez dias.

Entretanto, se esse gelo não estiver em condições adequadas de higiene, será uma das principais fontes de contaminação para o pescado.

As bactérias podem ser citadas como um dos principais problemas para a indústria, ocasionando enormes perdas no valor nutricional do pescado. Para inibir a ação nefasta dos microrganismos, são empregados vários métodos de conservação. Entre os mais usados, temos o resfriamento, congelamento, salga, defumação e calor.

* Os organismos envolvidos nos processos de deterioração do pescado "in natura" são geralmente psicrófilos da água e gêneros de bactérias do solo. Em geral, bastonetes Gram-negativos do gênero *Pseudomonas* são responsáveis pela deterioração do pescado com um variável envolvimento de *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* e *Vibrium* (TARR, 1964).

A contagem total das bactérias viáveis tem sido usada por muitos investigadores para estimar o grau de frescor do pescado (CASTELL & ANDERSON 1948; TANIKAWA & AKIBA 1955; FARBER & LERKE 1958, 1961; MOORJANI et al. 1958).

Segundo LISTON (1956), as bactérias que invadem o pescado pertencem a espécies encontradas em mar aberto. Em vista do baixo conteúdo de nutrientes na água do mar, é provável que este desempenhe um papel passivo, agindo meramente como um veículo no transporte das bactérias.

A contagem das bactérias mesófilas é de pequeno valor na avaliação da vida de um alimento estocado em frio, porque muitos microrganismos mesofílicos podem diminuir seu crescimento em temperaturas abaixo de 5°C. Para esse propósito, uma contagem nas psicotróficas viáveis é preferida, usando-se uma temperatura de incubação de 0-5°C (INGRAM, 1966)

ou a 7°C por 10 dias (VANDERZANT & JOHNS, 1972). Algumas bactérias mesofílicas crescem numa faixa de 5-15°C mas podem ser detectadas mais rapidamente, quando semeadas em placas e incubadas em temperaturas mais altas (ICMSF, 1978).

O grupo coliforme é altamente usado para indicar a qualidade da água, do leite e de outros alimentos. A presença desses organismos no leite pode ser uma indicação de uma pasteurização inadequada ou de mal manuseamento. A presença desses organismos por si só não é uma indicação de contaminação fecal. A presença de uma bactéria mais específica desse grupo *E. coli* tem sido associada com produção fecal, porque este organismo ocorre no trato intestinal do homem e dos animais (ELLIOT, 1963).

THATCHER & CLARK (1968) e SILLIKER & GREENBERG (1969), mencionaram que a simples presença de coliformes não-fecais em alimentos não tem significado no aspecto de saúde pública.

Os resultados obtidos e confirmados por outras observações sobre habitat variado dessas bactérias, tendem a confirmar essas afirmações (GELDREICH, 1966); MISHRA et al. apud LEITÃO et al. 1973).

O habitat nativo da *Escherichia coli* é o trato entérico do homem e dos animais. Sua presença em alimentos geralmente indica poluição fecal direta ou indiretamente. *E. coli* é o indicador clássico da possível presença de patógenos entéricos na água, moluscos, produtos lácteos, pescados e outros alimentos. A enumeração de *E. coli* na água estabelece a medida da extensão da poluição e sugere a falta geral da limpeza no manuseamento e uma estocagem imprópria. A presença de *E. coli* no alimento não é ligada diretamente à presença de um patógeno mas é indicadora de que essa possibilidade existe (ICMSF, 1978).

LEITÃO et al. (1973) estudando indicadores de contaminações observaram que eram as coliformes fecais que apresentavam maior relação com o grau de contaminação e utilização de diferentes ambientes. Tais observações sugeriram ser

E. coli um melhor indicador de contaminação fecal recente, concordando com resultados de outros pesquisadores (THATCHER & CLARK, 1968; GELDREICH, 1966; MISHRA apud LEITÃO et al. 1973; SILLIKER & GREENBERG, 1969; GELDREICH apud LEITÃO et al. 1973).

GELDREICH apud LEITÃO et al. 1973 observou uma correlação estreita entre a presença de coliformes fecais e *Salmonella*, tendo sido sugerido limites máximos para coliformes fecais em águas utilizadas em irrigação.

Além da diversidade de habitat, tem sido demonstrado que as bactérias coliformes são capazes de se multiplicar em ambientes com baixo teor de nutrientes, caso de águas limpidas de regiões montanhosas e meios contendo menos de 5 µ g/ml de glicose, concentração esta encontrada em ambientes aquáticos não poluídos (HENDRICKS & MORRISON apud LEITÃO 1973).

LEITÃO et al. (1973) sugerem que a importância da presença de coliformes em ambientes naturais ou alimentos não processados deva ser julgado com cautela, tornando-se problemática a interpretação do significado dos mesmos como indicadores de contaminação fecal. No entanto, em águas tratadas ou alimentos processados, a presença de coliformes sugere ou a inadequação do tratamento ou contaminação pós-processamento.

→ A flora bacteriana dos crustáceos recentemente pescados será reflexo das águas nas quais tenham sido capturados, das contaminações dos bárcos, dos manipuladores e de água de lavagem. As pseudomonaceas são os microrganismos predominantes nos crustáceos deteriorados por ação microbiana (CAMPBELL & WILLIAMS, 1952).

A alteração dos crustáceos parece semelhante à dos peixes. Devido à anatomia destes seres, as alterações começam pelas superfícies externas. Tem-se observado que o músculo dos crustáceos contém cerca de 300mg de nitrogênio/100 g de carne, quantidade consideravelmente superior à dos peixes (VELANKAR & GOVINDAN, 1960).

A carne dos crustáceos, por seu alto conteúdo em aminoácidos livres e em extratos nitrogenados, é muito suscetível de ser rapidamente decomposta pela flora produtora de alterações. A deterioração inicial da carne dos crustáceos vem acompanhada da produção de grandes quantidades de bases voláteis nitrogenadas, em maior proporção que no caso dos peixes. Algumas das bases voláteis nitrogenadas provêm da redução do TMAO presente nos crustáceos (JAY, 1973).

O pescado e os demais produtos alimentícios procedentes do mar podem alterar-se, igualmente a carne, por autólise, oxidação e atividade bacteriana. A maior parte dos pescados é mais suscetível à deterioração do que a carne de mamífero, porque a autólise, ou ação das enzimas que contêm, é mais rápida e porque sua reação, menos ácida, favorece ao desenvolvimento bacteriano. A maior parte dos óleos de pescado é também mais suscetível à deterioração por rancificação oxidativa que a maioria das gorduras animais. A alteração microbiana dos pescados não começa enquanto não houver passado o estado de *rigor mortis*, quando as fibras musculares começam a liberar seu suco. Quanto mais se retardar esse momento, tanto maior será o período de conservação do pescado. O *rigor mortis* é acelerado pelo desgaste físico que precede a morte, a falta de oxigênio e temperaturas elevadas. É retardado, por outro lado, por um pH baixo e por refrigeração. O pH do pescado tem uma grande influência não só pelos efeitos sobre o *rigor mortis*, como também por seu efeito sobre o desenvolvimento bacteriano. Quanto mais baixo seja o pH muscular, tanto mais lenta será a decomposição bacteriana. A diminuição do pH é consequência da conversão do glicogênio em ácido lático (FRAZIER, 1972).

Entre as bactérias com interesse para saúde pública e que atacam os alimentos estão *Staphylococcus aureus*. Podem, na maioria das vezes, ser consideradas como indicadoras de ocorrência de poluição originada por manipuladores, tendo em vista que estes, freqüentemente, mostram-se portadores dessa bactéria tanto nas fossas nasais e boca, quanto na pele (ICMSF, 1978).

WILSON & MILES (1966) citaram que a principal fonte supridora de *S. aureus* do meio ambiente é o corpo animal e que sua localização ocorre geralmente no nariz, saliva, pele e conteúdo intestinal. É importante salientar também que o *S. aureus* está presente, com freqüência, em pessoas assintomáticas (ANGELOTTI, 1969 & WILSON & MILES, 1966).

ARAÚJO *et al.* (1975) testando diversas bactérias sobre a redução do TMAO, verificaram que *Staphylococcus* tem pouca atividade redutora.

No entanto os riscos de contaminação principalmente de alimentos marinhos por essas bactérias, são grandes, devido à sua resistência a altos teores de cloreto de sódio.

Segundo FRAZIER (1972), alguns dos cocos toxigênicos toleram tão bem o sal que podem crescer em soluções de NaCl, próximas ao estado de saturação.

Quanto à temperatura, segundo BAIRD-PARKER (1974), o *S. aureus* pode multiplicar-se em uma faixa que varia de 6,5°C a 46°C sendo, no entanto, a sua faixa ótima de 30°C a 37°C. Outros autores referem-se para a multiplicação do *S. aureus*, temperaturas mínima, ótima, e máxima, respectivamente, de 6,7°C, 37°C e 45°C (ANGELOTTI *et al.* 1961); 6,6°C, 35°C e 47°C (FRAZIER 1972) e 10°C, 35°C a 37°C e 47°C (GILBERT 1974; JENNINGS, 1975).

Segundo NIVEN (1955), todos os *Staphylococcus aureus* produtores de enterotoxinas causam gastroenterite e inflamação das mucosas gástrica e intestinal, sendo coagulase positivo e aeróbios facultativos em meio glicosado completo, sem que isto queira dizer que todos os estafilococos coagulase positivos sejam necessariamente toxigênicos.

Fato importante é a termorresistência apresentada pela enterotoxina estafilocócica. Para muitos autores, essa enterotoxina resiste à fervura por 20 a 60 min, podendo permanecer ativa até mesmo após a autoclavagem a 120°C durante 15 min (SURGALLA & HITE, 1945; DACK, 1964; JAY, 1973).

Em relação a temperaturas para crescimento, as bac-

térias foram divididas em quatro grandes grupos: termófilas, com um ótimo crescimento entre 55° a 75°C, um máximo de 75° a 90°C e um mínimo em cerca de 35°C; as mesófilas, incluindo todos os patógenos e muitas das bactérias deteriorantes de alimentos, com um ótimo de temperatura entre 30° e 45°C, um mínimo entre 5° e 15°C e um máximo entre 35° e 47°C; as psicrófilas com um mínimo de crescimento entre -5° e +5°C, um ótimo na faixa de 12° a 15°C e um máximo entre 15° e 20°C, e finalmente as psicotróficas que crescem no mínimo entre -5° e +5°C, tendo um ótimo no intervalo de 25° a 30°C e toleram um máximo de temperatura entre 30° e 35°C. As psicotróficas por crescerem melhor a moderadas temperaturas, podem ser consideradas como um subgrupo das mesófilas capazes de crescerem abaixo da temperatura mínima comum à maioria dessas bactérias (ICMSF, 1980).

Os organismos que são capazes de crescer a cerca de 0°C, mas não tendo o ótimo e o máximo de temperatura igual ao das psicrófilas, são chamadas psicotróficas (EDDY, 1960).

Vertebrados de águas doces e marinhas, crustáceos e moluscos que vivem em águas não poluídas por descarga de esgotos ou outros efluentes são normalmente livres de *Salmonella*. Entretanto as águas poluídas por esses agentes são reconhecidamente fontes de infecções de *Salmonella typhi* (BROW & DORN, 1977).

Todas as salmonelas deveriam ser consideradas um patógeno em potencial para o homem. A via oral é virtualmente a maneira exclusiva de entrada desses organismos, no corpo do homem. Por essa razão é de suma importância a pesquisa desses organismos em alimentos (ICMSF, 1978).

De acordo com FRAZIER (1972) as salmonelas são capazes de crescer num margem ampla de temperatura e pH. As temperaturas mínimas de crescimento são de 6,6 a 7,7°C em frangos e 10°C em produtos de pastelaria ou em presuntos. Crescem bem a temperaturas ambientes mas são mesófilas, tendo o ótimo de crescimento a ± 37°C. As salmonelas podem achar-se em número extraordinário sem alterar necessariamente o gos-

to dos alimentos. Quanto maior for o número de microrganismos participantes, tanto maior a probabilidade de que o consumidor sofra a infecção e tanto mais curto será o período de incubação.

A importância da contaminação bacteriana está também ligada a um composto químico, TMA usado como um índice de qualidade em pescados, resultante da redução do TMAO. O aumento do TMA é paralelo ao aumento da população bacteriana (DIEMAIR, & SCHAMS 1962).

Os métodos assépticos para a redução da contaminação nos alimentos marinhos são difíceis de se realizar. Certas contaminações anteriores ao tratamento industrial do pescado podem ser evitadas, mantendo-se, tanto nos barcos como nas indústrias pesqueiras, condições máximas de limpeza e higiene, o mesmo nas cobertas, nas caixas, instrumentos cortantes e demais recipientes empregados no barco e nas fábricas, bem como o gelo usado para a refrigeração do pescado, o qual deve ser de excelente qualidade bacteriológica (FRAZIER, 1972).

2.6 - Avaliação sensorial

No decorrer do tempo de armazenagem do pescado, quer seja no gelo, quer seja em refrigerador, os odores e os sabores sofrerão modificações que poderão ser descritas em termos sensoriais e numeradas para formar uma ficha de pontos (NORT, 1972).

A qualificação do frescor envolve considerações relacionadas com o tempo e a qualidade. A esta última contribuem muitos fatores, sendo portanto difícil encontrar um só ensaio que determine esses aspectos. Seria de grande valor para a indústria e o mercado um teste que correlacionasse bem o frescor e a qualidade (BAINES, 1965).

Segundo EDDIE (1971), a aplicação rígida de códigos

e práticas no manuseio do pescado proporcionará uma melhor uniformidade no produto e um aproveitamento maior do tempo gasto na inspeção e controle de qualidade. Por outro lado, os custos nestas práticas, na indústria pesqueira e no mer cado, dependem do tempo gasto na captura e da quantidade do pescado, além da variação da qualidade e dos meios dispo níveis.

Por outro lado, MORI (1979), aconselha uma padronizacão nas condições físicas dos testes organolépticos, tais como área de teste, preparo das amostras e apresentação das amostras, sendo essencial para a confiança dos resultados. Os tipos e os números de amostras também influenciarão muito em todos os componentes do experimento, além de que a utilização de provadores adequados para os testes afetivos, discriminativos e descritivos evita problemas quanto à obtencão de resultados seguros. A seleção de elementos para a quantidade apropriada da equipe de provadores torna os resultados mais válidos e as respostas destes podem ser classificados como: "comentários", "escolhidas" e na forma de "escala".

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Material

Como matéria-prima foram utilizadas caudas de lagosta machos e fêmeas da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille). O comprimento das caudas variou de 99,0 a 138,3mm para os machos e de 139,0 a 159,0mm para as fêmeas.

Todas as amostras foram provenientes de barcos de pesca artesanal, autônomos, não pertencentes a indústrias.

Na pesquisa foram utilizadas lagostas vivas advindas de pescarias rápidas próximas à costa.

3.1.1 - Preparo das amostras para as análises: sensorial, bacteriológica e química.

Os animais foram trazidos vivos para o Laboratório, decapitados, eviscerados, lavados e as caudas estocadas no gelo, em caixa isotérmica.

O gelo triturado, utilizado na conservação das caudas, era da mesma procedência daquele utilizado nos barcos das indústrias locais e de 48 em 48h era adicionado mais gelo para que todas as lagostas ficassem submersas. A temperatura no centro das caudas, medida no 3º dia de estocagem, atingiu a 0°C.

Em todas as análises foram retiradas da caixa isotérmica um número de caudas suficientes para compor duas

amostras, cada uma contendo duas lagostas, as quais eram imediatamente levadas à câmara asséptica para a análise organoléptica. Após esta análise, o material era homogeneizado em graal esterilizado sendo os homogenatos primeiramente usados para os testes bacteriológicos, e o restante destinado aos testes químicos.

Com exceção da pesquisa de *Salmonella*, todos os testes bacteriológicos foram feitos a partir de um extrato preparado pela mistura de 11 g do músculo com 99 ml de tampão fosfato 0,01 M estéril, pH 7,6, segundo SHARF (1972) e homogeneizado em liquidificador, previamente estéril, por dois minutos, correspondendo a uma diluição de 10^{-1} .

Para os testes químicos às amostras, previamente homogeneizadas, foram passadas em peneira com malha de 4mm de diâmetro.

3.2 - Métodos

3.2.1 - Análise organoléptica

A análise sensorial foi feita por 04 (quatro) painelistas treinados com antecedência. O modelo para o exame organoléptico foi basicamente aquele preconizado pelo "TORY RESEARCH STATION" para peixe, citado por NORT (1973), com adaptação para lagosta, como indicado na TABELA 1.

Durante a análise organoléptica os 04 (quatro) painelistas utilizaram fichas onde lançavam as notas segundo o estado de frescor de cada cauda e considerando os critérios citados na TABELA 1.

No final de cada análise as notas para textura, odor e cor eram somados e o total de pontos obtidos referido como a soma dos caracteres organolépticos (S.C.O.).

A relação entre o estado de frescor das caudas e a

TABELA 1 - Análise Sensorial - Parâmetros para avaliação Sensorial segundo o modelo do "TORY RESEARCH STATION", apud NORT (1973) e adaptada para la gosta.

TEXTURA (5 pontos)	PONTOS
--------------------	--------

- carne firmemente aderida à carapaça; elástica ao toque digital..... 5
- diminuição da aderência da carne à carapaça - início de amolecimento da carne; diminuição da elasticidade da carne ao toque digital..... 3
- carne mole, flácida; retém as impressões dos dedos; facilmente desligável da carapaça; superfície da carne como que ensaboadas..... 2
- carne muito mole e flácida; retém fortemente as impressões dos dedos..... 1

ODOR (10 pontos)

- excelente, próprio da lagosta..... 10
- cheiro regular; perda de odor próprio da lagosta recém-morto..... 8
- inferior ao anterior; porém sem indícios de cheiros estranhos..... 6
- leve cheiro estranho; início de cheiro desagradável..... 4
- forte cheiro de substâncias de decomposição; cheiro desagradável..... 2
- cheiro pútrido..... 0

COR (5 pontos)

- carne límpida, translúcida e brilhosa..... 5
- perda do brilho habitual, coloração normal..... 3
- coloração branca leitosa..... 2
- cor tornando-se escura..... 1

S.C.O. foi a seguinte: Excelente (20 a 18); Bom (17 a 14); Regular (13 a 10); Início de decomposição (9 a 6) e Decomposição (< 6).

3.2.2 - Testes bacteriológicos

Os testes bacteriológicos realizados neste trabalho constaram de contagem padrão em placa de microrganismo aeróbio estrito e facultativo viável, em temperaturas de 5°, 25° e 35°C; número mais provável de coliformes totais e fecais, contagem de *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella*.

3.2.2.1 - Contagem padrão em placa de microrganismos aeróbio estrito e facultativo viável

Da diluição inicial de 10^{-1} foram preparadas as de mais diluições, usando-se como diluente tampão fosfato. Foram usadas para as análises somente três diluições escolhidas de acordo com o tempo de estocagem da amostra em gelo.

De cada uma destas três diluições era retirado 1ml, colocado em placa de Petri e coberto com 15 ml de "agar plate count", previamente fundido e mantido a 45°C até antes do uso.

As placas, em duplicata para cada diluição considerada, foram homogeneizadas mediante movimento sútil, deixadas em repouso para solidificação do meio e, finalmente, incubadas em estufa às temperaturas de 5°C, 25°C e 35°C, separadamente.

Na temperatura de 5°C, as placas permaneceram na estufa por 7 dias, enquanto que para as outras temperaturas as placas permaneceram 48h.

A contagem de colônia foi feita nas placas, que são incubadas, continham entre 30 a 300 colônias e os resultados expressos em bactérias por grama da amostra.

3.2.2.2 - Número mais provável (NMP) de coliformes totais

Para a determinação do NMP foram usadas, no mínimo, três diluições começando com a diluição de 10^{-1} . De cada diluição foi retirada uma alíquota de 1 ml e semeada em 3 tubos de ensaio, contendo caldo lactosado simples e tubos de Durham invertidos.

Os tubos foram incubados a 35°C por 48h, sendo desprezados aqueles que não apresentaram produção de gás no final da incubação. Dos tubos com produção de gás, considerados positivos foram retirados inóculos através do uso de alça de platina e semeados em tubos, contendo caldo bile verde brilhante simples. Os tubos foram novamente incubados em estufa a 35°C por 48h e, após a incubação, analisados quanto a produção de gás.

O NMP foi calculado mediante o número de tubos positivos observado nas diversas diluições e transformado em NMP por 100g da amostra através do uso da TABELA DE HOSKINS.

3.2.2.3 - Número mais provável (NMP) de coliformes fecais

A partir dos tubos positivos, observados no caldo lactosado, foram transferidos inóculos, com alça de platina para tubos contendo caldo triptona e tubos de fermentação (Durham). Os tubos foram incubados a $44,5^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ por 48h e no final da incubação foi pesquisada a presença de indol através do reagente de Kovacs nos tubos que apresentavam produção de gás.

O cálculo para o NMP de coliformes fecais foi idêntico àquele utilizado para coliformes totais e os resultados expressos também em NMP por 100g da amostra.

3.2.2.4 - Contagem e prova de coagulase para *Staphylococcus aureus*

Foram semeadas sobre a superfície do agar Baird-Parker, em duplicata 0,1 ml de cada diluição selecionada, com o auxílio de alça de Drigalsk. O inóculo foi espalhado por toda a superfície do agar e as placas foram incubadas a 37°C por 48h. As colônias escolhidas para contagem eram pretas brilhantes com um halo de clarificação ao redor. De cada placa foram selecionadas 3 colônias típicas e delas foram feitas lâminas, corando-se pelo método de Gram para verificação de cocos Gram positivos.

As colônias suspeitas de *Staphylococcus aureus* foram isoladas em caldo-cérebro-coração e incubadas por 24h a 37°C. Dessa cultura foram transferidos 0,3 ml para tubos contendo 0,5 ml de plasma de coelho citratado a incubados a 37°C por 24h. No final deste tempo era examinada a presença de coágulo, que indicava positividade. Se a prova era negativa a incubação continuava por 24h.

3.2.2.5 - Pesquisa de *Salmonella*

Foram pesadas 25 g da amostra triturada e transferidas para erlenmeyer de 500 ml, contendo 225 ml de caldo lactosado. Esta mistura foi incubada a 35°C ± 1°C por 24h. Após este período, foram transferidas duas porções de 10 ml do caldo lactosado de cada amostra para frascos contendo 90 ml de caldo selenito cistina e caldo tetratrationato, os quais foram incubados a 43°C por 24h.

A partir dos caldos de enriquecimento seletivo foram semeadas placas de agar verde brilhante e agar SS com alça de platina e incubados a 35°C por 24h. As colônias suspeitas foram submetidas aos testes bioquímicos adequados para identificação de *Salmonella*, os quais constavam de inocu-

lação de 3 a 5 colônias típicas em tubos de TSI e LIA. A partir dos cultivos que se comportavam como *Salmonella* inoculava-se em caldo uréia; caldo malonato fenilalanina e caldo lisina descarboxilase. Por último se faria o teste sorológico, com o antisoro *Salmonella* "O" e antisoro *Salmonella* polivalente "H" (flagelar). Os cultivos que se comportassem como *Salmonella* nas reações bioquímicas e com resultados positivos nos testes de aglutinação com antisoros *Salmonella* polivalente "O" e "H", deveriam ser remetidos a laboratórios especializados para sua tipificação final.

Todas as análises microbiológicas seguiram os métodos recomendados pelo LABORATÓRIO NACIONAL DE REFERÊNCIA ANIMAL (LANARA, 1981).

3.2.3 - Análises químicas

3.2.3.1 - Nitrogênio de base volátil total (N-BVT)

A determinação do N-BVT foi realizada segundo o método adaptado de COX & PEARSON (1962).

Em um balão de destilação de 1000 ml, fundo chato, foram colocados 10 g da amostra, 300 ml de água destilada, algumas pedras de ebulação, antifoan e 2 g de óxido de magnésio. Conectou-se o balão ao sistema de destilação, sendo o destilado recebido em 25 ml de ácido bórico a 2%, adicionadas algumas gotas do indicador vermelho de metila 0,05% e verde de bromocresol 0,07% em etanol. O balão de destilação foi então aquecido de maneira que se obtivesse ebulação em 10 min, permanecendo nessas condições por mais 25 min. O destilado foi titulado com ácido sulfúrico 0,05 N até a coloração voltar àquela original do ácido bórico e indicador. O cálculo foi feito segundo a equação que se segue:

$$\text{BVT(mg - N/100g da amostra)} = \frac{(V_a - V_b) \times N \times 100 \times 14}{A}$$

onde:

V_a = volume da amostra (ml)

V_b = volume do branco (ml)

N = normalidade do H_2SO_4

A = peso da amostra (g)

3.2.3.2 - Nitrogênio da trimetilamina (N-TMA)

A determinação do N-TMA foi baseada no método de DYER modificado pelo ANALYTICAL METHODS COMMITTEE (1979).

Do músculo previamente macerado e pesado em peneira, foram pesados 20g e homogeneizados com 40 ml de ácido tricloroacético a 5°C em liquidificador por 1 min. Após repouso de 10 min, o homogenato foi filtrado em papel de filtro S & S Rundfilter.

Do filtrado foram tomados 4,0 ml e adicionados em funil de separação, seguindo-se pela ordem, 1,0 ml de formaldeído a 20% neutralizado com carbonato de magnésio, 10,0 ml de tolueno previamente dessecado em sulfato de sódio anidro e 3,0 ml de hidróxido de potássio a 45%.

Os funis de separação foram agitados em agitador automático marca Burrell, durante 15 min e, em seguida, colocados em repouso para separação de duas fases; uma aquosa na parte inferior e outra de tolueno na parte superior, a qual continha a trimetilamina extraída. A fase aquosa foi desprezada e o tolueno foi recebido em tubos de ensaio contendo sulfato de sódio anidro, o qual foi, em seguida, agitado. Foram, então, retirados 5,0 ml do tolueno, o qual continha a trimetilamina e adicionados a tubo de ensaio conten

do 5,0 ml de ácido pícrico a 0,02%, sendo a cor desenvolvida lida a 410nm em espectrofotômetro Varian Techtron modelo 635 K.

O branco da reação foi feito paralelamente aos problemas e diferiu destes somente na substituição da amostra por igual volume de água destilada.

O cálculo para o N-TMA foi feito mediante a expressão abaixo e os resultados expressos como mg N-TMA/100 g da amostra.

$$\text{N-TMA (mg - N/100g da amostra)} = \frac{A}{C} \times \frac{V_c}{V_a} \times \frac{X \times (P \times \% M/100)}{P}$$

onde:

A = absorbância da amostra

C = absorbância da curva padrão

Vc = volume usado na curva padrão (ml)

Va = volume da amostra (ml)

X = volume de ácido tricloroacético (TCA) adicionado (ml)

P = peso da amostra (g)

%M = conteúdo de água existente na carne da amostra. Foi considerado para o cálculo um teor de 80% de água no músculo

A curva padrão (FIGURA 1) foi feita, usando-se uma solução de cloridrato de trimetilamina na concentração de 10 μ g N-TMA/ml e o procedimento como descrito anteriormente.

3.2.3.3 - Nitrogênio do óxido de trimetilamina (N-TMAO)

O nitrogênio do óxido de trimetilamina (N-TMAO) foi

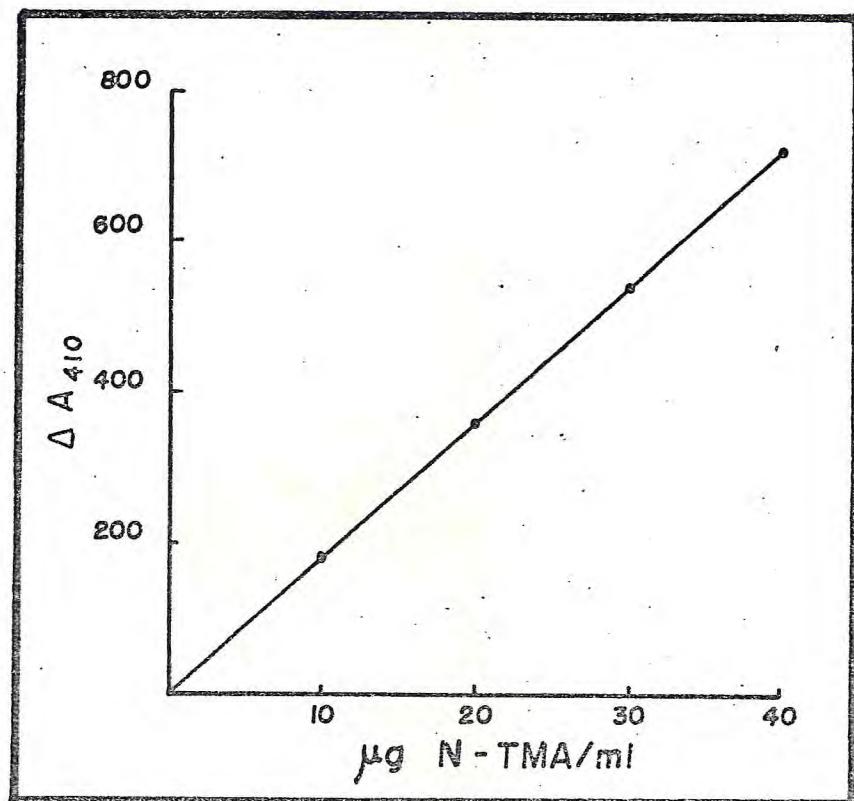


FIGURA 1 - Curva padrão de nitrogênio da trimetilamina (N-TMA).

determinado segundo BYSTEDT et al. (1959). A 0,5 ml do filtrado, obtido por homogeneização em TCA a 5% na proporção 1:2 (p/v), foram adicionados 20 ml do TCA a 5% e 1ml do tricloreto de titânio ($TiCl_3$) a 10%. A mistura foi levada ao banho-maria à 80°C por 1 min, adicionando-se, em seguida 0,5 ml de solução saturada de nitrato de potássio (KNO_3) para reagir com o excesso de $TiCl_3$. A solução descolorida foi diluída para 50 ml em balão volumétrico com TCA a 5% e o TMA foi estimado colorimetricamente como picrato (ANALYTICAL METHODS COMMITTE, 1979). A curva padrão (FIGURA 2) foi feita usando o óxido de trimetilamina (Tokyo Kasei). O teor de N-TMAO foi calculado por diferença entre o valor de TMA obtido na amostra submetida a redução com $TiCl_3$ e o valor de TMA sem a redução. Os resultados foram expressos em mg N-TMAO/100g da amostra.

3.2.3.4 - Hipoxantina

A hipoxantina foi determinada segundo o método descrito no ANALYTICAL METHODS COMMITTE (1979). O extrato foi obtido pela homogeneização de 5g da carne macerada em 50ml de ácido perclórico a 0,6 N e filtrado em papel de filtro quantitativo Framex, faixa branca, de 12,5 cm de diâmetro. Do filtrado foram tomados 5 ml, adicionados 5 ml do tampão fosfato-hidróxido de potássio e centrifugados a 5000rpm por 15 min a 4°C em centrífuga modelo HT da IEC. Do sobrenadante foi retirado 1 ml e adicionado 1,5 ml de água destilada 2 ml do tampão fosfato 0,25 M pH 7,6 e 0,5 ml de enzima xantina-oxidase E.C. 1.2.3.2, x - 4875 (Sigma), diluída de 40 vezes. A mistura foi incubada a 37°C por 30 min e lida, depois de fria, em espectrofotômetro a 290nm. A curva padrão (FIGURA 3) foi feita, usando-se a hipoxantina H-9377 (Sigma). Os resultados foram expressos em micromol por grama ($\mu\text{mol/g}$) e as fórmulas utilizadas para seu cálculo foram as seguintes:

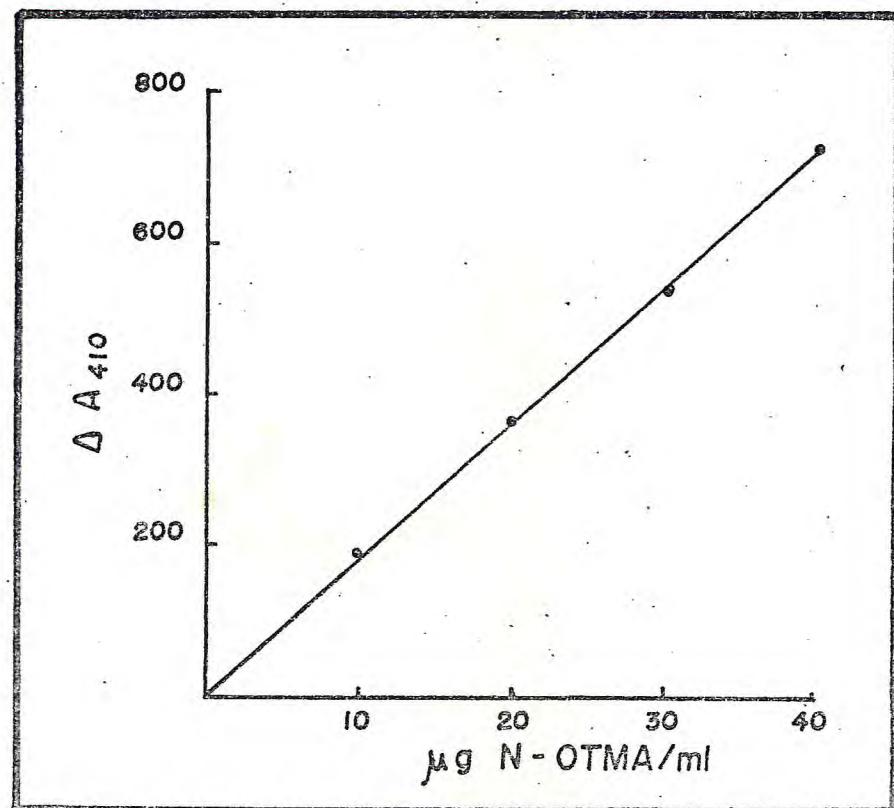


FIGURA 2 - Curva padrão de nitrogênio do óxido de trimetilamina (N-TMAO).

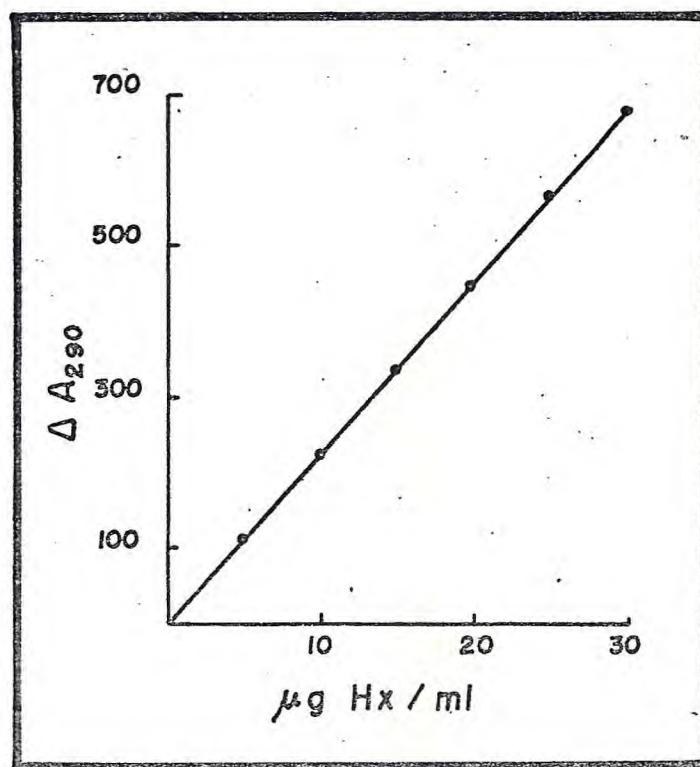


FIGURA 3 - Curva padrão de hipoxantina (Hx).

$$\begin{aligned}\text{Aumento em absorbância} &= B - D - [(C-D) + (A-D)] \\ &= B + D - C - A\end{aligned}$$

onde A, B, C e D são as absorbâncias do conteúdo dos tubos 1, 2, 3 e 4, respectivamente.

Tubo 1: 1 ml do extrato + 2 ml de tampão fosfato 0,25M pH 7,6 + 2 ml de água destilada.

Tubo 2: 1 ml do extrato + 2 ml de tampão fosfato 0,25M pH 7,6 + 1,5 ml de água destilada + 0,5 ml da enzima diluída.

Tubo 3: 2 ml do tampão fosfato 0,25M pH 7,6 + 2,5ml de água destilada + 0,5 ml de enzima diluída.

Tubo 4: 2 ml de tampão fosfato 0,25M pH 7,6 + 3ml de água destilada.

$\mu\text{mol H/g}$ da amostra = concentração de Hx no extrato ($\mu\text{mol/ml}$) $\times 0,1587$.

3.2.3.5 - pH

O pH foi medido na carne, previamente macerada em graal e passada em peneira de 4mm de malha, usando-se um potenciomômetro Micronal B278.

3.2.4 - Análises estatísticas

Com base nos dados originais dos experimentos, calculou-se inicialmente a média aritmética e o desviopadrão, considerando-se sexo e experimento, separadamente.

Uma vez que as diversas variáveis estudadas tinham

o objetivo de detectar modificações na qualidade das lagostas estocadas no gelo, relacionou-se todas as variáveis com o tempo de estocagem e com a soma dos caracteres organolépticos.

Optou-se pelo modelo linear para as relações pH/S.C.O, Hx/S.C.O, cor/S.C.O, odor/S.C.O, textura/S.C.O, odor/dias no gelo, textura/dias no gelo, cor/dias no gelo, S.C.O/dias no gelo e contagem padrão em placas de bactérias a 5°C/S.C.O e 25°C/S.C.O, tendo os valores dessa contagem sido logaritmizados.

Para as relações BVT/S.C.O e TMA/S.C.O, optou-se pelo modelo $Y = kX^b$. As demais relações foram grafadas segundo a tendência dos valores observados.

A dependência existente entre essas variáveis foi investigada através da matriz dos coeficientes de correlação de Pearson.

A influência de fatores como tempo, sexo e experimento foi estudada através da análise de variância adotando-se um ensaio fatorial em delineamento inteiramente casualizado cujo modelo é o seguinte:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\delta)_{ik} + (\beta\delta)_{jk} + (\alpha\beta\delta)_{ijk} + \xi_{ijkl}$$

onde

μ = média geral;

α_i = efeito do i-ésimo experimento;

β_j = efeito do j-ésimo dia de gelo;

δ_k = efeito do k-ésimo sexo;

$(\alpha\beta)_{ij}$ = efeito da interação i-ésimo experimento com o j-ésimo dia de gelo;

$(\alpha\partial)_{ik}$ = efeito da interação i-ésimo experimento com o k-ésimo sexo;

$(\beta\partial)_{jk}$ = efeito da interação j-ésimo de gelo com o k-ésimo sexo;

$(\alpha\beta\partial)$ = efeito da interação i-ésimo experimento com o j-ésimo dia de gelo e o k-ésimo sexo;

ξ_{ijkl} = desvio casual das observações.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria das variáveis analisadas ao longo do tempo de estocagem das lagostas, quando submetidas a análise de variância, mostrou-se diferente quanto aos experimentos e sexo. As diferenças entre experimentos, embora enfatizadas nestas análises, são na verdade de pouca relevância, quando analisamos os dados nos diversos gráficos. Essas diferenças podem ser explicadas tendo em vista que os experimentos foram realizados em épocas diferentes, podendo ainda fatores tais como a fisiologia, alimentação e região de captura influírem no bioquímismo dos indivíduos. Quanto às diferenças evidenciadas em relação ao sexo, embora também sejam diminutas, é facilmente compreensível, vez que o comportamento fisiológico das lagostas machos não é igual ao das lagostas fêmeas.

Os valores de S.C.O estão contidos nas TABELAS 2 e 3, sendo aquelas para cor, odor e textura representados pelas FIGURAS 4, 5, 6, 7 e 8. A cor apresentou diferença estatística significativa em relação ao sexo (TABELA 4), sendo as fêmeas mais resistentes às modificações ao longo da estocagem que os machos (FIGURA 4). O modelo linear foi o que se prestou melhor para representar a tendência dos vários valores ao longo do experimento (TABELA 5), observando-se nitidamente que seu decréscimo ocorreu praticamente de maneira regular, em ambos os sexos (FIGURA 4).

O odor variou com o sexo e o experimento (TABELA 4), embora as diferenças verificadas sejam muito pequenas. As variações decrescentes ocorridas ao longo da estocagem, relativas aos experimentos e sexo, tenderam para uma reta (FIGU

TABELA 2 - Dados relativos às análises organolépticas e químicas de fêmeas de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.

Dias no Gelo	Soma dos carac- teres organo- lépticos	PRIMEIRO EXPERIMENTO					SEGUNDO EXPERIMENTO					
		pH	N-BVT (mg/100g)	N-TMA (mg/100g)	N-TMAO (mg/100g)	Hx (mg/100g)	Soma dos carac- teres organo- lépticos.	pH	N-BVT (mg/100g)	N-TMA (mg/100g)	N-TMAO (mg/100g)	Hx (mg/100g)
02	20,0	6,5	22,8	1,2	98,0	0,36	20,0	6,6	16,8	1,7	93,6	0,26
02	20,0	6,5	28,0	1,9	45,8	0,79	20,0	6,7	20,5	1,4	105,6	0,26
04	19,8	6,3	23,2	2,1	83,5	0,72	17,1	6,5	24,6	2,3	83,2	0,68
04	19,9	6,4	22,2	2,0	79,7	0,43	18,5	6,5	25,4	1,9	68,1	0,85
06	18,9	6,6	23,4	1,8	53,6	0,94	14,5	6,8	21,6	1,5	60,8	1,28
06	19,1	6,5	23,1	1,4	88,0	0,65	16,3	6,2	17,8	1,3	169,8	1,79
09	17,2	6,6	22,2	1,4	101,6	0,94	15,3	6,9	20,2	1,5	60,8	1,54
09	16,4	6,8	24,4	2,0	66,0	1,01	16,3	6,9	22,1	1,5	60,8	1,28
11	17,0	6,5	23,3	1,0	47,7	1,08	11,5	7,5	24,0	1,8	130,4	0,77
11	15,6	6,8	25,9	1,1	64,0	1,15	12,0	7,3	24,3	1,7	107,2	1,79
13	12,3	6,9	26,3	1,5	66,6	1,01	11,8	7,4	26,4	1,9	54,5	1,54
13	11,4	7,3	27,8	1,5	66,6	1,37	10,3	7,4	23,5	1,4	39,4	1,54
15	10,2	7,6	27,8	1,9	45,7	1,30	10,2	7,6	27,8	1,9	45,7	1,30
15	9,9	7,5	32,3	2,0	56,3	1,30	9,9	7,5	32,3	2,0	56,3	1,30
16	8,0	7,7	39,9	2,5	34,4	1,52	7,9	8,0	37,2	2,9	76,8	2,05
16	6,3	7,4	39,7	2,0	42,7	1,73	7,0	7,9	34,0	2,7	86,8	2,05
17	5,0	7,6	40,8	2,7	44,9	1,88	4,1	7,7	39,4	3,0	39,8	2,56
17	7,2	7,5	36,0	2,5	44,2	1,52	4,3	7,7	41,2	2,6	42,1	2,56

TABELA 3 - Dados relativos às análises organolépticas e químicas de machos de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.

Dias no Gelo	Soma dos carac- teres organo- lépticos	PRIMEIRO EXPERIMENTO						SEGUNDO EXPERIMENTO					
		pH	N-BVT (mg/100g)	N-TMA (mg/100g)	N-TMAO (mg/100g)	Hx (mg/100g)	Soma dos carac- teres organo- lépticos	pH	N-BVT (mg/100g)	N-TMA (mg/100g)	N-TMAO (mg/100g)	Hx (mg/100g)	
02	19,8	6,4	24,6	1,9	103,1	1,08	20,0	6,7	28,9	1,1	72,8	0,82	
02	19,8	6,4	25,1	1,7	99,5	1,01	20,0	6,3	28,8	1,6	153,9	1,02	
04	17,8	6,6	23,0	1,3	76,5	1,23	18,3	6,3	23,2	1,6	122,8	0,92	
04	18,7	6,8	21,1	1,9	56,4	1,23	18,8	6,4	20,9	1,3	154,3	1,02	
06	17,3	7,0	21,7	1,4	72,5	1,44	14,8	6,5	22,3	1,2	193,3	0,99	
06	14,7	6,8	24,2	1,5	64,6	1,37	15,92	6,4	19,6	1,4	107,5	0,82	
09	14,5	7,3	25,3	1,5	79,2	1,37	15,3	6,6	23,2	1,1	92,3	1,33	
09	14,3	7,2	26,3	1,6	68,4	1,51	15,3	6,7	23,2	1,1	92,3	1,13	
11	12,8	7,2	27,0	1,5	82,1	1,51	11,5	6,9	26,2	1,3	146,5	1,41	
11	14,0	7,6	26,6	1,3	64,8	1,37	11,2	7,4	24,7	1,7	122,8	1,23	
13	8,6	7,7	31,5	2,0	55,4	1,80	9,3	7,5	25,9	-	73,5	1,79	
13	7,0	7,3	31,1	1,9	58,4	1,73	9,8	7,5	41,6	2,3	44,4	1,52	
15	10,5	7,4	33,1	2,2	55,2	2,02	10,5	7,4	33,1	2,2	55,2	2,02	
15	11,3	7,2	33,7	2,0	67,0	1,80	11,3	7,2	33,7	2,0	67,0	1,80	
16	8,0	7,0	38,2	2,5	69,4	2,02	2,5	7,7	46,2	5,5	45,1	2,82	
16	6,6	7,0	46,7	3,8	76,9	2,02	2,4	8,0	45,3	5,5	47,0	3,07	
17	6,0	7,8	41,5	5,2	66,8	2,09	2,6	6,8	49,2	7,5	78,1	3,59	
17	3,2	8,1	46,5	4,8	63,2	1,88	2,4	7,6	48,2	9,8	48,5	3,33	

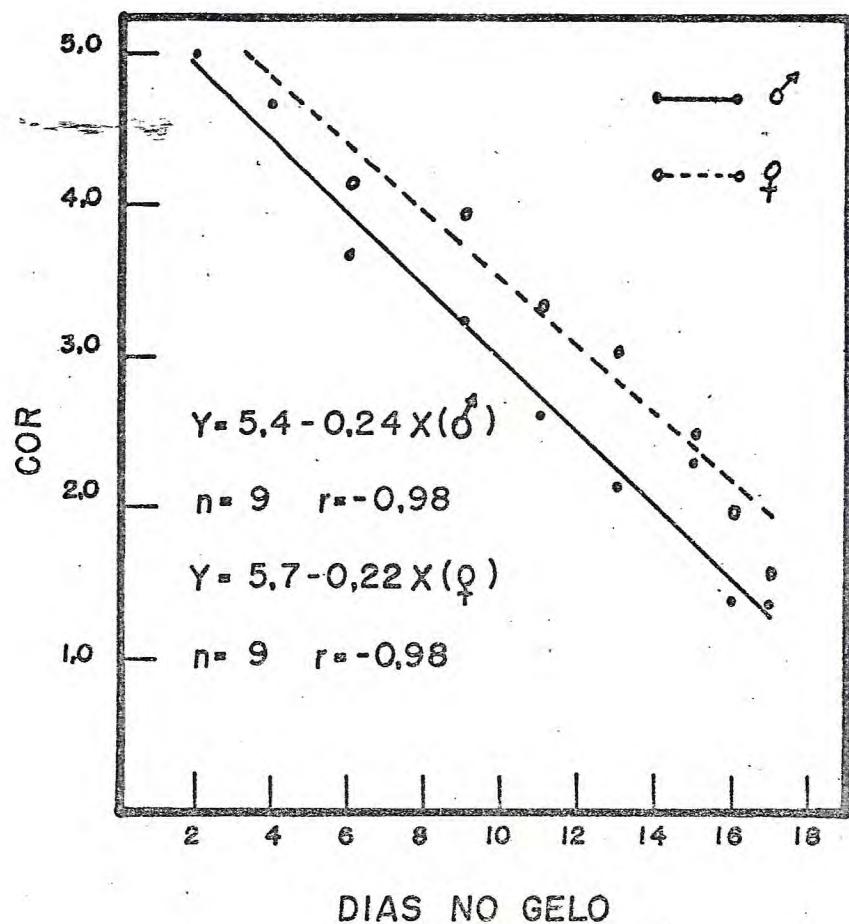


FIGURA 4 - Média dos valores de cor, relativa a machos e fêmeas de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

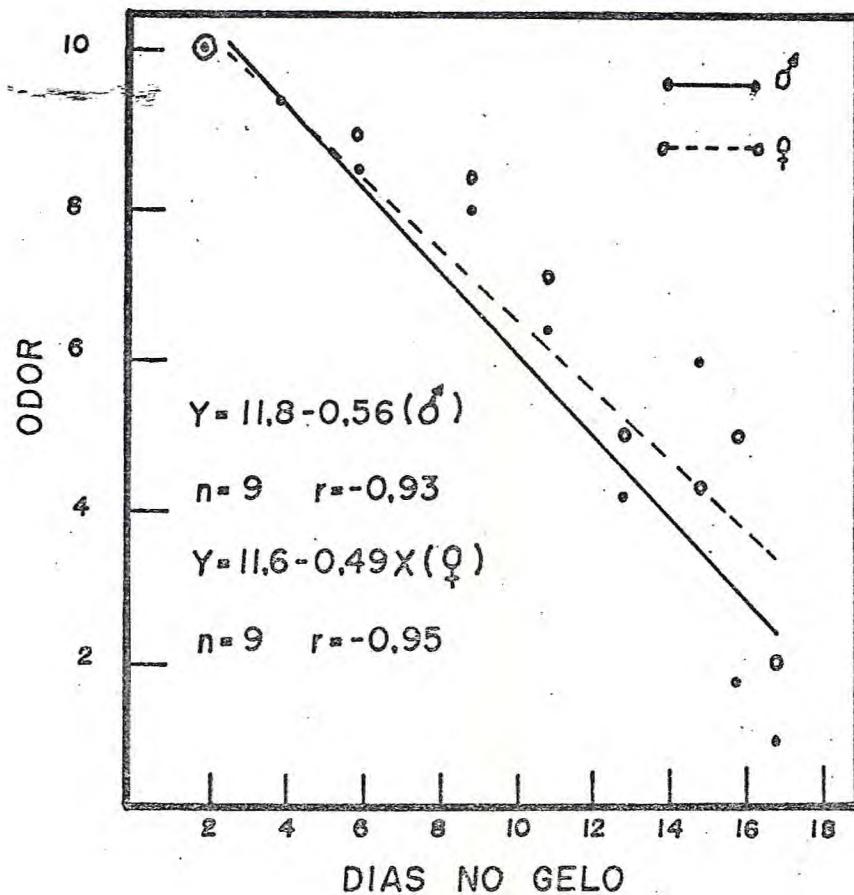


FIGURA 5 - Média dos valores do odor, relativa a machos e fêmeas de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

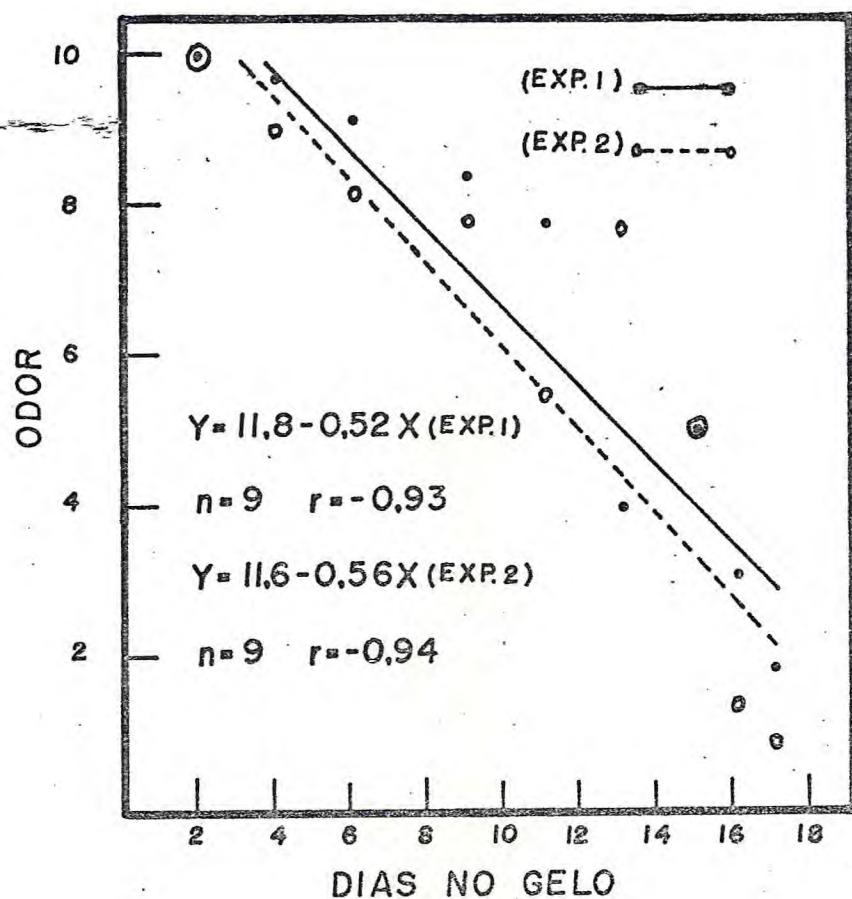


FIGURA 6 - Média dos valores do odor, relativa aos experimentos com lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

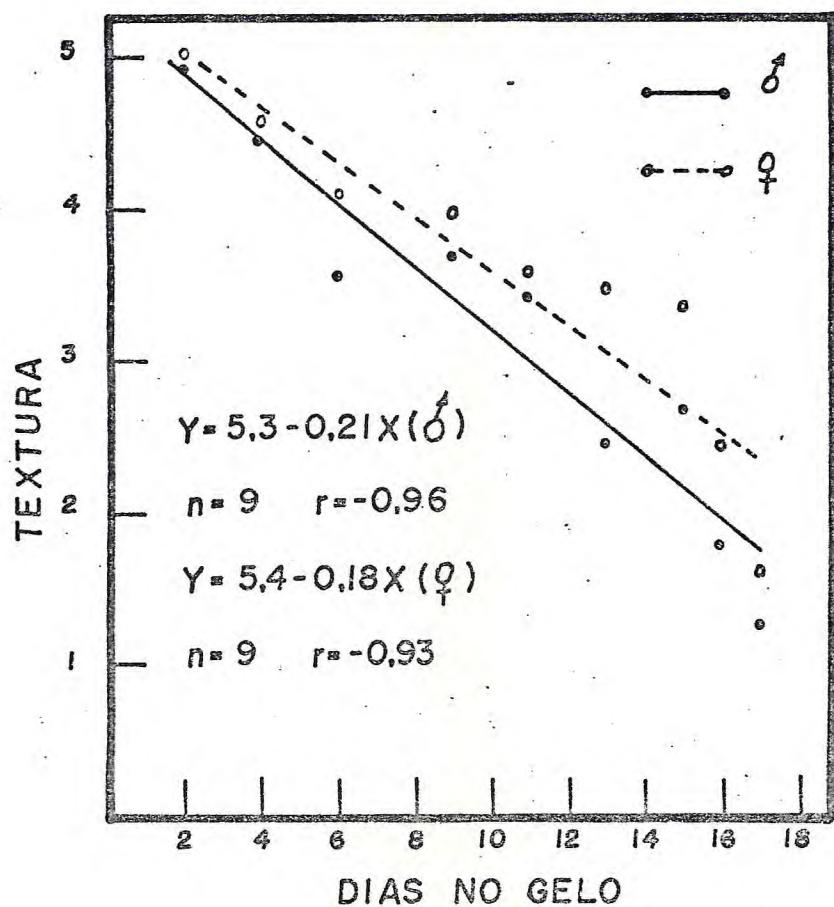


FIGURA 7 - Média dos valores de textura, relativa a machos e fêmeas de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

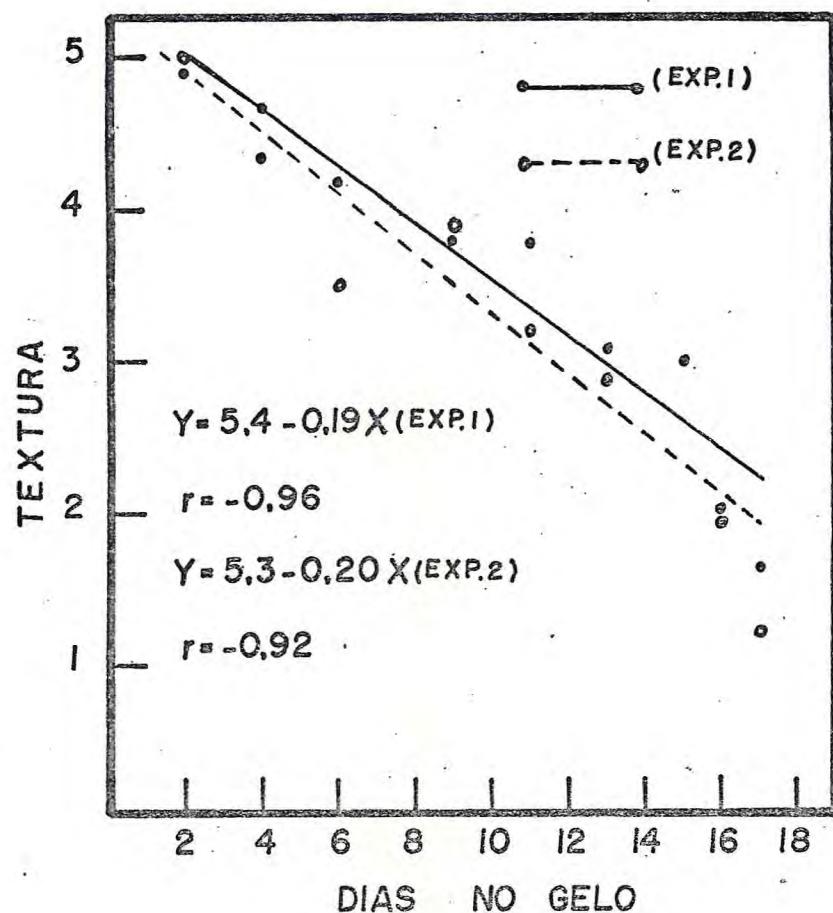


FIGURA 8 - Média dos valores de textura, relativa aos experimentos com lagostas *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

TABELA 4 - Análise de variância para as diferentes determinações organolépticas, químicas e bacteriológicas de lagostas machos e fêmeas da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.

Fonte de Variação	pH				BVT			
	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F
Erro Experimental	1,30000	36	0,03611	-	267,90775	36	7,44188	-
Constante	2595,52000	1	3595,52000	99568,24337	61212,08917	1	61212,08917	8225,35075
Experimento	0,02000	1	0,02000	0,55385	2,40901	1	2,40901	0,32371
Tempo	13,58250	8	1,69781	47,01634*	3969,74799	8	496,21850	66,67917*
Sexo	0,00500	1	0,00500	0,13846	209,47633	1	209,47633	28,14830
Exper. X Tempo	1,36750	8	0,17094	4,73365	54,83985	8	6,85498	0,92114
Exper. X Sexo	0,68056	1	0,68056	18,84615	30,43400	1	30,43300	4,08942
Tempo X Sexo	0,72750	8	0,09094	2,51827	147,69818	8	18,46227	2,48086
Exper. X Tempo X Sexo	0,89694	8	0,11212	3,10481	73,51896	8	9,18987	1,23489

	TMA				TMAO			
	Erro Experimental	36	0,14339	-	18547,25882	36	515,20163	-
Constante	345,31920	1	345,31920	2408,22359	445423,26508	1	445423,26508	864,56105
Experimento	2,16320	1	2,16320	15,08595*	6900,77516	1	6900,77516	13,39432*

TABELA 4 - (Continuação)

Fonte de Variação	TMA				TMAO			
	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F
Tempo	84,90885	8	10,61361	74,01829*	23583,33007	8	2947,91626	5,72187*
Sexo	7,20734	1	7,20734	50,26330*	3619,58679	1	3619,58679	7,02557*
Exper. X Tempo	10,00490	8	1,25061	8,72165	12126,39658	8	1515,79957	2,94215
Exper. X Sexo	0,89334	1	0,89334	6,23006	508,69869	1	508,69869	0,98738
Tempo X Sexo	34,59086	8	4,32386	30,15418	1286,96467	8	160,87058	0,31225
Exper. X Tempo X Sexo	7,20881	8	0,90110	6,28420	6795,92363	8	849,49045	1,64885
Hx								
S. C. O.								
Erro Experimental	1,30615	36	0,03628	-	22,89775	36	0,63605	-
Constante	150,82950	1	150,82950	4157,15041	11701,69517	1	11701,69517	18397,48585
Experimento	0,85587	1	0,85587	23,58937*	22,54561	1	22,54561	35,44637*
Tempo	20,12239	8	2,51530	69,32645*	1883,62032	8	235,45254	370,18011*
Sexo	2,72611	1	2,72611	75,13689	27,26911	1	27,26911	42,87269
Exper. X Tempo	2,96467	8	0,37058	10,21400	28,30313	8	3,53789	5,56230
Exper. X Sexo	0,17503	1	0,17503	4,82429	2,71833	1	2,71833	4,27378
Tempo X Sexo	0,90598	8	0,11325	3,12130	21,17478	8	2,64685	4,16139
Exper. X Tempo X Sexo	1,38160	8	0,17270	4,75995	25,99830	8	3,24979	5,10934

TABELA 4 - (Continuação)

Fonte de Variação	COR				ODOR			
	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F
Erro Experimental	3,63640	36	0,10101	-	6,27065	36	0,17418	-
Constante	729,49267	1	729,49267	7221,90527	2781,21250	1	2781,21250	15967,02914
Experimento	0,39309	1	0,39309	3,89154*	9,19490	1	9,19490	52,78822*
Tempo	99,40190	8	12,42524	123,00863*	616,40391	8	77,05049	442,34930*
Sexo	4,04227	1	4,04227	40,01810	1,97011	1	1,97011	11,31048*
Exper. X Tempo	1,55594	8	0,19449	1,92545	15,23071	8	1,90384	10,93000
Exper. X Sexo	0,77709	1	0,77709	7,69310	0,02240	1	0,02240	0,12861
Tempo X Sexo	1,52515	8	0,19064	1,88736	12,16180	8	1,52023	8,72766
Exper.XTempoXSexo	2,02989	8	0,25374	2,51196	7,79371	8	0,97421	5,59299.
TEXTURA								
Erro Experimental	3,59730	36	0,09993	-	9,81350	36	0,27260	-
Constante	808,15401	1	808,15401	8087,60566	6014,48561	1	6014,48561	22063,63482
Experimento	1,18580	1	1,18580	11,86690*	1,75469	1	1,75469	6,43693*
Tempo	79,04532	8	9,88066	98,88081*	1244,45042	8	155,55630	570,64522*
Sexo	3,26827	1	3,26827	32,70725*	15,62405	1	15,62405	57,31551*
Exper. X Tempo	1,22803	8	0,15350	1,53618	10,78564	8	1,34820	4,94577

TABELA 4 - (Continuação)

Fonte de Variação	TEXTURA				CONTAGEM DE BACTÉRIA À 5°C			
	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F	Soma dos Quadrados	G.L.	Quadrado Médio	F
Exper. X Sexo	0,38136	1	0,38136	3,81642	0,209909	1	0,20909	0,76702
Tempo X Sexo	1,58910	8	0,19864	1,98787	60,09747	8	7,51218	27,55782
Exper.XTempoXSexo	1,32982	8	0,16623	1,66352	24,81034	8	3,10129	11,37683
CONTAGEM DE BACTÉRIA À 25°C				CONTAGEM DE BACTÉRIA À 35°C				
Erro Experimental	10,58520	36	0,29403	-	4,39345	36	0,12204	-
Constante	4959,41602	1	4959,41602	16866,84962	961,19201	1	961,19201	7876,02278
Experimento	2,62205	1	2,62205	8,91753	1,26670	1	1,26670	10,37937*
Tempo	1044,75495	8	130,59437	444,14818*	13,09930	8	1,63741	13,41698*
Sexo	46,85120	1	46,85120	159,33976	0,03873	1	0,03873	0,31739
Exper. X Tempo	18,96622	8	2,37078	8,06297	6,16256	8	0,77032	6,31202
Exper. X Sexo	0,04401	1	0,04401	0,14966	5,47253	1	5,47253	44,84204
Tempo X Sexo	84,57872	8	10,57234	35,95627	4,16928	8	0,52116	4,27039
Exper.XTempoXSexo	59,36422	8	7,42053	25,23703	3,27433	8	0,40929	3,35374

*Significativo ao nível de $\alpha = 0,05$.

TABELA 5 - Equações de regressão das diversas variáveis em função dos Dias no Gelo (D.G.) e valores de coeficiente de correlação de Pearson (r).

Variáveis	Equações de regressão	r	Número de pares (média dos experimentos) (n)
Odor/D.G.			
Exp. 1	Odor = 11,8 - 0,52 D.G.	-0,93	9
Exp. 2	Odor = 11,6 - 0,56 D.G.	-0,94	9
masc.	Odor = 11,8 - 0,56 D.G.	-0,93	9
fem.	Odor = 11,6 - 0,49 D.G.	-0,95	9
Textura/D.G.			
Exp. 1	Textura = 5,4 - 0,19 D.G.	-0,92	9
Exp. 2	Textura = 5,3 - 0,20 D.G.	-0,96	9
masc.	Textura = 5,3 - 0,21 D.G.	-0,93	9
fem.	Textura = 5,4 - 0,18 D.G.	-0,95	9
Cor/D.G.			
masc.	Cor = 5,4 - 0,24 D.G.	-0,98	9
fem.	Cor = 5,7 - 0,22 D.G.	-0,98	9
S.C.O./D.G.			
Exp. 1	S.C.O. = 23,0 - 0,94 D.G.	0,97	9
Exp. 2	S.C.O. = 22,5 - 0,99 D.G.	0,96	9
masc.	S.C.O. = 22,3 - 1,0 D.G.	-0,95	9
fem.	S.C.O. = 23,0 - 0,93 D.G.	-0,93	9

D.G. - Dias no Gelo

Exp. 1 - Experimento 1

Exp. 2 - Experimento 2

masc. - masculino

fem. - feminino

RA 5 e 6), sendo por isto escolhida a equação linear para representá-las (TABELA 5). Dos três critérios organolépticos, foi o odor que apresentou maiores variações e mais facilmente detectáveis, sendo por isto os valores inseridos no intervalo de 0 a 10. Em ambos os sexos e experimentos, os mesmos decresceram com uma certa uniformidade, e aqueles abaixo de 5 indicavam inaceitabilidade das lagostas para consumo, sendo as fêmeas levemente mais resistentes às modificações desagradáveis do odor que os machos.

A textura apresentou valores que variaram também de forma decrescente ao longo do experimento e mostraram diferenças estatísticas em relação ao sexo e experimento (TABELA 4). Como para a cor e odor, os valores para a textura ao longo da estocagem puderam ser melhor representados pelo modelo linear, consequentemente a relação textura/dias no gelo foi também traduzida por uma reta (FIGURAS 7 e 8). Os machos foram mais sensíveis às modificações da textura do que as fêmeas.

SANTOS (1978) observou que a cavalinha do Atlântico Norte (*Scomber scombrus*), após 4 dias de estocagem em gelo, começa a apresentar sinais de frouxidão no ventre e no 8º dia a textura já era bem fraca. Nesse mesmo dia, começava a exalar fortes e desagradáveis odores.

STROUD *et al.* (1982), trabalhando com lagosta *Nephrops norvegicus*, utilizaram o odor, textura e "flavour" para avaliar a sua qualidade ao longo de um período de 13 dias de estocagem em gelo. Observaram que a partir do 4º dia as lagostas apresentavam modificações significativas no odor, no "flavour" e na textura e no 8º dia o odor era levemente amoniacial.

Os dados relativos à soma dos caracteres organolépticos (S.C.O), em diferentes dias de estocagem, estão apresentados nas TABELAS 2 e 3. Observa-se que a S.C.O para ambos, sexo e experimentos, teve um comportamento inversamente proporcional em relação aos dias de gelo (FIGURAS 9 e 10). O melhor modelo utilizado para representar a dispersão dos

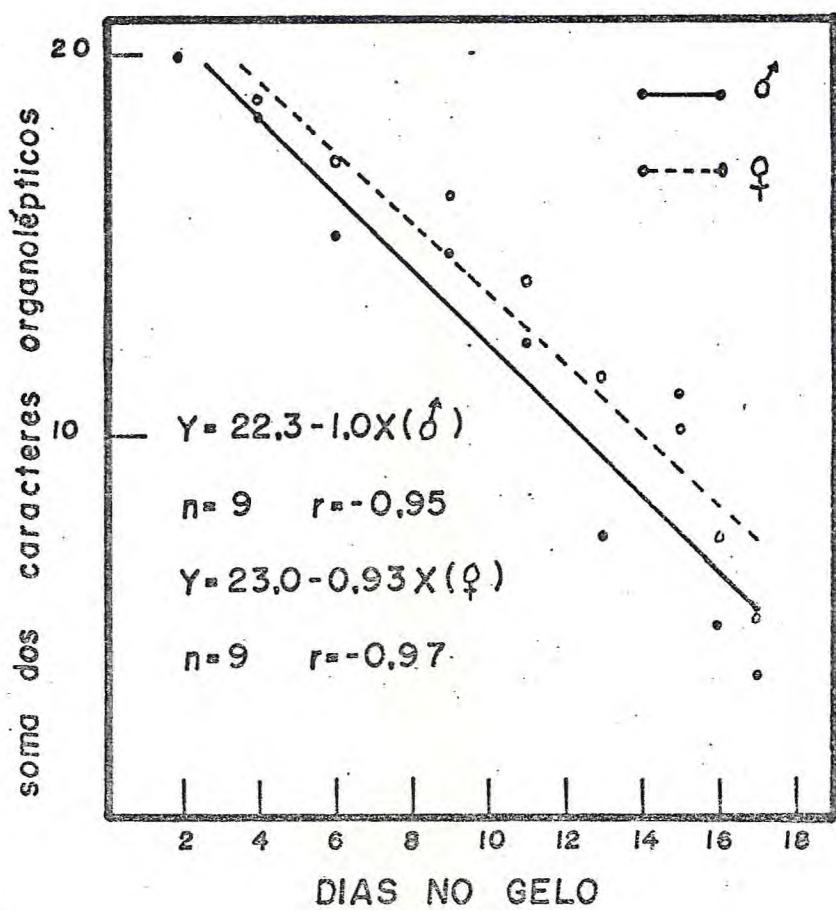


FIGURA 9 - Média dos valores da Soma de Caracteres Organolépticos (S.C.O.), relativa a machos e fêmeas de lagostas *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

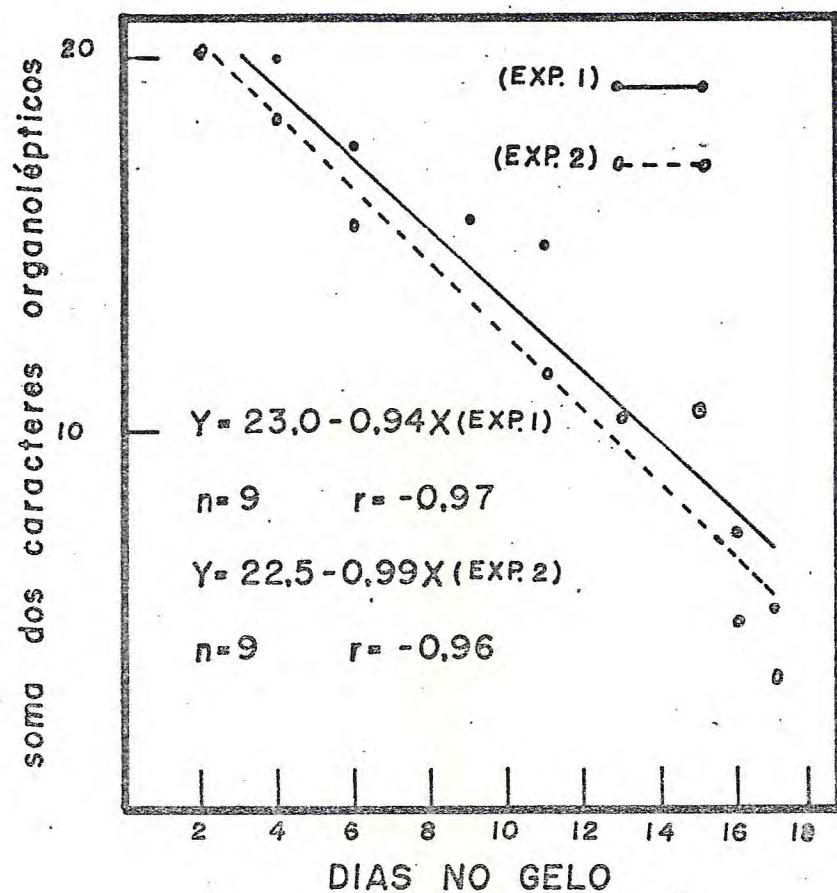


FIGURA 10 - Média dos valores da S.C.O., relativa aos experimentos de lagosta *Panulirus laevicauda* (La treille), em função dos dias de estocagem em gelo.

pontos foi o linear, podendo-se constatar nestas figuras que as retas estão muito próximas e que as equações de regressão (TABELA 5) são muito semelhantes, evidenciando pouca diferença de comportamento da S.C.O para sexo e experimentos. Segundo as retas de regressão (FIGURA 9), as fêmeas conservaram valores acima de 10 até o 14º dia de estocagem, enquanto que para os machos, valores inferiores a 10 são observados do 12º ao 13º dia.

Analizando os dados da TABELA 6, onde são mostradas as correspondências das notas relativas à S.C.O com os conceitos, pode-se inferir que as lagostas estavam aceitáveis para o consumo, com total segurança, quando se situavam no intervalo de 17-14 em relação à S.C.O e obtinham um conceito Bom. Para o intervalo de 13-10 as lagostas obtiveram um conceito Regular e, embora ainda aceitas para o consumo, já apresentavam alguns indivíduos (7,7%) em início de decomposição. Considerando, portanto, o valor 10 para a S.C.O como o limite de aceitabilidade das lagostas e observando a evolução da S.C.O em relação aos dias de estocagem (FIGURAS 9 e 10), pode-se assegurar que as lagostas se mantiveram em estado de consumo até o 13º dia de estocagem, para ambos os sexos.

IYENGAR *et al.* (1960), trabalhando com camarões estocados em gelo, concluíram que esse crustáceo se mantinha com qualidade comercial satisfatória até o 16º dia, embora a estocagem por menos de 12 dias parecesse ser a desejável.

OGAWA *et al.* (1970) constataram que lagostas da espécie *Panulirus argus*, quando conservadas em gelo, permaneciam em condições de consumo até o 11º dia de estocagem.

BOTTA *et al.* (1978), quando estocaram capelin (*Mallotus villosus*) em gelo, concluíram que esses peixes conseguiram manter suas características organolépticas de aceitabilidade de até o 16º dia. Observaram ainda que aqueles capturados perto da costa eram mais suscetíveis às modificações organolépticas do que aqueles capturados longe da costa.

Diferenças de valores sensoriais têm sido encontradas

TABELA 6 - Percentual das notas para soma dos caracteres organolépticos (S.C.O.) de amostras de lagostas *Panulirus laevicauda* (Latreille) relacionado com o intervalo conceitual de aceitação do produto.

S.C.O.	Conceito				
	E	B	R	ID	D
20 - 18	87%	13%	-	-	-
17 - 14	19,7%	71,5%	7,5%	1,3%	-
13 - 10	-	15,3%	77,0%	7,7%	-
9 - 6	-	-	8,8%	60,5%	30,7%
< 6	-	-	-	-	100,0%

E - Excelente; B - Bom; R - Regular; ID - Início de decomposição; D - Decomposição.

das em relação ao tamanho do indivíduo e quanto ao local de captura. KRAMER & NORDIN (1980), trabalhando com pescadas estocadas em gelo, encontraram diferenças na durabilidade das características organolépticas em relação aos tamanhos. Sempre os peixes menores obtiveram menores escores organolépticos do que os peixes grandes. No 10º dia, 29% dos peixes pequenos excederam o limite de aceitabilidade, enquanto que para os peixes grandes somente 4% foram considerados inaceitáveis neste dia.

Os valores relativos aos índices químicos em função do tempo de estocagem das lagostas em gelo, estão contidos nas TABELAS 2 e 3.

Os valores de pH variaram de 6,2, no 6º dia de experimento, a 8,1 no último dia, com as médias variando de 6,4, no início do experimento, a 8,0 no final do experimento (TABELAS 7 e 8), podendo-se observar uma tendência crescente em função do tempo de estocagem, sendo mais pronunciada no intervalo do 6º ao 13º dia do experimento (FIGURA 11). Os valores de pH apresentaram uma boa correlação com a S.C.O. e sofrível correlação com a contagem padrão em placas a 5°C e 25°C, com o BVT e Hx; uma baixa correlação com o TMA, com a contagem padrão em placas a 35°C e com o TMAO (TABELA 9).

No 13º dia, quando através dos testes organolépticos a lagosta foi considerada inapta para o consumo, o pH das lagostas de ambos os sexos variou de 7,1 a 7,5 (TABELAS 7 e 8).

BETHEA & AMBROSE (1962), quando estocaram camarões *Penaeus aztecus* em gelo, encontraram um valor inicial para o pH de 7,2 aumentando para 8,2 no limite da aceitabilidade e excedendo a este valor quando considerado deteriorado. O valor máximo de pH para as lagostas no último dia de estocagem foi aquém daquele encontrado por aqueles pesquisadores (TABELAS 2 e 3). Segundo FRASER et al (1966), as mudanças no pH em pescados estocados em gelo podem possivelmente ser devidas à lixivação dos solúveis e à acumulação dos intermedios do metabolismo do açúcar.

TABELA 7 - Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis organolépticas e químicas de lagosta macho e fêmea da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille), estocadas em gelo em laboratório, relativos ao primeiro esperimento.

Dias no Gelo	Sexo	S.C.O.				pH			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	19,8	19,8	19,8	0,00	6,4	6,4	6,4	0,00
02	feminino	20,0	20,0	20,0	0,00	6,5	6,5	6,5	0,00
04	masculino	18,3	17,8	18,7	0,64	6,7	6,6	6,8	0,14
04	feminino	19,8	19,8	19,9	0,12	6,4	6,3	6,4	0,07
06	masculino	16,0	14,7	17,3	1,88	6,9	6,8	7,0	0,14
06	feminino	19,0	18,9	19,0	0,12	6,6	6,5	6,6	0,07
09	masculino	14,4	14,3	14,5	0,12	7,3	7,2	7,3	0,07
09	feminino	16,8	16,4	17,0	0,53	6,7	6,6	6,8	0,14
11	masculino	13,4	12,8	13,9	0,83	7,4	7,2	7,6	0,28
11	feminino	16,3	15,6	17,0	1,00	6,7	6,5	6,8	0,21
13	masculino	7,8	7,0	8,6	1,12	7,5	7,3	7,7	0,28
13	feminino	11,9	11,4	12,3	0,65	7,1	6,9	7,3	0,28
15	masculino	10,9	10,7	10,7	0,59	7,3	7,4	7,4	0,14
15	feminino	10,0	9,9	10,2	0,18	7,6	7,5	7,6	0,07
16	masculino	7,3	6,6	8,0	1,00	7,0	7,0	7,0	0,00
16	feminino	7,1	6,3	8,0	1,24	7,6	7,4	7,7	0,21
17	masculino	4,6	3,2	6,0	2,01	8,0	7,8	8,1	0,21
17	feminino	6,1	5,0	7,2	1,53	7,6	7,5	7,6	0,07

TABELA 7 - (Continuação)

Dias no Gelo	Sexo	N-BVT (mg/100g)				N-TMA (mg/100g)			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	24,9	24,6	25,1	0,30	1,76	1,7	1,9	0,15
02	feminino	25,4	22,8	28,0	3,72	1,53	1,2	1,9	0,47
04	masculino	22,1	21,1	23,0	1,39	1,60	1,3	1,9	0,43
04	feminino	22,7	22,2	23,2	0,70	2,05	2,0	2,1	0,06
06	masculino	22,9	21,7	24,2	1,73	1,49	1,4	1,5	0,07
06	feminino	23,2	23,1	23,4	0,18	1,64	1,4	1,8	0,28
09	masculino	25,8	25,3	26,3	0,69	1,55	1,5	1,6	0,06
09	feminino	23,3	22,2	24,4	1,54	1,73	1,4	2,0	0,43
11	masculino	26,8	26,6	27,0	0,28	1,39	1,3	1,5	0,16
11	feminino	24,6	23,3	25,9	1,87	1,04	0,9	1,1	0,09
13	masculino	31,3	31,1	31,5	0,28	1,95	1,9	2,0	0,06
13	feminino	27,1	26,3	27,8	1,03	1,46	1,5	1,5	0,00
15	masculino	33,4	33,1	33,1	0,45	2,12	2,2	2,2	0,12
15	feminino	30,0	27,8	32,3	3,20	1,96	1,9	2,0	0,50
16	masculino	42,5	38,2	46,7	6,00	3,17	2,5	3,8	0,90
16	feminino	39,8	39,7	39,9	0,15	2,29	2,0	2,5	0,35
17	masculino	44,0	41,5	46,5	3,54	5,00	4,8	5,2	0,24
17	feminino	38,4	36,0	40,8	3,39	2,63	2,5	2,7	0,12

TABELA 7 - (Continuação)

Dias no Gelo	Sexo	N-TMAO (mg/100g)				Hx (μmol/g)			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	101,3	99,5	103,1	2,61	1,05	1,01	1,08	0,05
02	feminino	71,9	45,8	98,0	36,93	0,58	0,36	0,79	0,30
04	masculino	66,5	56,4	76,5	14,20	1,23	1,23	1,23	0,00
04	feminino	81,6	79,7	83,5	2,70	0,58	0,43	0,72	0,21
06	masculino	68,5	64,6	72,5	5,60	1,41	1,37	1,44	0,05
06	feminino	70,8	53,6	88,0	24,34	0,80	0,65	0,94	0,21
09	masculino	73,8	68,4	79,0	7,63	1,44	1,37	1,51	0,10
09	feminino	83,8	66,0	101,6	25,20	0,98	0,94	1,01	0,05
11	masculino	73,5	64,8	82,1	12,29	1,44	1,37	1,51	0,10
11	feminino	55,9	47,7	64,0	11,55	1,12	1,08	1,15	0,05
13	masculino	56,9	55,4	58,9	2,13	1,77	1,73	1,80	0,05
13	feminino	66,6	66,6	66,6	0,00	1,19	1,01	1,37	0,26
15	masculino	61,6	55,2	67,0	8,37	1,91	2,02	2,02	0,16
15	feminino	51,0	45,7	56,3	7,51	1,30	1,30	1,30	0,00
16	masculino	73,2	69,4	76,9	5,29	2,02	2,02	2,02	0,00
16	feminino	38,5	34,4	42,7	5,85	1,63	1,52	1,73	0,15
17	masculino	65,0	63,2	66,8	2,51	1,99	1,88	2,09	0,15
17	feminino	44,5	42,2	44,9	0,53	1,70	1,52	1,88	0,26

TABELA 8 - Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis organolépticas e químicas de lagosta macho e fêmea da espécie *Panulirus laevicauda* (Latrelle), estocadas em gelo em laboratório, relativos ao segundo experimento.

Dias no Gelo	Sexo	S.C.O.				pH			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	20,0	20,0	20,0	0,00	6,5	6,3	6,7	0,28
02	feminino	20,0	20,0	20,0	0,00	6,7	6,6	6,7	0,07
04	masculino	18,5	18,0	18,8	0,35	6,4	6,3	6,4	0,07
04	feminino	17,8	17,1	18,5	0,98	6,5	6,5	6,5	0,00
06	masculino	15,4	13,5	15,3	0,76	6,5	6,4	6,5	0,07
06	feminino	15,4	14,5	16,3	1,29	6,5	6,2	6,8	0,42
09	masculino	15,3	15,0	15,3	0,00	6,7	6,6	6,7	0,07
09	feminino	15,8	15,3	16,3	0,71	6,9	6,9	6,9	0,00
11	masculino	11,3	11,2	11,5	0,23	7,2	6,9	7,4	0,35
11	feminino	11,8	12,0	11,5	0,35	7,4	7,3	7,5	0,14
13	masculino	9,6	4,7	9,0	0,35	7,5	7,5	7,5	0,00
13	feminino	11,0	10,3	11,8	1,00	7,4	7,4	7,4	0,00
15	masculino	10,9	11,3	11,3	0,59	7,3	7,2	7,2	0,14
15	feminino	10,0	9,9	10,2	0,18	7,6	7,5	7,6	0,07
16	masculino	2,4	2,4	2,5	0,09	7,9	7,7	8,0	0,21
16	feminino	7,5	7,0	7,9	0,62	8,0	7,9	8,0	0,07
17	masculino	2,5	2,4	2,6	0,18	7,2	6,8	7,6	0,57
17	feminino	4,2	4,1	4,3	0,13	7,7	7,7	7,7	0,00

TABELA 8 - (Continuação)

Dias no Gelo	Sexo	N-BVT (mg/100g)				N-TMA (mg/100g)			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	28,8	28,8	28,9	0,85	1,33	1,1	1,6	0,38
02	feminino	18,6	16,8	20,5	2,62	1,57	1,4	1,7	0,23
04	masculino	22,0	20,9	23,2	1,62	1,45	1,3	1,6	0,20
04	feminino	25,0	24,6	25,4	0,54	2,09	1,9	2,3	0,33
06	masculino	21,0	19,6	22,3	1,87	1,26	1,2	1,4	0,15
06	feminino	19,7	17,8	21,6	2,74	1,39	1,3	1,6	0,11
09	masculino	23,2	23,2	23,2	0,00	1,08	1,1	1,1	0,03
09	feminino	21,2	20,2	22,1	1,33	1,46	1,5	1,8	0,00
11	masculino	25,5	24,7	26,2	1,08	1,48	1,3	1,7	0,24
11	feminino	24,2	24,0	24,3	0,24	1,76	1,7	1,8	0,09
13	masculino	33,8	25,9	41,6	11,15	2,28	-	2,3	0,00
13	feminino	25,0	23,5	26,4	2,08	1,64	1,4	1,9	0,31
15	masculino	33,4	33,7	33,7	0,45	2,12	2,0	2,0	0,12
15	feminino	30,0	27,8	32,3	3,20	2,00	1,9	2,0	0,05
16	masculino	45,7	45,3	46,2	0,62	5,48	5,5	5,5	0,00
16	feminino	35,6	34,0	37,2	2,26	2,76	2,7	2,9	0,15
17	masculino	48,7	48,2	49,2	0,73	8,70	7,5	9,9	1,66
17	feminino	40,3	36,0	39,4	1,25	2,80	2,6	3,0	0,23

TABELA 8 - (Continuação)

Dias no Gelo	Sexo	N-TMAO (mg/100g)				Hx (μ mol/g)			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	113,40	72,8	153,9	57,37	0,92	0,82	1,02	0,14
02	feminino	99,55	93,6	105,6	8,48	0,26	0,26	0,26	0,00
04	masculino	138,53	122,8	154,3	22,23	0,97	0,92	1,02	0,07
04	feminino	75,69	68,1	83,2	10,68	0,77	0,68	0,85	0,12
06	masculino	150,41	107,5	193,3	60,64	0,91	0,51	0,82	0,12
06	feminino	115,28	60,8	169,8	77,10	1,54	1,28	1,79	0,36
09	masculino	92,25	92,3	92,3	0,03	1,23	0,92	1,33	0,14
09	feminino	60,76	60,8	60,8	0,00	1,41	1,28	1,54	0,18
11	masculino	134,63	122,8	146,5	16,74	1,32	0,92	1,23	0,13
11	feminino	118,80	107,2	130,4	16,40	1,28	0,77	1,79	0,72
13	masculino	58,97	44,4	76,5	20,62	1,70	1,07	1,52	0,19
13	feminino	46,97	39,4	54,5	10,69	1,54	1,54	1,54	0,00
15	masculino	61,08	55,2	67,0	8,37	1,91	1,80	1,80	0,16
15	feminino	51,02	45,7	56,3	7,50	1,30	1,30	1,30	0,00
16	masculino	46,05	45,1	47,0	1,37	2,95	2,82	3,07	0,18
16	feminino	81,80	76,8	86,8	7,02	2,05	2,05	2,05	0,00
17	masculino	63,29	48,5	78,1	20,91	3,46	3,33	3,59	0,18
17	feminino	40,96	39,8	42,1	1,61	2,56	2,56	2,56	0,00

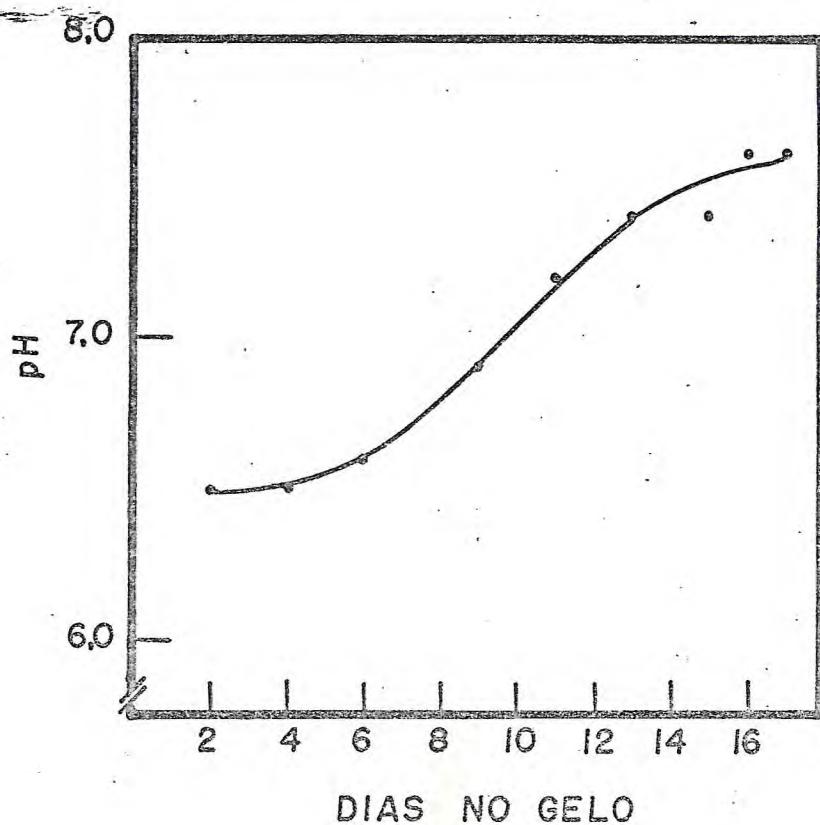


FIGURA 11 - Média dos valores de pH, relativa à lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

TABELA 9 - Matriz dos coeficientes de correlação de Pearson das variáveis químicas, bacteriológicas e organolépticas de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.

Parâmetros	Parâmetros	pH	N-BVT	N-TMA	N-TMAO	Hx	S.C.O.	Cor	Odor	Textura	Cont. Padrão 5°C	Cont. Padrão 25°C	Cont. Padrão 35°C
pH		1,0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-BVT		0,6616	1,0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-TMA		0,4304	0,7782	1,0000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-TMAO		-0,5172	-0,4305	-0,2413n.s.	1,0000	-	-	-	-	-	-	-	-
Hx		0,6257	0,7948	0,7543	-0,3221	1,0000	-	-	-	-	-	-	-
S.C.O.		-0,8402	-0,8524	-0,6681	0,4053	-0,8526	1,0000	-	-	-	-	-	-
Cor		-0,8418	-0,7932	-0,5807	0,4053	-0,8412	0,9681	1,0000	-	-	-	-	-
Odor		-0,8311	-0,8464	-0,6788	0,4044	-0,8238	0,9879	0,9254	1,0000	-	-	-	-
Textura		-0,7771	-0,8472	-0,6679	0,3664	-0,8557	0,9658	-0,9490	0,9235	1,0000	-	-	-
Cont. Padrão 5°C		0,7552	0,8417	0,6431	-0,4110	0,7578	-0,9032	-0,8715	-0,8928	-0,8742	1,0000	-	-
Cont. Padrão 25°C		0,6937	0,8437	0,6360	-0,3665	0,7205	-0,8476	0,8166	-0,8366	-0,8251	0,9757	1,0000	-
Cont. Padrão 35°C		0,3448	0,3553	0,2769n.s.	-0,1805n.s.	0,2288n.s.	0,3628	-0,2936	-0,3699	-0,3837	0,4696	0,4767	1,0000

Por outro lado IYENGAR et al. (1960) encontraram em camarão estocado em gelo um pH inicial de 6,8, aumentado para 7,8 no final de 21 dias de experimento. Segundo estes pesquisadores, as variações de pH constatadas em diversos trabalhos, são justificadas pelas diferentes floras bacterianas que habitam nas diversas espécies de pescado, provocando também diferentes degradações proteicas.

FLORES & CRAWFORD (1973), quando estocaram camarões em gelo, observaram um progressivo aumento no pH com os valores variando no início de 7,6 a 8,8, no final de 8 dias de experimento.

A FIGURA 12, mostra o comportamento do pH em função do S.C.O, sendo representado por uma reta segundo a equação de regressão apresentada na TABELA 10. No intervalo de valores para S.C.O de 13-10, considerado crítico, o pH apresentou valores entre 6,9 e 7,6 (FIGURA 12), sendo que o maior número de valores situou-se no intervalo de 7,25 a 7,5. Estes resultados estão próximos daqueles encontrados por FLICK & LOVELL (1972) para camarão, *Penaeus aztecus* estocados em gelo, cujos valores de pH variaram de 7,4 a 8,2 ao longo de 10 dias de experimento. Este aumento de pH ao longo do tempo, segundo BAILEY et al. (1956), é resultante da deterioração por bactérias que provocam a liberação de bases de baixo peso molecular nos tecidos do pescado após a sua morte.

As análises estatísticas (TABELA 4), mostram que o sexo influiu significativamente nos valores das bases voláteis totais ao longo da estocagem de lagostas em gelo. Entretanto, pela análise do gráfico mostrado na FIGURA 13, observa-se que as duas curvas demonstram um comportamento muito semelhante e somente a partir do 16º dia de estocagem é que se constata diferenças evidentes nos valores de BVT, quando as lagostas já apresentavam nítidos sinais de deterioração. WATANABE (1971), trabalhando com "fresh bream", "mudsucker" (*Labeo congoro*), "Tiger-fish" (*Hydrocimus vittatus*) e "barbel" (*Clarias mossambicus*) encontrou variações de BVT entre as espécies e ao longo do ano. Segundo esse autor a temperatura em determinadas épocas do ano pode acelerar as várias rea-

TABELA 10 - Equações de regressão das diversas variáveis em função da soma dos caracteres organolépticos (S.C.O.) e valores do coeficiente de correlação de Pearson (r).

Variáveis y/x	Equação de Regressão	r	Número de Pares (n)
pH/S.C.O.	pH = 8,09 - 0,080 S.C.O.	-0,84	72
BVT/S.C.O.	BVT = 74,4 S.C.O. ^{-0,403}	-0,87	72
TMA/S.C.O.	TMA = 9,78 S.C.O. ^{-0,67}	-0,84	72
Hx/S.C.O.	Hx = 2,78 - 0,104 S.C.O.	-0,85	72
5°C/S.C.O.	5°C = 18,58 - 0,74 S.C.O.	-0,90	72
25°C/S.C.O.	25°C = 16,83 - 0,67 S.C.O.	-0,85	72

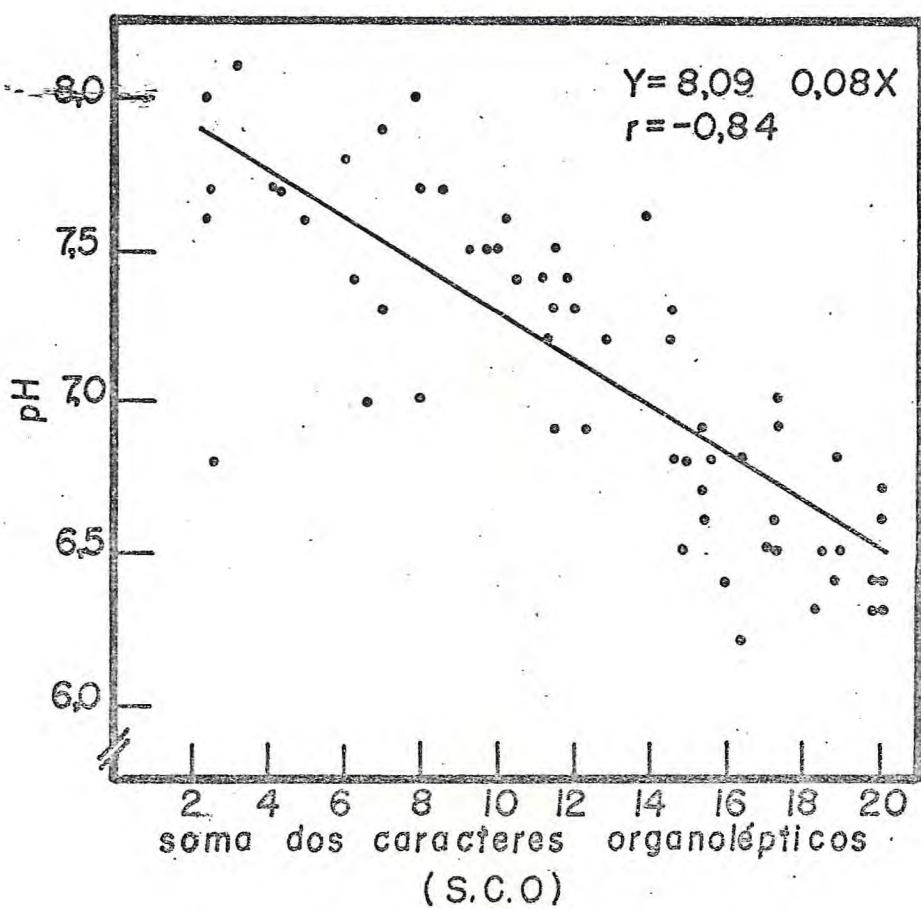


FIGURA 1.2 - Variação dos valores de pH relativa à lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função da soma de caracteres organolépticos (S.C.O.).

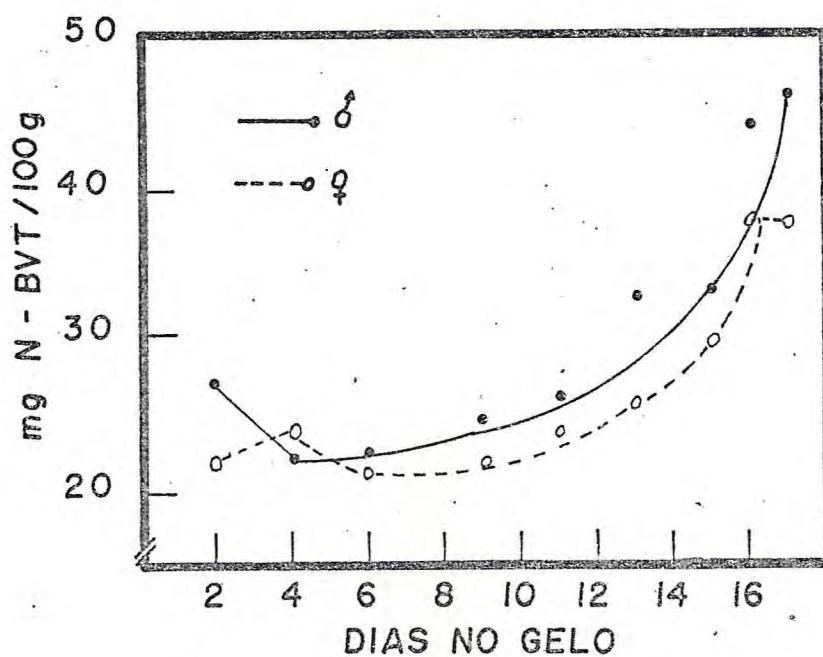


FIGURA 13 - Média dos valores de Base Volátil Total (N-BVT), relativa a machos e fêmeas de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

ções orgânicas no pescado com posteriores aumentos na quantidade de bases voláteis.

O BVT para ambos os sexos apresentou uma tendência inicial decrescente até o 6º dia do experimento, quando, então evidenciou uma ascendência que se tornava mais pronunciada com a evolução dos dias de estocagem. Esse decréscimo inicial estaria ligado ao fato de que nos primeiros dias do pós-morte os conteúdos de BVT são muito semelhantes e a ação lixivadora da água do gelo arrastaria parte dessas bases, diminuindo, consequentemente, seus teores iniciais. Vários pesquisadores têm constatado a diminuição de BVT nos primeiros dias de estocagem de pescado em gelo (CHANG *et al.* 1983, COBB *et al.* 1977) tendo sido também encontrada considerável quantidade de BVT na água do gelo onde estava estocado o pescado (IYENGAR *et al.* 1960).

Os valores de BVT variaram de 16,8 no início do experimento a 49,2 no 17º dia de estocagem (TABELAS 7 e 8). Quando os teores de BVT foram relacionados com os demais parâmetros apresentaram uma boa correlação com a S.C.O., com a CPP a 5º e 25ºC, com a Hx; em nível razoável com a TMA e pH e uma correlação muito baixa com o TMAO e a contagem padrão a 35ºC (TABELA 9). A equação para representar a relação BVT/S.C.O. é do tipo logarítmico (TABELA 10), sendo que a curva apresenta uma tendência hiperbólica (FIGURA 14).

A correlação BVT/S.C.O. (FIGURA 14) indica ainda que na faixa de segurança, intervalo 17-14 (Bom), o BVT é inferior a 27mg/100g enquanto que os valores acima de 30mg/100g determinam a inaceitabilidade da lagosta para o consumo. Este limite de inaceitabilidade também foi determinado por COBB *et al.* (1973) em camarão e recomendado por CANN (1976) para crustáceos tropicais.

O TMAO é uma base nitrogenada encontrada em peixes marinhos, bem como em vários grupos de invertebrados, especialmente moluscos e crustáceos (DELAUNAY, 1967).

A redução do TMAO produz TMA sendo este último composto utilizado como indicador da decomposição do tecido muscular.

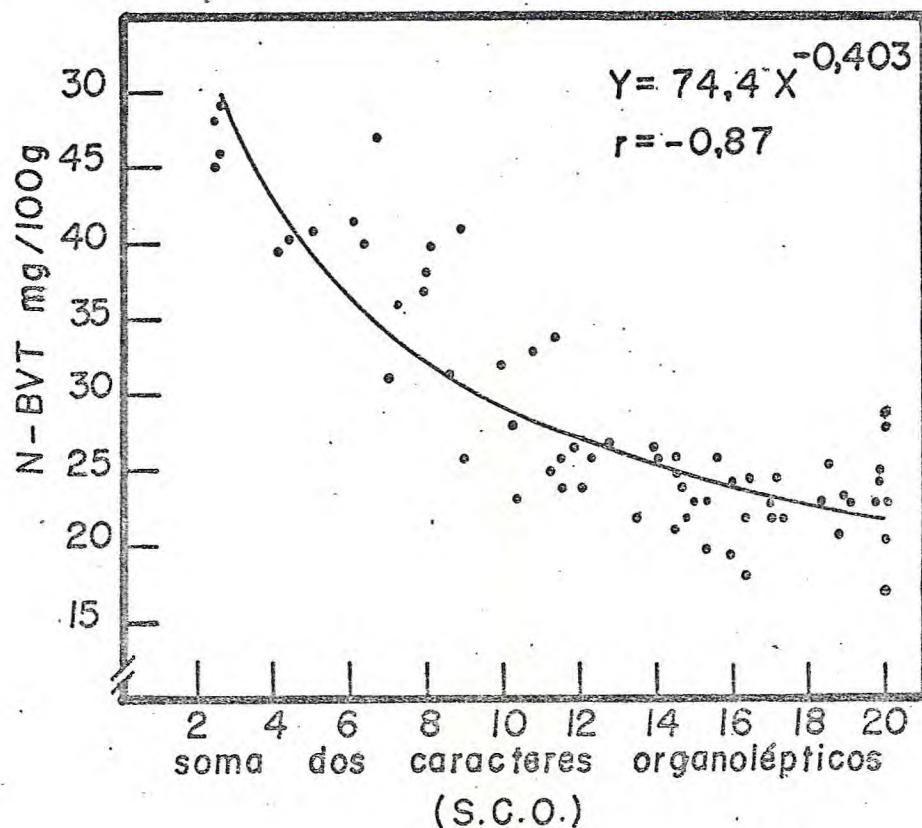


FIGURA 14 - Variação dos valores de Base Volátil Total, relativa à lagosta *Panulirus laevicauda* (La treille), em função da soma de caracteres organolépticos (S.C.O.).

cular na maioria dos animais marinhos. A qualidade dos filetes de peixes tem sido estimada pela quantidade de TMA detectada (CASTELL *et al.* 1973).

Os valores de TMAO foram bastante irregulares, com um intervalo variando de 39,8mg/100g a 193,3mg/100g (TABELA 7 e 8) e apresentando também variações significativas em relação ao sexo e experimento (FIGURAS 15 e 16).

RONOLD & JAKOBSEN (1947) observaram variações no conteúdo de TMAO em algumas espécies em tal magnitude que os valores médios do teor muscular, medido no inverno, chegava a ser 100% maior que no verão.

CASTRO (1979) confirmou esta grande variação de TMAO, trabalhando com camarão sete-barbas *Kyphopenaeus kroyeri*, quando detectou uma amplitude de variação de até 400%. Resultados semelhantes foram observados em camarão *Pandalus jordani*, por FLORES & CRAWFORD (1973), quando encontraram uma variação irregular do TMAO ao longo de 8 dias de estocagem.

Considerando estes resultados, e mais o fato de que o TMAO apresentou uma baixa correlação com as demais variáveis estudadas (TABELA 9), confirma-se sua inviabilidade como critério de qualidade para certas espécies de pescado, em particular para a lagosta *Panulirus laevicauda*.

Os valores para TMA apresentados nas TABELAS 2 e 3 podem ser considerados baixos se comparados com aqueles encontrados por STROUD *et al.* (1982), quando trabalhando com lagostas *Nephrops norvegicus* estocadas em gelo. Isto pode ser em decorrência da evisceração e lavagem efetuadas nas lagostas antes da sua estocagem, sendo que aqueles pesquisadores estocaram lagostas sem eviscerar.

MENDES (1974) observou que pescados estocados com vísceras experimentaram uma evolução mais rápida de bases voláteis e de TMA e que seus teores eram consideravelmente maiores do que aqueles encontrados para pescados estocados sem vísceras.

A evolução da TMA em relação aos dias de estocagem

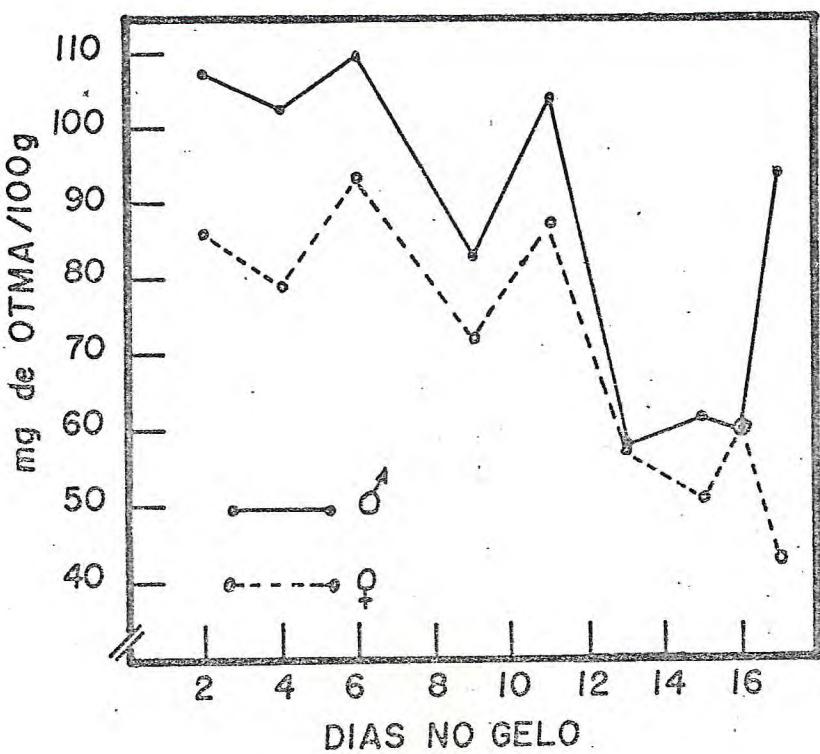


FIGURA 15 - Média dos valores do óxido de trimetila mina (TMAO), relativa a machos e fêmeas de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem.

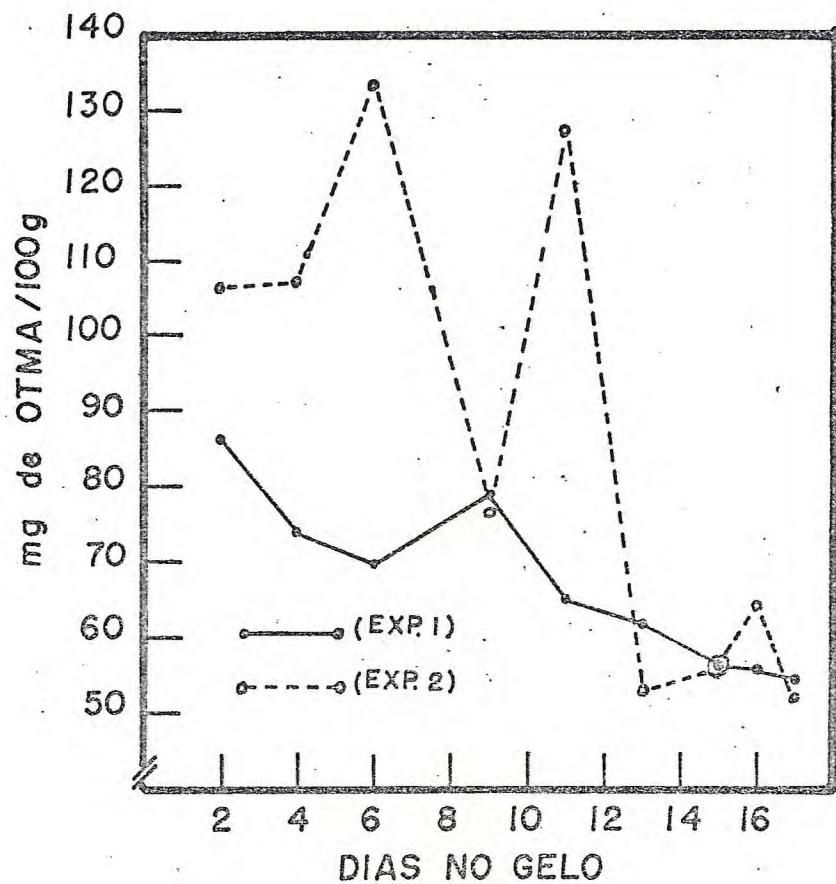


FIGURA 16 - Média dos valores do TMAO, relativa aos experimentos com lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

apresentou uma variação quanto ao sexo e experimento (TABELA 4), tendo entretanto o mesmo tipo de comportamento em qualquer dos casos (FIGURAS 17 e 18). Nos primeiros 11 dias de experimento a evolução foi lenta, com teores variando de 0,9mg/100g a 2,3mg/100g (TABELAS 7 e 8). Após este dia, houve uma rápida ascenção, continuando a subir até o final do experimento, com valores mais elevados para os machos. Comportamentos semelhantes foram observados em camarões das espécies *Penaeus indicus* e *Metapenaeus monoceros* (IYENGAR et al. 1960) e *Pandalus jordani* (FLORES & CRAWFORD, 1973).

A TMA, que é formada a partir da redução do TMAO, não apresentou correlação com esta base (TABELA 9), não sendo evidenciada portanto uma correspondência entre a elevação da TMA e a diminuição do TMAO (TABELAS 2 e 3), ao longo do experimento.

Resultados semelhantes foram obtidos para *Clupea harengus* estocada em gelo, quando a velocidade de produção da TMA não foi proporcional à velocidade de decréscimo do TMAO (SMITH et al. 1980).

A despeito de WALKER et al. apud STROUD (1982) e VYNCKE (1970) considerarem que a TMA poderia ser usada como um bom índice de deterioração para pescado estocado em gelo, observou-se uma baixa correlação deste composto com os de mais parâmetros estimados, com exceção da Hx cujo coeficiente de correlação foi altamente significante (TABELA 9).

A correlação entre TMA e S.C.O. mostrou-se do tipo hiperbólico, sendo portanto representada pelo modelo logarítmico (TABELA 10, FIGURA 19).

Embora a TMA não tenha se mostrado como um bom índice de deterioração, pode-se admitir que na zona de aceitabilidade os conteúdos de TMA situaram-se abaixo de 2,0mg/100g, enquanto na região de inaceitabilidade os teores foram sempre acima. Estes resultados estão muito aquém daqueles citados na literatura cujos valores para pescado são superiores (FLORES & CRAWFORD, 1973).

Os teores de Hx variaram de um valor mínimo de $0,26\mu$

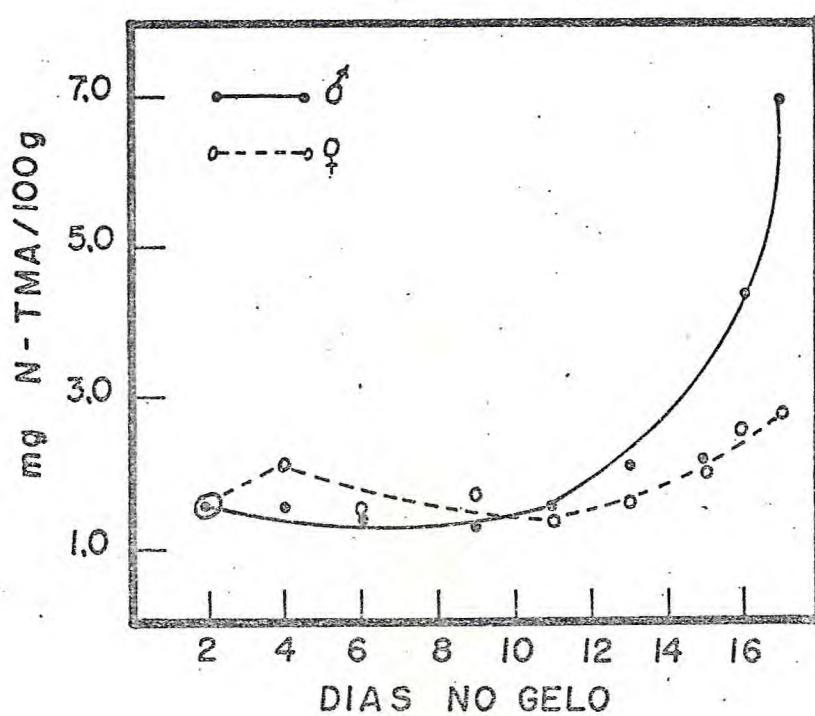


FIGURA 17 - Média dos valores do N-TMA, relativa a machos e fêmeas, de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

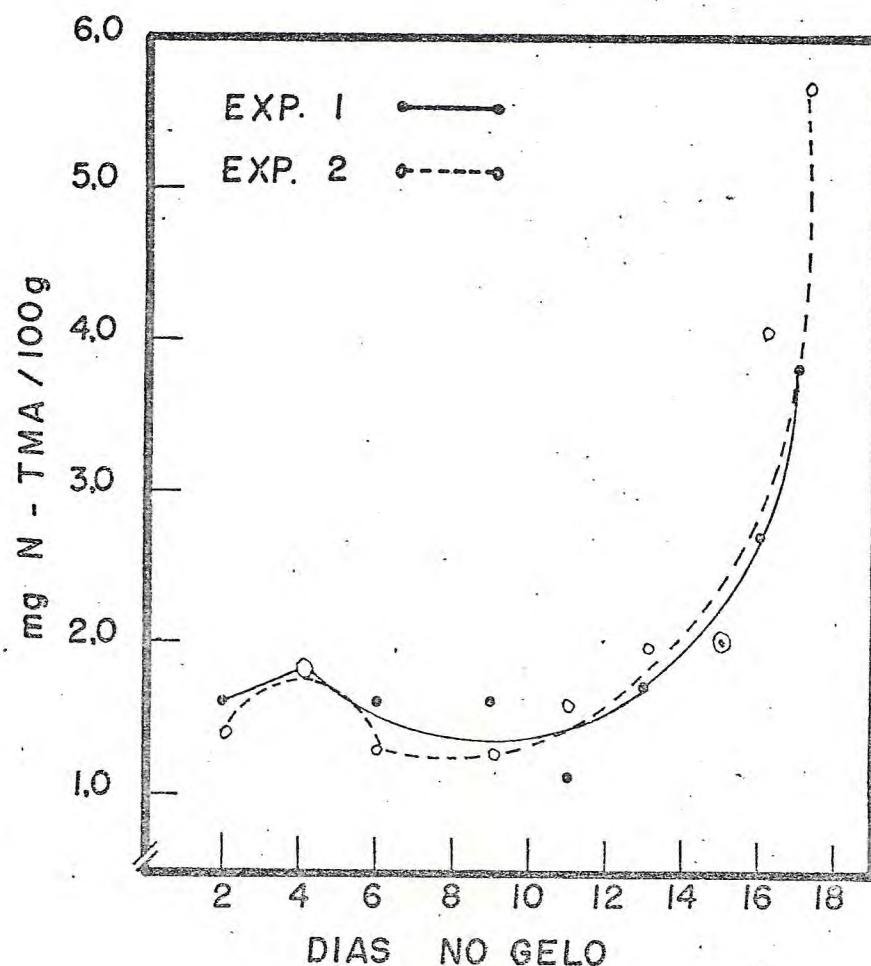


FIGURA 18 - Média dos valores de N-TMA, relativa aos experimentos de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

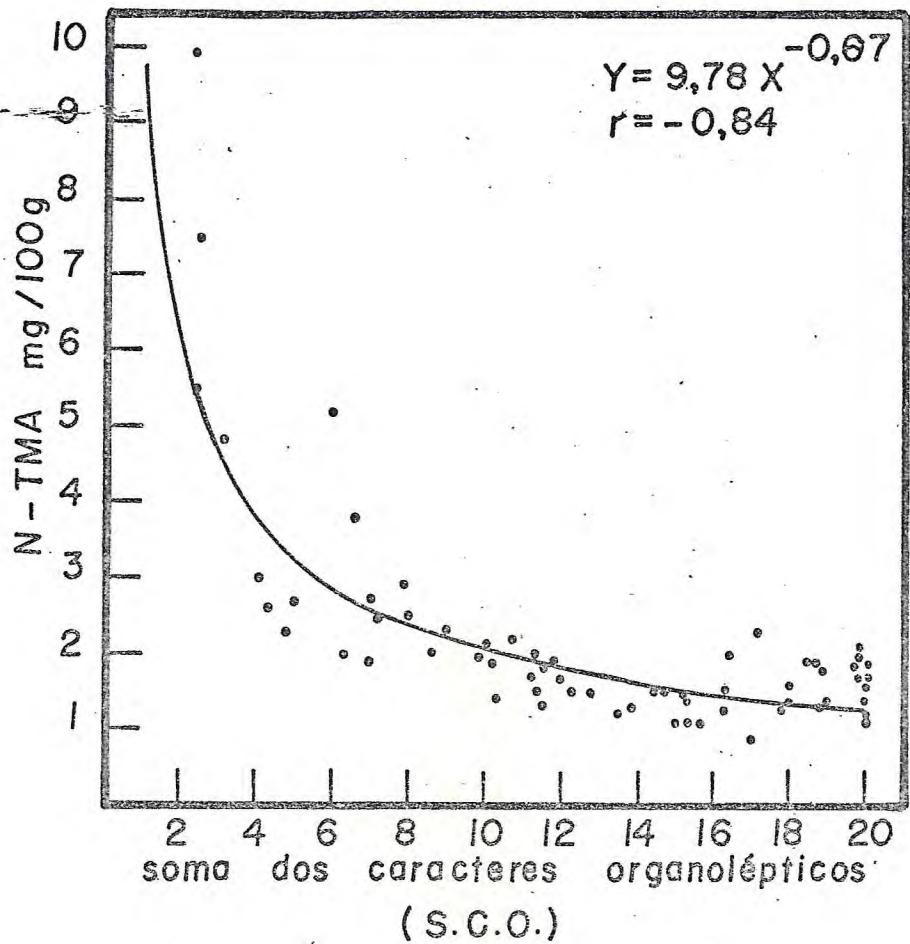


FIGURA 19 - Variação dos valores de trimetilamina, relativa à lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função da soma de caracteres orgâno-lépticos (S.C.O.).

mol/g, no 1º dia de estocagem, a um valor máximo de 3,5 μ mol/g, no último dia de experimento (TABELAS 7 e 8). Seus valores apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação ao sexo e experimento (TABELA 4), contudo a sua evolução teve um comportamento semelhante (FIGURAS 20 e 21).

FLICK & LOVELL (1972) encontraram valores semelhantes de Hx em camarão *Penaeus aztecus* com o mínimo de 0,4 μ mol/g e o máximo de 4,5 μ mol/g, enquanto FRASER et al. (1968) registraram uma variação de 2 a 5 μ mol/g em cavala do Atlântico, *Scomber scombrus*, estocada em gelo. Segundo JONES et al. (1964), a velocidade de liberação de Hx é variável entre as espécies e estaria na dependência da autólise que sofre o pescado após a morte, da flora e da atividade bacteriana do pescado.

De todos os parâmetros químicos estudados foi a Hx que melhor se correlacionou com a S.C.O., a qual foi usada em todo o experimento como indicador de decréscimo da qualidade das lagostas. Este fato faz com que seja a Hx o melhor dos parâmetros químicos estudados para avaliação de lagostas estocadas em gelo.

A Hx ainda apresentou correlação com os demais parâmetros, sendo, entretanto, em níveis muito baixos com relação ao TMAO e à contagem padrão a 35°C (TABELA 9).

BOTTA et al. (1978) também encontraram boa correlação da Hx com odor e textura, sugerindo-a como indicador de qualidade. Entretanto, em algumas espécies a Hx não deve ser usada sozinha, com esta finalidade. (WATANABE et al. 1983).

A Hx acumula-se na maioria das espécies gradativamente ao longo da estocagem, servindo assim como um monitor das atividades autolíticas e bacterianas (HILTZ et al. 1971). Os mesmos autores adiantam que espécies com velocidade média de degradação dos nucleotídeos, onde os níveis de Hx de 2 a 3 μ mol/g foram alcançados no limite de aceitabilidade são mais favoráveis para o uso do teste de Hx, do que aquelas cuja velocidade é muito lenta na formação de Hx, as quais atingem 1 μ mol/g no ponto de rejeição. Segundo esse crité

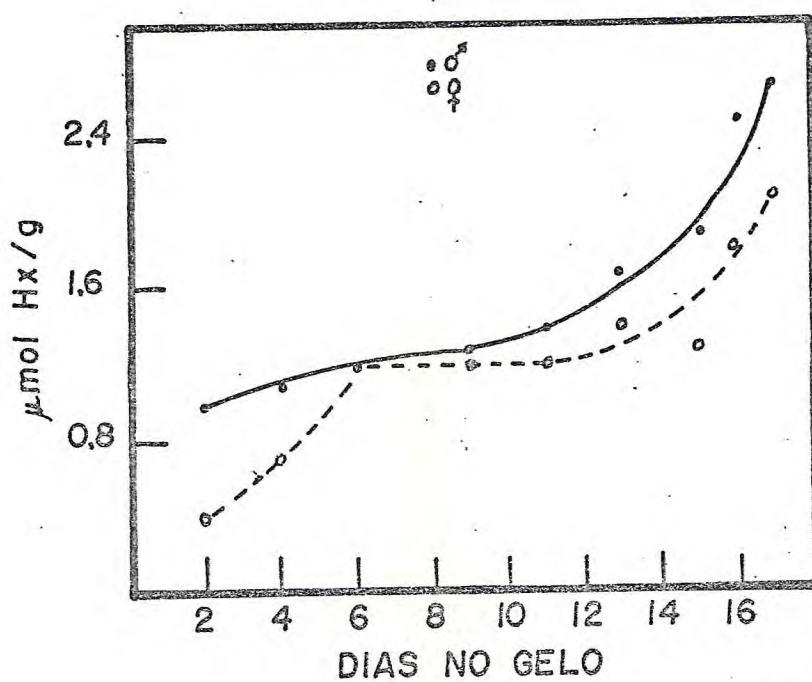


FIGURA 20 - Média dos valores de hipoxantina (Hx), relativa a machos e fêmeas de lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

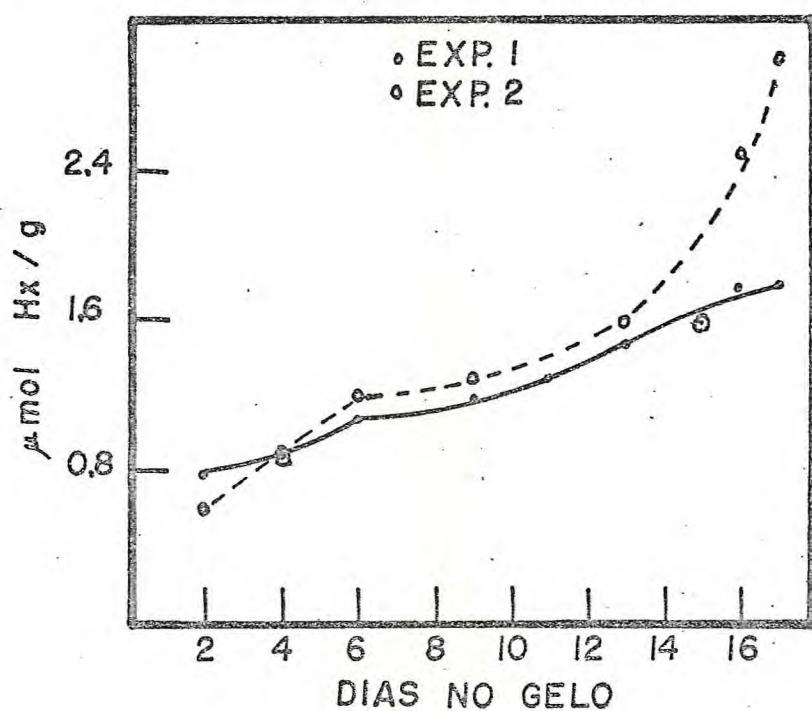


FIGURA 21 - Média dos valores de Hx, relativa aos experimentos com lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

rio, pode-se considerar de velocidade média a degradação dos nucleotídeos na lagosta, *Panulirus laevicauda*, uma vez que o ponto de rejeição da sua aceitabilidade ocorreu, quando o nível de Hx estava próximo de $2 \mu\text{mol/g}$ (FIGURA 22).

O modelo do tipo linear foi o escolhido para representar a relação entre Hx e S.C.O. (TABELA 10), sendo por conseguinte traduzido graficamente por uma reta (FIGURA 22).

A interseção entre a reta oriunda do ponto 10 da S.C.O. e aquela representativa do modelo linear, corresponde ao ponto inicial de rejeição para as lagostas. Isto significa que valores inferiores a 10 em S.C.O. equivaleriam a valores superiores a $1,75 \mu\text{mol/g}$ de Hx, sendo que a partir deste nível as lagostas seriam consideradas impróprias para o consumo.

HILTZ *et al.* (1971) consideram que dos nucleotídeos utilizados para acompanhar a qualidade do pescado, é a Hx o melhor, uma vez que seus teores, na maioria das espécies, aumenta progressivamente com as trocas na qualidade manifestadas pelas modificações organolépticas.

As análises bacteriológicas realizadas nas lagostas, estocadas em gelo durante um período de 17 dias, tiveram o objetivo de observar a evolução da carga bacteriana ao longo deste tempo, e investigar a presença de bactérias patogênicas de interesse para a saúde pública e bactérias indicadoras de poluição.

Os dados de contagem padrão em placas de bactéria a temperaturas de 35°C , 25°C e 5°C , estão apresentados nas TABELAS 11 e 12.

A Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA), Resolução 13/78 (1978), estipula que todo pescado ou qualquer produto de pesca não poderá ter um número de bactérias superior a $10^6/\text{g}$, determinado pelo método da contagem padrão em placas e incubação a 35°C . Determina, ainda, que não poderá conter *Salmonella* em 25g da amostra, bactérias do grupo coliforme de origem fecal não poderão exceder a $10^2/\text{g}$ e o número de *Staphylococcus aureus* não deverá

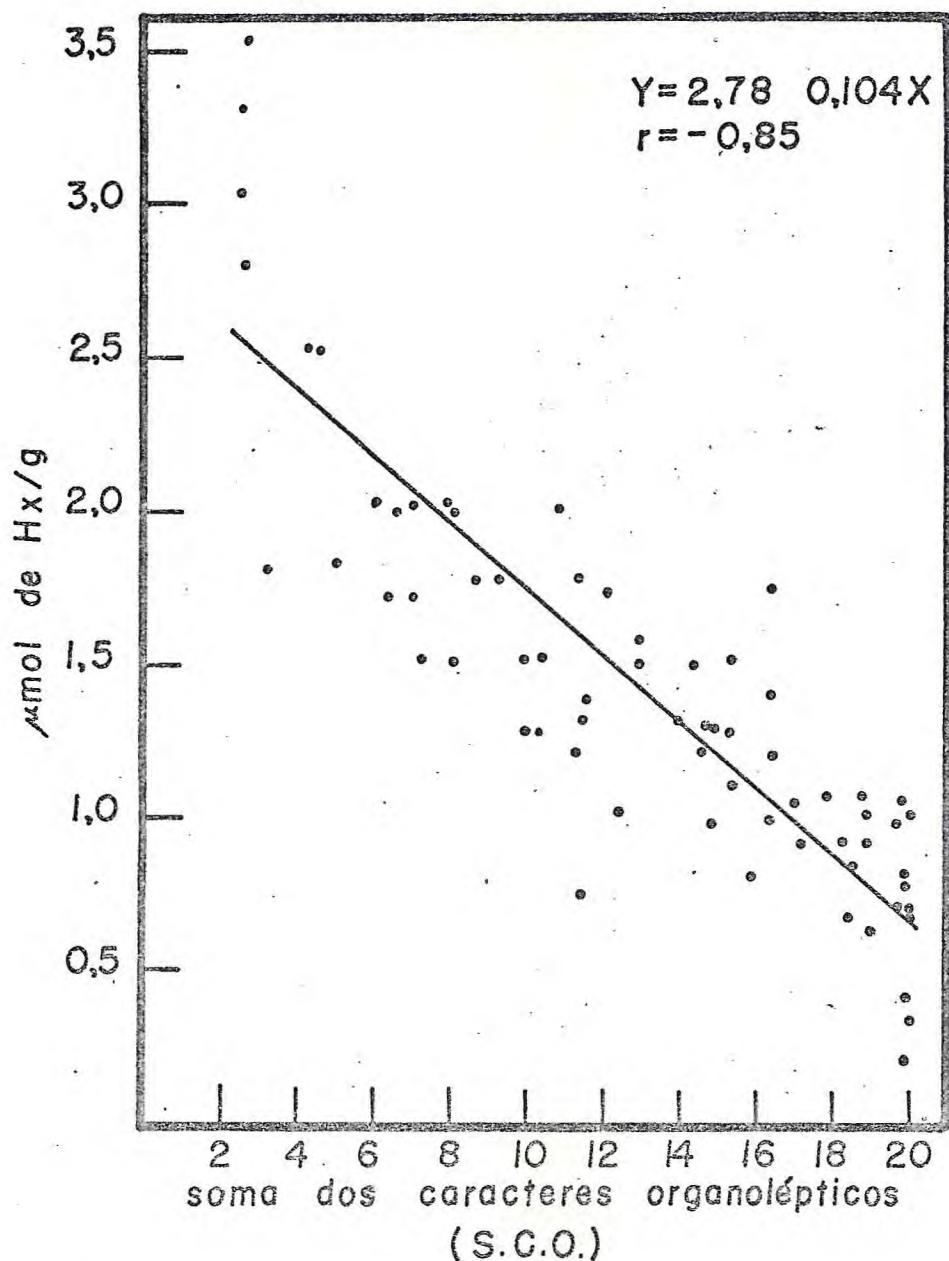


FIGURA 22 - Variação dos valores de hipoxantina, relativa à lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função da soma de caracteres organolépticos (S.C.O.).

ser superior a 10^3 /g.

As bactérias mesófilas, aquelas que têm o ótimo de crescimento às temperaturas de 30° e 45°C, não atingiram a 10^6 /g em todo o experimento (TABELAS 11 e 12) tendo seus valores expressos em logarítmos, variando de 2,0 a 6,81 (646×10^4 bactérias/g), (TABELAS 13 e 14). A evolução dessas bactérias em relação ao tempo de estocagem foi muito irregular (FIGURA 23) e apresentou diferença estatística em relação aos experimentos (TABELA 4).

MICHENER & ELLIOT (1964) consideram a contagem de bactérias mesófilas de valor desprezível para a avaliação de alimento conservado em baixa temperatura, uma vez que as mesófilas têm seu crescimento inibido em temperaturas inferiores a 5°C. Realmente seus valores apresentaram uma baixa correlação com os demais parâmetros investigados ao longo do experimento (TABELA 9) e, em consequência tornou-se des necessário correlacioná-los graficamente com a S.C.O.

Para alimentos estocados a baixas temperaturas tem-se sugerido que a determinação da população bacteriana deveria ser feita em relação à temperatura de incubação de 5°C (INGRAM, 1966a) ou a 7°C por 10 dias (VANDERZANT & JOHNS, 1972).

A análise dos dados contidos nas TABELAS 11 e 12 revela que a população bacteriana obtida a 5°C e a 25°C cresceu com os dias de estocagem, tendo sido encontrados valores maiores para aquela população incubada a 5°C, cujo valor máximo expresso em logarítmico foi de 20,53 (339×10^{19} bactérias/g), mínimo de 2,91 ($8,13 \times 10^2$ bactérias/g) enquanto para a incubação a 25°C esses valores foram 1,80 (100×10^{16} bactérias/g) e 3,24 (174×10^1 bactérias/g), respectivamente (TABELAS 13 e 14). Em ambas as temperaturas de incubação, o crescimento da população bacteriana expressa em logarítmico teve uma ascensão maior a partir do 13º dia de estocagem (FIGURAS 24, 25 e 26), coincidindo com o decréscimo da S.C.O. (FIGURAS 27 e 28). Já em relação a sexo e experimentos, sómente foi observada diferença estatística significativa nas populações determinadas a 5°C (TABELA 4); contudo, os com-

TABELA 11 - Contagem padrão em placas, de fêmeas de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.

Dias no Gelo	S.C.O.	PRIMEIRO EXPERIMENTO						SEGUNDO EXPERIMENTO						
		número (n) de bactérias/g-Temperaturas			número (n) de bactérias/g-Temperaturas									
		n	log(n)	n	log(n)	n	log(n)	n	log(n)	n	log(n)	n	log(n)	
02	20,0	82x10 ¹	2,91	174x10 ¹	3,24	62x10 ¹	2,79	20,0	125x10 ²	4,10	80x10 ²	3,90	450x10 ¹	3,65
02	20,0	113x10 ¹	3,05	176x10 ¹	3,25	41x10 ¹	2,61	20,0	270x10 ²	4,43	207x10 ²	4,32	128x10 ¹	4,10
04	19,8	150x10 ²	4,18	900x10 ¹	3,95	90x10 ¹	2,95	17,1	270x10 ²	4,43	279x10 ²	4,45	940x10 ¹	3,97
04	19,9	152x10 ²	4,18	173x10 ²	4,24	300x10 ¹	3,27	18,5	450x10 ²	4,65	500x10 ²	4,70	140x10 ¹	3,14
06	18,9	200x10 ⁴	6,30	100x10 ³	5,00	100x10 ¹	3,00	16,3	195x10 ³	5,29	540x10 ²	4,73	760x10 ¹	3,88
06	19,1	100x10 ³	5,00	200x10 ³	5,30	320x10 ¹	3,50	14,5	479x10 ³	5,68	229x10 ²	4,36	190x10 ²	4,27
09	17,2	300x10 ⁶	8,48	245x10 ⁴	6,39	200x10 ¹	3,30	15,3	164x10 ⁴	6,21	770x10 ²	4,89	340x10 ¹	3,53
09	16,4	600x10 ⁴	6,78	107x10 ⁴	6,03	10x10 ¹	2,00	16,3	427x10 ⁴	6,63	310x10 ²	4,49	230x10 ¹	3,36
11	17,0	156x10 ⁶	8,18	204x10 ⁵	7,31	690x10 ¹	3,83	11,5	293x10 ⁵	7,47	206x10 ⁴	6,31	480x10 ¹	3,68
11	15,6	133x10 ⁶	18,12	131x10 ⁵	7,12	120x10 ²	4,07	12,0	890x10 ⁴	6,95	600x10 ³	5,78	130x10 ¹	3,11
13	12,3	152x10 ⁸	10,18	160x10 ⁶	8,20	460x10 ¹	3,66	11,8	544x10 ⁶	8,74	134x10 ⁵	7,26	530x10 ¹	3,72
13	11,4	440x10 ⁸	10,64	880x10 ⁶	8,94	131x10 ²	4,11	10,3	592x10 ⁶	8,77	568x10 ⁵	7,75	710x10 ¹	3,85
15	10,2	173x10 ⁹	11,24	170x10 ⁷	9,23	460x10 ¹	3,66	10,2	173x10 ⁸	10,24	170x10 ⁷	9,23	460x10 ¹	3,66
15	9,9	400x10 ⁹	11,60	150x10 ⁸	10,18	640x10 ¹	3,80	9,9	400x10 ⁸	10,60	150x10 ⁸	10,18	640x10 ¹	3,80
16	8,0	268x10 ⁹	11,43	631x10 ⁸	10,80	320x10 ²	4,50	7,9	576x10 ⁸	10,76	267x10 ⁸	10,43	230x10 ²	4,36
16	6,3	176x10 ¹⁰	12,25	631x10 ⁸	10,80	780x10 ²	4,27	7,0	680x10 ⁸	10,83	237x10 ⁸	10,37	900x10 ¹	3,95
17	5,0	203x10 ¹¹	13,31	123x10 ⁹	11,09	190x10 ²	4,27	4,1	240x10 ¹¹	13,38	417x10 ¹⁰	12,62	111x10 ²	4,04
17	7,2	162x10 ¹²	14,21	550x10 ⁸	10,74	160x10 ²	4,20	4,3	176x10 ¹¹	13,25	207x10 ¹⁰	12,32	490x10 ²	4,69

TABELA 12 - Contagem padrão em placas, de machos de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille), estocadas em gelo em laboratório.

Dias no Gelo	PRIMEIRO EXPERIMENTO						SEGUNDO EXPERIMENTO					
	S.C.O.	Número (n) de bactérias/g - temperaturas				S.C.O.	Número (n) de bactérias/g-temperaturas				S.C.O.	S.C.O.
		5°C	25°C	35°C	n	log(n)	n	log(n)	n	log(n)	n	log(n)
02	19,8	330x10 ¹	3,51	770x10 ¹	3,88	283x10 ¹	3,45	20,0	460x10 ¹	3,66	240x10 ²	4,38
02	19,8	360x10 ¹	3,55	610x10 ¹	3,78	350x10 ¹	3,54	20,0	880x10 ¹	3,94	300x10 ¹	4,47
04	17,8	260x10 ²	4,41	300x10 ²	3,47	582x10 ¹	3,76	18,3	670x10 ²	4,82	480x10 ²	4,68
04	18,7	147x10 ²	4,16	146x10 ²	4,16	575x10 ¹	3,76	18,8	810x10 ³	4,90	310x10 ²	4,49
06	17,3	292x10 ³	5,46	229x10 ³	5,35	190x10 ²	4,27	14,8	501x10 ³	5,69	500x10 ³	4,69
06	14,7	204x10 ³	5,30	870x10 ²	4,93	890x10 ¹	3,95	15,9	562x10 ⁴	5,74	103x10 ³	5,01
09	14,5	165x10 ⁴	6,21	710x10 ²	4,85	230x10 ¹	3,36	15,3	800x10 ³	6,90	195x10 ⁴	6,29
09	14,3	650x10 ³	5,81	122x10 ³	5,08	400x10 ¹	3,60	15,3	156x10 ⁵	5,19	350x10 ²	4,54
11	12,8	960x10 ⁵	7,98	280x10 ⁴	6,44	280x10 ¹	3,44	11,5	440x10 ⁶	8,64	177x10 ⁵	7,25
11	14,0	668x10 ⁵	7,82	776x10 ⁴	6,88	460x10 ¹	3,66	11,2	920x10 ⁸	8,96	460x10 ⁵	7,66
13	8,6	440x10 ⁷	9,64	102x10 ⁶	8,01	590x10 ¹	3,77	9,3	800x10 ⁸	10,90	180x10 ⁶	8,26
13	7,0	110x10 ⁷	9,04	166x10 ⁶	8,22	480x10 ¹	3,68	9,8	664x10 ¹⁰	10,82	612x10 ⁶	8,79
15	10,5	320x10 ¹⁰	12,50	124x10 ⁹	11,09	160x10 ¹	3,20	10,5	320x10 ¹⁰	12,50	124x10 ⁹	11,09
15	11,3	122x10 ¹⁰	12,08	150x10 ⁹	11,18	120x10 ¹	3,07	11,3	122x10 ¹⁰	12,08	150x10 ⁹	11,18
16	8,0	168x10 ¹²	14,22	601x10 ¹⁴	16,78	683x10 ²	4,83	2,5	850x10 ¹⁰	14,92	141x10 ¹⁰	11,15
16	6,6	128x10 ¹³	15,10	200x10 ¹⁴	16,30	170x10 ²	4,23	2,4	790x10 ¹⁰	12,89	115x10 ¹²	12,06
17	6,0	263x10 ¹⁸	20,41	100x10 ¹⁵	18,0	652x10 ⁴	6,81	2,6	160x10 ¹⁴	16,20	720x10 ¹⁰	14,85
17	3,2	339x10 ¹⁸	20,53	328x10 ¹⁵	17,52	210x10 ⁴	6,32	2,4	187x10 ¹⁴	16,27	135x10 ¹⁰	12,13

TABELA 13 - Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis bacteriológicas de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille) estocadas em gelo em laboratório, relativos ao primeiro experimento.

Dias no Gelo	Sexo	TEMPERATURA											
		5°C				25°C				35°C			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	3,80	3,51	3,55	0,20	4,43	3,78	3,88	0,06	3,24	3,45	3,54	0,33
02	feminino	4,26	2,91	3,05	0,24	4,11	3,24	3,25	0,29	3,88	2,61	2,79	0,32
04	masculino	4,86	4,16	4,41	0,57	4,59	3,47	4,16	0,13	3,65	3,76	3,76	0,36
04	feminino	4,54	4,17	4,18	0,16	4,57	3,95	4,23	0,18	3,55	2,95	3,47	0,59
06	masculino	5,73	5,30	5,46	0,35	4,85	4,93	5,35	0,23	3,43	3,95	4,27	0,37
06	feminino	5,49	5,00	6,30	0,28	4,54	5,00	5,30	0,27	4,08	3,00	3,50	0,28
09	masculino	6,05	5,81	6,21	1,21	5,42	5,08	5,85	1,24	3,45	3,36	3,60	0,35
09	feminino	6,42	6,77	9,40	0,30	5,19	6,02	7,38	0,43	3,45	2,00	3,30	0,12
11	masculino	9,80	7,98	8,82	0,23	9,45	6,44	6,88	0,30	2,65	3,44	3,66	0,50
11	feminino	8,20	10,12	10,19	0,37	6,04	8,11	8,30	0,38	3,40	3,83	4,07	0,40
13	masculino	10,86	9,04	9,64	0,06	10,52	8,01	8,22	0,38	2,65	3,68	3,77	0,50
13	feminino	9,75	11,18	11,64	0,28	7,51	9,20	9,94	0,35	3,79	3,66	4,11	0,09
15	masculino	13,29	13,50	13,50	0,30	13,13	13,09	13,09	0,06	3,14	3,20	3,20	0,09
15	feminino	11,42	11,23	11,60	0,26	10,70	10,23	11,17	0,67	3,73	3,66	3,80	0,10
16	masculino	14,92	16,22	17,10	0,21	13,60	16,30	17,38	0,65	3,21	4,23	4,83	0,29
16	feminino	11,80	11,42	13,24	0,05	10,40	10,80	10,80	0,04	4,16	3,89	4,50	0,29
17	masculino	16,24	14,42	14,53	0,05	14,49	20,51	21,0	1,92	3,61	6,32	6,81	0,66
17	feminino	14,31	13,30	14,21	0,10	12,46	9,75	11,09	0,21	4,37	4,20	4,27	0,46

TABELA 14 - Média, valores mínimos, máximos e desvio padrão das variáveis bacteriológicas de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille) estocadas em gelo em laboratório, relativos ao segundo experimento.

Dias no Gelo	Sexo	TEMPERATURA											
		5°C				25°C				35°C			
		Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão
02	masculino	3,53	3,66	3,94	0,28	3,83	4,38	4,47	0,71	3,50	3,00	3,47	0,06
02	feminino	2,98	4,09	4,43	0,99	3,25	3,90	4,31	0,01	2,70	3,65	4,10	0,13
04	masculino	4,29	4,82	4,90	0,18	3,82	4,49	4,68	0,49	3,76	3,39	3,90	0,00
04	feminino	4,18	4,43	4,65	0,01	4,09	4,44	4,69	0,20	3,21	3,14	3,97	0,37
06	masculino	5,38	5,70	5,75	0,11	5,14	4,69	5,01	0,30	4,11	3,17	3,69	0,23
06	feminino	5,65	7,29	7,68	0,92	5,15	4,35	4,73	0,21	3,25	3,88	4,27	0,35
09	masculino	6,01	5,19	6,90	0,28	4,97	4,54	6,29	0,16	3,48	3,20	3,69	0,17
09	feminino	8,09	6,21	6,63	1,86	6,70	4,88	5,49	0,96	2,65	3,36	3,53	0,92
11	masculino	8,40	9,64	9,96	0,59	6,66	5,24	5,66	0,31	3,55	2,30	3,00	0,16
11	feminino	10,16	7,94	8,46	0,50	8,21	5,77	6,31	0,13	3,95	3,11	3,68	0,17
13	masculino	9,34	10,82	10,90	0,42	8,12	10,25	10,78	0,15	3,73	2,30	3,00	0,64
13	feminino	11,41	9,73	9,77	0,33	9,57	7,26	7,75	0,52	3,89	3,72	3,85	0,32
15	masculino	13,29	13,08	13,08	0,30	13,13	13,17	13,17	0,57	3,14	3,07	3,07	0,92
15	feminino	11,42	11,23	11,60	0,26	10,70	10,23	11,17	0,67	3,73	3,66	3,80	0,10
16	masculino	16,66	14,90	14,93	0,62	17,04	13,14	14,06	1,05	4,53	3,00	3,41	0,42
16	feminino	12,33	11,76	11,83	1,29	10,80	10,37	10,42	0,00	4,20	3,95	4,36	0,43
17	masculino	20,48	16,20	18,27	0,08	20,76	15,85	16,13	0,35	6,57	3,14	4,07	0,35
17	feminino	13,76	14,24	14,38	0,64	10,92	12,31	12,61	0,25	4,24	4,04	4,69	0,05

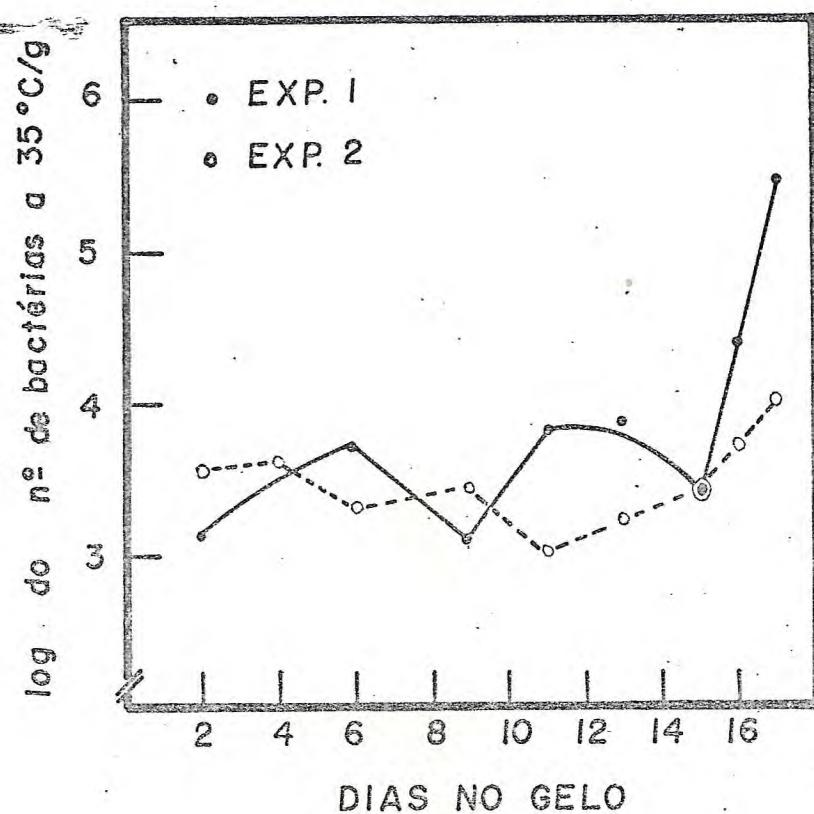


FIGURA 23 - Média do número de bactérias obtido à 35°C, expresso em logarítmico, relativa aos experimentos com lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

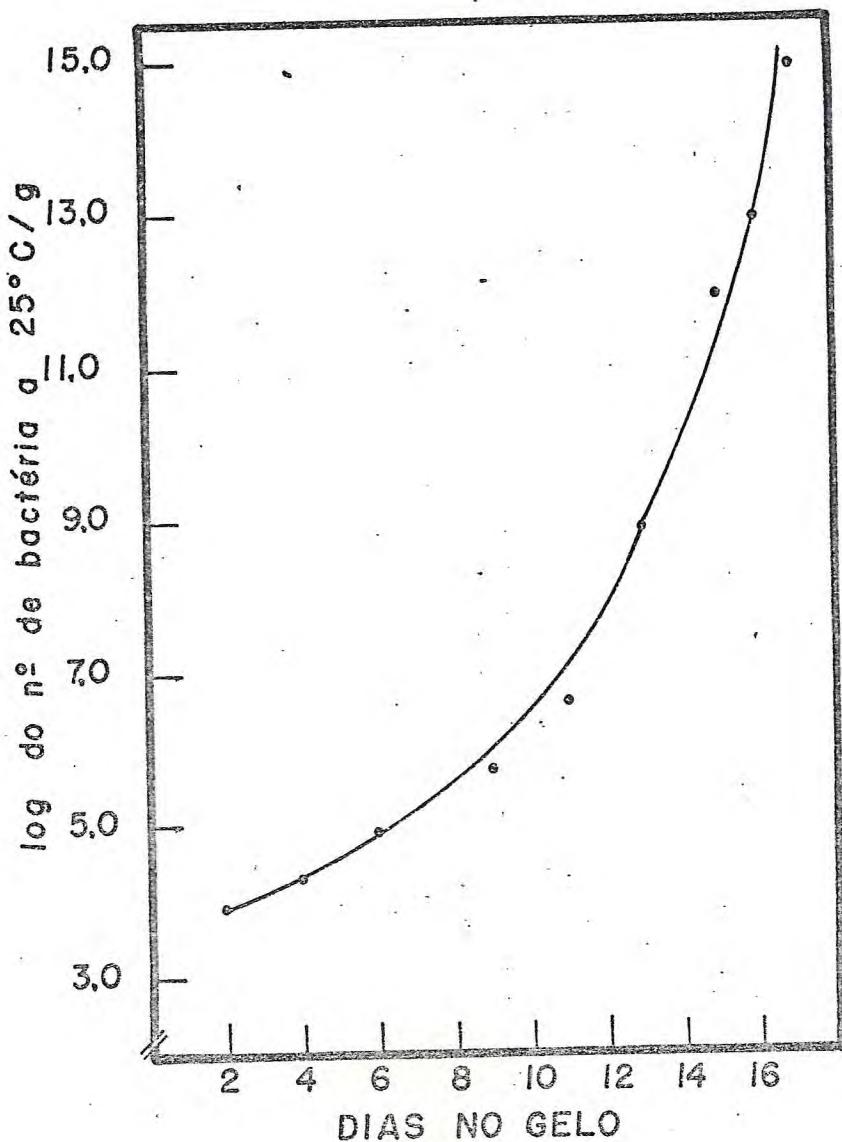


FIGURA 24 - Média do número de bactérias obtido à 25°C, expresso em logaritmo, relativa a lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

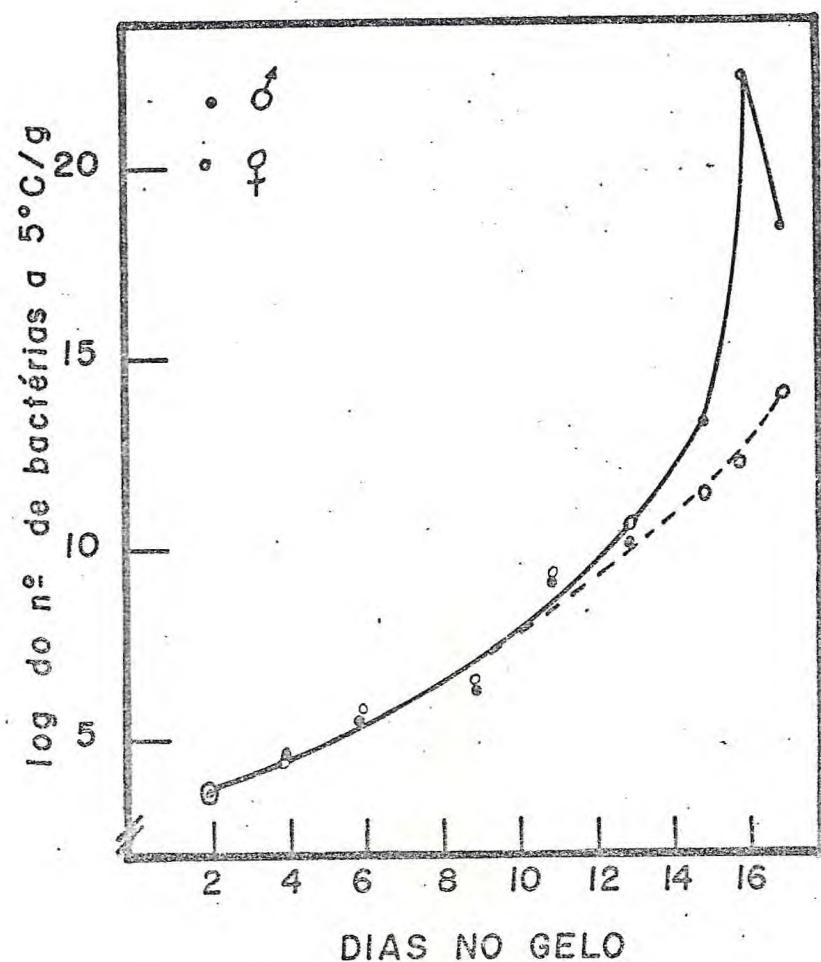


FIGURA 25 - Média do número de bactérias obtido à 5°C , expresso em logaritmo, relativa a machos e fêmeas da lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função dos dias de estocagem em gelo.

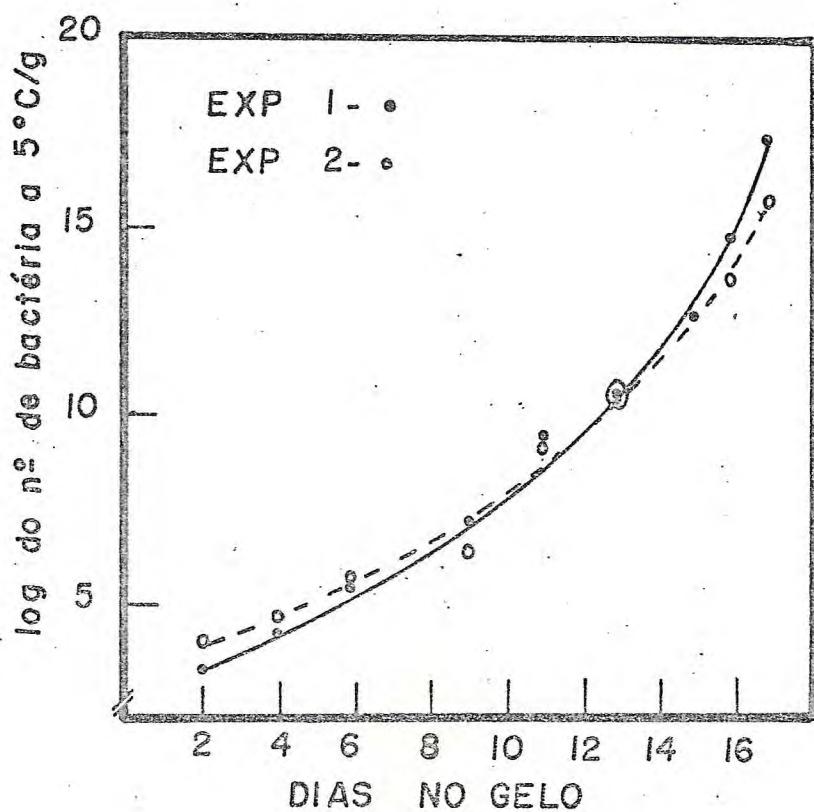


FIGURA 26 - Média do número de bactérias obtido à 5°C, expresso em logarítmico, relativa aos experimentos com lagosta *Panulirus laevicauda* (La treille), em função dos dias de estocagem em gelo.

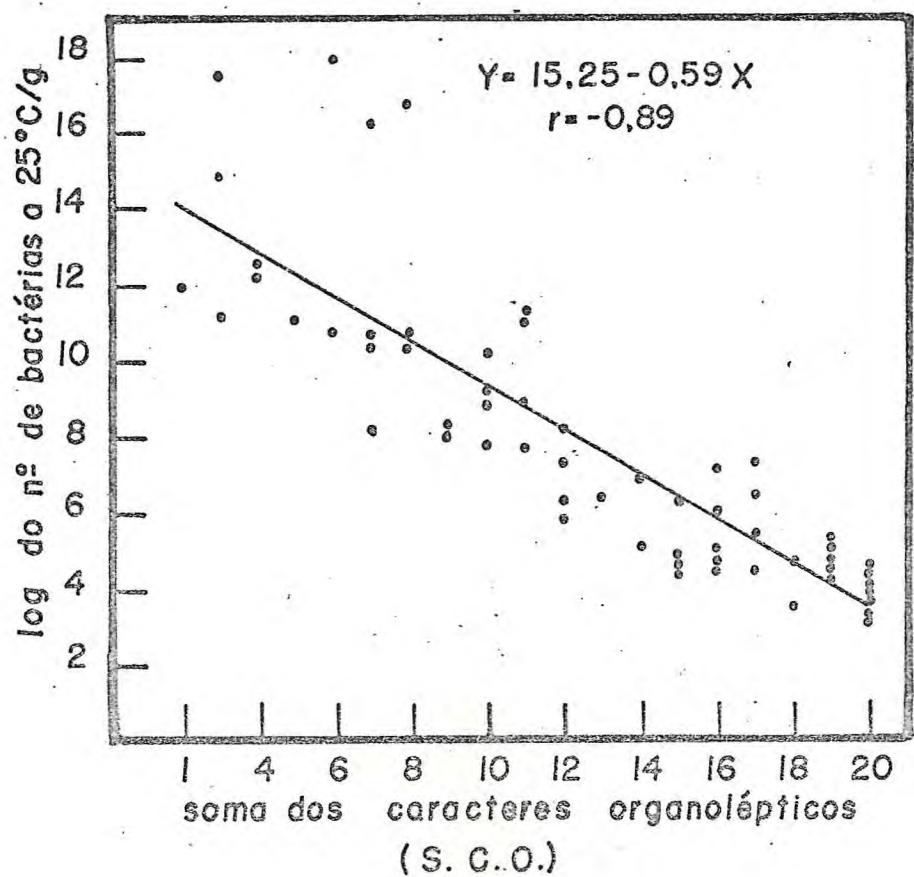


FIGURA 27 - Variação no número de bactérias obtido à 25°C, expresso em logarítmico, relativa à lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função da soma de caracteres organolépticos (S.C.O.).

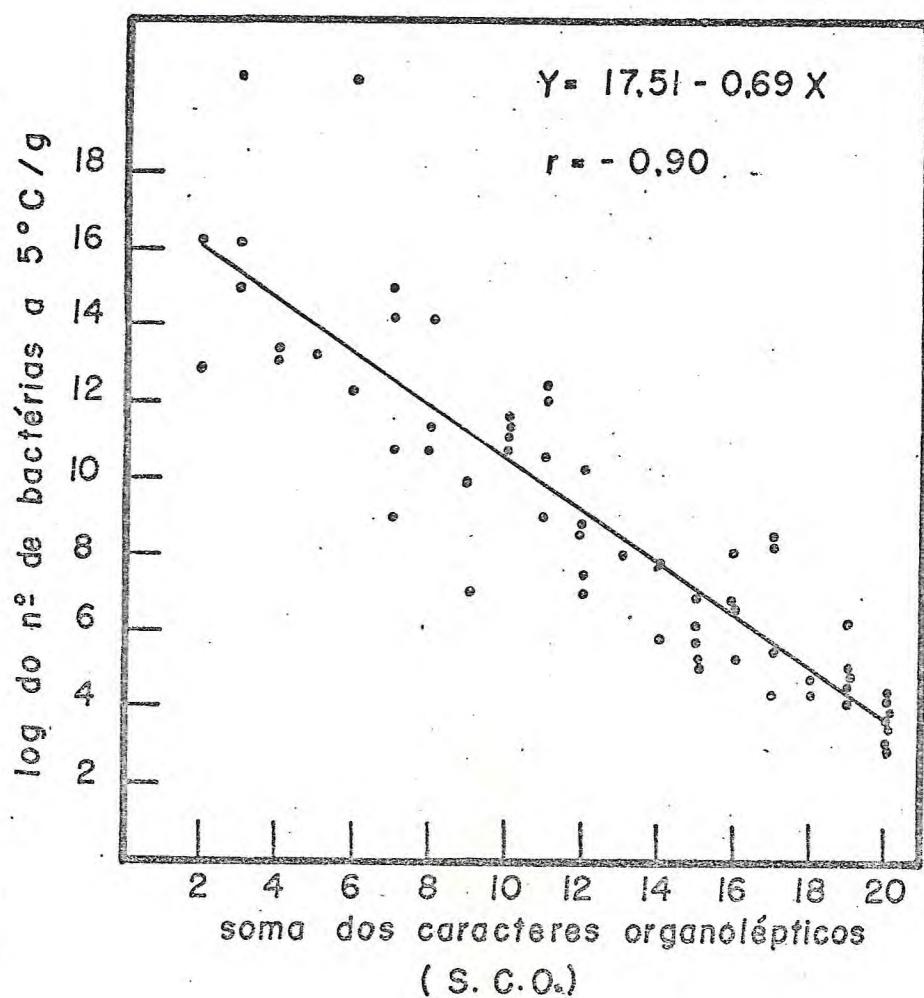


FIGURA 28 - Variação no número de bactérias obtido à 5°C, expresso em logaritmo, relativa à lagosta *Panulirus laevicauda* (Latreille), em função da soma de caracteres organolépticos (S.C.O.).

portamentos evolutivos destas populações foram muito semelhantes, como mostram as FIGURAS 21 e 22. Não se acredita que essas diferenças significativas nas populações sejam relacionadas com fatores intrínsecos, de caráter fisiológico ou bioquímico, mas certamente uma consequência da diferença da carga inicial de bactérias e das condições de tratamento ao longo do experimento, vez que só ocorreu em populações determinadas a 5°C.

Na TABELA 9, constata-se que a correlação linear, segundo Pearson, entre o logarítmico do número de bactérias obtido a 5°C e S.C.O. foi o que apresentou valor mais elevado, da ordem de $r = 0,9032$ entre todos os parâmetros utilizados na avaliação da qualidade da lagosta, sendo que o crescimento a 25°C apresentou um índice de correlação com a S.C.O. de $r = 0,8476$, bem inferior ao acima citado.

Nas FIGURAS 27 e 28 estão representadas as expressões lineares correspondentes às relações entre carga bacteriana a 5°C e 25°C e a S.C.O. Nestas figuras procura-se estabelecer os valores máximos de bactérias permitidos para lagostas estocadas em gelo, utilizando-se como critério o ponto de interseção formado pela reta levantada a partir do ponto 10 da S.C.O. e a reta representativa da correlação. Observa-se que para a contagem de bactérias a 25°C, este ponto de interseção corresponde ao valor logarítmico de 9,4 ou 251×10^7 bactérias/g, enquanto que a 5°C o ponto de interseção corresponde ao valor logarítmico de 10,6 ou 398×10^8 bactérias/g. No 13º dia de estocagem, todos os resultados referentes à população bacteriana determinada à 25°C, apresentaram-se abaixo do valor estipulado acima, enquanto que aqueles relativos à população bacteriana determinada a 5°C, estiveram acima de 10^8 bactérias/g em 50% das amostras analisadas.

Considerando, pois, as relações entre carga bacteriana e S.C.O., poder-se-ia especular que lagostas conservadas em gelo, nas condições dos experimentos realizados, seriam, consideradas aceitáveis para consumo quando a população bacteriana determinada a 5°C e 25°C não ultrapassasse

a 10^9 e 10^{10} bactérias/g, respectivamente. Estes dados são conflitantes com os mencionados no ICMSF (1978), no CNNPA (1978) e nas Normas Técnicas Especiais para Alimentos e Bebidas (São Paulo - Secretaria de Estado da Saúde, 1979), que estipulam para peixe fresco uma contagem máxima da ordem de 10^6 /g. Por este critério, no 9º dia de estocagem 38% e 50% das lagostas seriam consideradas inaceitáveis quando a população bacteriana fosse determinada a 25°C e 5°C, respectivamente. Entretanto, nesse dia todas as amostras apresentaram-se com a S.C.O. superior a 14 que, segundo a TABELA 6, indicaria que 71,5% das lagostas receberia, o conceito Bom. Alguns autores também têm constatado que, apesar de uma alta carga bacteriana, o pescado ainda conserva características de aceitabilidade (WATANABE, 1962); LEITÃO *et al.* (1976).

Segundo RONSIVALLI & CHARM (1975), a deterioração do pescado depende do número de bactérias e principalmente da espécie, uma vez que há grande variação no comportamento das bactérias em relação à capacidade de deterioração. Isto indica que a validade de contagens totais na avaliação da qualidade do pescado é limitada pela natureza da microflora contaminante. LISTON apud LEITÃO *et al.* (1976) menciona que as bactérias deterioradoras do pescado geralmente fazem parte da microflora natural, representada principalmente por bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Achromobacter* (GILLESPIE & MACRAE, 1975; LEITÃO *et al.* 1974; SHEWAN *et al.* 1971); no entanto, durante o armazenamento, sensíveis modificações podem ocorrer nas espécies predominantes (LEITÃO *et al.* 1976). É possível que nas lagostas estocadas, a flora bacteriana contivesse pequena participação de bactérias deteriorativas até o 13º dia de estocagem, o que explica a elevada população bacteriana neste dia sem que ainda houvesse sinais incontestes de deterioração. Seria imprudência, entretanto, que a indústria recebesse lagostas que embora naquele momento estivesse em condições aceitáveis mas na iminência de atingir o limite de aceitabilidade, uma vez que o tempo entre a recepção da mesma e seu congelamento poderia ser suficiente para ocasionar

a sua inaceitabilidade.

As TABELAS 15 e 16 mostram os dados relativos às determinações de coliformes totais e fecais, *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella*.

De um modo geral, as coliformes totais variaram irregularmente ao longo do experimento e somente três amostras mostraram ser positivas para o NMP de coliformes fecais. As diferenças nas contagens de coliformes totais podem ser atribuídas à variação entre amostras, mas os resultados não indicam ter havido desenvolvimento dessas bactérias. Este fato é relacionado com a própria característica das coliformes que, sendo mesófilas (JAY, 1973), não estariam em condições ideais para o seu crescimento. Segundo LEITÃO *et al.* (1976), as determinações de coliformes totais e fecais têm pouco ou nenhum valor na avaliação da qualidade do pescado estocado a baixa temperatura. Sua importância seria na indicação de algumas fontes de contaminação fecal, embora em alimentos crus e equipamentos processadores de alimentos, segundo ICMSF (1978), várias espécies de Enterobacteriaceae persistem mais tempo do que *Escherichia coli*.

O termo coliforme inclui a *E. coli* e várias espécies de outros gêneros de Enterobacteriaceae. Na prática, conforme ICMSF (1978), as coliformes são microrganismos que são detectados pelo "teste das coliformes", enquanto que o termo coliforme fecal implica na presença de *E. coli*. Uma vez que somente três amostras apresentaram positividade para o teste de NMP de coliformes fecais tem-se uma prova de que as lagostas não tiveram um processamento e/ou manipulação inadequados.

Ainda nas TABELAS 15 e 16, observa-se que não foi contatada a presença de *Salmonella* em qualquer amostra. A sua presença implicaria em grave problema de saúde pública, já que toda *Salmonella* em alimento tem caráter patogênico (JAY, 1973).

Apenas cinco das amostras apresentaram colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, sendo todas estafilocoagula-

TABELA 15 - Dados bacteriológicos de fêmeas de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille) estocadas em gelo em laboratório.

Dias	Primeiro Experimento						Segundo Experimento					
	no gelo	Nº de co- liformes totais /100g	Nº de co- liformes fecais /100g	Nº de co- liformes St.aureus /g	Prova de coagulase para St. aureus	Pesquisa de Salmonella em 25g	Nº de co- liformes totais /100g	Nº de co- liformes fecais /100g	Nº de co- liformes St.aureus /g	Prova de coagulase para St. aureus	Pesquisa de Salmonella em 25g	
02	0	0	0	(-)	negativo	0	0	0	(-)	negativo	"	
02	0	0	0	(-)	"	900	0	0	(-)	"	"	
04	0	0	0	(-)	"	900	0	0	(-)	"	"	
04	0	0	0	(-)	"	400	0	0	(-)	"	"	
06	900	0	0	(-)	"	40.400	0	0	(-)	"	"	
06	0	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"	
09	0	0	0	(-)	"	2.300	0	0	(-)	"	"	
09	0	0	0	(-)	"	900	0	0	(-)	"	"	
11	400	0	0	(-)	"	900	0	0	(-)	"	"	
11	0	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"	
13	900	400	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"	
13	900	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"	
15	2.000	0	0	(-)	"	4.300	0	0	(-)	"	"	
15	4.300	0	0	(-)	"	4.300	0	0	(-)	"	"	
16	2.300	400	0	(-)	"	0	0	100	Positivo	"	"	
16	2.300	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"	
17	900	0	0	(-)	"	4.000	0	0	(-)	"	"	
17	900	0	0	(-)	"	900	0	0	(-)	"	"	

TABELA 16 - Dados bacteriológicos de machos de lagosta da espécie *Panulirus laevicauda* (Latreille) estocadas em gelo em laboratório.

Dias	Primeiro Experimento					Segundo Experimento					
	nº	Nº de co- liformes totais /100g	Nº de co- liformes fecais /100g	St.aureus /g	Prova de coagulase para St. aureus	Pesquisa de Salmonella em 25 g	Nº de co- liformes totais /100g	Nº de co- liformes fecais /100g	St.aureus /g	Prova de coagulase para St. aureus	Pesquisa de Salmonella em 25 g
02	4.000	0	0	(-)	negativo	900	0	0	(-)	negativo	"
02	4.000	4.000	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"
04	0	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"
04	0	0	0	(-)	"	230	0	0	(-)	"	"
06	0	0	0	(-)	"	4.000	0	0	(-)	"	"
06	400	400	0	(-)	"	900	0	0	(-)	"	"
09	0	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"
09	0	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"
11	0	0	3.750	Positivo	"	4.000	0	400	Positivo	"	"
11	0	0	17.700	Positivo	"	900	0	3.300	Positivo	"	"
13	0	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"
13	0	0	0	(-)	"	0	0	0	(-)	"	"
15	0	0	0	(-)	"	400	0	0	(-)	"	"
15	0	0	0	(-)	"	400	0	0	(-)	"	"
16	0	0	0	(-)	"	400	0	200	Positivo	"	"
16	0	0	0	(-)	"	900	0	0	(-)	"	"
17	0	0	0	(-)	"	400	0	0	(-)	"	"
17	0	0	0	(-)	"	1.500	0	0	(-)	"	"

se positivas (TABELAS 15 e 16). A presença de *S. aureus* em alimentos, na maioria das vezes, pode ser considerada como indicadora de contaminação originada de manipuladores, tendo em vista que estes, freqüentemente se mostram portadores dessa bactéria, tanto nas fossas nasais e boca, quanto na pele (ICMSF, 1978). Considerando o limite máximo permitido da presença de *S. aureus* em alimentos, na ordem de 10^3 , conclui-se que 3 amostras seriam consideradas impróprias para o consumo.

5 - CONCLUSÕES

1. As variáveis odor, textura, Hx, S.C.O., TMA, e as contagens bacterianas a 5° e 25°C quando submetidas a análise de variância, mostraram-se diferentes quanto aos experimentos e sexos. O BVT e a cor, mostraram-se diferentes apenas em relação ao experimento. A contagem bacteriana a 35°C somente em relação ao sexo.

2. O modelo linear foi o que melhor se ajustou aos valores observados para as variáveis, cor, odor, textura e S.C.O. todas relacionadas com os dias de estocagem.

3. Das variáveis estudadas as que melhor se correlacionaram com a S.C.O., em ordem decrescente foram: contagem padrão em placas a 5°C, Hx, BVT e contagem padrão em placas a 25°C.

4. O modelo linear foi o que melhor se ajustou aos valores observados para as variáveis pH, Hx, contagem bacteriana obtida a 5°C e 25°C relacionados com a S.C.O.

5. O modelo alométrico ($Y = kX^b$) foi o que melhor se ajustou aos valores observados para as variáveis BVT e TMA, ambas relacionadas com a S.C.O.

6. As lagostas da espécie *Panulirus laevicauda* permaneceram em estado de aceitabilidade para o consumo até o 13º dia de estocagem em gelo.

7. No 13º dia a S.C.O. apresentou um valor médio de 10, considerado como o limite de aceitabilidade. Em decorrência deste parâmetro foi considerada própria para o consumo lagostas com valores inferiores a 30 mg/100g para BVT; 2,0

mg/100g para TMA; $1,75\mu$ mol/g para Hx; 10^9 e 10^{10} bactérias/g para contagens bacterianas obtidas a 25 e $5^\circ C$, respectivamente.

8. Das variáveis químicas estudadas foi a Hx que apresentou uma variação mais coerente em relação aos dias de estocagem em gelo.

9. Para maior segurança na determinação da qualidade da lagosta *Panulirus laevicauda* deverão ser usados além da Hx, outros parâmetros que possam ajudar neste diagnóstico como o BVT, pH e TMA, por ordem de importância. A contagem da população bacteriana a 5° e $25^\circ C$ torna-se imprescindível para este objetivo.

10. A população bacteriana obtida a $35^\circ C$ não serve como critério para estipular a carga bacteriana de lagosta em gelo e, por conseguinte não é indicada para a avaliação da qualidade da lagosta *Panulirus laevicauda*.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMANO, K. & YAMADA, K. The biological formation of formaldehyde in cod flesh. In KREUZER, R. ed. The technological of fish utilization, London, Fishing News, FAO, 1965. p. 73-8.
- AMANO, K. & YAMADA, K. Formaldehyde formations from trimethylamine oxide by the action of pyloric caeca of cod. Bull. Jap. Soc. Sic. Fish, 30 (8): 639-645, 1964.
- ANALYTICAL METHODS COMMITTEE. Fish Products Sub-Committee., Recommended general methods for the examination of fish and fish products. Analyst, 104: 434-50, 1979.
- ANGELOTTI, R. Staphylococcal intoxications. In RIEMANN, H. ed. - Food-borne infections and intoxications. New York, Academic Press, 1969.
- ANGELOTTI, R. et al - Time temperature effects on Salmonelae and Staphylococci in foods. I. Behavior in refrigerated foods. II - Behavior at warm holding temperatures. Am. J. Publ. Hlth 51: 76-88, 1961.
- ARAÚJO, G.A.; VIEIRA, G.H.F.; VIEIRA, R.H.S.F. & TELLES, F.J.S. Redução do óxido de trimetilamina por bactérias. Arq. Ciênc. Mar, Fortaleza, 15 (2): 101-3, 1975.
- BABBITT, J. K.; CRAWFORD, D. L.; LAW, D. K. Decomposition of trimethylamine oxide and changes in protein extractability during frozen storage of minced and intact hake Merluccius muscle. J. Agr. Food Chem, 20 (5): 1052, 1972.

BAILEY, M.C.; FIEGER, E.A. & NOVAK, A.F. Objective tests applicable of quality studies of iced stored shrimp. Food Res. 21: 611, 1956.

BAINES, C. R. Tecnological problems of measuring degree of freshness of wet fish and problems of quality control requiring more knowledge from fundamental research; the technology of fish utilization. London, Fishing News, FAO, 1965. p. 143.

BAIRD PARKER, A.C. Gram positive cocci. In BUCHANAN, R.E. & GIBBONS, N. E. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1974. p. 478-528.

BEATTY, S. A. Studies of fish spoilage. 2. The origin of trimethylamine produced during the spoilage of cod muscle press juice. J. Fish. Res. Bd. Canada, 4: 63, 1938.

BEATTY, S.A. & COLLINS, V.K. Studies of fish spoilage. VI. The breakdown of carbohydrates, proteins and amino acids during spoilage of cod muscle press juice. J. Fisheries Res. Board Can. 4: 412-23, 1940.

BENDALL, J.R. The shortening of rabbit muscles during Rigor Mortis: its relation to the breakdown of adenosine triphosphate and creatine phosphate in muscle contraction. J. Physiol., 114: 71, 1951.

BETHEA, S. & AMBROSE, M.E. Comparison of pH, trimethylamine content, and picric acid turbidity as indices of iced shrimp quality. Comm. Fish. Rev., 24 (3): 7-10, 1962.

BOTTA, J. R.; NOONAN, P. B. & LAUDER, J. T. Chemical and sensory analysis of ungutted offshore (nonspawning) capelin (*Mallotus villosus*) stored in ice. J. Fish. Res. Board. Can., 35: 976-980, 1978

BROWN, L.D. & DORN, R.C. Fish, shellfish and human health. J. Food Protection. 40 (10): 712-717, 1977.

BURT, J.R. & SIMMONDS, C.K. Hypoxanthine as an indicator of freshness in iced cape hake before freezing and after thawing. In KREUZER, R. ed. Fishing inspection and quality control. London, Fishing New, FAO, 1971. p. 196-202.

BYSTEDT, J.; SWENNE, L.; AAS, H. W. Determination of trimethylamine oxide in fish muscle. J. Sci. Food Agric., 10: 301-4, 1959.

CALAND-NORONHA, M.C. & MORAIS, J.O. Aspectos da poluição marinha em frente ao município de Fortaleza. Arq. Ciênc. Mar, Fortaleza, 12 (2): 109-15, 1972.

CAMPBELL, L.L. Jr. & WILLIAMS, O.B. The bacteriological of gulf coast shrimp. IV. Bacteriological, chemical and organoleptic changes with iced storage. Food. Technol., 6: 125-26, 1952.

CANN, D.C. In KREUZER, R. Fishery Products. London, Fishing News Books, 1976. p. 338.

CASTELL, C. H. Spoilage problems in fresh fish production. Bull. Fish. Research Bd. Canada, 100: 1-31, 1954.

CASTELL, C. H. & ANDERSON, G. W. Bacteria associated with spoilage of cod fillets. J. Fish. Res. Bd. Canada, 7 (6): 370-77, 1948.

CASTELL, C.H.; NEAL, W. & SMITH, B. Formation of dimethylamine in stored frozen sea fish. J. Fish. Res. Bd. Canada, 27: 1685, 1970.

CASTELL, C.H.; SMITH, B. & DYER, W. J. Simultaneous measurements of trimethylamine and dimethylamine in fish, and their used for estimating quality of frozen-stored gadoid fillets. J. Fish. Res. Bd. Canada, 31(4):383-89, 1973a.

CASTELL, C.H.; SMITH, B.; DYER, W.J. Effects of formaldehyde on salt extractable proteins of gadoid muscle. J. Fish. Res. Board. Can., 30: 1205-13, 1973.

CASTELL, C.H.; SMITH, B. & NEAL, W. Production of DMA in muscle species of gadoid fish during frozen storage, especially in relation to presence of dark muscle. J. Fish. Res. Bd. Can., 28: 1, 1971.

CASTRO, L.A.B. Trimetilamina óxido (TMAO) no camarão sete barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). Bol. Inst. Pesca, 6: 105-10, 1979.

CATTANEO, P.; PAGLIARO, V. & CANTONI, C. Ipoxantina e stato di freschezza delle carni. Industrie alimentari: 222-26, 1979.

CHANG, O.; CHEUK, W.L.; NIKELSON, R.; MARTIN, R. & FINNE, G. Indole in shrimp: effect of fresh storage temperature, freezing and boiling. J. Food Sci. 48:813-16, 1983.

COBB, B.F.; ALANIZ, I. & THOMPSON, C.A. Biochemical and microbial studies on shrimp: volatiles nitrogen and amino nitrogen analysis. J. Food Sci. 38:431-36, 1973.

COBB, B. F.; YEH, C. S.; CRISTOPHER, F. & VANDERZANT. Organoleptic bacterial and chemical characteristics of penaeid shrimp subjected to short-term high-temperature holding. J. Food. Protection, 40: 256, 1977.

COLLINS, V.K. Studies of fish spoilage. 8. Volatile acid of cod muscle press juice. J. Fish. Res. Bd. Canada, 5:197, 1941.

COMISSÃO NACIONAL DE NORMAS E PADRÕES PARA ALIMENTOS. Resolução nº 13/78: revisão dos Padrões Microbiológicos estabelecidos pela resolução nº 34/77.

COX & PEARSON. Estimation of total volatile bases (TVB) in squid. 1962. Apud WOYEWODA, A.D. & KE, P.J. Laboratory quality assessment of Canadian atlantic squid. Fisheries and Marine Service Technical Report (902): 11, 1980.

CREELMAN, V. & TOMLINSON, N. Inosine in the muscle of Pacific salmon stored in ice. J. Research Board Can., 17: 449, 1960.

DACK, G. M. Food poisoning. 3th ed. Chicago, University of Chicago Press, 1964.

DELAUNAY, H. Excretion. In THE BIOLOGY of marine animals. 2nd. ed. London, Isaac Pitman, 1967. p. 276-301.

DIEMAIR, W. & SCHAMS, F. Die anwendung physikalischer untersuchungsmethoden bei der analyse von flüchtigen Geruchsund gerchmacksstoffen in lebensmitteln. Z. Anal. Chem. 189: 161-75, 1962.

DINGLE, J. R.; HINES, J. A. Protein instability in minced flesh fillets and frames od several commercial Atlantic fishes during storage at 5°C. J. Fish. Res. Bd. Can., 32 (6): 775, 1975.

DINGLE, J.R.; HINES, J.A. & FRASER, D.I., Postmorten degradation of adenine nucleotides in muscle of the lobster, Homarus americanus. J. Food Sci., 33: 100-3, 1968.

DYER, W. J.; FRASER, D. I.. & LOHNES, D. P. Nucleotide degradation and quality in ordinary and red muscle of iced and frozen swordfish (Xiphias gladius). J. Fish. Res. Bd. Canada, 23: 1821-33, 1966.

EDDIE, G.C. A sistem approach to qualit control and inpection in the fish industry. In KREUZER, R. Fishing inpection and quality control. London, Fishing News, FAO, 1971. p. 160-9.

- EDDY, B.P. The use and meaning of the term "psychrophilic". J. Appl. Bacteriol. 23: 189, 1960.
- ELLIOT, R.P. Limitation of microbial levels in chilled and frozen foods. In MICROBIOLOGICAL quality of foods. New York, Academic Press, 1963.
- ESAM, N.A.M.; HENDERSON, H.M. & TOWSEND, R.J. Biochemical of foods. New York, London, Academic Press, 1971.
- FARBER, L. & LERKE, P.A. A review of the value of volatile reducing substances for the chemical assessment of the freshness of fish and fish products. Food. Technol., 12: 677-80, 1958.
- FARBER, L. & LERKE, P.A. Studies on the evaluation of freshness and on the estimation of the storage life of raw fishery products. Food. Technol., 15(4): 191-6, 1961.
- FIEGER, E.A.; FRILOUX, J.J. A comparison of objective tests for quality of gulf shrimp. Food. Technol., 8:35-7, 1954.
- FLICK, G.J. & LOVELL, R.T. Postmortem biochemical changes in the muscle of gulf shrimp, Penaeus aztecus. J. Food. Sci., 37: 609-11, 1972.
- FLORES, S.C. & CRAWFORD, D.L. Postmortem quality changes in iced Pacific shrimp (Pandalus jordani). J. Food. Sci., 38: 575-9, 1973.
- FRASER, D.I.; DYER, W.J.; WEINSTEIN, H. M.; DINGLE, J.R. & HINES, J.A. Glucolytic metabolites and their distribution at death in the white and red muscle of cod following various degrees of antemortem muscular activity. Canadian J. Biochem., 44: 1015-33, 1966.
- FRASER, D. I.; SIMPSON, S. G. & DYER, W.J. Very rapid accumulation of hypoxanthine in the muscle of redfish stored in ice. J. Fish. Res. Bd. Canada, 25 (4):817-21, 1968.

FRAZIER, W.C. Microbiologia de los alimentos. Zaragoza, Editorial Acribia, 1972. p. 511.

GELDREICH, E.E. Sanitary significance of fecal coliforms in the environment. Washington, Dep. of the Interior. Federal Water Pollution Control Administration, 1966.

GILBERT, R.I. Staphylococcal food poisoning and botulism. Postgrad. Med. J., 50: 603-11, 1974.

GILLESPIE, N.C. & MACRAE, I.C. The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage. Jour. Appl. Bacteriol. 39: 91-100, 1975.

GRONINGER, H.S. Fish spoilage. I. Determination of bacterial metabolites by gas chromatography. Comm. Fish. Rev., 20: 23-6, 1958.

GRUGER JUNIOR, E.H. Chromatographic analyses of volatile amines in marine fish. J. Agr. Foods, Washington, 20(4): 781-5, 1972.

HARADA, K. Studies on enzymes forming formaldehyde and dimethylamine in fish and shellfish. J. Shimonoseki Univ. Fisheries, 23 (3): 163, 1975.

HILTZ, D.F.; DYER, W.J. & DINGLE, J.R. Variation of biochemical quality indices by biological and technological factors. In KREUZER, R. Fish inspection and quality control. London, Fishing New Books, FAO, 1971. p. 192-3.

HILTZ, D.F.; DYER, W.J. & LEMON, D.W. Some properties of fillets and minced flesh of silver hake (*Merluccius bilinearis*) in frozen storage. New Series Circular. Fisheries and marine service. Dep. of the Environment. Ontario, Canada (46), 1974.

HILTZ, D.F.; LALL, B.S.; LEMON, D.W. & DYER, W.J. Deteriorative changes during frozen storage in fillets and minced flesh of silver hake processed from round fish held in ice and refrigerated sea water. J. Fish. Res. Bd. Can., 33: 2560, 1976.

HUGHES, R. B. Chemical studies on the herring (*Clupea harengus*). I. Trimethylamine oxide and volatile amines in fresh, spoiling and cooked herring flesh. J. Sci. Fd. Agric., 10 (8): 431-6, 1959.

HUXLEY, H.E. Muscle Cells. In The Cell. New York, Academic Press, 1960. v. 4, p. 365.

INGRAM, M. Psychrophilic and psychrotropic microorganism. Ann. Inst. Pasteur, Lille, 15: 111, 1966.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganisms in foods. I: Their significance and methods of enumeration. 2th. ed. Toronto, University of Toronto Press, 1978.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOOD. Microorganisms in foods. II. Factors affecting life and death of microorganisms. New York, Academic Press, 1980.

IYENGAR, J.R.; VISWESWARIAH, K.; MOORJANI, M.N. & BHATIA, D.S. Assessment of the progressive spoilage of ice-stored shrimp. J. Fish. Res. Bd. Canada, 17(4): 475-85, 1960.

JAHNS, F.D.; HOME, J.L.; CONDURI, R.J. & RAND, A.G. A rapid visual enzyme teste to assess fish freshness. Food Technol. 30: 27, 1976.

JAY, J.M. Microbiologia moderna de los alimentos. Zaragoza, Editorial Acribia, 1973. 319p.

JENNINGS, W.E. Food-borne illness. In LIBBY, J. A. ed. Meat Hygiene. 4th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1975. p. 261-295.

JONES, B.W. & MACKIE, I.M. An application of eletrophoretic analysis of muscle myogens to taxonomic studies in the genus *Merluccius*. In: KREUZER, R. Fish inspection and quality control. London, Fishing News Books, FAO, 1970. p. 202.

JONES, N. R. Hypoxanthine and other purine-containing fractions in fish muscle as indices of freshness. In KREUZER, ed. The technology of fish utilization. London, Fishing News, 1965. p. 179-183.

JONES, N. R. & MURRAY, J. Degradation of adenine and hypoxanthine nucleotide in the muscle of chill-stored trawled cod (*Gadus callarias*). J. Sci. Food Agr., 13: 475, 1962.

JONES, N.R.; MURRAY, J.; LIVINGSTON, E.I. & MURRAY, C.K. Rapid estimations of hypoxanthine concentrations as indices of the freshness of cill-stored fish. J. Sci. Food Ag., 15: 763-74, 1964.

KONOSU, S.; WATANABE, K. & SHIMIZU, T. Distribution of nitrogenous constituents in the muscle extracts of eight species of fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 40(9):909, 1974.

KRAMER, D.E. & NORDIN, D.M.A. Storage chracteristics small and large Walleye Pollock (*Theragra chalcogramma*) held in ice. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37: 1458-62, 1980.

LAYCOCK, R. A. & REGIER, L. W. Trimettrylamine-producing bacteria on haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) fillets during refrigerated storage. J. Fish. Res. Bd. Canada, 28: 305-9, 1971.

LEE, C.A. & WEBSTER, H.L. Studies on buf quality. Part 10. Effect of temperature freezing, frozen storage, thawing and pH on the rate of hypoxanthine production. C.S.I.R.O. Div. Food Preserv. Technical Paper (30), 1963.

LEITÃO, M.F.F.; DELAZARI, I. & MORAES, C. Microbiologia do camarão-rosa (*Penaeus brasiliensis*) congelado. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 5: 17-34, 1973/1974.

LEITÃO, M.F.F.; FALOMIR, C. O.; SANTOS, L. C.; MIYA, E.E.; SHIROSE, I.; KAI, M. Transformações microbiológicas, químicas e organolépticas em sardinhas (*Sardinella aurita*) armazenada sob refrigeração. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 7: 117-37, 1976.

LEITÃO, M.F.F.; ROMEU, A.P. & CRUZ, R.R. Coliformes e coliformes fecais como indicadores de contaminação. I. Presença no solo, água e vegetais. Rev. Bras. Tec., Campinas, 4: 207-11, 1973.

LISTON, J. Quantitative variations in the bacterial flora of flatfish. J. Gen. Microbiol. 15: 305-14, 1956.

LISTON, J. et al. Bases químicas e bacteriológicas de las alternaciones del pescado. In: Tecnología de la industria pesquera. Zaragoza, Editorial Acribia, 1968. p. 403-16.

MARTIN, R. E.; GRAY, R. J. H.; PIERSON, M. D. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. Food Technol., Chicago, 32 (5): 185-98, 1978.

MENDES, M.H.M. Evolução das bases voláteis totais e da trimetilamina em pescados e o seu uso como indicador de qualidade. São Paulo, USP. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 1974. 62p.

MICHENER, M.D. & ELLIOT, R.P. Minimum growth temperatures for food-poisoning, fecal-indicator, and psychrophilic microorganisms. Advan. Food. Res., 13: 349, 1964.

MILLER III, A.; SCANLAN, R.A.; LEE, J.S. & LIBREY, L.M. Quantitative and selective gas chromatographic analysis of dimethylamine and trimethylamine in fish. J. Agr. Food Chem., Washington, 02(3): 709-11, 1972.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Brasília, 1981.

MOORJANI, M.N.; IYENGAR, J.R.; VISWESWARIAM, K.; BHATIA, D.S. & SUBRAHNANYAN, V. Changes in total base, volatile reducing substances and bacterial counts as indices of freshwater fish spoilage. Food Technol., 12: 385-6, 1958.

MORI, E.E.M. Emprego de delineamentos estatísticos em testes organolépticos. Boletim Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos (49): 40-56, 1979.

MURRAY, C.K. & GIBSON, D.M. An investigation of the method of determining trimethylamine in fish muscle extracts by the formation of its picrate salt. Part I. J. Fd. Technol., 7: 35-46, 1972.

NAUS, K.M. & DAVIES, R.E. Changes in phosphate compounds during the development and maintenance of Rigor Mortis. J. Biol. Chem. 241: 2918, 1966.

NEWBOLD, R.P. Changes associated with Rigor mortis. In the Physiology and biochemistry of muscle as a food. Madison, University of Wisconsin Press, 1966. p. 213.

NIVEN, C. F. Jr. & EVANS, J. B. Popular misconceptions concerning staphylococcus food poisoning. In. Res. Conf. Amer. Meat Inst., 7th., 1955. Proceedings, p. 73-7.

NORT, E. Industrialização do camarão. Rio de Janeiro, PNUD/FAO. Programa de Desenvolvimento Pesqueiro do Brasil, 1973. p. 38.

- OGAWA, M.; VIEIRA, G.M.F.; BASTOS, J.R.; CALAND-NORONHA, M.C.; ALVES, M.I.M. Estudo sobre a conservação de caudas da lagosta *Panulinus argus* (LATREILLE). Arq. Ciênc. Mar., Fortaleza, 10 (2): 159-63, 1970.
- PAIVA, M.P. Estudo sobre a pesca de lagostas no Ceará durante o ano de 1969. Arq. Ciênc. Mar., Fortaleza, 10 (1): 91-103, 1970.
- REAY, G.A. The nitrogenous extracts of fish. Rept Food Invest. Board. 69-71, 1937.
- RIED, A. Medicion de hipoxantine in la merluza com el método objetivo para establecer su frescura. Boletim Científico Instituto de Fomento Pesqueiro. Santiago do Chile, (18): 26, 1973.
- RONOLD, D.A. & JAKOBSEN, F. Trimethylamine oxide in marine products. J. Soc. Chem. Ind., 66: 106-6, 1947.
- RONSIVALLI, L.J. & CHARM, S.E. Spoilage and shelf life prediction of refrigerated dish. Marine Fisheries Rev., 37: 32-4, 1975.
- SAITO, T. & ARAI, K. Studies on organic phosphate in the muscle of aquatic animals. V. Changes in muscular nucleotides of carp during freezing and storage. Bull. Japan. Soc. Sci. Fisheries, 23: 265, 1957.
- SAKAGUCHI, M. & KAWAI, A. Induction of trimethylamine N-oxide reductase in Escherichia coli. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 41 (6): 661-5, 1975.
- SANTOS, C.A.M.L. dos. Aspectos da deterioração de cavalinha do Atlântico Norte (*Scomber scombrus*) armazenada em gelo. Boletim Informativo (8) Série Pesquisa (1), abr., 1978. DIPES. Ministério da Agricultura.

SÃO PAULO. Secretaria de Estado da Saúde. Normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. Decreto nº 12.486, de 20.10.1978. In. Regulamento da promoção, preservação e recuperação da saúde no campo de competência da Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, 1979.

SHARF, J.M. Métodos recomendados para o exame microbiológico de alimentos. São Paulo, Editora Polígonal, 1972. p. 257.

SHAW, D.H. & BOTTA, J.R. Preservation studies of inshore male capelin (*Mallotus villosus*) stored in ice. J. Fish Res. Board Can. 32: 2039-46, 1975.

SHENOUDA, S.Y.K. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. Advances in Food Research, 26: 275-311, 1980.

SHEWAN, J.M. The spoilage of haddocks stored in ice. Rept. Food. Invest. Board: 75-8, 1937.

SHEWAN, J.M. The spoilage of fish. Rept. Food Invest. Board: 79-87, 1938.

SHEWAN, J.M.; GIBSON, D.M. & MURRAY, C.K. The estimation of trimethylamine in fish muscle. In: KREUZER, R. Fish inspection and quality control. London, Fishing News Books, FAO, 1971. p. 192-3.

SHEWAN, J.M. & JONES, N.R. Chemical changes occurring in cod muscle during chill storage and their possible use as objective indices of quality. J. Sci. Food Agr., 8: 491-8, 1957.

SIGURDSSON, G.J. Comparison of chemical tests of the quality of fish. Anal. Chem., 19: 892-901, 1947.

SILLIKER, J.M. & GREENBERG, R.A. Laboratory methods. In: RIEMMANN, H. Food-borne infections and intoxications. New York, Academic Press, 1969.

SMITH, J.G.M.; HARDY, R.; McDONALD, I.; TEMPLETON, J. The storage of Herring (*Clupea harengus*) in ice, refrigerated sea water and at ambient temperature. Chemical and sensory assessment. J. Sci. Food. Agric., 31: 375 - 85, 1980.

SPINELLI, J. Effect of hypoxanthine on the flavor of fresh and stored low-dose-irradiated petrale sole (*Eopsetta jordani*) fillets. J. Food Sci., 30: 1063-7, 1965.

SPINELLI, J.; EKLUND, M. & MIYAUCHI, D. Measurement of hypoxanthine in fish as a method of assessing freshness. J. Food Sci., 29: 710-4, 1964.

SPINELLI, J. & KOURY, B. - Nonenzymic formation of dimethylamine in dried fishery products. J. Agric. Food. Chem., 27 (5): 1104-8, 1979.

STROUD, G.D.; EARLY, J.C. & SMITH, G.L. Chemical and sensory changes in ice Nephrops norvegicus as indices of spoilage. J. Fd. Technol. 17: 541-51, 1982.

SURGALLA, M.J. & HITE, K.E. A study of enterotoxin and alpha beta hemolysin production by certain *Staphylococcus* cultures. J. Infect. Dis., 76: 78-82, 1945.

SUYAMA, M. & SUZUKI, H. Nitrogenous constituents in the muscle extracts of marine elasmobranches. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 41 (7): 787, 1975.

TANIKAWA, E. & AKIBA, M. On the manufacture of crabmeat from *Paralithodes camtschaticus*. I. velocity of bacterial decomposition of the meat (in Japanese with English summary). Bull. Japan Soc. Sci. Fish. 21: 397-401, 1955.

- TARR, H.L.A. Trimethylamine formation in relation to the viable bacterial population of spoiling fish muscle. Nature, 142: 1078, 1938.
- TARR, H.L.A. Control of bacterial spoilage of fish. Studies. Fish. Res. Bd. Canada, Ottawa (889), 1964.
- THATCHER, F.S. & CLARK, D.S. Microorganisms in foods; their significance and methods of enumeration. Toronto, University of Toronto Press, 1968, 234p.
- TOKUNAGA, T. Studies on the development of dimethylamine and formaldehyde in Alaska pollock muscle during frozen storage. Bull. Hokkaido. Reg. Fish. Res. Lab., 30: 90, 1965.
- TORRY RESEARCH STATION ANNUAL REPORT, 1959.
- TORRY RESEARCH STATION ANNUAL REPORT, 1960.
- TORRY RESEARCH STATION ANNUAL REPORT, 1961.
- TOZAWA, K.E.; KAZUKO, E.; AMANO, K. Effect of dimethylamine on the value of trimethylamine determined by Dyer's method. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 36: 606-11, 1970.
- VAISEY, E.B. Chemical changes in nitrite-treated Atlantic cod fillets in relation to spoilage assessment. J. Fish. Res. Bd. Canada, 13 (4): 559-67, 1956.
- VANDERZANT, C. & JONHS, C.K. Thermoduric thermophilic and psychrotrophic (psychrophilic) bacteria. In STANDARD methods for the examination of dairy products. 13th ed. Washington, American Public Health Association, 1972.
- VELANKAR, N.K. & GOVINDAN, T.K. Trimethylamine oxide of marine prawns in the backwaters and in the sea of Cochin. Proc. Indian. Acad. Sci., 52B: 111-5, 1960.

VIEIRA, R.H.S.F. & CARDONHA, A.M.S. Estudos bacteriológicos da lagosta nas diversas fases de processamento. Arg. Ciênc. Mar., Fortaleza, 19 (1/2): 81-85, 1979.

VIEIRA, R.H.S.F. & TELLES, F.J.S. Estudo da flora bacteria na dos camarões *Xyphopenaeus kroyeri*(Heller) e *Penaeus schmitti* Burkenroad. Arg. Ciênc. Mar., Fortaleza, 17 (1): 41-43, 1977.

VYNCKE, W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloracetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. Fette-Seifen Anstrichmittel. 72: 1084, 1970.

WARTHESEN, J.J.; WALETZKO, P.T. & BUSTA, F.F. High-pressure liquid chromatographic determination of hypoxantine in refrigerated fish. J. Agric. Food. Chem., 28: 1308-9, 1980.

WATANABE, K. Nota sobre provas de gustação para a determinação da qualidade de peixes cozidos. Publicação Instituto Oceanográfico da USP, 168: 12, 1962.

WATANABE, K. - Physical characteristics and chemical composition of fresh bream, mudsucker, tiger-fish and barbel from lake Kariba. Fish Res. Bull.. Zambia, 5: 163-73, 1971.

WATANABE, E.; ANDO, K.; KARUBE, I.; MATSUOKA, H. & SUZUKI, S. Determination of hypoxanthine in fish meat with an enzyme sensor. J. Food. Sci., 48: 496-500, 1983.

WATSON, D.W. Studies of fish spoilage. H. the bacterial reduction of trimethylamine oxide. J. Fish. Res. Bd. Canada, 4: 252, 1939.

WILSON, G.S. & MILES, A.A. Principles of bacteriology and immunity. 5 ed. London, Edward Arnold, 1966, 1192p.

WOOD, A.J. & BAIRD, E.A. Reduction of trimethylamine oxide by bacteria. I. The Enterobacteriaceae. J. Fish. Res. Bd. Can., 6 (2): 194-201, 1943.

YAMADA, K. & AMANO, K. Studies on the biological formation of formaldehyde and dimethylamine in fish and shellfish. VII. Effect on methylene blue on the enzymatic formation of formaldehyde and dimethylamine from trimethylamine oxide. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 31: 1030-7, 1965.

YAMADA, K. & HARADA, K. Biological formation of formaldehyde and dimethylamine in fish and shellfish. VIII - Requirement of co-factor in the enzyme system. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 35: 227-31, 1969.