

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS/ PPG-CIPET

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE GELO OZONIZADO NA  
QUALIDADE DO TAMBAQUI RESFRIADO DURANTE  
ARMAZENAMENTO.

JOSÉ DOS SANTOS GOMES CARVALHO JUNIOR

Manaus

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS/ PPG-CIPET

JOSÉ DOS SANTOS GOMES CARVALHO JUNIOR

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE GELO OZONIZADO NA  
QUALIDADE DO TAMBAQUI RESFRIADO DURANTE  
ARMAZENAMENTO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, na linha de pesquisa Tecnologias de Uso de Recursos Pesqueiros para obtenção do título de Mestre.

**Orientador:** Prof. Dr. Antônio José Inhamuns da Silva

**Co-Orientador:** Prof. Dr. Joel Lima da Silva Júnior

Manaus

2017

JOSÉ DOS SANTOS GOMES CARVALHO JUNIOR

EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE GELO OZONIZADO NA  
QUALIDADE DO TAMBAQUI RESFRIADO DURANTE  
ARMAZENAMENTO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, na linha de pesquisa Tecnologias de Uso de Recursos Pesqueiros para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

---

Profº Dr. Pedro Roberto de Oliveira, DSc. (UFAM)  
Presidente

---

Profº Dr. Rogério Souza de Jesus, DSc (INPA)  
Membro

---

ProfºDr.Raimundo Felipe da Cruz Filho, DSc (UFAM)  
Membro

## DEDICATÓRIA

A minha família por constituir minha base, em especial Pai, Mãe e minha esposa Veriane Carvalho, no qual sem seu apoio o sonho não teria sido concretizado.

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Antônio José Inhamuns da Silva, o qual sempre se fez presente, disponível e atencioso nos momentos mais árduos dessa caminhada, meus mais sinceros agradecimentos. Ao professor Dr. Joel Lima da Silva Júnior por todas as sugestões e apoio ao longo do trabalho.

A toda equipe que compõe o Laboratório de Tecnologia do Pescado da UFAM, em especial ao Dr. Antônio Fábio Lopes de Souza, que em momento algum mediu esforços na hora de repassar seus vastos conhecimentos.

Aos companheiros de trabalho Paula Ribeiro, Ivama Maciel, Venâncio Nhanvoto e Cristiane Guimarães que se fizeram presentes em momentos importantes durante a caminhada.

Aos amigos Daniel Ladislau e Juliete Rocha, no qual tive a oportunidade de construir uma amizade forte e verdadeira, aonde juntos vieram proporcionar muitos momentos de descontração, lazer, felicidades além de se fazerem presentes nas minhas constantes agonias sofridas durante todo esse período de curso, deixo aqui os meus mais sinceros agradecimentos.

A minha amada esposa Veriane Carvalho, por toda paciência, incentivo, apoio, carinho e amor a mim concedidos, não só durante essa caminhada, mais durante todos os dias em que se fez presente em minha vida.

E por último, a minha família que vem a ser minha base, no qual por todo esse tempo me proporcionaram motivação e segurança nos meus mais aventurados passos, tornando-os mais firmes durante minhas caminhadas pelo mundo, que tanto há para me mostrar de suas exuberantes belezas naturais.

AGRADEÇO

“Quando a vida bater forte e a sua alma sangrar.  
Quando esse mundo pesado lhe ferir, lhe esmagar.  
É hora do recomeço. Recomece a lutar.  
Quando a estrada for longa e seu corpo fraquejar.  
Quando não houver caminho nem um lugar pra chegar.  
É hora do recomeço. Recomece a caminhar.”

Bráulio Bessa

## RESUMO

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a espécie nativa mais produzida em território nacional. No Amazonas, se destaca pela preferência dos consumidores e pelo seu papel na economia da região. Entretanto, os feirantes, supermercados, varejistas e produtores encontram dificuldades em manter por tempo razoável a qualidade desse pescado quando armazenado em gelo. O objetivo desse trabalho foi avaliar por meio de análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais a influência da utilização do gelo ozonizado sobre o tempo de vida útil do tambaqui inteiro resfriado, armazenado durante 35 dias. As análises físico-químicas se constituíram de Bases Voláteis Totais (N-BVT), determinação do pH, Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS); nas análises microbiológicas pesquisaram-se Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (BHAM), Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotólicas (BHAP), Coliformes Totais e Termotolerantes, *Staphylococcus* Coagulase Positiva e *Salmonella* spp. e a análise sensorial (MIQ). Com base nos resultados determinou-se o tempo de vida útil de até 28 dias para o tambaqui inteiro armazenado em gelo. Todas as análises apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação ao tempo de armazenamento, porém o N-BVT foi o único indicador que apresentou diferenças significativas do tratamento controle. Sugere-se mais pesquisas com a utilização do ozônio e sobre a qualidade do gelo utilizado para armazenamento do pescado, o qual pode se tornar uma potencial fonte contaminadora.

**Palavras-chave:** *Colossoma macropomum*, vida de prateleira, qualidade na estocagem, ozônio.

## ABSTRACT

The tambaqui (*Colossoma macropomum*) is the native species most produced in Brazilian territory. In the state of Amazonas, it stands out for the preference of the consumers and for its role in the region's economy. However, market-sellers, supermarkets, retailers and producers find it difficult to maintain the quality of this fish when stored on ice for a reasonable time. The objective of this research was to evaluate the influence of ozonated ice on the shelf life of the cooled whole tambaqui stored for 35 days by physicochemical, microbiological and sensorial analysis. The physicochemical analysis established the Total Volatile Bases (TVB-N), determination of pH, Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS); in the microbiological analysis were researched Aerobic Heterotrophic Mesophilic Bacteria (AHMB), Aerobic Heterotrophic Psychrotrophic Bacteria (AHPB), Total and Thermotolerant Coliforms, coagulase-positive *Staphylococcus* and *Salmonella* spp., besides the sensory analyses (QIM). Based on the results, the shelf life of up to 28 days for the whole tambaqui stored on ice was determined. All the analysis presented significant difference ( $p < 0.05$ ) in relation to the storage time, but the TVB-N was the only indicator that presented significant differences of the control treatment. Further researches are suggested with the use of ozone and the quality of the ice used for fish storage, which may become a potential source of contamination.

**Keywords:** *Colossoma macropomum*, shelf life, quality in storage, ozone.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES E GRÁFICOS

<b>Figura 1</b>	Exemplar do <i>Colossoma macropomum</i> Cuvier, 1818.	20
<b>Figura 2</b>	Transporte dos exemplares (A), Regiões de onde foram coletadas as amostras do musculo (B).	33
<b>Figura 3</b>	Fluxograma do procedimento de armazenagem do tambaqui utilizando gelo ozonizado e comum.	34
<b>Figura 4</b>	Maquina de ozônio de alta pressão utilizada para ozonizar a água (A) Bombona plástica com capacidade de 50 litros utilizada para armazenamento da água ozonizada (B) Máquina utilizada para fabricação do gelo (C).	35
<b>Gráfico 1</b>	Representação da evolução do pH em tambaqui inteiro armazenados em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.	49
<b>Gráfico 2</b>	Representação da evolução do (N-BVT) em tambaqui inteiro armazenados em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.	51
<b>Gráfico 3</b>	Representação da evolução do (TBARS) em tambaqui inteiro armazenados em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.	54
<b>Gráfico 4</b>	Representação da evolução do (IQ) em tambaqui inteiro armazenados em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.	56

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

<b>Tabela 1</b>	Resultados obtidos da composição centesimal do Tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> ) oriundo de piscicultura.	41
<b>Tabela 2</b>	Contagem total das bactérias mesófilas (BHAM) e das psicrótróficas (BHAP) em tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e comum durante 35 dias.	43
<b>Tabela 3</b>	Contagens de coliformes totais e termotolerantes em tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e comum durante 35 dias.	46
<b>Tabela 4</b>	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva e <i>Salmonella</i> spp. em tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e comum durante 35 dias.	48
<b>Tabela 5</b>	Métodos analíticos utilizados para determinação do tempo de vida útil do tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e comum durante 35 dias.	58
<b>Quadro 1</b>	Produção mundial da pesca e aquicultura.	17
<b>Quadro 2</b>	Quantidade produzida e valor da produção de peixes, segundo as Unidades da Federação – 2015.	18
<b>Quadro 3</b>	Procedimento para análise sensorial MIQ desenvolvido para tambaqui fresco.	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization of the United Nations
<b>Kg</b>	Quilograma
<b>g</b>	Gramma
<b>mg</b>	Miligramma
<b>mg/MA</b>	Miligramma de malonaldeído
<b>mg/N</b>	Miligramma de Nitrogênio
<b>mg/L</b>	Miligramma por litro
<b>Km</b>	Quilometro
<b>Km<sup>2</sup></b>	Quilometro quadrado
<b>Am</b>	Amazonas
<b>SUFRAMA</b>	Superintendência da Zona Franca de Manaus
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>SEBRAE</b>	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
<b>RIISPOA</b>	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>MAPA</b>	Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento
<b>GRAS</b>	General Recognized as Safe
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>LABTEP</b>	Laboratório de tecnologia do pescado
<b>cm</b>	Centímetro
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>TBA</b>	Ácido Tiobarbitúrico
<b>TBARS</b>	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
<b>N-BVT</b>	Nitrogênio e bases voláteis totais
<b>MIQ/QIM</b>	Método do índice de qualidade
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>ADP</b>	Adenosina difosfato
<b>CP</b>	Creatina fosfato
<b>Pi</b>	Fosforo inorgânico
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>O<sup>3</sup></b>	Alótropo triatômico do oxigênio
<b>O<sup>2</sup></b>	Oxigênio
<b>PCA</b>	Plate count agar
<b>EMB</b>	Agar eosina azul de metileno
<b>Log</b>	Logaritmo
<b>UFC</b>	Unidade formadora de colônia
<b>NMP</b>	Numero mais provável
<b>Kcal</b>	Quilocalorias
<b>Caldo EC</b>	Caldo <i>Escherichia coli</i>
<b>UFAM</b>	Universidade Federal do Amazonas

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 A aquicultura regional e nacional.....	16
2.2 Características do tambaqui.....	19
2.3 Composição do pescado.....	22
2.4 Alterações físico-químicas do pescado.....	23
2.5 Qualidade e atribuições do gelo.....	26
2.6 Utilização do ozônio como sanificante.....	28
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 Geral.....	32
3.2 Específico.....	32
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.1 Aquisição e acondicionamento das amostras.....	32
4.2 Procedimento experimental e amostragem.....	33
4.3 Delineamento experimental.....	33
4.4 A fabricação do gelo ozonizado.....	34
4.5 Das análises.....	34
4.5.1 Avaliação da composição centesimal da matéria prima.....	34
4.5.1.1 Umidade.....	34
4.5.1.2 Cinza.....	35
4.5.1.3 Lipídios.....	35
4.5.1.4 Proteína bruta.....	35

4.5.1.5	Carboidratos.....	35
4.5.2	Análise Microbiológicas.....	35
4.5.2.1	Preparação das amostras.....	35
4.5.2.2	Mesófilos e psicrotróficas.....	36
4.5.2.3	Coliformes totais e termotolerantes a 45°C.....	36
4.5.2.4	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	36
4.5.2.5	<i>Salmonella</i> .....	37
4.5.3	Análises físico-químicas da qualidade.....	37
4.5.3.1	Determinação do pH.....	37
4.5.3.2	Bases nitrogenadas voláteis totais – (N-BVT).....	37
4.5.3.3	Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA).....	38
4.5.4	Análise Sensorial.....	38
4.5.5	Análise Estatística.....	38
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
5.1	Composição Centesimal.....	42
5.2	Análise Microbiológica.....	44
5.2.1	Contagem total das bactérias mesófilas e psicrotróficas.....	46
5.2.2	Contagem dos coliformes totais e termotolerantes a 45°C.....	46
5.2.3	Contagem total dos <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva e <i>Salmonella</i> .....	47
5.3	Análise físico-químicas de qualidade.....	47
5.3.1	Determinação do pH.....	47
5.3.2	Bases nitrogenadas voláteis totais – (N-BVT).....	49
5.3.3	Determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA).....	52
5.4	Análise Sensorial.....	54
6.	CONCLUSÃO.....	58
7.	REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	59

8. ANEXOS..... 69

## 1 Introdução

A aquicultura e a pesca continuam sendo uma importante fonte de nutrientes e renda para milhões de pessoas em todo o mundo, atingindo assim, no ano de 2014 um recorde no consumo *per capita* de 20 Kg de pescado. Este aumento teve grande contribuição da aquicultura, que fornece 50% do peixe destinado à alimentação humana (FAO, 2016).

No Amazonas, a principal fonte de proteína para o consumo humano provém do peixe, principalmente para as populações ribeirinhas, nas quais há autores que mencionam que nessas regiões o consumo *per capita* de pescado pode alcançar 600 g/dia (BATISTA et al., 2004; GANDRA, 2010). A pesca comercial no Amazonas explora cerca de 100 espécies, entre as mais exploradas pelos pescadores está o tambaqui (SANTOS et al., 2006). De acordo com dados do IBGE 2015 (BRASIL, 2015), de toda produção da piscicultura, o tambaqui se encontra na segunda colocação entre as mais cultivadas no Brasil, sendo na região norte, a espécie mais produzida, inclusive no estado do Amazonas. Na região da Amazônia central, o tambaqui está entre as preferências dos consumidores, destacando-se pelo seu valor comercial (VILLACORTA-CORREA e SAINT-PAUL, 1999), e por seu sabor quando *in natura*, conquistando o mercado consumidor (MENDES, 2013).

Segundo VAL et al. (2000), o tambaqui na região Amazônica se destaca por ser considerado uma das espécies mais importantes para a economia da região e por ser bastante apreciado devido ao seu sabor. Com o nível de exigência a cada dia maior, consumidores buscam produtos com maior qualidade e com melhores condições de higiene, especialmente se for direcionado ao mercado externo (BARBOSA, 2006).

Para Neiva (2005) de todos os produtos de origem animal, os peixes lideram a lista dos produtos mais suscetíveis ao processo de deterioração. O pescado como alimento, é altamente perecível devido a fatores microbiológicos, sendo favorecidos pela alta quantidade de água nos tecidos, o rápido endurecimento do músculo *postmortem*, a liberação de muco, tecido rico em proteínas, fosfolípidios e ácidos graxos poli-insaturados que servem de substrato para as bactérias e as estruturas do tecido muscular e conjuntivo que são demasiadamente frouxas, tornando-se facilmente permeável às bactérias. (FERREIRA et al., 2002; FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Devido o pescado ter essa composição química específica, e ter a predisposição para o crescimento bacteriano, prejudicando assim a vida útil desse produto e representando risco à saúde pública, toda matéria prima oriunda do pescado exige cuidados especiais, como a conservação pelo frio, já que está sujeito à contaminação pelos mais variados micro-organismos, adquiridos já no ambiente aquático, durante as diferentes etapas de captura e transporte (CONSTANTINIDO, 1994; HOBBS, 1998; SILVA e GONÇALVES, 2014).

Um dos veículos que contribuem para a contaminação do pescado durante a prática de refrigerá-lo, se dá com a utilização de gelo, no qual pode estar contaminado com micro-organismos patogênicos tornando um veículo de contaminação. Esses micro-organismos quando em quantidades altas junto com a má qualidade físico-química do gelo utilizado para conservação do pescado podem torná-lo um risco potencial ao consumidor, além de reduzir a vida útil do alimento (GIAMPIETRO e REZENDE-LAGO, 2009).

O gelo utilizado para conservação de alimentos pode ser um importante veículo de contaminação microbiana para o pescado, sendo que, no Brasil, já se observou a baixa qualidade do gelo utilizado na refrigeração, devido à presença de grandes quantidades de micro-organismos (PIMENTEL, 2001). Sendo assim, o ozônio aparece como método de desinfecção que retarda a decomposição do produto e vem a melhorar a segurança alimentar desses produtos, aumentando assim a vida de prateleira (SILVA e GONÇALVES, 2014).

O ozônio é um gás incolor de odor forte e característico, instável e parcialmente solúvel em água, que se destaca por seu elevado poder oxidante. É um eficaz agente desinfetante, possuindo efeito bactericida para diversa variedade de organismos como bactérias Gram positivas e negativas, esporos e células vegetais. Possui grande vantagem ao ser utilizado em alimentos, pois não deixa resíduo devido se decompor rapidamente, além do mais, já vem sendo utilizado como sanitizante em alimentos devido o seu grande potencial de oxidação (LAPOLLI et al., 2003; GUZEL-SEYDIM et al., 2004; SILVA et al., 2011).

## 2 Revisão Bibliográfica

### 2.1 A Aquicultura Nacional e Regional

A aquicultura e a pesca continuam sendo uma das principais fontes para a alimentação, geração de renda e subsistência, empregando cerca de 56,6 milhões de pessoas ao redor do mundo. No ano de 2014, o consumo *per capita* mundial alcançou uma marca histórica de 20Kg de pescado, aumento este, devido a grande contribuição que a aquicultura vem dando a todo o pescado destinado ao consumo humano, representando 50% do peixe consumido (FAO, 2016).

No ano de 2014 a produção da aquicultura e pesca mundial somaram juntas 167,2 milhões de toneladas (Quadro 1), ultrapassando em quase 20 milhões de toneladas a produção do ano de 2009, aumento significativo devido ao rápido crescimento da aquicultura que contou com a produção de pequenos produtores para o setor. De toda essa produção obtida em 2014, cerca de 87,7% do pescado foi destinado para o consumo humano, totalizando 146,3 milhões de toneladas (FAO, 2016).

De toda produção voltada para o consumo humano, grande parte ainda é originária da pesca, representando (55,8%), enquanto (44,2%) tiveram origem da aquicultura (FAO, 2016). Observando esses números atuais, é notório o crescimento da aquicultura, e quando se faz uma retrospectiva à década de 1970, ou seja, em pouco mais de 40 anos, a aquicultura era responsável por apenas 1% da produção mundial de pescado para consumo humano (BRASIL, 2015).

De acordo com o Ministério do Meio Ambiente (BRASIL, 2008) a atividade de pesca extrativa em águas continentais produziu apenas 1/8 da demanda necessária, o que abre um vasto campo e com imenso potencial para a aquicultura, tanto para o mercado local e nacional quanto para o internacional. Com a grande contribuição que a aquicultura vem proporcionando nos últimos anos para a produção de pescado, os valores da produção dessa atividade e os da pesca andam cada vez mais próximos (BRASIL, 2015).

Quadro 1. Produção mundial da pesca e aquicultura.

	Produção (Milhões de Toneladas)					
	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Pesca de Captura						
Continental	10,5	11,3	11,1	11,6	11,7	11,9
Marinha	79,7	77,9	82,6	79,7	81	81,5
Total de Captura	90,2	89,2	93,7	91,3	92,7	93,4
Aquicultura						
Continental	34,3	36,9	38,6	42	44,8	47,1
Marinha	21,4	22,1	23,2	24,4	25,5	26,7
Total Aquicultura	55,7	59	61,8	66,4	70,3	73,8
Total	145,9	148,2	155,5	157,7	163	167,2

Fonte: FAO, 2016.

A produção da aquicultura brasileira no ano de 2015 foi de 483,24 Mil toneladas de pescado, sendo que, entre as regiões que apresentaram crescimento a região norte se destaca contribuindo com (6,2%), atrás apenas do sudeste (12,7%) e sul (13,1%). O Estado de Rondônia manteve a primeira posição do ranking, com produção de 84,49 mil toneladas de peixes, registrando um aumento de 12,6% em relação a 2014 (Quadro 2). O estado do Amazonas se encontra em 7º lugar, com produção de 22,63 mil toneladas se destacando o Município de Rio Preto da Eva (AM) que foi o principal produtor nacional de peixes, registrando uma produção de 14,10 mil toneladas (BRASIL, 2015). De acordo com Campos et al. (2015), Manaus com 2,3 milhões de habitantes, é o principal consumidor de quase toda a produção de tambaqui vindas dos estados de Rondônia e Roraima, sendo 95% desse peixe oriundo de cultivo.

Entre as espécies mais cultivadas no Brasil, o tambaqui se encontra na segunda posição, com 28,1% do total da produção de peixes no ano de 2015. Sua produção foi de 135,86 mil toneladas, representando uma queda de 2,7% em relação a 2014. A maior parcela para produção dessa espécie vem do Norte do País (78,6%), principalmente no Estado de Rondônia, que responde por 47,7% da produção nacional e 60,7% da produção regional (BRASIL, 2015).

Contando com o desenvolvimento de metodologias e tecnologias a seu favor, a aquicultura vem se desenvolvendo em ritmo acelerado mostrando-se uma atividade consolidada, por esse motivo é esperado que grande parte do pescado consumido num futuro próximo venha a ser fruto da aquicultura, conseguindo assim

atender a procura por produtos pesqueiros e suprimindo a demanda por alimentos de qualidade. Esse desenvolvimento se dá devido a grande procura do produto e a situação atual da pesca extrativa, que nos últimos anos se mostrou estacionada, não conseguindo suprir o mercado consumidor nacional (CAMARGO e POUHEY, 2005).

Quadro 2. Quantidade produzida e valor da produção de peixes, segundo as Unidades da Federação – 2015.

Unidades da Federação	Quantidade produzida		Valor da produção	
	Total (kg)	Percentual (%)	Total (1 000 R\$)	Percentual (%)
Brasil	483 241	100	3 064 693	100
Rondônia	84 491 442	17,5	565 510	18,5
Paraná	69 264 343	14,3	328 630	10,7
Mato Grosso	47 437 890	9,8	364 389	11,9
Santa Catarina	33 744 141	7,0	172 301	5,6
São Paulo	31 141 584	6,4	156 998	5,1
Ceará	27 896 101	5,8	171 354	5,6
Amazonas	22 636 393	4,7	163 602	5,3
Minas Gerais	22 188 463	4,6	156 678	5,1

Fonte: BRASIL, 2015.

Se for comparado o crescimento das atividades produtoras de alimentos ao redor do mundo, fica notório a importância que essa atividade tem para o setor. Durante o período de 2000/2012 a aquicultura cresceu 6,7%, enquanto no mesmo período a produção do milho cresceu 4,7%; a avicultura cresceu 3,3%; o trigo, 1,4%; a bovinocultura e o cultivo do arroz, 1,2%; a suinocultura, 1%; e a pesca decresceu 0,2%(BRASIL, 2015).

Segundo Ostrensky et al.(2008), o Brasil ocupa uma área de 8.514.876,599 km<sup>2</sup>, com 7.367 km de costa oceânica e uma área de 3,5 milhões de km<sup>2</sup> de Zona Econômica Exclusiva. Possui recursos hídricos com excelente qualidade, tendo disponibilidade de 5,3 milhões de hectares de água doce em reservatórios naturais e artificiais, podendo ser potencialmente utilizados para produção de organismos aquáticos, além de apresentar condições climáticas favoráveis para cultivo desses organismos (AYROZA et al., 2005).

A Amazônia dispõe de muitos fatores que vem a favorecer a piscicultura como: clima, solos, grande volume de água de qualidade e principalmente, a diversidade da fauna ictiológica, onde somente na bacia Amazônica ocorrem 2411 espécies de peixes, sendo 111 gêneros (21%) e 1089 espécies (45%) endêmicas da bacia (MELO, 2001; REIS et al., 2016). Contendo todos esses recursos a seu favor,

em especial para a aquicultura, a bacia amazônica ainda possui vastos recursos pesqueiros e com um enorme potencial para o crescimento da aquicultura. Apesar da grande importância que a pesca representa para a sociedade, a atividade só busca a importância econômica, enquanto a aquicultura na região se desenvolve timidamente, devido a diversas restrições econômicas e legais (BRASIL, 2008).

De acordo com Cerdeira et al. (1997), a Amazônia apresenta as maiores taxas de consumo de pescado do mundo, tendo média estimada de 369 g de pescado por pessoa / dia. No baixo rio Solimões / Alto Amazonas foram estimados valores ainda maiores, entre 490-600g ao dia (BATISTA et al., 2004), tornando-se a principal fonte de proteínas para essas populações humanas. Segundo a Superintendência da Zona Franca de Manaus, SUFRAMA (2003), a região do Amazonas tem o pescado como a sua principal fonte de proteína, sendo o principal alimento. No estudo do SEBRAE-AM (Criação de Pirarucu em Cativeiro, Manaus, 2001) foi registrado um consumo médio de 60 kg de peixe por pessoa ao ano, valor este dez vezes maior do que a média nacional, na época do estudo.

Entre as espécies mais nobres exploradas pelos pescadores do Estado do Amazonas está o tambaqui. Um estudo sobre a composição das espécies de pescado vendidas no mercado de Manaus e outros centros comerciais próximos à bacia amazônica relatou que a pesca comercial explora cerca de 100 espécies, sendo que 90% de todo esforço de captura concentra-se em apenas determinadas espécies, entre elas se destacam o tambaqui, o jaraqui, a matrinxã, o curimatã, o pacu e o tucunaré (SANTOS et al., 2006). Já na piscicultura, o tambaqui é a espécie mais cultivada na região norte, inclusive no estado do Amazonas, tendo a preferência no mercado *in natura* (MENDES, 2013).

## 2.2 Características do Tambaqui

No Brasil, o *Colossoma macropomum* é conhecido popularmente como tambaqui, já no Peru é chamado degamitana, de pacu na Bolívia e cachama ou cachama negra na Colômbia (HARVEY et al., 2003). Sua distribuição geográfica se dá nas bacias do Amazonas e Orinoco na Venezuela, sendo uma espécie endêmica dessas bacias (COSTA et al., 2001; SANTOS et al., 2006). Esta espécie pertence à ordem Characiforme, família Characidae, subfamília Myleinae e gênero *Colossoma*. O tambaqui é um peixe de grande porte, tendo registro que na natureza pode chegar

a medir 100 cm e pesar algo em torno de 30,0 kg, sendo considerado o segundo maior peixe de escama da bacia Amazônica, ficando atrás apenas do pirarucu (*Arapaima gigas*)(GOULDING e CARVALHO, 1982; KUBITZA, 2004).

Figura 1 Exemplar do *Colossoma macropomum*



Foto: José Junior

É um peixe que apresenta corpo alto, romboidal, lábios grossos, dentes molariformes, ausência de espinho pré-dorsal e nadadeira adiposa com raios. Quando juvenil, com cerca de 10cm de comprimento, o formato do corpo se destaca por ser mais alto, apresentam manchas de cor escura arredondada na região mediana do corpo, ao nível da nadadeira dorsal, que vai desaparecendo conforme o crescimento e desenvolvimento do peixe com o passar do tempo. Sendo natural ocorrer algumas modificações no formato do corpo, tornando-se mais alongado quando adulto e sua coloração fica dependente da qualidade e cor da água (SANTOS et al., 2006).

Possui o hábito alimentar onívoro com tendência a herbívoro, filtrador e frugívoro (NUNES et al., 2006). Quando presente em habitat natural, sua dieta é constituída principalmente de sementes, frutos, castanhas, moluscos, pequenos peixes, caranguejos, entre outros alimentos presentes no habitat (KUBITZA, 2004). A espécie possui grandes rastros branquiais e dentes molariformes bem resistentes, o que facilita a dieta da espécie deixando bem diversificada (SANTOS et al., 2006).

Segundo Almás (1981), os peixes podem ser classificados em três classes levando-se em consideração o teor de lipídios (%) e o valor energético em kcal/100g, classificando-os em: magro (0,2-0,8% de lipídio e 80-90 kcal), semi-gordo (2,0-5,7% de lipídios e 90-160 kcal) e gordo (8,0-14,0% de lipídio e 150-220 kcal). Para Stansby (1962), o pescado é classificado em cinco categorias, utilizando a percentagem de lipídios e proteína como parâmetro, sendo elas: A, baixo teor de

gordura, peixes com percentual de gordura inferior a 5 e proteína de 15 a 20; B, semi-gordo, quando apresentar-se com percentual de gordura entre os valores de 5 a 15 e proteína entre 15 e 20; C, alto teor de gordura, ficando maior que 15 o percentual de lipídios e menor que 15 o percentual de proteína; D, baixo teor de gordura e alto teor proteico, apresentando-se com teor lipídico menor que 5 e proteico maior que 20; E, baixo teor de gordura e proteína, apresentando-se com valores menores que 5 e 15 respectivamente.

O tambaqui é um peixe que aceita muito bem o alimento ofertado durante o cultivo em cativeiro, sendo de fácil adaptação a esses ambientes de cultivo, mostrando-se assim uma espécie com enorme potencial para a aquicultura (SILVA et al., 2007). Quanto às características do meio ambiente, chega a tolerar baixas concentrações de oxigênio (SAINT-PAUL, 1989), e baixos níveis de pH, variando entre valores de 3,8 e 4,9, considerado ácido e similares ao do rio Negro onde vem a ser seu habitat natural (ARIDE et al., 2007).

A composição química do tambaqui é de aproximadamente 79% umidade, 18% de proteína, 2% de lipídios e 1% de cinzas. Esses valores podem oscilar com o tipo de tecido muscular a ser analisado, sexo, época do ano, idade, alimento (RAMOS et al., 2016; OGAWA e MAIA, 1999).

Na região da Amazônia Central, o tambaqui desempenha um importante papel na alimentação da população, demonstrando assim ser um pescado que está entre as preferências dos consumidores, destacando-se pelo seu bom valor comercial (VILLACORTA-CORREA e SAINT-PAUL, 1999). Entre as populações ribeirinhas, se destaca por ser bastante apreciado, sendo encontrado em uma ampla variedade de feiras e mercados na região (SOARES et al., 2011).

### 2.3 Composição do Pescado

Para Sartori e Amancio (2012), entre os alimentos de origem animal, o pescado se destaca devido à quantidade e qualidade de suas proteínas e aminoácidos essenciais, além de conter vitaminas, minerais e principalmente ácidos graxos essenciais da família ômega-3, onde, sua ingestão está associada à redução de doenças cardiovasculares. Já para mulheres grávidas, o consumo contribui para o bom desenvolvimento do feto, fornecendo nutrientes importantes durante essa fase (HEALTH CANADA, 2009; FAO, 2016).

Entre os produtos cárneos, o pescado apresenta baixo teor de gordura saturada, é uma importante fonte de proteína de alta digestibilidade, apresenta baixo teor calórico, além do mais, possui outros nutrientes essenciais como vitaminas lipossolúveis, especialmente o calciferol (Vitamina D) e tocoferol (Vitamina E), minerais como selênio, iodo, magnésio e zinco (HEALTH CANADA, 2009).

Apresenta em seu tecido muscular valores de umidade entre 60-85%, 1-2% de cinzas, 0,3-1% de carboidrato e 0,6-36% de lipídeos, apresentando essa grande variação nesse último componente devido ao tipo de músculo, espécie de peixe, sexo, idade, época do ano, habitat e dieta fornecida aos mesmos (OGAWA e MAIA, 1999).

Em relação à quantidade e qualidade das proteínas presente no pescado, pode-se dizer que, considerando uma variação entre as espécies, o teor é sempre elevado, da ordem de 15-25%. O pescado apresenta todos os aminoácidos essenciais, tem alto teor de lisina, aminoácido *starter* do processo digestivo e necessário na dieta brasileira constituída principalmente à base de arroz. Sua digestibilidade é alta, superando a digestibilidade do leite e das carnes em geral, e dependendo do pescado, chega a ser superior a 95%. O valor biológico é próximo de 100, determinado pela alta absorção em função da presença em quantidades adequadas dos aminoácidos essenciais (OETTERER, 2006).

Alguns estudos já realizados têm mostrado que o consumo regular de pescado (2 a 3 vezes por semana) apresenta efeito favorável para a funcionalidade do corpo humano como um todo. Entre os benefícios está a diminuição do colesterol total, triglicerídeos e pressão arterial, prevenção de doenças cardiovasculares, mantém a integridade da membrana celular e tecidos nervosos, ajuda no desenvolvimento cerebral e visual, na redução dos riscos de depressão, ansiedade, doenças inflamatórias (SOCCOL e OETTERER, 2003; DENARDI et al., 2009; TACON e METIAN, 2013).

## 2.4 Alterações Físico-Químicas no Pescado

Alguns programas são de fundamental importância para garantir a segurança e integridade do pescado comercializado destinado à alimentação humana, como forma de eliminar patógenos. Desta maneira, indústrias que seguem as boas

práticas de manejo podem garantir a sanidade do pescado, destacando-se entre elas: os apetrechos utilizados na captura, o tipo e tamanho do pescado capturado, o hábito alimentar, o ambiente de origem além do processamento imediatamente após a captura (BUTT et al., 2004). A forma que o pescado será manipulado nesse intervalo de tempo determinará a intensidade que essas alterações se apresentarão obedecendo a essas três causas: enzimática, oxidativa e microbiológica (HUSS, 1995).

Após a captura, o pescado, sofre uma série de alterações bioquímicas, físicas, químicas e microbiológicas que tem início pela ação autolítica de enzimas musculares que hidrolisam proteínas e gorduras (HAARD, 2002; GONÇALVES, 2006). A seguir, ocorre a ação dos micro-organismos, o que provoca alterações químicas e físicas profundas no pescado, cujo seu último estágio vem a ser sua total deterioração (GEROMEL e FOSTER, 1989; BURT e HARDY, 1992; SEAFOOD, 2000; HAARD, 2002).

Todas essas alterações começam a acontecer logo após a morte do pescado, sendo que as primeiras alterações se iniciam na fase de rigidez (*rigor mortis*), essa fase se caracteriza por apresentar uma alta atividade enzimática e por reduzir o pH da carne, essa última se estabelece devido a reações bioquímicas que utilizam o glicogênio muscular como energia e produzem o ácido lático. As reservas de glicogênio, normalmente, estão associadas à quantidade de ácido lático produzido. Quanto maiores as reservas de glicogênio maior é a acidificação do músculo e maior a proteção do mesmo contra o ataque bacteriano (OGAWA e MAIA, 1999). O *rigor mortis* é dividido em três etapas: a fase de pré-rigor, que ocorre antes do estabelecimento do *rigor mortis* propriamente dito, caracterizando-se por acontecer o enrijecimento muscular; o rigor pleno, período em que o *rigor mortis* está realmente estabelecido; e o pós-rigor, que é quando ocorre a resolução do *rigor mortis*, caracterizado pela perda da rigidez muscular (FONTENELE et al., 2013).

Durante o processo de *rigor mortis*, primeiramente ocorre a decomposição do ATP (adenosina trifosfato) transformada em ADP (adenosina difosfato), acompanhada da desfosforilação de creatina-fosfato (CP) cujo fósforo inorgânico (Pi) é utilizado para a regeneração do ATP. Quando não há mais CP disponível, a degradação do ATP passa a ocorrer de forma irreversível. Assim, a movimentação excessiva dos peixes durante o processo de captura, baixa consideravelmente as

reservas de glicogênio de seus músculos, o que proporciona uma menor redução do pH. Por esse motivo, a fase de *rigor mortis* em pescado inicia-se rapidamente com breve duração. Sabe-se que as alterações bacteriológicas só iniciam após esta fase, e por ser de curta duração em peixes, o tempo de vida útil do pescado se torna menor que a dos outros animais (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994.; OGAWA e MAIA, 1999.; SOUZA et al., 2003).

Além do mais, outros fatores favorecem a degradação do pescado, comomicrobiológicos, liberação de muco, alta quantidade de água nos tecidos, constituição frouxa do tecido conjuntivo e tecido rico em proteínas, fosfolipídios e ácidos graxos poli-insaturados que servem de substrato para as bactérias(FERREIRA et al., 2002).Tais características favorecem o desenvolvimento microbiano, reduzindo assim o tempo de vida útil do produto que começará a representar risco à saúde pública (OLIVEIRA et al., 2008).

O processo em que ocorre a degradação bacteriana enzimática resulta na produção de diversos compostos indicadores de qualidade da matéria prima, como por exemplo, as aminas biogênicas, produzidas por enzimas descarboxilases bacterianas provenientes de práticas inadequadas de higiene durante a captura ou associadas ao ambiente marinho (HUSS, 1995).

O crescimento microbiano sofre influência do ambiente aquático, sendo a temperatura um dos fatores seletivos. O muco presente na superfície da pele dos peixes e nas guelras contém bactérias dos gêneros *Vibrio*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Clostridium* e *Escherichia*. Outros micro-organismos como *Salmonella* e *Staphylococcus*, que podem estar presentes no pescado, principalmente devido a sua longa cadeia produtiva que vai desde o beneficiamento, conservação, distribuição, transporte e armazenamento até alcançar o consumidor final, comprometendo, assim, a qualidade do produto disponível (GERMANO et al., 1993).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, anaeróbicas facultativas, com temperatura ótima de crescimento de 30 a 37°C. A espécie *Staphylococcus aureus* é o micro-organismo que frequentemente está associado às doenças estafilocócicas, quer seja de origem alimentar ou não. A intoxicação causada pelo *Staphylococcus aureus* é desencadeada pelo consumo de enterotoxinas que são produzidas por esta bactéria durante o processo de

multiplicação no alimento. Essas bactérias habitam com frequência a cavidade nasal do ser humano, a partir da qual pode vir a contaminar qualquer superfície ou objetos que venham a entrar em contato com esse indivíduo, causando a intoxicação alimentar estafilocócica. A presença de números elevados de *Staphylococcus aureus* é uma indicação de perigo potencial à saúde pública devido à enterotoxina estafilocócica, bem como à sanificação questionável, principalmente quando o processamento envolve manipulação do alimento (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* que é composto por micro-organismos Gram negativos, mesófilos, anaeróbios facultativos, não esporulada sendo a maioria móvel, no qual apresentam um desenvolvimento ótimo em temperatura de aproximadamente 35°C. Atualmente, a *Salmonella* é um dos micro-organismos mais frequentes envolvidos em casos e surtos de doenças de origem alimentar em muitos países, apresentando ampla distribuição pela natureza, sendo o trato intestinal do homem e animais o principal reservatório natural. Inúmeros surtos de toxinfecção alimentar causados por *Salmonella* são conhecidos, envolvendo os mais variados alimentos, porém os produtos de origem cárneos são os mais frequentemente envolvidos. Os surtos em pescado estão mais relacionados pela contaminação do *Vibrioparahemolyticus*, provocando gastroenterite branda, sendo estes mais comuns em pescado de origem marinha (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Outro grupo encontrado em pescado são os coliformes totais, grupo composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, são bacilos gram-negativos, anaeróbios facultativos não esporulados que produzem gás e/ou ácidos durante o processo de fermentação da lactose que leva entre 24-48h em temperatura de 35-37°C. Já o grupo dos termotolerantes é um subgrupo dos coliformes totais restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24h a 45°C. As análises desse micro-organismo em alimentos fornecem com maior segurança informações sobre as condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enteropatógenos (FRANCO e LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2007).

Segundo Evangelista (2008), para se obter um pescado de qualidade é necessário o controle do tempo, higiene e temperatura. O momento, logo depois a captura, é significativo na rapidez com que se desencadeiam reações autolíticas e/ou microbianas. Essas reações estão relacionadas diretamente com a estrutura de

processamento do pescado, o grau de higiene do barco, transporte, gelo utilizado, com os manipuladores, fontes de água, somados às baixas temperaturas, higiene das instalações que, se devidamente aplicadas, evitarão ou retardarão as reações já mencionadas (GERMANO et al., 1993; VIEIRA e SAMPAIO, 2004).

Todas essas alterações afetam o frescor do pescado, sendo que para se ter um pescado de qualidade, o frescor é considerado o aspecto mais importante para avaliação do mesmo. O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 2017), classifica como pescado fresco sendo aquele que não foi submetido a qualquer processo de conservação, a não ser pela ação do gelo ou por meio de métodos de conservação de efeito similar, mantido em temperaturas próximas à do gelo fundente, com exceção daqueles comercializados vivos.

## 2.5 Qualidade e Atribuições do Gelo

O resfriamento da temperatura é um fator fundamental na conservação do pescado. Essa técnica normalmente é concebida com uso do gelo, que deve ser de ótima qualidade microbiológica, podendo ser produzido através de água potável ou água limpa do mar, pois sua qualidade afetará diretamente a qualidade do pescado. A quantidade de gelo sobre o pescado deve ser suficiente para manter a temperatura entre 0-2°C. Peixes submetidos a esse método são denominados de pescado fresco (GIAMPIETRO e REZENDE-LAGO, 2009; BRASIL, 2017; SCHERER et al., 2004).

O gelo possui grande poder refrigerante agindo na conservação do brilho e a umidade em produtos de origem animal evitando a desidratação, que ocorre quando utilizado o ar frio. Destaca-se por ser um dos meios mais comuns, simples e conveniente para resfriar o pescado (MACHADO, 1984; MADRID e PHILLIPS, 2000). Quando empregado na quantidade e de forma correta contribui para a qualidade do pescado atrasando as alterações enzimáticas e bacterianas, banhando o pescado em águas limpas e frias resultantes da fusão do gelo, arrastando assim considerável quantidade de muco, sangue e micro-organismos (GIAMPIETRO e REZENDE-LAGO, 2009; SCHERER et al., 2004).

Para Zanini et al (2001) a utilização de gelo na proporção e forma adequada ainda é a maneira mais comum de conservar o pescado, podendo este ser em

escamas, picado e em barras, portanto que seja produzido a partir de água potável e ter boa procedência e qualidade principalmente quanto ao padrão microbiológico, pois, apesar de o gelo não ser um bom meio de cultivo para bactérias, devido à falta de nutrientes, o mesmo poderá servir como fonte de contaminação e está contaminando o pescado através de contaminação cruzada (VIEIRA e SAMPAIO, 2004; HUSS, 1995; VIANA et al., 2016).

Há relatos que o gelo utilizado na conservação de alimentos nem sempre apresenta qualidade satisfatória, como pode ser verificado em trabalhos descritos na literatura científica (NICHOLS *et al.*, 2000; LATEEF *et al.*, 2006). Giampietro e Rezende-Lago (2009) observaram que do total de amostras de gelo utilizadas para conserva do pescado, 96,7% estavam contaminadas por coliformes totais. Ferreira et al. (2014), ao analisarem amostras de gelo utilizados para conservação do peixe serra, constataram a presença de coliformes totais em 75% delas. Albuquerque et al. (2006) encontraram a presença de *S. aureus* no gelo utilizado para conserva do pescado, bem como nas bancadas e nos manipuladores da feira do Mucuripe, Estado do Ceará.

Outra grande variedade de micro-organismos podem vir a contaminar o pescado causando assim risco à saúde, como cepas psicrófilas de *Bacillus cereus*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Aeromonas* spp., coliformes fecais entre outros podem ser encontrados nos peixes frescos ou congelados. Esses micro-organismos estão relacionados com a qualidade da água, principalmente do gelo utilizado na conservação e/ou com os procedimentos pós-captura (GERMANO, 2001).

## 2.6 Utilização do Ozônio como Sanificante

O ozônio é um gás incolor de odor marcante, instável e parcialmente solúvel em água, se destacando pelo seu elevado poder oxidante, apresentando eficiência germicida superior ao do cloro. O ozônio entre os agentes oxidantes já conhecidos vem a ser um dos mais poderosos, possuindo uma forte capacidade de desinfecção e esterilização. Sendo um poderoso germicida, destrói toda classe de fungos, bactérias, protozoários e outros parasitas, não permitindo o desenvolvimento desses micro-organismos (LAPOLLI et al., 2003; SILVA et al., 2011; GONÇALVES, 2011).

Possuindo poder de agente antimicrobiano, seu uso vem a ser adequado tanto em meios líquidos quanto em sólidos. Quando os micro-organismos são expostos a concentrações de ozônio, contendo este o poder de inativar rapidamente micro-organismos, ocorrem alterações na estrutura celular através da oxidação de enzimas intracelulares, membrana citoplasmática, sistema enzimático e nos ácidos nucléicos e componentes da parede celular até a inativação da célula. Nos vírus, ataca tanto as proteínas da célula como os ácidos nucléicos (HUNT e MARIÑAS, 1999; KHADRE et al., 2001; LAPOLLI et al., 2003).

Vem conquistando espaço e a preferência nas indústrias de processamento de alimentos por ser seguro, mais rentável e considerado uma tecnologia verde, deixando-as livres de produtos e resíduos químicos e garantindo a segurança alimentar (O'DONNELL et al., 2012; ZHANG et al., 2016). Na indústria de processamento de alimentos o ozônio como oxidante tem sido utilizado no tratamento da água, lavagem e desinfecção de equipamentos, remoção de odor em uma vasta gama de produtos alimentares, incluindo carne, aves, ovos, processamento de frutos do mar, frutas e vegetais crus bem como o saneamento de superfícies de contato com o produto (GONÇALVES, 2009; SILVA et al., 2011; O'DONNELL et al., 2012).

A transferência do ozônio para a água inicia-se com a dispersão do gás no meio líquido, em forma de pequenas bolhas. Posteriormente, o ozônio é incorporado à massa líquida através da interface gás-líquido. A resistência na transferência de massa durante a fase gasosa pode ser considerada praticamente desprezível. A única resistência que pode ser encontrada durante a absorção do gás no líquido é na membrana líquida, perto da interface gás-líquido (LAPOLLI et al., 2003).

Quando o ozônio está dissolvido no meio líquido, obedece à Lei de Henry, sendo que a concentração de sua saturação é proporcional à pressão exercida do gás sobre o meio líquido em dada temperatura. Dentre os fatores que influenciam a constante de Henry, os considerados mais importantes são: temperatura, pH e força iônica (LANGLAIS et al., 1991).

O ozônio ( $O_3$ ) é uma forma alotrópica do oxigênio ( $O_2$ ), sendo composto por três átomos de oxigênio e altamente instável (LAPOLLI et al., 2003; GUZEL-SEYDIM et al. 2004; SILVA e GONÇALVES, 2014). Para ser produzido em nível comercial, é utilizado o processo corona, que consiste em aplicar uma corrente elétrica em um

fluxo gasoso de ar ou oxigênio. Para isso são utilizados dois eletrodos, um de alta tensão e outro de baixa tensão, separados por um meio dielétrico cerâmico onde a descarga elétrica é aplicada. Quando se tem energia cinética suficiente (6-7 eV) nos eletrodos ocorre uma descarga elétrica fazendo com que as molécula diatômicas de oxigênio se dividam, onde após a divisão, o átomo de oxigênio poderá ser agrupado a outra molécula diatômica de oxigênio formando assim a molécula triatômica de ozônio. Esse método é denominado de corona, e é utilizado para geração de ozônio em escala comercial (RICE et al., 1981; LAPOLLI et al., 2003).

Foi descoberto em 1839 por Schönbein, estudando a decomposição eletrolítica da água, aonde foi produzido um odor de gás. Seu primeiro uso comercial foi como desinfetante de água potável na França no início dos anos 1900 (HILL e RICE, 1982). Atualmente há uma estimativa que há milhares de estações de tratamento de água no mundo utilizando o ozônio (O'DONNELL et al., 2012).

Em 1982, nos Estados Unidos o ozônio foi considerado um produto seguro ("General Recognized As Safe" - GRAS) para o tratamento de garrafas de água pela FDA (Food and Drug Administration), sendo que uma série de outras aplicações comerciais foram desenvolvidas, incluindo a desinfecção de água de piscina e o tratamento de águas residuais (GUZEL-SEYDIM et al., 2004). A Food and Drug Administration (FDA) em 2001 alterou o regulamento de aditivos para comida aprovando o uso do ozônio como aditivo para o tratamento em alimentos na forma líquida e gasosa, podendo ser utilizado com segurança no tratamento, armazenamento e processamento de alimentos (FEDERAL REGISTER, 2001; ZHANG et al., 2016).

Já no Brasil, o ozônio passou a ser utilizado a partir de 1983 como alternativa aos métodos convencionais de pré-cloração e pré-aeração para o tratamento de águas superficiais (LAPOLLI et al., 2003). Por meio da portaria da ANVISA nº 25/76 publicada no Diário Oficial da União em 09/11/1977, foi regulamentado o uso do O<sub>3</sub> para higienização de depósitos e utensílios para água. Com isso, ficou limitada a aplicação do ozônio, não havendo até o momento, uma legislação específica para o seu uso em alimentos (CHIATTONE, TORRES e ZAMBIAZI, 2008; GIORDANO, 2009).

Para aprovação do uso do ozônio no processamento de alimentos, um dos critérios com maior importância é a toxicidade. Em humanos, um dos efeitos primários

do ozônio quando em contato por um curto período à densidade de 0,1-1,0 ppm, são sintomas que incluem dores de cabeça, hemorragias nasais, irritação nos olhos, garganta seca e irritação das vias respiratórias. Em níveis de exposição mais elevados (1-100 ppm), os sintomas tornam-se mais graves e incluem sintomas semelhantes à asma, cansaço e perda de eficiência do trato respiratório (O'DONNELL et al., 2012). Devido à sua alta toxicidade, se torna muito perigoso a inalação direta do O<sub>3</sub>. No entanto, se ingerido junto a água não chega a apresentar perigo sério, pois sua meia-vida dissolvido em água é relativamente curta (LAPOLLI et al., 2003).

No Brasil, os limites de tolerância para contato com ozônio em ambiente de trabalho são de 0,08 mL/m<sup>3</sup> ou de 0,16 mg/m<sup>3</sup>, segundo a NR 15 da Portaria MTB nº 3.214, de 08 de junho de 1978, que aprova as Normas Regulamentadoras - NR - do Capítulo V, Título II, da Consolidação das Leis do Trabalho, relativas à Segurança e Medicina do Trabalho (BRASIL, 1978).

Zhang et al. (2016) afirmam que desde 1920 cientistas vem explorando as características de oxidação do ozônio na tentativa de retardar a decomposição e melhorar os aspectos de segurança de produtos oriundos da pesca. Algumas atribuições do ozônio produzido em escala comercial têm sido empregado na indústria pesqueira, incluindo a desinfecção e conservação do pescado. Por ser um forte oxidante e conter o poder de descoloração e desodorização, possui algumas vantagens para a indústria alimentícia. Tem sido utilizado na aquicultura de água doce para a higienização no beneficiamento do peixe, desinfecção dos ovos, melhoramento da qualidade e esterilização da água, decomposição de compostos odoríferos da água e melhorar a qualidade sensorial e o tempo de vida útil dos peixes.

Para Campos et al. (2005), a utilização do ozônio no armazenamento de sardinha fez com que houvesse uma melhora na qualidade sensorial, bioquímica e microbiológica, mostrando uma redução significativa na atividade enzimática e da quantidade de bactérias psicrófilas, tanto do músculo quanto da pele. Ao utilizar uma técnica em que se utilizou 40% de gelo e 60% de água ozonizada (0,17 mg/L) as sardinhas alcançaram uma vida de prateleira de 19 dias, enquanto que ao ser utilizado somente gelo comum, esse tempo regrediu para apenas 8 dias, deixando

claro que a utilização do ozônio teve uma grande contribuição para o tempo de vida útil (*shelflife*) da sardinha.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Avaliar o efeito da utilização do gelo ozonizado como técnica de prolongamento do tempo de vida útil do tambaqui (*Colossoma macropomum*) resfriado.

#### 3.2 Específico

- Determinar a qualidade microbiológica do tambaqui durante o armazenamento em gelo ozonizado;
- Determinar os parâmetros físico-químicos do tambaqui durante o armazenamento em gelo ozonizado;
- Determinar sensorialmente o tambaqui durante o armazenamento em gelo ozonizado.

### 4 Material e Métodos

#### 4.1 Aquisição e acondicionamento das amostras

Foram utilizados 108 exemplares de tambaqui com peso médio de  $1,44 \pm 0,41$  Kg provenientes de uma piscicultura localizada na Rodovia BR-240 (Presidente Figueiredo - Balbina), Km 48, situada na região metropolitana de Manaus. Os peixes foram adquiridos logo após o abate por hipotermia. Para a realização do transporte os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas na proporção 1:1 (gelo/peixe) até à Fazenda Experimental da UFAM situada na Rodovia BR-174 (Manaus- Presidente Figueiredo), Km 38. O tempo de transporte levou cerca de uma hora.

Ao chegar à Fazenda Experimental, os peixes passaram por higienização com água clorada a 5 ppm, foram acondicionados em caixas isotérmicas de 175 litros. As amostras, em cada tempo amostral, foram encaminhadas ao Laboratório de Tecnologia do Pescado (LABTEP) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) para a realização das análises laboratoriais (composição centesimal, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais).

## 4.2 Procedimento experimental e amostragem

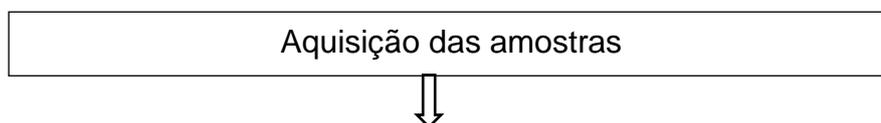
Durante o experimento, as amostras que seriam destinadas às análises laboratoriais foram embaladas em sacos plásticos comuns, identificadas e acomodadas em caixas Isotérmicas com gelo (Figura 2A) para serem transportadas ao LABTEP Campus da UFAM. Foram retiradas amostras da região lombar, caudal e ventral (Figura 2B) para realização das análises. Para esses procedimentos foram utilizados nove exemplares de cada tratamento em cada uma das seis amostragens ao longo do tempo.



Figura 2 Embalagem, identificação e transporte dos exemplares (A) Regiões de onde foram coletadas amostras do músculo para análises laboratoriais (B).

## 4.3 Delineamento Experimental

Foram utilizados dois tratamentos, sendo que num lote de pescado se utilizou gelo fabricado com água ozonizada (T1) e no outro foi utilizado gelo comum (T2). Os tratamentos foram analisados durante 35 dias, totalizando seis tempos (0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias). Para o tempo zero, utilizaram-se nove peixes, sendo quatro destinados a análise sensorial (MIQ) e cinco para as análises físico-químicas de qualidade, microbiológica e centesimal, sendo esta última exclusiva para o tempo zero. Nos demais tempos, utilizou-se a mesma metodologia, com exceção da análise da composição centesimal, totalizando 108 peixes (9 para cada tratamento). O delineamento experimental foi realizado de maneira inteiramente casualizado (DIC) como descrito por Hurlbert (1984) e Zar (2010), como pode ser observado na figura 3.



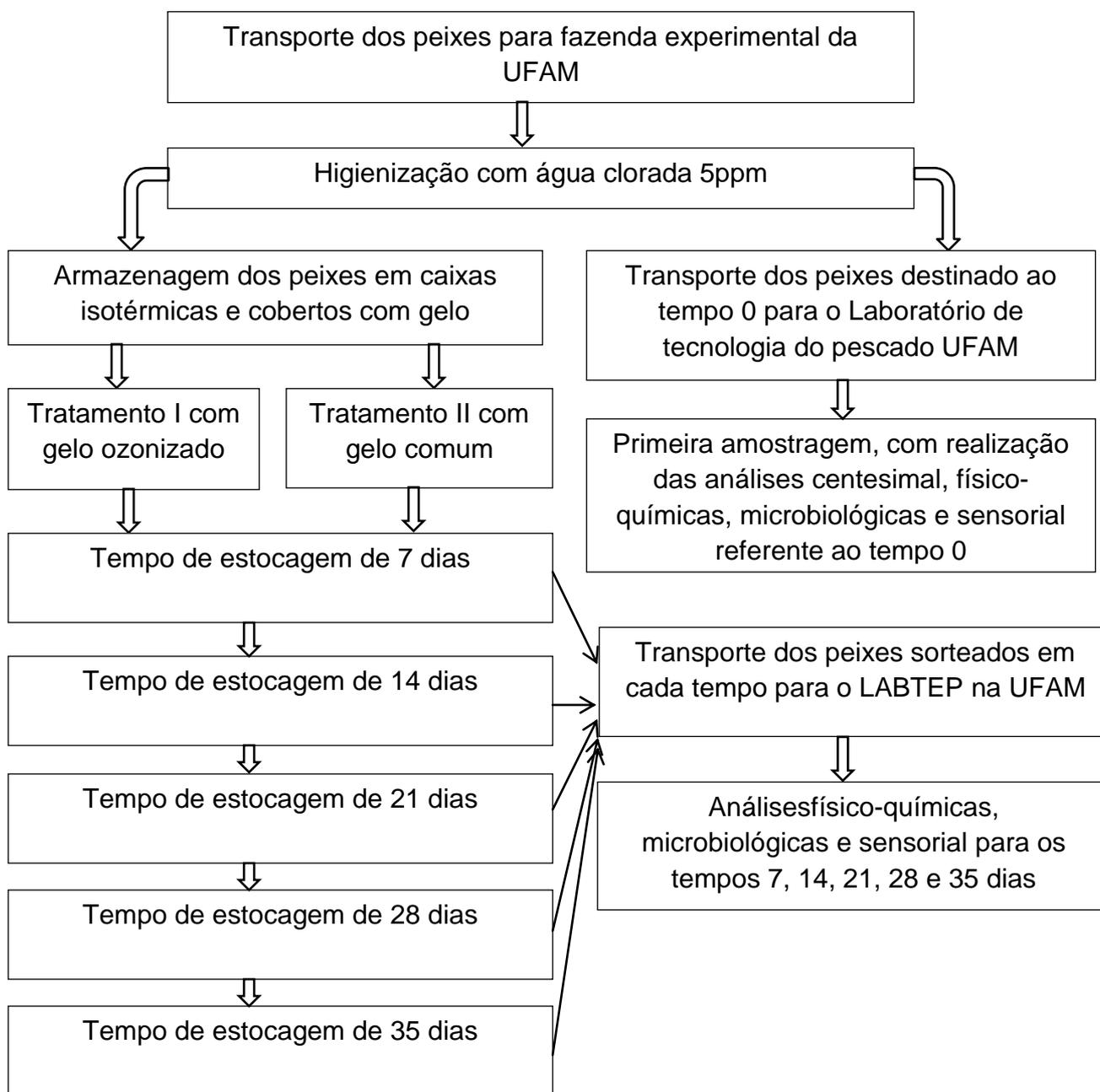


Figura 3 Fluxograma do procedimento experimental de armazenagem do tambaqui utilizando gelo comum e ozonizado.

#### 4.4A Fabricação do Gelo Ozonizado

O gelo ozonizado utilizado durante o experimento foi produzido no LABTEP, sendo que sua fabricação começou cinco dias antes do início do experimento durando todo período de análises. Após serem fabricados, os lotes de gelo eram armazenados em embalagens de polietileno de baixa densidade com capacidade de

5 Kg sendo acondicionados em freezers horizontais. O gelo era transportado em caixas isotérmicas até à fazenda experimental da UFAM nos períodos em que havia a necessidade de reposição no qual levava cerca de  $2\pm 1$  dia. A máquina de alta pressão modelo Wap O<sub>3</sub> FX utilizada para ozonização da água injetava sob pressão na bombona, localizada em um plano elevado, a água já ozonizada, que por gravidade abastecia a máquina de gelo modelo EGC 50, para a produção do gelo ozonizado (Figura 4 - A, B e C).



Figura 4. Máquina de ozônio de alta pressão utilizada para ozonizar a água (A); bombona plástica com capacidade de 50 litros utilizada para armazenamento da água ozonizada (B); máquina utilizada para fabricação do gelo (C).

## 4.5 Das Análises

### 4.5.1 Avaliação da Composição Centesimal da matéria prima

Para a determinação da composição centesimal, foram seguidas as Normas Analíticas do Instituto Adolph Lutz (SÃO PAULO, 2008), sendo analisados os teores de umidade, cinza, lipídios, proteínas e carboidratos.

#### 4.5.1.1 Umidade

Foi determinada através da perda de peso do material por remoção da água utilizando o aquecimento em estufa a 105°C até a obtenção do peso constante.

#### 4.5.1.2 Cinza

Correspondeu aos resquícios de produto aquecido em mufla com temperaturas por volta de 550 a 570°C até peso constante.

#### 4.5.1.3 Lipídios

Foi realizado através do método de Bligh-Dyer (1959) modificado, utilizando clorofórmio, metanol e água. Método este, recomendado para a determinação de lipídios totais em amostras com alto teor de água, posição que se enquadra o tabaqui.

#### 4.5.1.4 Proteína Bruta

Para a determinação do nitrogênio total foi utilizado o método de Kjeldahl. Esse método utiliza o conteúdo de nitrogênio encontrado no material e utiliza o fator de conversão 6,25 dado a alimentos como o material que será utilizado para estimar a quantidade de proteínas.

#### 4.5.1.5 Carboidratos

Os Carboidratos totais serão determinados por diferença, que é o somatório das porcentagens de umidade, proteínas, lipídios e cinzas subtraídas de 100.

As análises a seguir foram realizadas ao longo dos 35 dias de estocagem, em intervalos de 7 dias.

### 4.5.2 Análises Microbiológicas

Para realização das análises microbiológicas, foram utilizadas amostras das regiões caudal, lombar e costela, seguindo a Instrução normativa nº 62 de 26/08/03-MAPA (Brasil, 2003) e Silva et al. (2007), para quantificação dos micro-organismos mesófilos, psicotróficos, coliformes totais, coliformes termotolerantes a 45°C, *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella* sp.

#### 4.5.2.1 Preparação das Amostras

Foram pesadas 25 gramas da amostra, que foram adicionadas a 225 mL de diluente, neste caso água peptonada 0,1% esterilizada e homogeneizada, obtendo-se assim a diluição  $10^{-1}$ . A seguir foram feitas diluições decimais seriadas. A diluição  $10^{-2}$  foi obtida retirando-se 1 ml da diluição  $10^{-1}$  e adicionando-os a 9 mL de água peptonada 0,1% em frascos de diluição. As demais diluições foram obtidas de maneira similar. Na obtenção de cada diluição os frascos foram devidamente agitados de acordo com a literatura.

#### 4.5.2.2 Mesófilas e psicrótróficas

Para determinação do número de organismos mesófilos e psicrótróficos utilizou-se o método de plaqueamento em superfície para realização das contagens. O meio de cultura utilizado foi o ágar padrão para contagem em placas (PCA), na qual se utilizou uma alíquota de 1 mL das diluições decimais das amostras que foram depositadas, em duplicata, em placas de Petri esterilizadas contendo ágar padrão. Após a homogeneização em meio já solidificado, as placas foram incubadas, sendo que quando para determinação de psicrótróficas, utilizou-se 7°C por 48 horas, e a 35°C por 48 horas para mesófilas. As placas que apresentavam entre 25 e 250 colônias foram utilizadas para contagens de bactérias em aparelho apropriado. A média do número de colônias por g de amostra contada nas placas foi multiplicada pelo fator de diluição correspondente, no qual expressou o número de unidades formadoras de colônias de micro-organismos heterótróficos mesófilos e psicrótróficos aeróbios sendo os resultados expressos em LOG UFC.g<sup>-1</sup>.

#### 4.5.2.3 Coliformes totais e coliformes termotolerantes a 45°C

Para determinação de coliformes, se utilizou o método de plaqueamento em Agar Eosina Azul de Metileno EMB. Para o teste presuntivo incubaram-se as placas a 35±1°C por 24-48h para contagem de Coliformes totais, e a 45 °C para contagem de coliformes termotolerantes. Foram selecionadas as placas que continham de 15-150 colônias para contagem, sendo consideradas apenas as colônias típicas (vermelho púrpura rodeada de um halo avermelhado) como prova presuntiva positiva para coliformes totais, sendo os resultados expressos em LOG UFC/g.

#### 4.5.2.4 *Staphylococcus* coagulase positiva

Na determinação *Staphylococcus* coagulase positiva foi utilizado o método de contagem direta em placas, no qual se inoculou 0,1 mL de cada diluição em superfícies de placas contendo ágar sal manitol no qual se incubou a 35°C por 48h. Após o período de incubação não foi verificado o desenvolvimento de colônias típicas (pretas, pequenas, brilhantes, lisas, convexas, e com halo transparente estendendo para além da zona opaca) para estafilococos coagulase positiva.

#### 4.5.2.5 *Salmonella*

Utilizou-se 1 mL da amostra pré-enriquecida e transferiu-se para ágar SS (salmonela shigela) no qual se incubou por período de 24h à 35°C.

#### 4.5.3 Análises Físico-Químicas da Qualidade

Foram mensurados pH, Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (N-BVT) também utilizando as Normas Analíticas do Instituto Adolph Lutz (São Paulo, 2008). Já para a determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) utilizou-se o método de Wyncke (1970), modificado por Jesus et al. (2001).

##### 4.5.3.1 Determinação do pH

Foram mensuradas a partir de amostras do pescado triturado e homogeneizado em água destilada durante todo o tempo de experimento, utilizando potenciômetro da marca Quimis, modelo Q400A, previamente calibrado com soluções tampões de pH 4 e 7.

##### 4.5.3.2 Bases nitrogenadas voláteis totais – (N-BVT)

Para determinação das bases voláteis totais, amônia e as aminas voláteis foram destiladas por arraste de vapor, em meio pouco alcalino e quantificadas por volumetria de neutralização.

##### 4.5.3.3 Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

A estabilidade oxidativa das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Wyncke (1970) com modificações feitas por Jesus et al. (2001), Os resultados foram expressos em mg malonaldeído (MDA)/ kg.

#### 4.5.4 Análise sensorial

Para a realização da análise sensorial foram utilizados nove panelistas já treinados, sendo cinco homens e quatro mulheres, que receberam orientações sobre os procedimentos a serem tomados na execução do experimento, sem conhecimento

do tempo de estocagem e utilizando apenas: tato, visão e olfato analisaram as seguintes características sensoriais: aspecto geral, olhos, brânquias, cavidade abdominal, pele e nadadeiras. Para realização das análises sensoriais foi protocolado junto ao Comitê de ética em pesquisa – CEP o pedido de autorização para a realização da mesma no qual foi aceito recebendo o número 62553016.3.0000.5020.

Ao total, foram analisados 48 peixes, oito em cada tempo, sendo feitos previamente sorteios para determinar quais amostras cada painelistas iria avaliar, sendo dois no total, de modo que todas fossem analisadas por um número igual de painelistas ficando sob sigilo o tempo de estocagem e o tratamento das amostras analisadas. Esse procedimento foi repetido durante todo o experimento, totalizando 35 dias, com intervalos de sete dias uma análise da outra. Para auxiliar nas análises, foi utilizado o método do índice de qualidade QIM (Quality Index Method) por pontos de demérito (Quadro 3) seguindo a metodologia apresentada por Araújo et al. (2016). Os exemplares foram analisados em sua totalidade, não distinguindo apenas um aspecto em particular, atribuindo nota zero ao estado de maior frescor e de dois a três quando apresentou estado de deterioração mais avançado.

#### 4.5.5 Análise Estatística

Para comparação dos resultados das análises foi realizada análise de variância (ANOVA two-way) para os dados que apresentavam normalidade. Os dados que não apresentavam-se normais utilizaram-se análises não paramétricas, sendo os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, em todas utilizando nível de significância de 5%. Para a realização dos testes foi empregado o software R versão 3.1.1. (R Development Core Team, 2009).

Quadro 3 Procedimento para análise sensorial MIQ desenvolvido para tambaqui fresco\*.

Critérios		Descritores	Pontos de demérito
Aspecto Geral	Aspecto superficial	Brilho intenso, pigmentação intensa	0 ( )
		Brilhante, ligeira perda de cor, muco transparente	1 ( )

		Pouco brilho, perda de cor, muco opaco, pequenas lesões	2 ( )	
		Sem brilho, cor opaca, muco opaco e amarelado, lesões	3 ( )	
	Firmeza da carne	Firme e elástica	0 ( )	
		Redução da firmeza e elasticidade	1 ( )	
		Elástica	2 ( )	
		Flácida, com deformações no corpo	3 ( )	
Olhos	Transparência (Globo ocular)	Transparente, claro	0 ( )	
		Ligeiramente opaco	1 ( )	
		Opaco	2 ( )	
	Pupila	Visível, bem definida	0 ( )	
		Nebuloso, definida	1 ( )	
		Cinzenta, sem definição	2 ( )	
	Forma	Convexo	0 ( )	
		Plano	1 ( )	
		Côncavo	2 ( )	
		Deformado, deformado, com perda de volume	3 ( )	
	Sangue	Ausência de sangue	0 ( )	
		Ligeiramente sanguinolento	1 ( )	
Sanguinolento		2 ( )		
Brânquias	Cor	Vermelho brilhante a roxo	0 ( )	
		Vermelho menos brilhante	1 ( )	
		Vermelho menos brilhante ao marrom, bordas pálidas	2 ( )	
		Descolorido	3 ( )	
	Odor	Algas	0 ( )	
		Neutro, algas menos intensa	1 ( )	
		Ligeiramente metálico, acre ou rançoso	2 ( )	
			Rançoso, característico de putrefação	3 ( )
	Forma	Integra	0 ( )	
		Ligeiramente disforme	1 ( )	
Disforme		2 ( )		
Cavidade abdominal	Cor	Rósea claro	0 ( )	
		Rosada, ligeiramente opaca	1 ( )	
		Rosada, pouco escura	2 ( )	
	Odor	Algas	0 ( )	
		Neutro	1 ( )	
		Ligeiramente acre e rançoso	2 ( )	
		Acre, rançoso	3 ( )	
Pele	Escamas	Firmes, fortemente aderidas	0 ( )	
		Aderidas	1 ( )	
		Levemente soltas	2 ( )	
		Soltas	3 ( )	
Nadadeiras	Elasticidade	Muito elástica (retorna rapidamente sob tensão)	0 ( )	
		Elástica (sob tensão retorna mais lentamente)	1 ( )	
		Pouco elástica (sob tensão não retorna completamente)	2 ( )	
		Sem elasticidade(não retorna sob tensão)	3 ( )	
Pontuação 0 a 34		Índice de Qualidade (Pontos de demérito)	=	

\*Araújo et al. (2016).

## 5 Resultados e Discussão

### 5.1 Composição Centesimal

Uma grande variedade de peixes vem sendo estudada na busca de garantir a qualidade e obter conhecimento de seus valores centesimais úteis para diversas finalidades, desde controle de processos a prescrição de dietas. As médias das amostras utilizadas nesta pesquisa estão expostas na Tabela 1.

Tabela 1. Composição centesimal do tambaqui (*Colossoma macropomum*) oriundo de piscicultura.

Parâmetro	Composição Centesimal (%)
Umidade	76,93 ± 1,99
Proteína	16,38 ± 0,46
Lipídios	4,39 ± 1,38
Cinza	1,08 ± 0,08
Carboidratos*	1,22

\*Carboidratos – Determinado por diferença.

A composição centesimal dos cortes de tambaqui das regiões lombar, caudal e costela homogeneizadas, mostrou que essa espécie de peixe oriunda de cultivo se enquadra na classificação de peixe semi-gordo de acordo com Almás (1981).

Levando em consideração a classificação de Stansby (1962), o tambaqui utilizado nesta pesquisa se enquadra na classificação A, visto que o mesmo apresentou 4,39 ± 1,38 de lipídios e 16,38 ± 0,46 de proteína, se encaixando assim no grupo de peixes com baixo teor de gordura, fato esse, podendo-se supor que os exemplares além de terem sido adquiridos de piscicultura só apresentaram peso médio de 1,44 ± 0,41 Kg, portanto um exemplar considerado jovem se levado em consideração que indivíduos desta espécie só atingem a maturidade sexual por volta dos 55 cm de comprimento total atingindo cerca de quatro a cinco quilogramas de peso por volta dos seus três a quatro anos de idade (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998).

O resultado obtido nesta pesquisa referente ao teor de lipídios encontra-se na mesma classificação (A) que o encontrado por Arbeláez-Rojas et al. (2002), que obteve valores de 2,41 e 1,4% em sistema semi-intensivo e intensivo respectivamente e Cartonilho e Jesus (2011), encontraram 1,59% (lombinho) e 2,18% (posta) em tambaqui procedente de cativeiro e com a mesma faixa de peso 1,54 kg. Ramos et al. (2016), analisando a qualidade de filé e sous vide de tambaqui com dez meses de cultivo encontrou 1,10% (filé) e 3,23% (*sous vide*), já Sleder et al.

(2015), que veio a utilizar tambaqui de cultivo para elaboração de linguiça, encontrou 2,16%.

Porém, resultados superiores ao encontrado nesta pesquisa foram descrito por Sales e Maia (2013), onde em filé sem pele de tambaqui de cativeiro com 2,5 kg se obteve 6,6% de lipídios e Cartonilho e Jesus (2011), em cortes de costela encontraram 7,69%. percentuais esses que classificam o tambaqui com B (semi gordo) segundo Stansby (1962). Esses resultados, de acordo com Bello e Rivas (1992), à medida que o tambaqui cresce, o teor de gordura no músculo aumenta mudando sua classificação de espécie que quando jovem é magra para uma espécie gorda quando adulto.

A média da umidade encontrada nessa pesquisa apresentou valor de 76,96%. Esse resultado se assemelha ao encontrado por Cartonilho e Jesus (2011), que estudando a qualidade dos cortes do tambaqui congelado, encontraram valores de 77,49% e 77,65% referentes à umidade do lombinho e posta, respectivamente. Sleder et al. (2015), que utilizaram tambaqui proveniente de cultivo para elaboração de linguiça, encontraram 77,65% de umidade. Ramos et al. (2016), verificaram tanto em filé como em *sous vide* de tambaqui valores de umidade de 79,0% e 78,73%.

O valor médio de proteína bruta encontrada está próximo ao descrito por Ogawa e Maia (1999), descrevendo que na musculatura do pescado o valor referente à mesma gira em torno dos 20%. Almeida et al. (2006) testando alterações *post-mortem* em tambaqui conservados em gelo observou valor para proteína bem próximo ao descrito nessa pesquisa 17,0%. Porém, valores superiores foram descritos por diversos autores (CARTONILHO e JESUS, 2011; Sales e Maia, 2013; SLEDER et al., 2015; RAMOS et al., 2016).

O teor de cinza encontrado nos exemplares foi bem semelhante aos encontrados por Sleder et al. (2015) e Cartonilho e Jesus (2011) e inferior a Sales e Maia (2013), que analisando filé sem pele de tambaqui oriundo de piscicultura observaram 2,7%.

## 5.2 Análises Microbiológicas

### 5.2.1 Contagem total das Bactérias Mesófilas e Psicotróficas

Os valores resultantes das contagens médias das bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM) e das bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (BHAP) estão representados de forma logarítmica na Tabela 2.

Tabela 2. Contagem total de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM) e das bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (BHAP) em tabaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e gelo comum.

Tempo de Armazenamento (dia)	Contagem de BHAM e BHAP (Log UFC.g <sup>-1</sup> )			
	Gelo ozonizado		Gelo comum	
	Mesófilas	Psicotróficas	Mesófilas	Psicotróficas
00	3,480±0,36	3,814±0,76	3,480±0,36	3,814±0,76
07	3,354±0,48	4,234±0,26	3,250±1,65	3,162±0,51
14	4,838±0,59	4,016±0,37	4,426±1,00	3,820±0,36
21	4,152±0,03	4,166±0,42	3,240±0,76	4,155±0,01
28	4,044±0,45	4,126±0,18	4,328±2,06	4,357±0,16
35	4,902±0,30	5,626±0,39	3,898±0,74	5,604±0,16

\*Média ± desvio padrão

O teste de Kruskal-Wallis mostrou que houve efeito do tempo sobre as BHAM [ $\chi^2(5)=23.8547$ ;  $p<0,05$ ], porém quando comparados os dois tratamentos, não foi encontrada diferença significativa entre eles [ $\chi^2(1)=3.3379$ ;  $p>0,05$ ].

Como pode ser observado, os resultados entre os tratamentos, mesmo sem diferença significativa mostrou que o tratamento controle (T2) manteve o crescimento bacteriano inferior (exceto aos 28 dias) ao gelo ozonizado (T1). Provavelmente esse fato se deu devido a maior necessidade que houve na manipulação do gelo destinado ao tratamento 1 podendo assim, ter ocorrido contaminação cruzada oriunda de materiais utilizados na fabricação, armazenamento e transporte. Segundo Francoe Landgraf (2008) esse tipo de contaminação é resultante de higienização inadequada de utensílios utilizados durante a manipulação, resultando na transmissão de micro-organismos entre os mesmos.

Verificando o desenvolvimento das BHAP é possível observar na tabela 2 que o crescimento foi similar nos dois tratamentos. O teste de Kruskal-Wallis, apresentou diferença significativa nesse grupo de bactérias em relação ao tempo [ $\chi^2(5)=37.8198$ ;  $p<0,05$ ], porém entre os tratamentos não houve diferença [ $\chi^2(1)=3.3109$ ;  $p>0,05$ ].

A presença dessas bactérias (BHAM e BHAP) que fazem parte do grupo de micro-organismos indicadores de contaminação em alimentos, quando em grandes

quantidades podem causar a deterioração e a redução da vida de prateleira dos produtos (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Os autores afirmaram ainda que grande parte dos alimentos analisados que já apresentam alterações, se mostram com números superiores a  $10^6$  UFC/g.

No Brasil a legislação vigente não menciona limites para contagem de BHAM e BHAP em pescado fresco, entretanto, a International Commission on Microbiological Specification for Foods (ICMFS, 2005) recomenda o limite máximo de 7 log UFC/g ( $10^7$  UFC/g) para contagem padrão de placas de aeróbios mesófilos e psicotróficos em pescado refrigerado.

Levando-se em consideração os valores mencionados por ICMFS (2005); Franco e Landgraf (2008) é possível afirmar que foram seguidas as boas práticas de fabricação (BPF) durante a realização desta pesquisa, mesmo que no tratamento T1 tenham sido encontrados valores maiores de BHAM e BHAP em alguns períodos de tempo devido a maior necessidade que houve em manipular o gelo destinado a esse tratamento, porém sempre seguindo as boas práticas. Outro fator importante a ser mencionado foram as condições higiênico-sanitárias seguidas durante a aquisição, transporte e armazenamento do gelo destinado ao tratamento dois, o que veio a refletir no resultado final encontrado.

Resultados semelhantes foram descritos por Araújo et al. (2016), que desenvolveram um MIQ para determinação do tempo de vida útil do tambaqui eviscerado mantido em gelo por 30 dias; encontraram 2,44 a 7,95 log UFC/g de bactérias mesófilas no começo e aos 30 dias respectivamente, permanecendo até o 22º dia dentro do recomendado pela ICMSF. Para bactéria psicotrófica a contagem variou de 1,70 a 7,67 log UFC/g permanecendo até o 26º dia de armazenamento.

Ao avaliar alterações bioquímicas de matrinxã (*Bryconcephalus*) mantidas em gelo, Batista et al (2004) apresentaram resultados que se assemelham aos mencionados nesta pesquisa, no qual, segundo os autores o crescimento das bactérias mesófilas variaram de 3,66 log UFC/g no primeiro dia a 5,47 log UFC/g aos 29 dias de estocagem, já para bactérias psicotróficas os valores foram de 3,82 log UFC/g no primeiro e 7,67 log UFC/g com 29 dias de estocagem, concluindo que os peixes apresentaram condição de consumo até 29º dia de estocagem, quando atingiu o limite estipulado pela ICMFS para bactérias psicotróficas. Os autores ainda

mencionaram redução de crescimento até o 5º dia, característica essa bastante semelhante à encontrada nessa pesquisa.

Oliveira et al. (2014) analisando as alterações em pirarucu (*Arapaima gigas*) estocado em gelo, observaram valores inferiores ao mencionado nessa pesquisa para o grupo das bactérias mesófilas, com resultados médios em torno 1 log UFC/g no início e 3,5 log UFC/g aos 36 dias, porém o grupo das psicotróficas que apresentaram valores próximos de 1 log UFC/g no início e 5,5 log UFC/g aos 36 dias se assemelharam ao encontrado em 35 dias dessa pesquisa. Os autores justificaram que o menor crescimento do grupo das bactérias mesófilas se deu provavelmente em função do uso do gelo. Ainda segundo o mesmo autor o filé ficou apto ao consumo até 27 dias.

Porém valores que diferem ao encontrado nessa pesquisa foram relatados por Ritter et al. (2016) que ao determinar a vida de prateleira do híbrido tambatinga mencionam ter encontrado para psicotróficos 3,08 log UFC/g e 27,15 log UFC/g, no início e aos 28 dias, respectivamente e para mesófilas 4,39 log UFC/g e 18,57 log UFC/g, no início e aos 28 dias respectivamente, mencionando ter alcançado ao valor estipulado pela ICMFS aos 12 dias de estocagem.

Esses micro-organismos tornam-se importantes em alimentos por fornecerem informações sobre as condições em que o alimento foi manipulado, sendo utilizados ainda para indicar sua qualidade sanitária. Mesmo havendo ausência de patógenos e as alterações organolépticas sendo baixas ou inexistentes, um número elevado desses micro-organismos indica que o alimento é insalubre. Em pescado quando a contagem é elevada pode indicar abuso no binômio tempo/temperatura (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

### 5.2.2 Contagem dos coliformes totais e coliformes termotolerantes a 45°C

Os valores referentes à contagem dos coliformes totais e termotolerantes estão representados de forma logarítmica na Tabela 3.

Os coliformes termotolerantes mostraram-se ausentes nos dois tratamentos, porém, o grupo dos coliformes totais manifestou crescimento a partir do 14º dia em ambos os tratamentos. De acordo com Silveira (2013) que realizou estudos sobre o tempo de vida útil de tilápias (*Oreochromis niloticus*), inteiras armazenadas em gelo e

em refrigeração a 4°C, relatou que no 11° dia de armazenamento houve crescimento bacteriano que provavelmente se deu devido ao extravasamento do conteúdo intestinal neste período.

Tabela 3. Contagem de coliformes totais e termotolerantes em tambaqui inteiro armazenados em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de armazenamento.

Tempo de Armazenamento (dia)	Contagem de Coliformes totais e termotolerantes (Log UFC/g)			
	Gelo ozonizado		Gelo comum	
	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes
00	ND	ND	ND	ND
07	ND	ND	ND	ND
14	1,12±1,17	ND	0,86±1,18	ND
21	ND	ND	0,52±0,71	ND
28	2,19±1,26	ND	2,51±1,65	ND
35	3,76±0,53	ND	1,20±1,64	ND

ND – Não detectado, \*Média ± desvio padrão.

Segundo Franco e Landgraf (2008) algumas bactérias pertencente a esse grupo tem o trato intestinal de animais e seres humanos como habitat primário. Essa região do conteúdo intestinal apresenta contagens que variam entre 3,00 e 8,00 log UFC/g (OGAWA e MAIA, 1999). Ao realizar a contagem para esses micro-organismos, não foi encontrado diferença significativa entre os tratamentos [ $\chi^2(1)=0.3498$ ;  $p>0,05$ ], porém ao comparar os tratamentos em função do tempo, foi encontrada diferença significativa [ $\chi^2(5)=31.224$ ;  $p<0,05$ ].

Para Franco e Landgraf (2008) esses micro-organismos estão presentes desde solos, superfícies, vegetais entre outros, persistindo por tempo superior a micro-organismos de origem fecal. Ainda segundo os mesmos autores, a presença de coliformes totais em alimentos não indica necessariamente contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos.

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) não determina limites de tolerância para coliformes totais em pescado *in natura* mantidos sob refrigeração, porém, preconiza um limite crítico de  $10^2$  UFC/g para coliformes termotolerantes a 45°C em produtos a base ou derivados do pescado como: pescado defumado, surimi, secos e/ou salgados, marinados, anchovados e temperados mantidos sob refrigeração ou congelados, sendo um possível indicador de contaminação. Levando em consideração esse valor crítico, ao analisar os valores obtidos para coliformes totais nos dois tratamentos, verificamos que só foi atingido o nível crítico aos 28 dias, já as

amostras de coliformes termotolerantes não tiveram crescimento durante todo experimento.

Resultado semelhante foi citado por Oliveira et al. (2014) que avaliando a qualidade do pirarucu estocado em gelo por 36 dias mencionaram não haver crescimento de coliformes termotolerantes. Ao realizar análises microbiológicas em tambaqui comercializados no estado de Rondônia, Viana et al. (2016) constataram que todas as amostras estavam contaminadas por coliformes totais, valores que variaram de  $4,3 \times 10^1$  NMP/g a  $1,1 \times 10^3$  NMP/g, bem próximos ao encontrado nesta pesquisa aos 35 dias de armazenamento, porém com um tempo de abate muito menor.

### 5.2.3 Contagem total dos *Staphylococcus* Coagulase Positiva e *Salmonella* spp.

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos das contagens de *Staphylococcus* Coagulase Positiva e *Salmonella* spp. das amostras de tambaqui inteiro para os dois tratamentos.

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) estabelece em pescado “in natura”, resfriado ou congelado um limite máximo de  $10^3$  UFC/g para *Staphylococcus* Coagulase Positiva e ausência de *Salmonella* spp. em 25g. Nesta pesquisa, os dois tratamentos não apresentaram crescimentos desses micro-organismos.

Tabela 4. Contagem de *Staphylococcus* Coagulase Positiva e *Salmonella* spp. em tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de armazenamento.

Tempo de Armazenamento (dia)	<i>Staphylococcus</i> Coagulase Positiva e <i>Salmonella</i> spp.			
	Gelo ozonizado		Gelo comum	
	<i>Staphylococcus</i> coagulase+	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcus</i> coagulase+	<i>Salmonella</i>
00	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
07	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
14	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
21	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
28	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
35	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Certamente os procedimentos adotados durante todo o processo de aquisição até a hora de amostragem contribuíram para esses resultados. Como já mencionado anteriormente, mesmo que o tratamento com ozônio tenha necessitado de mais manuseio que o gelo comum, é possível que a fonte contaminadora nesse caso tenha origem principalmente dos equipamentos utilizados e não de manipulação. Para Simon e Sanjeev (2007) *S. aureus* é um indicador de condições higiênico-sanitárias, aonde a presença desse micro-organismo indica falha na higiene durante a manipulação e/ou armazenagem. A baixa contagem de *S. aureus* se dá normalmente devido a melhorias realizadas durante os procedimentos de manipulação e higienização, seguindo as boas práticas de fabricação (BPF) e análise de riscos e pontos críticos de controle (HACCP), podendo sua contaminação ser resultante da combinação de manipulação imprópria com armazenamento inadequado.

Segundo Silva et al. (2008) o resultado das baixas contagens de estafilococos se dá devido esses micro-organismos não serem considerados bons competidores em relação as outras bactérias, por essa razão, raramente causam intoxicação quando presentes em alimentos crus, nos quais a microbiota normal não tenha sido destruída.

Resultados semelhantes foram encontrados por Delbem et al. (2010) no qual ao realizarem uma avaliação microbiológica em pintado (*Pseudoplatystomacorruscan*) conservado em gelo, observaram ausência de *Salmonella spp.* e não foram identificadas colônias características de *Staphylococcus Coagulase Positiva*. Silva et al. (2008) também mencionou haver ausência de *Salmonella spp.* em algumas amostras de peixe cru comercializadas em feiras da região de São Paulo. Ferreira et al. (2014) ao analisar a qualidade microbiológica de peixe serra (*Scomberomus brasiliensis*) e do gelo utilizado para armazená-lo, constatou que apesar da grande manipulação o mesmo mostrou ausência de *Salmonella spp.* e não apresentou crescimento de *Staphylococcus Coagulase Positiva*.

## 5.3 Análise Físico-químicas da Qualidade

### 5.3.1 Determinação do pH

O valor de pH obtido para o tempo zero foide 6,43, valor este que decresceu em ambos os tratamentos até o decimo quarto dia, ficando em 6,35 e 6,34 nos tratamentos 1 e 2, respectivamente (gráfico 1).Certamente a metodologia de captura e abate influenciou no resultado do pH obtido. Almeida et al. (2006) menciona que no pescado recém capturado o pH tende a neutralidade. Para Contreras-Guzmán (1994) a variação do pH do pescado após sua morte está relacionado com a quantidade de glicogênio disponível nesse momento, onde a diminuição dos valores do pH se dá em consequência da conversão do glicogênio em ácido lático.

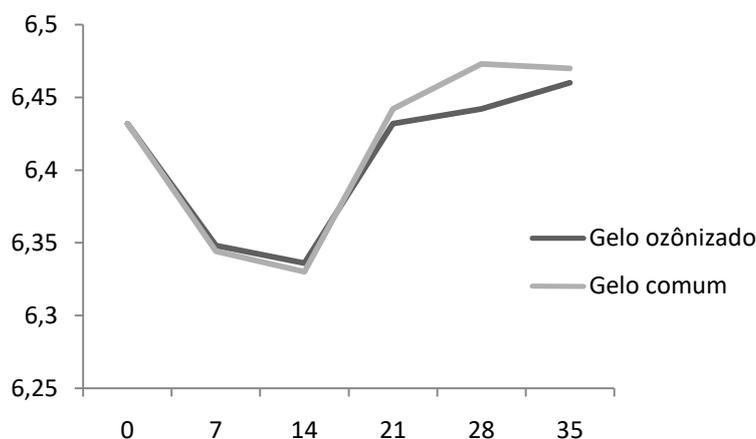


Gráfico 1. Representaçãoda evolução do pH em tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.

Ao termino da pesquisa aos 35 dias de armazenamento, os valores mostraram-se bem próximos não apresentando diferença significativa entre os tratamentos [ $\chi^2(1) = 0.2392$ ;  $p > 0.05$ ], porém quando comparadas em função do tempo, diferença significativa foi encontrada [ $\chi^2(5) = 45.2167$ ;  $p < 0,05$ ] podendo se observar no gráfico 1. O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 2017) determina que para ser considerado pescado fresco o valor do pH no musculo interno tem que ser inferior a 7,0, apresentando portanto, valores médios dentro do limite tolerado pela legislação vigente durante o tempo de estocagem em ambos os tratamentos.

Valores semelhantes ao encontrado nessa pesquisa referente ao tempo zero (6,432) foi relatado por Ramos et al. (2016) que comparando as análises de qualidade entre filé e *sous vide* de tambaqui proveniente de piscicultura encontraram valores de pH de 6,34 em filé. Estudos realizados por Araújo et al. (2016) que avaliaram o tempo de vida útil do tambaqui eviscerado armazenado em gelo,

determinaram que o peixe estava apto ao consumo até os 22 dias de armazenamento, quando o valor do pH das amostras referente a esse dia se encontravam em 6,45, valor semelhante ao obtido aos 35 dias de armazenamento nos dois tratamentos.

Almeida et al. (2006) avaliando alterações *post-mortem* em tambaqui conservado em gelo observaram valores médios entre 6,07 no início e 6,66 aos 49 dias de estocagem, percebendo que o aumento do pH coincidiu com os valores descritos pela avaliação sensorial que mostrava que o pescado sofria entre os 19 à 43 dias uma acentuada perda na qualidade. Ritter et al. (2016) avaliando a vida de prateleira do híbrido tambatinga armazenado em gelo encontrou aos 28 dias valor de pH de 6,74, valor esse superior ao encontrado em ambos os tratamentos desta pesquisa referente ao mesmo período (28 dias).

### 5.3.2 Bases Nitrogenadas Voláteis Totais – (N-BVT)

Os valores obtidos durante o experimento referente às bases nitrogenadas voláteis totais para os dois tratamentos estão representados no gráfico 2. O valor médio inicial encontrado foi de 9,27mgN/100g, este valor apresentou crescimento durante os 35 dias de armazenamento nos dois tratamentos, embora o tratamento com ozônio tenha tido um crescimento menor quando comparado ao tratamento controle. Crescimentos expressivos no valor de N-BVT no tratamento com ozônio só foram percebidos aos 28 e 35 dias de armazenamento, já no tratamento controle aos 7 dias apresentou um crescimento expressivo que se manteve estabilizado até os 28 dias de armazenagem. Ao analisar os dados, foi constatado diferença significativa entre os tratamentos [ $\chi^2(1) = 10.3964$ ;  $p < 0,05$ ] e entre os tratamentos em relação ao tempo [ $\chi^2(5) = 34.8159$ ;  $p < 0,05$ ].

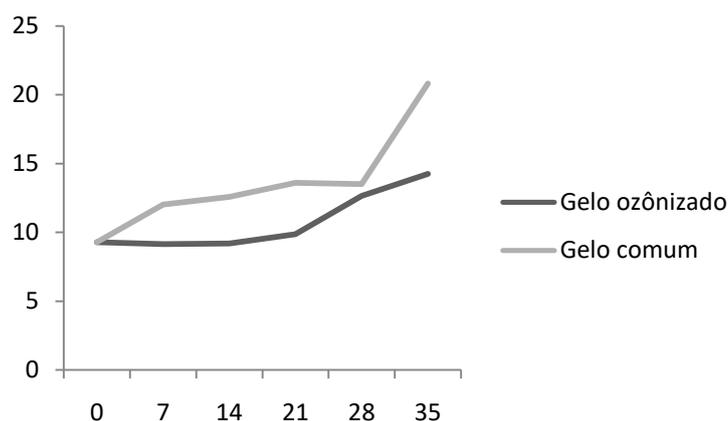


Gráfico 2. Representação da evolução do (N-BVT) em tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.

Essa diferença entre os tratamentos pode ter ocorrido devido à utilização do ozônio ou até mesmo devido o formato do gelo utilizado em cada tratamento. No caso do tratamento 1, se utilizou gelo ozonizado no formato dedal (gelo em cubo das arestas arredondadas com furo no centro) e no tratamento 2 gelo triturado. Seriam necessários mais estudos para chegar a uma conclusão, levando-se em consideração o formato do gelo e até mesmo o tempo de derretimento dele sobre o pescado, tendo em vista que ao derreter a água do próprio gelo ajuda na remoção do muco e limpeza superficial do produto. Belusso et al. (2015) observou uma redução de até 34% nos teores de N-BVT realizando procedimentos de lavagem em carpas. Segundo os autores essa diminuição pode ser justificada devido à perda de compostos nitrogenados voláteis durante a operação de lavagem.

Essas variações finais entre os valores coincidem com os valores finais encontrados no MIQ, quando o pescado já se apresentava deteriorado. Para Huss (1988) quando o pescado é considerado próprio para o consumo esses valores se mostram baixos, aumentando rapidamente quando o produto já se apresenta deteriorado. Segundo Jesus et al. (2001) a determinação de N-BVT vem sendo utilizada com o objetivo de estimar a qualidade do pescado, e que a medida que ocorre crescimento bacteriano os valores de N-BVT aumentam.

Este método é um dos testes mais utilizados para avaliar a qualidade em peixes, onde o acúmulo de N-BVT causa mudanças químicas durante sua deterioração de maneira que seu aumento significativo vem a coincidir com a deterioração microbiana (GOMES, 2003). Porém, em peixes de água doce essas

bases voláteis variam pouco, não atingindo o valor de 30mg de N/100g em alguns casos mesmo já estando rejeitada sensorialmente, podendo ser explicado em função a carga microbiana de bactérias mesófilas geralmente encontradas nesse tipo de pescado, recomendando-se a utilização de outros testes em conjunto para avaliação da qualidade em peixes de água doce (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Nesta pesquisa os valores encontrados em BHAM e BHAP não apresentaram diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, porém é possível que a utilização do gelo ozonizado ou até mesmo o formato do gelo utilizado tenha contribuído para obtenção desses valores abaixo do tratamento controle.

Quando comparados com o que é exigido pela legislação, os dois tratamentos permaneceram durante todo experimento dentro do limite máximo estabelecido, que determina para peixes considerados frescos o limite de 30mg de nitrogênio/100g de tecido muscular (BRASIL, 2017).

Avaliando a qualidade em cortes de tambaqui congelado (costela, lombinho e posta), Cartonilho e Jesus (2011) encontraram no início da pesquisa em postas de tambaqui valores de N-BVT próximos ao da pesquisa realizada, em torno de 10,0 mgN/100g. Segundo os autores estes valores permaneceram crescentes até os 90 dias de estocagem.

Ramos et al. (2016) ao analisar parâmetros de qualidade em tambaqui, constatou no filé, logo no início do experimento valor semelhante ao já mencionados anteriormente, 11,17 mgN/100g. Sleder et al. (2015) ao analisar a porção carnea do tambaqui mencionou ter encontrado valores de 13,02 mgN/100g na matéria prima.

Almeida et al. (2006) estudando alterações *post-mortem* em tambaqui conservados em gelo, observaram no tempo zero (cerca de 6h após o abate) 5,85 mgN/100g valores inferiores ao mencionado no início desta pesquisa, porém, aos 25 dias de armazenamento o valor do N-BVT mencionados pelos autores alcançou os 16mgN/100g, valor próximos ao encontrado aos 35 dias de armazenamento desta pesquisa. Ainda segundo o mesmo autor, aos 37 dias de experimento, o pescado atingiu o valor máximo estipulado pela legislação para consumo humano, 30 mgN/ 100g.

Araújo et al. (2016) avaliando o índice de qualidade em tambaqui refrigerado, encontrou valor de N-BVT referente ao início da pesquisa de 4,01 mgN/100g, sendo este inferior ao encontrado nesse trabalho, porém aos 30 dias de experimento o

autor menciona ter encontrado 15,92 mgN/100g, valor que se assemelha ao encontrado aos 35 dias no tratamento com ozônio. Ritter et al. (2016) analisando o índice de qualidade do híbrido tambatinga eviscerado armazenado em gelo, constatou no início da pesquisa 7,52 mgN/100g, valor inferior ao encontrado nesta pesquisa e aos 28 dias, o autor mencionou ter encontrado 13,12 mgN/100g, valor que se encontra dentro da legislação e semelhante ao desta pesquisa.

### 5.3.3 Determinação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).

Os valores de TBARS obtidos durante o experimento com tambaqui inteiro estocado em gelo durante o período de 35 dias encontram-se representados no gráfico 3. Em geral o pescado durante o armazenamento se torna vulnerável a oxidação lipídica devido aos seus ácidos graxos, podendo vir a comprometer a qualidade do produto devido ao surgimento de odores e sabores indesejáveis, além disso, podem produzir alterações na textura, cor e valores nutricionais (HUSS, 1995; ÓLAFSDOTTIR et al., 1997).

No início do estudo foi encontrado 0,396 mg de MA/kg, valor este que se mostrou decrescente nos dois tratamentos até o 7º dia. Após esse período, até os 35 dias de estocagem os valores foram crescentes, indicando assim uma oxidação lipídica gradual em ambos os tratamentos durante o período de armazenamento. Os resultados obtidos nos dois tratamentos não apresentaram diferença estatística [ $\chi^2(1) = 0.4935$ ;  $p > 0,05$ ] durante o tempo de armazenamento, sendo que quando comparados em relação ao tempo de estocagem foi encontrada diferença estatística [ $\chi^2(5) = 54.8209$ ;  $p < 0,05$ ].

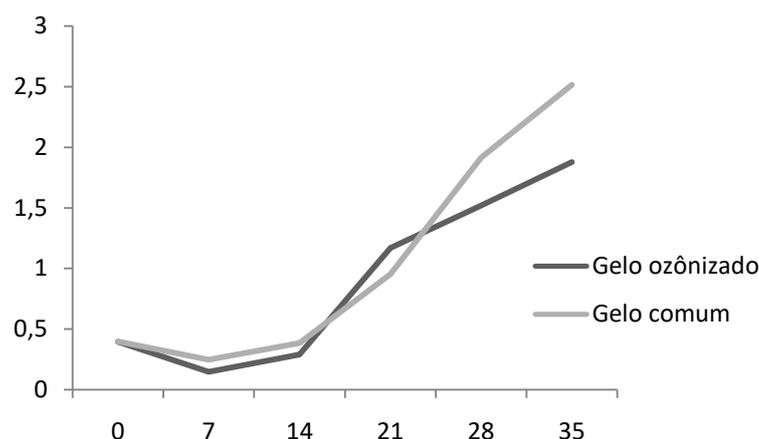


Gráfico 3. Representação da evolução do (TBARS) em tabaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.

No Brasil, ainda não há uma legislação que determine um limite para a quantidade de malonaldeído/kg em produtos cárneos, porém alguns autores consideram que valores inferiores a 3 mg malonaldeído/Kg na amostra pode ser considerada de qualidade satisfatória (AL-KAHTANI et al., 1996; OSAWA et al., 2005).

Cartonilho e Jesus (2011) constataram que os valores de TBARS dos cortes de tabaqui congelados foram crescentes ao longo dos 180 dias de armazenamento, relatando que os maiores valores foram obtidos nos cortes da costela, próximo a 3 mg malonaldeído/Kg, justificando que nessa região há maior concentração de lipídios (7,69%) quando comparada com as demais regiões o que a deixa mais susceptível ao processo de oxidação. As amostras que foram utilizadas para essa pesquisa apresentaram um teor lipídico abaixo ao mencionado pelos autores (4,39%) provavelmente seja este um dos motivos para os dois tratamentos permanecerem abaixo dos 3 mg malonaldeído/Kg.

Ritter et al. (2016) analisando a vida de prateleira do híbrido tambatinga conservado em gelo observaram no início do experimento teores de TBARS de 0,327 mg MA/Kg, valor próximo ao encontrado nesta pesquisa para o tempo zero. Aos 28 dias em gelo, o mesmo autor encontrou 1,08 mg MA/Kg valor este inferior ao encontrado na mesma época nos dois tratamentos deste trabalho.

Valores inferiores também foram relatados por Araújo et al. (2016) que mencionam ter encontrado em tabaqui armazenado em gelo 0,010mg MA/Kg no início do experimento e 0,140 mg MA/Kg após 30 dias de armazenagem. Segundo

os autores, a razão desses baixos valores são devido o pescado estudado conter baixo teor lipídico, ao contrário do encontrado nesta pesquisa (4,39%), que segundo Almás (1981), se enquadra no grupo dos semi-gordos (2,0-5,7% de lipídios) podendo ser esta uma das prováveis causas da diferença.

## 5.4 Análise Sensorial

As médias dos escores do índice de qualidade (IQ) do tambaqui inteiro e armazenados em gelo durante 35 dias a  $2 \pm 1^\circ\text{C}$  estão apresentados no gráfico 4. Ao total foram analisados 13 parâmetros distribuídos em 6 atributos de qualidade totalizando 34 pontos de deméritos como descrito na proposta de Araújo et al. (2016).

Os escores obtidos do índice de qualidade (IQ) referente às avaliações dos 13 parâmetros, se deram por 9 painelistas treinados que pontuaram de 0 (quando apresentou maior frescor) à 34 pontos de deméritos (quando já apresentavam indícios de deterioração) distribuídos da seguinte forma: aspecto geral (6), olhos (9), Brânquias (8), Cavidade abdominal (5), pele (3) e nadadeiras (3), sendo essa avaliação repetida durante todo tempo de estocagem: 0, 7, 14, 21, 28 e 35 dias.

No Gráfico 4 estão representadas as médias dos escores obtidos das avaliações referente aos 2 tratamentos julgados pelos 9 painelistas de acordo com o período de armazenamento em gelo, apresentando crescimento do IQ linear em relação ao tempo de armazenamento. É possível observar que até o 7º dia o crescimento do IQ se mostrou pouco expressivo demonstrando que o pescado ainda se apresentava com alta qualidade nos dois tratamentos. Nesse período de armazenamento o parâmetro que teve a pontuação mais expressiva foi: Forma (atributo olhos) que passaram do formato convexo para plano. Resultados semelhantes ao atributo Olhos referente ao início da pesquisa foram descritos por Oliveira et al. (2014); Borges et al. (2014); Araújo et al. (2016).

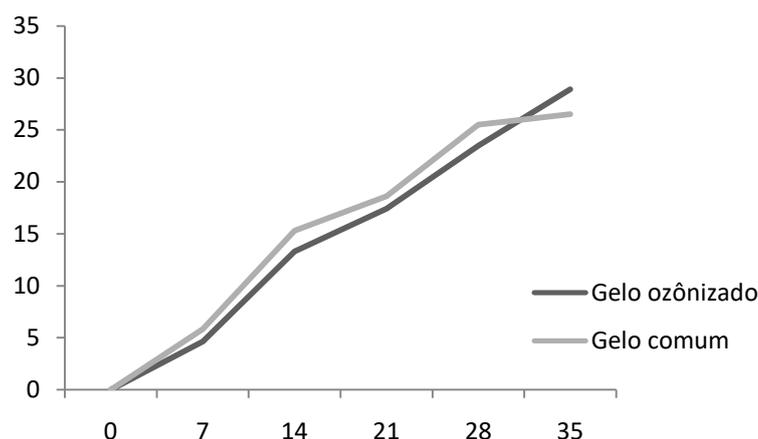


Gráfico 4. Representação da evolução do (IQ) em tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de Armazenamento.

Ainda sobre as médias dos escores do IQ referente às avaliações dos painelistas é possível observar que no 14º dia, houve um crescimento expressivo do IQ em ambos os tratamentos que se deu devido as pontuações elevadas nos olhos, tornando-os levemente sanguinolentos, côncavos e levemente opacos, as brânquias que passaram a ficar com características de vermelho menos vivo ao marrom com odor ligeiramente metálico, a cavidade abdominal passou a ter odor ligeiramente rançoso e as nadadeiras que eram elásticas passaram a retornar lentamente. Similaridades foram relatadas por Araújo et al. (2016); Almeida et al. (2006); Borges et al. (2013).

Com o passar do tempo os escores médios do IQ continuaram a aumentar devido à perda de qualidade, porém de forma gradual. Ao final da pesquisa notou-se que os mesmos aspectos que fizeram com que houvesse crescimento expressivo aos 14 dias voltaram a ter pontuações expressivas aos 35 dias de armazenamento, acrescentando ao tratamento com ozônio o aspecto geral que o fez pontuar devido a firmeza da carne apresentar-se pouco elástica no final do experimento.

Quando comparados estatisticamente, os tratamentos não mostraram diferença significativas entre si [ $\chi^2(1) = 0.047$ ;  $p > 0,05$ ] sendo que quando comparados em relação ao tempo de estocagem, foi encontrada diferença significativa [ $\chi^2(5) = 45.2602$ ;  $p < 0,05$ ].

Resultados semelhantes ao encontrado nessa pesquisa foi relatado por Araújo et al. (2016) que analisando a qualidade de tambaqui de cultivo armazenados em gelo por 30 dias obtiveram escores médios no IQ de 0,0 a 31,00 no 1º e 30º dias de estocagem, respectivamente. Borges et al. (2013) pesquisando o tempo de vida

útil de pacu (*Piaractusmesopotamicus*) mencionou ter encontrado 1,9 e 28,4 pontos de demérito no 1º e 17º dia de armazenamento respectivamente, valores que diferem do tempo de estocagem deste trabalho.

Essa diferença pode ser explicada devido cada pescado conter uma musculatura que possui uma constituição química bastante peculiar, o que os deixa com alto potencial de deterioração (SOARES e GONÇALVES, 2012). Outro fator que influencia são as grandes mudanças que ocorrem no período *post mortem* no pescado, essas mudanças seguem um padrão típico que, por sua vez, vem a ser característico para cada espécie (NUNES e BATISTA, 2004). Para Almeida et al. (2006) até a forma de captura e a metodologia utilizada no abate podem vir a influenciar o tempo de vida útil do produto.

Embora se apresente como um método importante para estabelecer o tempo de vida útil em pescado, o MIQ deve ser estimado com o auxílio de outros métodos na avaliação, como as análises microbiológicas e físico-químicas (SANT'ANA et al., 2011).

A seguir, verificam-se as condições do produto quanto ao tempo de armazenamento, levando-se em consideração os resultados obtidos em cada método analítico utilizado na determinação do tempo de vida útil. Levaram-se em consideração os valores médios obtidos em relação aos valores preconizados pela legislação equivalente a cada método analítico empregado (Tabela 5).

O tempo de vida útil é definido como o período em que os peixes frescos podem ser mantidos em gelo até se tornarem impróprios ao consumo humano (MARTINS DÓTTIR et al., 2004). Sendo assim, é possível observar nos resultados da tabela 9, que o tempo de armazenamento que oferece maior segurança para o consumidor é até os 28 dias mantidos em gelo a 2°C, visto que nesse período de tempo todos os métodos analíticos utilizados apresentaram qualidade satisfatória. A qualidade e segurança dos alimentos são questões de grande relevância (AMARAL e FREITAS, 2013).

Tabela 5. Resultado dos métodos analíticos utilizados para determinação do tempo de vida útil do tambaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado (T1) e gelo comum (T2) durante 35 dias de armazenamento.

Método Analítico	Tratamentos	Tempo de Armazenamento					
		0	7	14	21	28	35
pH	1	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto
	2	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto
N-BVT	1	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto
	2	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto
TBARS	1	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto
	2	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto
Sensorial	1	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto
	2	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto
Microbiológico	1	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto
	2	Apto	Apto	Apto	Apto	Apto	Inapto

Provavelmente esse resultado se deu devido às boas práticas (BPF) terem sido seguidas desde a captura, na qual por supervisão de um técnico responsável o piscicultor seguiu a risca todo o protocolo de abate, utilizando a hipotermia como método utilizado, até a hora da amostragem no laboratório. Outro fator que veio a contribuir foi à utilização do frio durante todas as etapas do estudo (aquisição, transporte, armazenamento, amostragem), dificultando assim a contaminação e o crescimento de micro-organismos.

Para Martinsdóttir et al. (2004), o tempo de vida útil é baseado nas ótimas condições de captura e armazenamento, ou seja, armazenamento em gelo sem a flutuação de temperatura. Para Germano e Germano (2008), os fatores extrínsecos responsáveis por facilitar a degradação do pescado estão relacionados ao tipo de captura, transporte e armazenamento. São necessários cuidados especiais, principalmente o rápido resfriamento, além de condições higiênicas de conservação e manipulação.

Segundo ALMEIDA et al. (2002), o peixe geralmente chega ao consumidor com carga microbiana elevada, composta por micro-organismos tanto deteriorantes como patogênicos. Eiroa (1980) afirma que o grau de deterioração é determinado, principalmente, pela carga bacteriana inicial, além da temperatura do músculo e pelas práticas sanitárias adotadas.

## 6 Conclusão

Os valores encontrados durante a determinação do pH, mostrou que essa variável sofreu poucas alterações durante o armazenamento do pescado em gelo, reforçando o que há na literatura na qual menciona tal comportamento em peixes de água doce.

Os valores das Bases Voláteis Totais (N-BVT) apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, provavelmente pelo uso do ozônio ou até mesmo pelo formato do gelo utilizado, tornando-se necessário mais estudo na área, visto que, existem indícios que a utilização do ozônio venha a ser eficiente quando utilizado contra micro-organismos, um dos responsáveis pela geração de vários compostos nitrogenados durante o período de armazenamento.

Na avaliação microbiológica, as bactérias psicrófilas tiveram maior participação do processo de deterioração do tambaqui inteiro, mantido em gelo do que as bactérias mesófilas. Tal comportamento se deu, devido à capacidade de um grupo se adaptar melhor as condições do frio.

A aplicação do método do índice de qualidade se mostrou uma das principais análises durante o acompanhamento do processo de deterioração do pescado estudado, na qual, quando aliada as análises microbiológicas se tornou possível estipular o tempo de vida útil para o pescado estudado de até 28 dias em gelo, permanecendo nesse período, dentro dos limites aceitáveis pela legislação brasileira.

Com os resultados obtidos, é possível concluir que o gelo pode se tornar um potencial veículo de contaminação quando manipulado excessivamente ou de forma errônea. Recomendando-se, no entanto, a mínima manipulação possível aliada sempre às boas práticas de fabricação.

O uso da cadeia do frio em todas as etapas do processo, aliada ao abate por hipotermia, certamente fez toda a diferença no resultado final, no qual, contribuiu no prolongamento do tempo de vida útil do pescado.

## 7 Referencial Bibliográfico

ALBUQUERQUE WF, VIEIRA RHSF, VIEIRA GHF. Isolamento de *Staphylococcus aureus* do gelo, água, bancadas e vendedores de pescado da feira do Mucuripe, Fortaleza, Ceará. RevCienc Agron.37(3):299-303, 2006.

AL-KAHTANI, H.A.; ABU-TARBOUSH, H.M.; BAJABER,A.S.; ATIA, M.; ABOU-ARAB, A.A.; EL-MOJADDIDI, M.A. Chemicalchangesafterirradiationand post irradiationstorage in tilapiaand Spanish mackerel. JournalofFoodScience, v.61, p.729-733, 1996.

ALMÁS, K.A. Chemicalandmicrobiologyoffishandfishprocessing. Norway: UniversityofThrondein, 1981. 123p.

ALMEIDA, N. M. de; BATISTA, G.M.; KODAIRA, M.; LESSI, E. Alterações post-mortem em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservadas em gelo. Ciencia Rural, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1288-1293, 2006.

ALMEIDA, F.E.S.; SIGARINI. C. O.; RIBEIRO, J. N.; DELMONDES, E. C.; STELATTO, E. Características microbiológicas de “pintado” (*Pseudoplatystomafasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre no município de Cuiaba-MT. Revista Higiene Alimentar, v.16, n.99, p.84-8, 2002.

AMARAL, G. V.; FREITAS, D. G. C.; Método do índice de qualidade na determinação do frescor de peixes. Ciência Rural, Santa Maria, v.43, n.11, p.2093-2100, nov, 2013.

ARBELÁEZ-ROJAS, G.A.; FRACALOSSO, D.M.; FIM, J.L. Bodycompositionof tambaqui, *Colossoma macropomum*, and Matrinxã, *Bryconcephalus*, whenraised in intensive (igarapé channel) andsemi-intensive (pond) culture systems. Revista Brasileira de Zootecnia, v.3, p.1059-1069, 2002.

ARAÚJO, W. S. C.; LIMA, C. L. S.; JOELE, M. R. S. P.; LOURENÇO, L. F. H. Developmentandapplicationofthequality index method (qim) for farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*) storedunderrefrigeration. JournalofFoodSafety. 2016.

ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, M. M. Os frutos do tambaqui: Ecologia,conservação e cultivo na Amazônia. Tefé: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: MCTCNPq, 186p, 1998.

ARIDE, P. H. R.; ROUBACH, R.; VAL, A. L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) towater pH. AquacultureResearch, v. 38, p. 588-594, 2007.

AYROZA, L.M.S.; FURLANETO, F.P.B; AYROZA, D.M.M.R.; SUSSEL, F.R. Piscicultura no médio Paranapanema: situação e perspectivas. Pesquisa & Tecnologia. V.2, N.2, 2005.

BELLO, R. A.; RIVAS, W. G. Evaluacion y aproveitamento de lacachama (*Colossoma macropomum*) cultivada, como fuente de alimento. Organización de

las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO, Italy, México, D.F, n. 2, out. 1992.

BARBOSA, J. A. Características comportamentais do consumidor de peixe no mercado de Belém. Boletim Técnico Científico do CEPNOR. Belém-PA, p. 115-133, 2006.

BATISTA, G. M.; LESSI, E.; KODAIRA, M.; FALCÃO, P. T. Alterações bioquímicas postmortem de matrinxã *BRYCON CEPHALUS* (Gunther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 24, p. 573-581, 2004.

BATISTA, V. S.; ISSAC, V. J. ; VIANA, J. P. Exploração e manejo dos recursos pesqueiros da Amazônia. ProVárzea. Manaus, IBAMA, p. 63-152, 2004.

Belusso, A. C.; Nogueira, B. A.; Breda, L. S.; Mitterer-Daltoé, M. L. Remoção de compostos nitrogenados para obtenção de matéria-prima segura de pescado. 5º simpósio de segurança alimentar alimentação e saúde. Bento Gonçalves-RS. 2015.

BORGES, A.; CONTE, C. A. J.; FREITAS, M. O. Quality Index Method (QIM) developed for pacu *Piaractus mesopotamicus* and determination of its shelflife. Food Research International, 54: 311-317, 2013.

BORGES, A.; CONTE-JUNIOR, C. A.; FRANCO, R. M.; MÁRSICO, E. T.; FREITAS, M. Q. Quality Index Method (QIM) for the hybrid tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*) and the correlation among its quality parameters. LWT - Food Science and Technology, London, v. 56, n. 2, p. 432-439, 2014.

BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Resolução RDC no 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 4 jan. 2001.

BRASIL. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto Nº 9.013, 29 mar. 2017.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Produção da pecuária municipal. Prod. Pec. munic., Rio de Janeiro, v. 43, p.1-49, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de set. 2003. Seção 1, 14 p.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. Plano de Desenvolvimento Da Aquicultura Brasileira - 2015/2020, 59p. 2015.

BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. Portaria MTB nº 3.214, de 08 de junho de 1978. Aprova as Normas Regulamentadoras - NR - do Capítulo V, Título II, da

Consolidação das Leis do Trabalho, relativas à Segurança e Medicina do Trabalho. NR 15 - Atividades e Operações Insalubre - Anexo no 11. Disponível em: <<http://sislex.previdencia.gov.br/paginas/05/mtb/15.htm>>. Acesso em: 24 out. 2016.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, Presidência da República. Plano Amazônia Sustentável: diretrizes para o desenvolvimento sustentável da Amazônia Brasileira / Presidência da República. – Brasília: MMA, 2008. 112 p.

BURT, J.R.; HARDY, R. Composition and deterioration of pelagic fish. In Burt, J.R.; Hardy, R. & Whittle, K.J. (Eds.). Pelagic fish. London: Fishing News Book; Chap.9, p. 115–141, 1992.

CAMARGO, S.G.O.; POUHEY, J.O.F. Aquicultura – um mercado em expansão. Revista Brasileira de Agrociência, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 393- 396, 2005.

CAMPOS, C. A.; RODRIGUEZ O.; LOSADA V.; AUBOURG S. P.; BARROS-VELAZQUEZ, J. Effects of storage in ozonized slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardinapilchardus*). International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 103, n. 2, p. 121-130, 2005.

CAMPOS, J. L.; ONO, E.A.; ISTCHUK, P. I. A cadeia de produção e o preço do tambaqui. Panorama da aquicultura. V. 25, Nº 149 Maio/Junho, 2015.

CARTONILHO, M.M.; JESUS, R.S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, n.4, p.344-350, 2011.

CERDEIRA, R. G. P.; RUFFINO, M. L.; ISAAC, V. J. Consumo de pescado e outros alimentos pela população ribeirinha do lago grande de Monte Alegre, PA. Brasil. Acta Amazonica, v.27, n.3, p. 213-228, 1997.

CHIATTONE, P.V., TORRES, L.M.; ZAMBIAZI, R.C. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. Alimentos e Nutrição, 19(3): 341-349, 2008.

COSTA, L. R. F.; BARTHEM, R. B.; BITTENCOURT, M. M. A pesca do tambaqui, *Colossoma macropomum*, com enfoque na área do médio Solimões, Amazonas, Brasil. Acta Amazonica, v.31, n.3, p. 449-468, 2001.

CONSTANTINIDO, G. A saúde do pescado depende diretamente da saúde do ambiente. Higiene Alimentar, v.8, n.32, p.5-6, 1994. Trabalho apresentado no SEMINÁRIO DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA PESQUEIRA: QUALIDADE DE PESCADOS, 1., 1994, São Paulo.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. Bioquímica de pescados e derivados. Jaboticabal: FUNEP, 1994, 409p.

DELBEM, A. C. B.; GARBELINI, J. S.; LARA, J. A. F. Avaliação Microbiológica do Pintado (*Pseudoplatystomacorruscan*) Obtido no Rio Paraguai (Pantanal) e Conservado em Gelo. In: Simpósio sobre recursos naturais e socioeconômicos do Pantanal. Corumbá, p. 1 – 5, 2010.

DENARDI, D.C.F; SALGADO, J.N.; MOREIRA, R; Efeito da dieta, estatina e ácidos graxos ômega 3 sobre a pressão arterial e a lipídemia em humanos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Vol.24, Núm. 4, p. 863-867, 2009.

EIROA, M. N. U. Aspecto microbiológicos relacionados à conservação e ao consumo de pescado. *Boletim da Sociedade Brasileira Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 54, p. 9-37, 1980.

EVANGELISTA, José. *Tecnologia de alimentos*. 2. ed. Atheneu, 2008. P. 175.

FAO - FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos*. Roma. 2016. 224 p.

FEDERAL REGISTER. Department of Health and Human Services. *Food and Drug Administration-FDA* Vol. 66, No.123, 2001.

FERREIRA, M.W.; SILVA, V.C.; BRESSAN, M.C.; FARIA, P.B.; VIEIRA, J.O.; ODA, S.H.I. Pescados processados: maior vida-de-prateleira e maior valor agregado. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2002. 26p. (*Boletim de extensão rural*).

FERREIRA, E. M.; LOPES, I. S.; PEREIRA, D. M.; RODRIGUES, L. C.; COSTA, F. N. Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação. *Arq Inst Biol*.81(1):49-54, 2014.

FONTENELE, R. M. M. ; MOTA, S. ; SANTOS, E. S. dos . Índice de rigor mortis de tilápias do Nilo abatidas de diferentes formas após cultivo em esgoto doméstico tratado. *Revista Conexões Ciências e Tecnologia*, v. 7, p. 61-72, 2013.

FRANCO, B.D.G.M.F; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. In: LANDGRAF, M. *Microorganismos indicadores*. Ed. Atheneu, cap.3, p. 27-31, 2008.

GANDRA, A. L. O mercado de pescado da região metropolitana de Manaus. *Serie: O mercado do pescado nas grandes cidades latino-americanas*. Infopesca/FAO/CFC, 2010.

GERMANO, P.M.L.; OLIVEIRA, J.C.F.; GERMANO, M.I.S. O pescado como causa de toxinfecções bacterianas. *Hig. Alim.*, v.7, p.40-45, 1993.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo: Varela, 2001.p.18, 115-126.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. 3.ed. Barueri: Manole, v.1, 2008, 986p.

GEROMEL, E. J.; FORSTER, R. J. *Princípios fundamentais em tecnologia de pescado*. São Paulo, Secretaria de Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1989, 127p. (*Série Tecnologia Agroindustrial*, 11).

GIAMPIETRO, A.; REZENDE-LAGO, N. C. M. Qualidade do gelo utilizado na conservação de pescado fresco. Arq. Inst. Biol. 76(3):505-8, 2009.

GIORDANO, B. N. E. Efeito do ozônio sobre a micoflora e aflatoxinas durante a armazenagem de castanha-do-brasil com casca (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). Dissertação (Mestre em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2009.

GOMES, J. C. Análises de Alimentos. 1 ed. Universidade Federal de Viçosa-MG, 152p, 2003.

GONÇALVES, A. A. Ocorrência de off-flavor em pescado: um problema a ser resolvido em peixes marinhos. Revista Aquicultura e pesca, 18: 30-31, 2006.

GONÇALVES, A.A. Ozone – an emerging technology for the seafood industry. Brazilian Archives of Biology and Technology, 52(6): 1527-1539, 2009.

GONÇALVES, A.A. Processos Oxidativos Avançados (Ozônio), In: Gonçalves, A.A. (Ed.). Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação (pp.500-512). São Paulo: Ed. Atheneu, 2011.

GOULDING, M.; CARVALHO, M.L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. Rev. Bras. Zool., v.1, n.2, p.107-133, 1982.

GUZEL-SEYDIM, Z. B; GREENE, A. K; SEYDIM, A. C. Use of ozone in the food industry. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 37, 453– 460, 2004.

HAARD, N. The role of enzymes in determining seafood color, flavor and texture. In: Bremner HA (ed.). Safety and quality issues in fish processing. Cambridge (England): Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC; 2002, 520p.

HARVEY, B.; ROSS, C.; BAER, A. Migratory Fishes of South America : Biology, Fisheries and Conservation Status. Edited by Joachim Carolsfeld, 2003.

HEALTH CANADA. Prenatal Nutrition Guidelines for Health Professionals Fish and Omega-3 Fatty Acids. Minister of Health Canada, 2009.

HILL, A.G.; RICE, R.G. Historical background, properties and applications, in Rice, R.G. and Netzer, A. (eds) Handbook of Ozone Technology and Applications, Vol. 1, Ann Arbor, MI: Ann Arbor Science Publishers, pp. 1–37, 1982.

HOBBS, B.C. Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos. São Paulo: Varela, 1998. p.29, 39-40.

HUNT, N. K.; MARIÑAS, B. J. Inactivation of *Escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics. Water Research, Kidlington, v. 33, n. 11, p. 2633-2641, 1999.

HURLBERT, S. H. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Society of America, Ecological Monographs*, 54(2): 187-211, 1984.

HUSS, H.H. Freshfish: quality and quality changes. Rome: FAO: DANIDA, 1988. 132p. (FAO Fisheries Series, n. 29).

HUSS, H. H. Quality and quality changes in freshfish. FAO Fisheries Technical Paper n° 348. Rome: FAO/UM; 1995. 126 p.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods. 2. *Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*. 2 Ed. Blackwell Scientific Publications, 2005.

JESUS, R. S.; LESSI, E.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade química e microbiológica de "minced fish" de peixes amazônicos durante o congelamento. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas* v.21 (2) p.144-148, 2001.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of Food Science, Malden*, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.

KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e outros peixes redondos. *Panorama da Aqüicultura*, v. 14, n. 82, p. 27-29, 2004.

LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÄSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In: GONÇALVES, R. F. (Coord.). *Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aqüicultura e hidropônica*. Vitória: PROSAB, 2003. p. 169-208.

LATEEF, A.; OLOKE, J.K.; KANA, E.B.G.; PACHECO, E. The microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in Ogbomoso Metropolis, Southwest, Nigeria. *Internet Journal of Food Safety*, v.8, p.39-43, 2006.

MACHADO, Z.L. Tecnologia de recursos pesqueiros: Parâmetros, processos e produtos. Recife, SUDENE-DRN-DIV. Recursos pesqueiros. 1984, 277p.

MADRID, M.M.R.; PHILLIPS, H. Post-harvest handling and processing. In: *Freshwater prawn culture. The farming of *Macrobrachium rosenbergii**. Ed. M.B. New & W.C. Valenti, Osney Mead, Oxford, UK., p. 236-344, 2000.

MARTINS DÓTTIR, E.; SVEINSDÓTTIR, K.; LUTEN, J.; SCHELVIS-SMIT, R. Sensory evaluation of fish freshness. Reference manual for the fish sector, QIM-Eurofish, Svanspretehf, Islândia, 2004. 58p.

MELO, L. A. S.; IZEL, A. C. U.; RODRIGUES, F. M. Criação de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2001, 30 p.

MENDES, J.M. Influência do estresse do pré-abate e durante o abate na qualidade do tambaqui (*Colossoma macropomum*) cultivado. 102p. Dissertação (Mestrado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2013.

NEIVA, C. R. P. Valor Agregado e Qualidade do Pescado. Simpósio de Controle do Pescado: Qualidade e Sustentabilidade. Março, 2005. São Paulo. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppeca/cristiane.pdf>. Acesso em 20 Jan.2016.

NICHOLS, G.; GILLESPIE, I.; LOUVOIS, J. The microbiological quality of ice used to cool drinks and ready-to-eat food from retail and catering premises in the United Kingdom. *Journal of Food Protection*, v.63, n.1, p.78-82, 2000.

NUNES, E.S.; CAVERO, B.A.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v.41, n.1, p. 139-143, 2006.

NUNES, M.L.; BATISTA, I. Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. Lisboa: IPIMAR Divulgação 29, 2004, 4p.

ÓLAFSDÓTTIR, G.; MARTINSDÓTTIR, E.; OEHLenschläger, J.; DALGAARD, P.; JENSEN, B.; UNDELAND, I.; MACKIE, I. M.; HENEHAN, G.; NIELSEN, J.; NIELSEN, H. Method to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology*, 8: 258-265, 1997.

O'DONNELL, C.; TIWARI, B.K.; CULLEN, P.J.; RICE, R.G. Status and trends of ozone in food processing. In: O'DONNELL, C.; TIWARI, B.K.; CULLEN, P.J.; RICE, R.G. *Ozone in food processing*. Blackwell Publishing Ltd. 2012, 309p.

OETTERER M. Proteínas do pescado: processamento com intervenção na fração proteica. In: Oetterer, M.; Regitano d'Arce MAB, SPOTO MHF. *Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Barueri: Manole, 3:99-134, 2006.

OGAWA, M.; MAIA, E. Manual de Pesca: C & T do Pescado. Vol.1. Ed. Varela, SP. 1999.

OLIVEIRA, N. M. S.; OLIVEIRA, W. R. M.; NASCIMENTO, L. C.; SILVA, J. M. S. F.; VICENTE, E.; FIORINI, J. E.; BRESSAN, M. C. Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 28(1): 83-89, 2008.

OLIVEIRA, P.R.; JESUS, R.S.; BATISTA, G.M.; LESSI, E. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) durante estocagem em gelo. *Brazilian Journal of Food Technology*, nº 17, p. 67-74, 2014.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; G, L. A. G.; Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos.; *Quim. Nova*; 28; 655-663, 2005.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. Aquicultura no Brasil o desafio é crescer. Brasília, 2008, 276p.

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

RAMOS, F. C. P.; LOURENÇO, L. F. H.; JOELE, M. R. S. P.; LIMA, C. L.; S. C. A. RIBEIRO. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) sous vide: characterization and quality parameters. Sous vide de tambaqui (*Colossoma macropomum*): caracterização e parâmetros de qualidade. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 37, n. 1, p. 117-130, 2016.

REIS, R. E.; ALBERT, J. S.; DI DARIO, F.; MINCARONE, M. M., PETRY, P.; Rocha, L. A. Fish biodiversity and conservation in South America. *Journal of Fish Biology*, v. 89, n. 1, p. 12-47, 2016.

RICE, R. G.; ROBSON, C. M.; MILLER, G. W.; HILL, A. G. Uses of ozone in drinking water treatment. *Journal of the American Water Works Association*, 73(1), 44-57, 1981.

RITTER, D. O.; LANZARIN, M.; NOVAES, S. F.; MONTEIRO, M. L. G.; ALMEIDA FILHO, E. S.; MÁRSICO, E. T.; FRANCO, R. M.; CONTE-JUNIOR, C. A.; FREITAS, M. Q. Quality index method (QIM) for gutted ice stored hybrid tambatinga (*Colossoma macropomum x Piaractus branchiophomum*) and study of shelf life. *LWT - Food Science and Technology*, 67(1), 55-61, 2016.

SAINT-PAUL, U. Hipoxia tolerance of neotropical fish culture candidates. In: De PAUW, Net Al (eds) *Aquaculture: a biotechnology in progress*. Bredene: European Aquaculture Society, p.907-912, 1989.

SALES, R.O.; MAIA, E. L. Composição química e classes de lipídios em peixe de água doce tambaqui, *Colossoma macropomum*. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v.7, n.2, p. 31 – 44, 2013.

SANT'ANA, L.S.; SOARES, S.; VAZ-PIRES, P. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored black spot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *LWT - Food Science and Technology*, v.44, p.2253-2259, 2011.

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. Peixes comerciais de Manaus – Manaus: Ibama/AM, ProVárzea, 2006, 144p.

SÃO PAULO. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v. 1: Métodos físico-químico para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo: IMESP, p.633-643, 2008.

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

SCHERER, R.; DANIEL, A. P.; AUGUSTI, P. R.; LAZZARI, R.; LIMA, R. L.; FRIES, L. L. M.; RADUNZ NETO, J.; EMANUELLI, J. Efeito do Gelo Clorado sobre Parâmetros Químicos e Microbiológicos da Carne de Carpa Capim (*Ctenopharyngodon idella*). *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 24, n. 4, p. 680-684, 2004.

Seafood Industry Training Organisation (SITO). Identify characteristics of quality and describe seafood spoilage factors and how seafood spoilage is controlled. Learning Resource for Unit Standards: 5316, 5328 and 15884. Wellington, New Zealand; 2000, 70 p.

SILVA, N. JUNQUEIRA, V; SILVEIRA, N; TANIWAKI, M; SANTOS, R; GOMES, R. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.

SILVA, A. M. M.; GONÇALVES, A. A. Potencialidade do uso de água ozonizada no processamento de peixes. Actapesca, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2014.

SILVA, M. L.; MATTÉ, G. R.; MATTÉ, M. M. Aspectos sanitários da comercialização de pescado em feiras livres da cidade de São Paulo, SP/Brasil. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v. 67, n. 3, p. 208-214, 2008.

SILVA, S. B.; LUVIELMO, M. M.; GEYER, M. C.; PRÁ, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n. 2, p. 659-682, 2011.

SILVEIRA, G. R. Prazo de validade de tilápias (*Oreochromis niloticus*) mantidas sob refrigeração em diferentes períodos de estocagem. Dissertação (Mestre em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2013.

SIMON, S. S.; SANJEEV, S. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. Food Control, San Luis Obispo, v.18, p. 1565-1568, 2007.

SLEDER, F.; CARDOSO, D. A.; SAVAY-DA-SILVA, L. K.; ABREU, J. S.; OLIVEIRA, A. C. S.; FILHO, E. S. A. Development and characterization of a tambaqui sausage. Ciênc. Agrotec., Lavras, v. 39, n. 6, p. 604-612, 2015.

SOARES, K.M.P.; GONÇALVES, A.A. Aplicação do método do índice de qualidade (MIQ) para o estudo da vida útil de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sem pele, armazenados em gelo. Semin Ciências Agrárias 33, 2289–2300. V. 33, n. 3, p. 2289-2300, 2012.

SOARES, M.G.M; COSTA, E.L.; SIQUEIRA-SOUZA, F.K.; ANJOS, H.D.B.; YAMAMOTO, K.C. Peixes de Lagos do Médio Rio Solimões. 2a. ed. Manaus. Reggo Edições. 2011, 160p.

SOUZA, M. L. R.; DOURADO, D. M.; MACHADO, S.D.; BUCCINI, D. F.; JARDIM, M. I. et al. Análises da pele de três espécies de peixes: histologia, morfometria e testes de resistência. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 32, n. 6, p. 1551-1559, 2003.

SOCOL, M.C.H.; OETTERER, M. Seafood as functional food. Brazilian Archives of Biology and Technology. v.46, n.3, p. 443-454, 2003.

STANSBY, M.E. Proximate composition of fish. In: HEEN, E.; KREUEER, R. (Ed.). Fish in nutrition. London: Fishing News, 1962.

Superintendência da zona Franca de Manaus – SUFRAMA. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Potencialidades Regionais- Estudo de Viabilidade Econômica. v. 8 – Piscicultura, 2003.

TACON A. G. J.; METIAN M. Fish matters: Importance of aquatic foods in human nutrition and global food supply. Reviews in Fisheries Science, 21(1):22–38, 2013.

VAL, A.L.; ROLIM, P.R.; RABELO, H. Situação atual da aquicultura na região norte. In: VALENTI, W.C.; POLI, C.R.; PEREIRA, J.A.; BORGHETTI, J.R. (Ed.). Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq/MCT, p. 247-266, 2000.

VIANA, I. C. L. A.; ROMÃO, N. F.; VALIATTI, T. B.; FONSECA, C. X.; SOBRAL, F. O. S.; OLIVEIRA, U. A. Análise microbiológica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na feira municipal de Ariquemes, Estado de Rondônia, Brasil. RevPan-AmazSaude, vol.7, no.2, p.67-73, 2016.

VIEIRA, R.H.S.F.; SAMPAIO, S.S. Emprego de gelo nos barcos de pesca, p.37-44, in Vieira, R.H.S.F. (org.), Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática. Varela Editora e Livraria Ltda., 380 p., São Paulo, 2004.

VILLACORTA-CORREA, M. A.; SAINT-PAUL, U. Structural indexes and sexual maturity of tambaqui *colossoma macropomum* (cuvier, 1818) (characiformes: characidae) in central amazon, brazil. Revista Brasileira Biologia, 59(4): p. 637-652, 1999.

ZANINI, M.S.; MARTINS, J.D.; TORRES, A.; TOBIAS, FL. Avaliação microbiológica do gelo de balcão frigorífico de peixarias da grande Vitória-ES. HigAliment. 15(80/81):122. 2001.

ZAR, J.H. Biostatistical Analysis. 5th Edition, Prentice-Hall/Pearson, Upper Saddle River, xiii, 2010, 944 p.

ZHANG, T.; XUE, Y.; LI, Z.; WANG, Y.; YANG, W.; XUE, C. Effect of ozone on the removal of geosmin and the physicochemical properties of fish meat from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). Innovative Food Science and Emerging Technologies. 34, 16–23, 2016.

## 8 Anexos

Tabela 1- Valores de pH obtidos em tabaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e gelo comum durante 35 dias de armazenamento.

Tempo de armazenamento (dia)	Valores do pH	
	Gelo ozônizado	Gelo comum
00	6,432±0,02	6,432±0,02
07	6,348±0,02	6,344±0,03
14	6,336±0,02	6,330±0,01
21	6,432±0,01	6,442±0,04
28	6,442±0,03	6,473±0,04
35	6,460±0,01	6,470±0,02

\*Média ± desvio padrão

Tabela 2- Valores de N-BVT obtidos em tabaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e gelo comum durante 35 dias de armazenamento.

Tempo de armazenamento (dia)	Valores do N-BVT (mg N/100g)	
	Gelo ozônizado	Gelo comum
00	9,274±0,63	9,274±0,63
07	9,142±0,51	12,014±1,69
14	9,196±0,29	12,568±0,56
21	9,872±0,19	13,598±0,77
28	12,648±1,81	13,496±1,57
35	14,256±0,88	20,814±4,12

\*Média ± desvio padrão

Tabela 3- Valores de TBARS obtidos em tabaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e gelo comum durante 35 dias de armazenamento.

Tempo de armazenamento (dia)	Valores de TBARS (mg MA/Kg)	
	Gelo ozônizado	Gelo comum
00	0,396±0,04	0,396±0,04
07	0,148±0,01	0,246±0,02
14	0,289±0,01	0,384±0,05
21	1,169±0,07	0,953±0,12
28	1,520±0,27	1,914±0,49
35	1,877±0,53	2,514±0,32

\*Média ± desvio padrão

Tabela 4- Escores médios obtidos a partir da avaliação do IQ em tabaqui inteiro armazenado em gelo ozonizado e gelo comum durante 35 dias de armazenamento.

Tempo de armazenamento (dia)	Valores do IQ	
	Gelo ozônizado	Gelo comum
00 dias	0,00±0,00	0,00±0,00
07 dias	4,64±0,29	5,83±0,41
14 dias	13,30±2,20	15,30±0,24
21 dias	17,40±1,96	18,62±0,51
28 dias	23,45±1,51	25,50±0,41
35 dias	28,90±1,31	26,50±0,41

\*Média ± desvio padrão