



**UAAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Efeitos da embalagem em ar, sob vácuo e em atmosfera modificada sobre a qualidade de filetes de peixe-porco *Balistes capriscus*

Luís Miguel Valadas Horta Silva Guerra

Trabalho final de Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Faro, 2013



**UAAlg**

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Efeitos da embalagem em ar, sob vácuo e em atmosfera modificada sobre a qualidade de filetes de peixe-porco *Balistes capriscus*

Luís Miguel Valadas Horta Silva Guerra

Trabalho final de Mestrado em Tecnologia de Alimentos

Departamento de Engenharia dos Alimentos, Instituto Superior de Engenharia

Trabalho orientado por

Professor Doutor Eduardo Esteves

Professor Doutor Jaime Aníbal

Faro, 2013

Efeitos da embalagem em ar, sob vácuo e em atmosfera modificada sobre a qualidade de filetes de peixe-porco *Balistes capriscus*

### **Declaração de Autoria de Trabalho**

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

(Luís Miguel Valadas Horta Silva Guerra)

©2013 Luís Miguel Valadas Horta Silva Guerra

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## **Agradecimentos**

Chegado ao final de mais uma etapa, cabe-me agora agradecer aqueles cujo apoio foi fundamental para a conclusão deste trabalho. É com enorme gratidão que aqui deixo palavras de apreço a todos que contribuíram de uma forma ou de outra para esta dissertação.

Ao meu orientador Doutor Eduardo Esteves, a quem devo muito deste trabalho e que me disse um dia: “Porque não fazes?”. Sem a sua ajuda prática e sem o seu apoio não teria sido possível. Para si e para o Doutor Jaime Aníbal, não encontro palavras que cheguem para agradecer.

Ao meu co-orientador Doutor Jaime Aníbal, pela sua ajuda prática, toda a sua disponibilidade e modo sempre simpático;

À Eng<sup>a</sup>. Neuza, pela forma como me ajudou com o seu vasto conhecimento;

À técnica de laboratório Sílvia, que me auxiliou sobremaneira;

Ao colega e amigo Ricardo Soares;

Aos meus pais, Carlos e Antonieta, à minha irmã, Marguérid, ao meu mano, Jorge;

A ti, Liliana, que tens “aturado” todo este processo;

Ao meu tio Manel, que partiu no decorrer desta etapa e a quem dedico esta dissertação;

Finalizando, a todos aqueles que não referi mas que de algum modo estão sempre presentes para mim, muito obrigado!

Bem hajam!

## Resumo

Este trabalho teve como objetivo o estudo do efeito de diferentes modos de embalagem (em ar, sob vácuo e em atmosfera modificada) sobre a qualidade (em termos físico-químicos e microbiológicos) e o tempo de conservação útil de filetes de peixe-porco (*Balistes capriscus*). Para tal, foram estudados parâmetros físicos (textura e cor) e químicos (pH e azoto básico volátil total, ABVT) em função do tempo e qualidade microbiológica em termos de segurança alimentar através da análise de microbiota total, microrganismos psicrotróficos, microrganismos sulfito-redutores e bactérias ácido-lácticas (LAB) em função do tempo.

Após filetagem, as amostras foram embaladas em ar, em vácuo e em atmosfera modificada e foram analisadas quanto aos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos nos dias 0 (peixe fresco), 1, 5, 10 e 15.

A evolução da cor dos filetes de peixe-porco foi monitorizada através de colorímetro e utilizando o sistema de cor CIE L\*a\*b\*, a análise da textura dos filetes foi realizada através de texturómetro, o valor de pH foi medido à temperatura ambiente, para a determinação do teor ABVT foi usado o método de microdifusão de Conway e Byrne, para a determinação da microbiota total foi utilizada a técnica descrita na norma portuguesa NP 4405 (2002), a pesquisa de microrganismos psicrotróficos foi realizada de acordo com a norma interna ISO 17410 (2001), a determinação de microrganismos sulfito-redutores foi realizada de acordo com a norma ISO 15213 (2003) (adaptado) e a determinação de bactérias ácido-lácticas foi realizada de acordo com a norma interna ISO 15214 (1998).

Os resultados obtidos apontam para que as amostras embaladas em “ar” tenham um tempo médio de vida útil de cerca de 6 dias, 9 dias no caso das amostras em vácuo e 13 dias no caso da atmosfera modificada. A embalagem em atmosfera modificada permite prolongar o tempo de prateleira de peixe-porco fresco em cerca de 117 % em relação à embalagem controlo (AR).

### Palavras-chave

Peixe-porco, *Balistes capriscus*, filetes, qualidade, tempo de prateleira, microbiota total, microrganismos sulfito-redutores, bactérias ácido-lácticas, microrganismos psicrotróficos, azoto básico volátil total (ABVT).

## **Abstract**

This work aimed to study the effect of different types of packaging (in air, vacuum and modified atmosphere) on the quality (in physico-chemical and microbiological terms) and shelf-life of grey triggerfish (*Balistes capriscus*) fillets. To reach this goal, were studied physical parameters (colour and texture), chemical parameters (pH and nitrogen compounds TVB-N) and microbiological quality in terms of food security through the analysis of total viable count (TVC), psychrotrophic microorganisms, sulfite-reducing microorganisms and acid-lactic bacteria.

The samples were packed in air, vacuum and modified atmosphere and were analyzed for physical, chemical and microbiological on days 0 (fresh fish), 1, 5, 10 and 15 after filleting and packaging.

The colour variation was monitored by using a colorimeter and the CIE L\*a\*b\* colour system, the texture was monitored by using a texturometer, the pH value was measured using a pH meter, the content of TVB-N was determined using the Conway and Byrne method, for the determination of TVC was used the described in Portuguese standard NP 4405 (2002), the search of psychrotrophic was performed according to the international standard ISO 17410 (2001), the determination of sulfite-reducing microorganisms was performed according to standard ISO 15213 (2003) (adapted) and acid-lactic bacteria was conducted according to the international standard ISO 15214 (1998).

This study concludes that the samples packed in air have an average shelf-time of about 6 days, 9 days for the samples under vacuum and 13 days for the samples in modified atmosphere. The modified atmosphere packaging proved to prolong the shelf-life of fresh grey triggerfish about 117% over the control package (air).

## **Keywords**

Grey triggerfish, *Balistes capriscus*, fillet, quality, total viable count, sulphite reducing microorganisms, acid lactic bacteria, psychrotrophic microorganisms, total volatile basic nitrogen (TVB-N).

# Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Considerações gerais.....	1
1.2. Peixe-porco, <i>Balistes capriscus</i> (Linnaeus, 1758).....	4
1.2.1. Classificação.....	4
1.2.2. Taxonomia.....	5
1.2.3. Morfologia.....	6
1.2.4. Biologia.....	7
1.2.5. Reprodução.....	8
1.2.6. Etologia.....	8
1.2.7. Predadores.....	9
1.2.8. Distribuição geográfica e habitat.....	9
1.2.9. Pesca.....	10
1.2.10. Importância como recurso alimentar.....	11
1.3. Qualidade do pescado.....	12
1.3.1. Alterações de qualidade do pescado após a captura.....	13
1.3.2. Alterações sensoriais.....	14
1.3.3. Alterações químicas.....	15
1.3.3.1. Alterações de pH.....	16
1.3.3.2. Alterações nos compostos azotados.....	16
1.3.3.3. Alterações proteicas.....	17
1.3.3.4. Degradação de lípidos.....	17
1.3.4. Alterações microbiológicas.....	18
1.3.4.1. Microbiota total.....	19
1.3.4.2. Organismos patogénicos.....	19
1.3.4.3. Crescimento bacteriano no pescado.....	20

1.3.5. Perigo para a saúde relacionados com a produção/consumo de pescado .....	21
1.3.6. Indicadores de qualidade do pescado .....	22
1.4. Breve história da conservação de alimentos.....	25
1.5. Tempo de conservação útil.....	25
1.6. Embalagem.....	27
1.6.1. Embalagem em vácuo .....	28
1.6.2. Embalagem em atmosfera modificada .....	29
1.6.2.1. Utilização de MAP de pescado .....	32
1.7. Objetivos .....	33
2. Material e Métodos.....	35
2.1. Amostra de peixe e filetagens .....	35
2.2. Embalagem.....	35
2.3. Determinação de parâmetros físico-químicos .....	36
2.3.1. Cor.....	36
2.3.2. Textura .....	37
2.3.3. Determinação de pH.....	37
2.3.4. Azoto Básico Volátil Total (ABVT) .....	38
2.4. Parâmetros microbiológicos .....	38
2.4.1. Determinação de microbiota total .....	40
2.4.2. Microrganismos psicrotróficos.....	40
2.4.3. Determinação de microrganismos sulfito-redutores.....	40
2.4.4. Bactérias ácido-lácticas (LAB) .....	41
2.5. Análise estatística.....	41
3. Resultados.....	42
3.1. Parâmetros físicos .....	42
3.1.1. Cor.....	42
3.1.2. Textura .....	45
3.2. Parâmetros químicos .....	46

3.2.1. pH.....	46
3.2.2. ABVT .....	48
3.3. Parâmetros microbiológicos .....	49
3.3.1. Microbiota total .....	49
3.3.2. Microrganismos psicrotróficos.....	51
3.3.3. Microrganismos sulfito-redutores .....	52
3.3.4. Bactérias ácido-láticas.....	54
3.4. Tempo de conservação útil.....	55
4. Discussão .....	56
5. Conclusões.....	66
6. Referências Bibliográficas.....	68

# 1. Introdução

## 1.1. Considerações gerais

O género *Balistes*, em geral, apresenta-se com uma relevante importância comercial e recreativa e congrega espécies alvo de opiniões diametralmente opostas. Enquanto que a exótica e exuberante espécie *Rhinecanthus aculeatus* povoa largamente os aquários públicos e é alvo de admiração pela sua beleza, o seu parente *Balistes capriscus*, objeto deste estudo, recolhe comentários menos lisonjeiros (Leal, 1990).

Durante muito tempo, o consumo de peixe-porco em Portugal foi associado às classes de menor nível sócio-económico. Sendo uma espécie conhecida entre as comunidades piscatórias pela grande abundância nas capturas acessórias de vários tipos de arte de pesca, só as mãos hábeis e experientes das gentes do mar sabiam como tirar proveito do peixe-porco sem se deixar intimidar pela sua aparência e resistência. No entanto, mantém a reputação de peixe temperamental entre a comunidade de amantes do mergulho e da caça submarina que veem nele uma espécie a evitar no contacto direto (Leal, 1990).

Atualmente, *Balistes capriscus* é bastante apreciado do ponto de vista gastronómico, embora o seu nome popular indicie, logo à partida, uma conotação pejorativa que não faz jus à qualidade organoléptica da espécie. Não será muito comum encontrar este peixe à venda nos pontos de comércio de larga escala em Portugal (Leal, 1990) devido ao menor valor comercial (Borges et al., 2006) e também porque *simplesmente* a sua apresentação não é apelativa e a sua preparação não é fácil. De facto, a pele do peixe-porco é composta por escamas largas e muito rijas de difícil manipulação. Após captura, o peixe-porco além de emitir grunhidos característicos, apresenta ainda uma camada viscosa que mais não é do que uma proteção do próprio animal para o meio rochoso e coralífero onde normalmente habita. Todavia, quem conhece a espécie e já teve oportunidade de a apreciar, sabe que a sua carne branca e firme é de excelente qualidade (Leal, 1990; Szedlmayer, 1997), podendo ser encontrada essencialmente no comércio local e ser consumida fresca, fumada, salgada ou seca (Leal, 1990). Em algumas regiões do Brasil, nomeadamente no estado de São Paulo, é um importante recurso pesqueiro (Souza e Ávila-da-Silva, 2010) e é largamente procurado e consumido.

Atualmente, a International Union for Conservation of Nature (IUCN), uma organização global de estados, agências governamentais e organizações não-governamentais que acompanham o estado de conservação das espécies, não considera *Balistes capriscus* na lista de espécies ameaçadas ou em condições vulneráveis (IUCN, 2012), pelo que aparenta ser acertado dizer que o peixe-porco nunca foi considerado como uma espécie com real potencial económico. Salvo no Brasil, onde as quantidades capturadas deste pescado são realmente mais elevadas e a indústria recorre a meios mais mecanizados para responder à procura comercial da espécie, no resto do mundo, assim como em Portugal, a pesca do peixe-porco tem ainda um carácter quase completamente artesanal. Mesmo no Arquipélago dos Açores, a região nacional onde esta espécie é mais popular, as artes de pesca mais comuns são as linhas de mão<sup>1</sup> e a palangre de fundo<sup>2</sup> (Leal, 1990). Na verdade, a frota açoriana dedicada à captura de espécies demersais<sup>3</sup> em geral, é bastante rudimentar, não tendo sofrido grandes evoluções técnicas ou tecnológicas nos últimos 20 anos (DOP, 2011).

Esta realidade resulta no facto de as quantidades capturadas serem pouco significativas, não resultando daqui, porém, grande prejuízo, dada a fraca procura deste peixe. No entanto, “(...) *com a rápida evolução dos hábitos alimentares dos consumidores no sentido de maior sofisticação e comodidade, a comercialização e a transformação dos produtos da pesca assumem uma importância fundamental para a viabilidade de todo o sector (...)*” (Leal, 1990), parece pertinente contribuir para a renovação e inovação do sector do pescado e apostar na produção e comercialização de filetes de peixe-porco em atmosfera modificada, tirando proveito das claras vantagens deste tipo de produto para o consumidor final, nomeadamente a manutenção de características sensoriais, essencialmente odor e aspeto visual, facilidade de etiquetagem e conveniência no manuseamento e transporte.

---

<sup>1</sup> São artes de anzol usadas em pequenos barcos de madeira, muito variadas e, geralmente, operadas à mão. Podem distinguir-se a entorta, o espinhel, o gatoeiro, a gorazeira, a jogada, a rabadela e o tangaril.

<sup>2</sup> São artes semelhantes à pesca de linha, apresentando as mesmas características gerais e diferindo apenas no uso de pedras (palangre pedra-pedra) ou de pedras alternando com bóias (palangre pedra-bóia).

<sup>3</sup> Chamam-se demersais aos animais aquáticos que, apesar de terem capacidade de natação activa, vivem a maior parte do tempo em associação com o substrato, quer em fundos arenosos ou rochosos.

Para suportar a possibilidade de comercialização em maior escala de peixe-porco, afigura-se fundamental a evolução das técnicas de pesca atualmente utilizadas ou a eventual pesquisa e desenvolvimento de novas artes de pesca, bem como de embarcações capazes de direcionar a atividade para esta espécie. Pretender-se-á assim dotar a frota nacional com as capacidades de captura, armazenagem e conservação em transporte necessárias para atingir quantidades de pescado que possam fornecer a futura indústria de produção de filetes de peixe-porco embalados, por exemplo, em atmosfera modificada.

Cientes de que *“(...) é um processo de embalamento bastante caro e bastante volumoso pelo que onera também os custos de transporte e de armazenamento. Além disso, exige matéria-prima de elevada qualidade e, após a embalagem, deve ser mantido na fase de distribuição a temperaturas próximas de 0 °C (...)”* (Leal, 1990), afigura-se lógico que um tão avultado investimento em desenvolvimento de técnicas de captura, modernização de frota, criação de processos de armazenagem, conservação e transformação de matéria-prima em produto preparado, só fará sentido na perspectiva de um retorno relativamente elevado e de menor risco.

O “edifício contabilístico” concreto de custos e proveitos de um projeto desta envergadura só poderá ser efetivamente elaborado por profissionais; no entanto, e tendo em conta todas as realidades apontadas e conclusões lógicas que delas se podem retirar, apresenta-se como um plano merecedor da maior atenção. Sabendo que as reservas de peixe-porco estão praticamente inexploradas e parecem confirmar-se numerosas, obtém-se matéria-prima de elevada qualidade e baixo custo que apresenta um potencial de ganho comercial interessante de avaliar. É todo um nicho de mercado que pode ser trabalhado quer pela indústria pesqueira, transformadora e, em última análise, pelas cadeias de grandes superfícies comerciais cuja margem económica será a mais proveitosa.

Numa sociedade de consumo onde cada vez mais dominam os agentes económicos que se colocam na vanguarda da técnica e da inovação e que apresentam ao consumidor final um leque de escolhas alargado e enriquecido, conseguir apontar alternativas aos sistemas e produtos existentes é uma mais-valia importante que permite estar um passo à frente da concorrência. Portugal e a indústria portuguesa enfrentam os

desafios da competição internacional, inclusive dentro do “bloco comercial” onde estão inseridos, a União Europeia, e não podem deixar de apostar no crescimento das suas exportações, legislando favoravelmente, fazendo um uso consciente e inteligente dos recursos disponíveis e potenciando ao máximo os acordos comerciais preferenciais existentes com outros países.

## 1.2. Peixe-porco, *Balistes capriscus* (Linnaeus, 1758)

Na figura 1 está representado um indivíduo de peixe-porco.



Figura 1. Espécime adulto de peixe-porco, *Balistes capriscus*

(Fonte: [http://ca.wikipedia.org/wiki/Fitxer:Balistes\\_capriscus2.jpg](http://ca.wikipedia.org/wiki/Fitxer:Balistes_capriscus2.jpg))

### 1.2.1. Classificação

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Sub-filo: Vertebrata

Super-classe: Osteichthyes

Classe: Actinopterygii

Sub-classe: Neopterygii

Infra-classe: Teleostei

Super-ordem: Acanthopterygii

Ordem: Tetraodontiformes

Sub-ordem: Tetraodontodei

Família: Balistidae

Género: *Balistes*

Espécie: *Balistes capriscus*

### 1.2.2. Taxonomia

Pertencente à família *Balistidae*, o peixe-porco foi originalmente descrito pelo alemão Johann Friedrich Gmelin em 1788, designado-o por *Balistes carolinensis*. O nome foi mais tarde revisto pelo autor, passando a *Balistes capriscus* (Gmelin, 1789). Outros sinónimos são *Balistes forcipatus* (Gmelin, 1788), *Balistes spilopterygius* (Walbaum, 1792), *Balistes buniva* (Lacepede, 1803), *Balistes caprinus* (Valenciennes, 1836), *Balistes fuliginosus* (DeKay, 1842), *Balistes taeniopterus* (Poey, 1860), *Balistes powellii* (Cope, 1870) e *Balistes moribundus* (Cope, 1871). Estes dois últimos sinónimos eram originalmente utilizados para descrever os juvenis de *Balistes capriscus* (Munro, 1983) (Bester, 2011).

O peixe-porco é uma espécie de distribuição abrangente, habitando várias regiões dos oceanos e sendo, por isso, conhecido em inúmeras sociedades. As denominações inglesas mais comuns incluem gray triggerfish, grey triggerfish, filefish, leatherjacket, pig-faced, trigger-fish, triggerfish ou common triggerfish. Em espanhol podemos encontrar denominações variadas como ballesta, cachua, peje puerco blanco, peje puerco, penolera, pez ballesta, puerco, roncon, sabaco ou varraco. Em Portugal é sobejamente conhecido por peixe-porco, embora possa também assumir as designações de cangulo ou peixe-mola, bem como pampo (Bester, 2011). Outras denominações incluem balista (romeno), baliste e baliste cabri (francês), khanzyr (árabe),

maracuguara, peróa, piruá ou escopeta (português do Brasil), mola (italiano), mongarakawahagi (japonês), pesce palo (italiano), schweinedruckerfisch (alemão), trekkervis (holandês) e tryckarfisk (sueco) (Bester, 2011).

### 1.2.3. Morfologia

O peixe-porco possui corpo oval, alto e comprimido, coberto de escamas justapostas que assumem a forma de placas. Os olhos da espécie são pequenos e próximos do perfil cefálico. Possui boca pequena com dentição forte composta de 8 dentes incisivos especializados em abrir buracos em presas com exo-esqueleto (Borges et al., 2006). As mandíbulas são pequenas mas fortes (Munro, 1983).

Esta espécie é provida de duas barbatanas dorsais. Estas barbatanas possuem três espinhos que, quando erguidos, podem servir tanto como armas de defesa, em caso de perigo, como em situações de ataque, funcionando também como sistema de ancoragem (Bester, 2011). O primeiro dos três espinhos é maior e mais robusto (Munro, 1983) e está ligado ao segundo espinho, funcionando ambos em coordenação. Quando ameaçado, o peixe-porco tende a mergulhar até alguma cavidade esconsa, onde se fixa firmemente usando o primeiro espinho. As barbatanas dorsais são o principal meio de locomoção, ondulando em uníssono para impulsionar o animal através da água (Bester, 2011).

Nos indivíduos adultos, a barbatana posterior é composta por secções alongadas. Os olhos do peixe-porco situam-se bastante afastados da boca. As escamas da parte anterior do corpo são largas e muito rijas, enquanto as escamas na parte posterior do corpo são mais suaves. Existem uma ou mais escamas mais largas por trás da zona das guelras. Pequenas aberturas localizam-se diretamente sobre as barbatanas peitorais. Estas são curtas e arredondadas (Bester, 2011). A abertura das guelras é restringida a uma pequena fenda (Munro, 1983).

Os indivíduos juvenis apresentam tons amarelados com pequenos pontos violeta. Os indivíduos com menos de 50 mm, apresentam manchas escuras irregulares no corpo e as barbatanas apresentam tons de amarelo, azul e verde. Em alguns casos, as barbatanas dorsal, anal e posterior são transparentes (Bester, 2011).

A cor base dos indivíduos adultos varia entre o cinzento claro, o cinzento esverdeado e o castanho amarelado. Esta espécie aparenta um cinzento uniforme ao nadar em águas abertas, no entanto possui a capacidade de alterar ligeiramente a sua coloração, adaptando-se ao ambiente que o rodeia. Podem observar-se três ténues, embora largas, listas na parte superior do corpo e frequentemente pontos e linhas brancas na parte inferior do corpo e barbatanas. Pontos e linhas azuis podem ser vistos no dorso. Pode ainda observar-se uma pálida e estreita faixa abaixo da zona da boca e a parte superior dos olhos é azul. As barbatanas dorsal e anal apresentam tons marmoreados. Todas as cores em todas as zonas do corpo do peixe-porco tendem a desvanecer-se à medida que o indivíduo envelhece (Bester, 2011).

O tamanho máximo registado para esta espécie são 60,0 cm e o seu peso máximo atinge os 6,150 kg (Porteiro e Dâmaso, 2006).

#### 1.2.4. Biologia

Sendo um predador carnívoro diurno, *Balistes capriscus* alimenta-se essencialmente de camarão, pequenos caranguejos, estrelas-do-mar e moluscos bivalves (Munro, 1983).

Durante o estudo de Szedlmayer (1997), o peixe-porco foi observado demonstrando um interessante comportamento alimentar, dirigindo-se para fora da sua zona rochosa de habitat natural até fundos arenosos. Aí, na caça de uma das suas presas principais, assume uma posição vertical a poucos centímetros do fundo. Lança então um forte jacto de água diretamente para a areia, revelando os ouriços-do-mar camuflados na areia. Caso não obtenha resultados na primeira tentativa, o peixe-porco desloca-se alguns metros e faz nova tentativa. Em caso de sucesso, carrega sobre a presa, atacando-a com os seus dentes tipo bico, lançando e agarrando a presa até que a mesma aterre indefesa. Todo este ataque é feito em posição vertical, com os dentes cerrados de forma a esmagar o exterior do animal (Szedlmayer, 1997).

O peixe-porco pode então alimentar-se dos tecidos moles do interior do animal. Os indivíduos juvenis associados às comunidades de sargaço alimentam-se de sargaço (Munro, 1983).

#### 1.2.5. Reprodução

Entre Julho e Setembro, antes da temperatura da água atingir os 21 °C, o peixe-porco constrói o seu ninho escavado na areia no fundo do mar. São então deixados entre 50 mil a 100 mil ovos, dependendo do tamanho da fêmea. Existem comportamentos poligâmicos entre as fêmeas e os machos e um casal não se relaciona por demasiado tempo. O adulto guarda o ninho de potenciais predadores e os ovos são incubados entre 48 a 55 horas. Depois de eclodirem, os juvenis deixam o ninho e dirigem-se para a superfície da água onde se associam às comunidades de sargaço. A presença de sargaço varia de ano para ano e a taxa de sobrevivência de juvenis de peixe-porco está correlacionada com uma elevada presença de sargaço. Ao chegar o outono, os juvenis de peixe-porco trocam o sargaço por recifes (Bester, 2011).

A maturidade sexual é atingida aos dois anos de idade. Este animal reproduz-se em águas quentes e estima-se que o tempo mínimo de duplicação da população seja inferior a 15 meses. A idade máxima registada para a espécie é de 13 anos (Bester, 2011). O tamanho do indivíduo macho será cerca de 200 mm enquanto a fêmea terá cerca de 169 mm (Bernardes e Dias, 2000), na altura da reprodução.

#### 1.2.6. Etologia

Os indivíduos são geralmente sociáveis. São animais ativos e de vida longa ( $\leq 13$  anos) (Bester, 2011). À semelhança de outros peixes da família Balistidae, esta espécie é territorial e pode ser agressiva, especialmente na altura da postura dos ovos. O peixe-porco é um animal curioso e pode sentir-se atraído por objetos brilhantes ou outros que se confundam com alimento (Agustin e Luna, 2011).

### 1.2.7. Predadores

Os potenciais predadores de juvenis de peixe-porco são algumas espécies de atum, o dourado, o marlím azul e algumas espécies de tubarões. As potenciais espécies predadoras de peixe-porco adulto são o charuteiro-catarino, a garoupa e algumas espécies de tubarões (Munro, 1983).

### 1.2.8. Distribuição geográfica e habitat

É uma espécie pelágica a demersal que vive sobretudo em fundos rochosos e de corais (Borges et al., 2006), sendo muito abundante nas regiões costeiras de praticamente todo o Atlântico até aos 55 metros de profundidade. O peixe-porco pode ser encontrado em águas frias das costas do Reino Unido, ao longo do Mediterrâneo, no Arquipélago dos Açores, Arquipélago das Canárias, Arquipélago da Madeira e na costa oeste de África (Aggrey-Finn, 2007). Apesar da sua distribuição bastante alargada (figura 2), esta espécie prefere climas subtropicais (Bester, 2011).

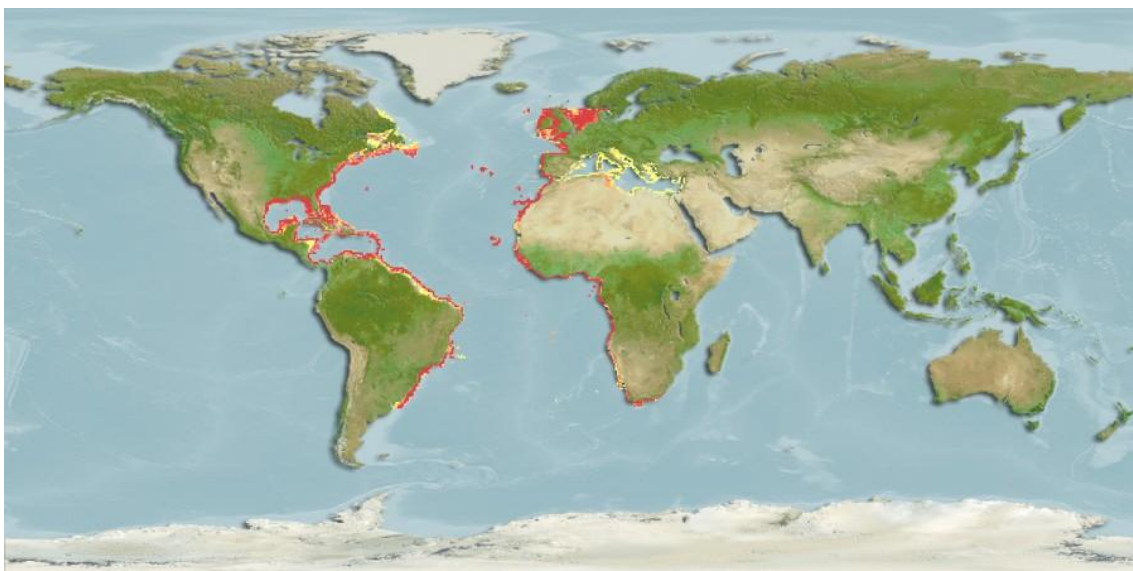


Figura 2. Distribuição geográfica de peixe-porco. A vermelho está representada a maior ocorrência da espécie.

(Fonte: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=154721>)

Os indivíduos adultos podem vagar tanto isolados como em pequenos, porém numerosos, cardumes; apesar de serem avistados maioritariamente em fundos rochosos, é nos fundos de areia que se desenrolam algumas das atividades fundamentais destes peixes, nomeadamente a caça de algumas presas e o estabelecimento de ninhos. Os indivíduos juvenis nadam essencialmente junto à superfície, acompanhando as comunidades de sargaço, das quais dependem bastante nesta fase das suas vidas (Bester, 2011).

### 1.2.9. Pesca

O peixe-porco é uma espécie com valor comercial que é ocasionalmente rejeitada dado o seu baixo retorno económico (Borges et al., 2006). Só recentemente esta espécie começou a ser considerada como comercial pois os mananciais de outras espécies como por ex. a garoupa entraram em declínio, dando origem à pesca de espécies outrora tidas como indesejáveis (Valle et al., 2001).

As artes de pesca geralmente utilizadas para captura da espécie são o cerco, as redes de tresmalho, arrastos de fundo, palangre de fundo e anzol. É frequentemente objeto de pesca desportiva (Borges et al., 2006). No Brasil, a espécie é capturada por frotas de arrasto duplo de portas médio (arrasto), cerco e arrasto de parelha (parelha) (Souza e Ávila-da-Silva, 2010) e estão em desenvolvimento técnicas de pesca industriais, como a representada na figura 3.

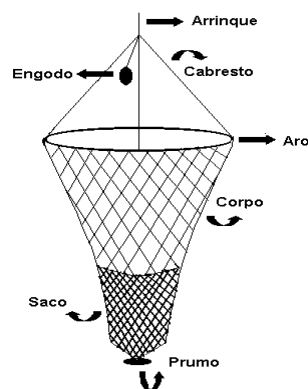


Figura 3. Esboço esquemático de arte de pesca para *Balistes capriscus*

(Fonte: [ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/33\\_2\\_229-236.pdf](ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/33_2_229-236.pdf))

O manancial de peixe-porco parece “saudável”, sendo que a IUCN (União Mundial para a Conservação da Natureza) não considera a espécie como vulnerável ou ameaçada (Bester, 2011; IUCN, 2012). Na tabela 1 estão compilados os dados referentes às capturas de peixe-porco registadas pela FAO nos continentes africano e europeu desde 1993 (sem registos anteriores) e 2010. O continente americano e a oceania não apresentam registos de descargas desta espécie.

Tabela 1. Volume de capturas, em toneladas, de peixe-porco (Fonte: www.fao.org.).

	Ano								
Continente	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
África	34	23	59	38	52	58	34	50	62
Europa	0	0	0	0	1	1	44	38	25

	Ano								
Continente	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
África	96	114	134	74	85	47	163	619	667
Europa	32	62	63	49	61	158	150	218	395

#### 1.2.10. Importância como recurso alimentar

A espécie *B. capriscus* é importante do ponto de vista comercial e recreacional nomeadamente no Brasil (Souza e Ávila-da-Silva, 2010). A carne de peixe-porco é considerada de excelente qualidade e caracteriza-se por elevado nível de proteína ( $20,0 \pm 0,12\%$ ), cerca de  $3,59 \pm 0,02$  g por 100 g de produto em lípidos (Visentainer et al., 2007) e o total de aminoácidos atinge os 18,52 g por cada 100 g de produto, onde predominam a lisina e a leucina. Os seus ácidos gordos são biologicamente semelhantes aos presentes no bacalhau (Levinton et al., 1981), assumindo valores de cerca de  $21,7 \pm 0,9$  (total de ácidos gordos saturados),  $21,5 \pm 0,8$  (total de ácidos gordos monoinsaturados),  $43,6 \pm 1,9$  (total de ácidos gordos insaturados) e  $44,9 \pm 1,9$  (ácidos gordos polinsaturados) (Visentainer et al., 2007).

O peixe-porco pode ser consumido fresco, fumado, seco ou salgado todavia o consumo desta espécie tem sido relacionado com casos de envenenamento por toxina ciguatera (Bester, 2011; FAO, 2004).

### 1.3. Qualidade do pescado

A *qualidade do pescado* é um termo que se refere à qualidade tendo em vista o consumo humano. Enquanto recurso alimentar é *qualidade organoléptica* pois a qualidade será interpretada pelos órgãos sensoriais do consumidor (Gorga e Rosinvali, 1988). De facto, quando os alimentos são consumidos, a sua qualidade é percebida através da integração consciente e/ou inconsciente das suas características organolépticas ou sensoriais (Alasalvar et al., 2011). O pescado fresco é um dos alimentos mais perecíveis e a taxa de deterioração duplica a cada aumento de 5,5 °C (Sacharow e Griffin, 1980). Os fatores ambientais ou extrínsecos que influenciam a taxa de deterioração de peixe fresco são a temperatura, o nível de enzimas microbianas produzidas e a disponibilidade de oxigénio (Gorga e Rosinvali, 1988). Fatores específicos relativos à espécie (anatomia, fisiologia e habitat) e relativos à manipulação (método de captura, cultivo, transporte e processamento) também são responsáveis por deterioração (Gram e Dalgaard, 2002; Gram e Huss, 2000). Uma vez que a temperatura é um fator muito relevante para o processo de perda de qualidade e deterioração, o pescado deverá ser mantido refrigerado ou imediatamente congelado após a captura; caso o peixe seja de baixa qualidade, o método de conservação ou a melhor das embalagens serão incapazes de manter as suas características (Sacharow e Griffin, 1980).

Os hábitos de consumo estão, atualmente, a “dirigir-se” para pré-embalamento de peixe e, por isso, têm sido estudadas novas formas de embalagem que possam assegurar ou estender o tempo de vida útil (Sacharow e Griffin, 1980). Um correto embalamento de peixe fresco deverá ser capaz de reduzir a oxidação de óleos gordos, e/ou reduzir a desidratação, diminuir o crescimento de microrganismos e prevenir a deterioração química (Sacharow e Griffin, 1980).

### 1.3.1. Alterações de qualidade do pescado após a captura

A deterioração de um alimento é considerada como qualquer alteração que torne o produto inaceitável para consumo humano. A deterioração do pescado começa após a morte devido a reações causadas por ação das enzimas do próprio pescado, atividades metabólicas de microrganismos e por oxidação de lípidos insaturados (Fernandes, 2009). Estas alterações dependem de diferentes fatores tais como a espécie, as condições fisiológicas do pescado e de influências ambientais a que o pescado possa ter sido sujeito (temperatura da água, salinidade, etc.). A pesca, o abate e os métodos de transformação e processamento têm grandes efeitos sobre reações bioquímicas relacionadas com a deterioração do pescado (Rebhein e Oehlenschläger, 2009). O conteúdo em fosfatos orgânicos e hidratos de carbono no músculo de peixe fresco é afetado, em grande parte, pelas condições em que decorre a sua pesca. A fadiga do peixe derivada da “luta contra” a arte de pesca manifesta-se pelo esgotamento de fosfatos orgânicos (tais como ATP), da creatina e do glicogénio. Desta forma, um peixe que se debate contra a arte de pesca contém menos fosfatos orgânicos em relação a um peixe morto instantaneamente. Os fosfatos orgânicos e os hidratos de carbono continuarão a ser metabolizados por enzimas do tecido dos músculos e degradados por bactérias. A alteração na acidez contribui para a libertação de fosfatos inorgânicos e amónia devido à degradação enzimática do ATP (Salgado, 2006).

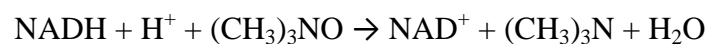
Os processos catabólicos que ocorrem no cadáver do animal levam ao endurecimento dos músculos. Este fenómeno é designado por *rigor mortis* - é um indicador de frescura do peixe. Enquanto o peixe se encontrar no estado de *rigor mortis*, a sua frescura é garantida (Salgado, 2006). O início e duração de *rigor mortis* podem variar consideravelmente entre espécies de peixes geralmente, entre as 8 e as 24 horas após a morte e termina em 1 a 3 dias depois (Green, 2011) e, com a resolução do *rigor mortis*, o músculo do peixe torna-se “mole” devido à ação de proteases tais como catepsinas, calpaínas e colagenases que atuam em diversas estruturas proteicas dos músculos (Rebhein e Oehlenschläger, 2009). Nesta fase, logo após resolução do *rigor mortis*, o pescado apresenta “excelente” qualidade organoléptica (Green, 2011) pois a textura é firme, elástica e a carne suculenta.

### 1.3.2. Alterações sensoriais

A perda de qualidade e deterioração do pescado estão visivelmente relacionadas com as alterações sensoriais na aparência, odor, sabor e textura. Na maioria dos casos, a primeira oportunidade para avaliar a qualidade do pescado é através da sua aparência (Alasalvar et al., 2011). A maior desvantagem dos métodos sensoriais é que são subjetivos e dependem de avaliações individuais, gostos pessoais, fadiga e capacidade de exprimir sensações ao testar determinado produto alimentar. Contudo, a maior parte destas dificuldades pode ser eliminada com treino apropriado (Huss, 1988).

Ao avaliar a aparência de determinada espécie dever-se-á ter em conta a sua coloração específica, forma e outros atributos específicos (Gorga e Rosinvali, 1988). As alterações de cor no peixe resultam de oxidação enzimática e não-enzimática. As colorações amarelas, laranja e vermelhas, assim como a perda de cor são derivadas de oxidação dos carotenóides presentes na pele (Sikorski, 1990). Um peixe fresco deverá ser um peixe com brilho na pele, o fluido dos olhos deverá ser cristalino ao mesmo tempo que deverá ter os olhos coloridos e não deformados. O peixe embalado deverá libertar poucos ou nenhuns fluidos, que deverão ser incolores (Gorga e Rosinvali, 1988).

Relativamente ao odor, o pescado fresco deverá ter um suave odor a mar e a algas. Se o peixe for mantido em gelo desde o momento da sua captura, conservará o seu cheiro por aproximadamente uma semana. Uma das razões para a alteração no cheiro é a redução de óxido de trimetilamina, presente nos tecidos, a trimetilamina (Sikorski, 1990).



Reacção de redução de óxido de trimetilamina a trimetilamina (fonte: Sikorski, 1990)

Esta reação fica a dever-se a bactérias aeróbias facultativas. Poderá também haver alteração de cheiro devido à produção de amónia e sulfuretos por ação bacteriana (Gorga e Rosinvali, 1988).

O cheiro do peixe fresco é devido a compostos com grupos carbonilo e álcoois com seis, oito ou nove átomos de carbono. O cheiro a fresco torna-se mais fraco e altera-se para um cheiro doce e insípido devido ao aumento de álcoois e à presença de pequenas cadeias de ésteres. Nos peixes gordos, os compostos com grupos carbonilo são dominantes e com o tempo desenvolvem-se outros odores (Ólafsdóttir e Jónsdóttir, 2010). Neste caso, o cheiro característico de deterioração deve-se à presença de sulfureto de dimetilo e ácido sulfídrico. Os odores relacionados com a putrefação são causados pela presença de indol, putrescina, cadaverina e outras diaminas resultantes da degradação bacteriana de aminoácidos (Sikorski et al., 1990). Durante o armazenamento, os odores característicos desenvolvidos dependem da espécie em questão (Ólafsdóttir e Jónsdóttir, 2010).

O sabor do peixe depende do seu conteúdo em gorduras (um peixe gordo será mais “saboroso” do que um peixe com menor teor de gordura) e também da quantidade de açúcares presentes. O teor de açúcares está dependente da resistência oferecida à “luta” aquando da pesca. Quanto maior for a resistência contra a captura, menor será o teor de açúcares (Gorga e Rosinvali, 1988).

Outro critério de avaliação sensorial do peixe é a textura. A análise da textura é muito importante no controlo de qualidade na indústria do pescado. Logo após captura (ou abate), o pescado apresenta músculo firme; todavia, poderá tornar-se “mole” como resultado de degradação autolítica natural ainda que conservado em refrigeração ou sob congelação (Özoğul, 2010; Coppes-Preticorena, 2011).

### 1.3.3. Alterações químicas

A composição química do peixe é muito importante pois influencia a manutenção das características pós-captura/abate e, portanto, da qualidade durante o tempo de conservação. Uma vez que a composição poderá variar consideravelmente consoante a área de pesca e/ou a época do ano/fase do ciclo de vida das espécies,

torna-se necessário repetir análises frequentemente ou ter em consideração a composição decimal dos espécimes aquando da avaliação da frescura por métodos físicos e/ou (bio) químicos (Huss, 1988).

#### 1.3.3.1. Alterações de pH

O pH de peixe vivo está pouco acima de 7, normalmente assumindo valores na ordem dos 7,3 (Howgate, 2009). Estes valores diminuem após a morte, à medida que o glicogénio é convertido em ácido láctico (Howgate, 2009; Salgado, 2006). Esta alteração depende ainda da libertação de fosfatos inorgânicos e de amónia devido a degradação enzimática de ATP. O decréscimo de uma unidade no pH poderá ser causado pela acumulação de 60 a 120 µg de ácido láctico por cada grama de peixe. De modo geral, o pH final do peixe comercializado não será inferior a 6,2 pois em muitos casos as reservas de glicogénio não são suficientes para causar uma elevada concentração de ácido láctico. Por outro lado, durante as alterações *post-mortem*, a decomposição de compostos nitrogenados poderá dar origem a um aumento de pH, sendo que este aumento está claramente relacionado com a temperatura (Sikorski et al., 1990). O pH *post-mortem* varia de 5,5 a 7,1 dependendo da época do ano e da espécie, entre outros fatores (Özoğul, 2010).

#### 1.3.3.2. Alterações nos compostos azotados

O metabolismo *post-mortem* dos compostos azotados no músculo do peixe é o maior responsável pela perda gradual da aparência e pelo aparecimento de sinais de deterioração. Isto deve-se a vários fatores: à decomposição de alguns compostos azotados não-proteicos que contribuem para o odor desejável no pescado; à formação de compostos voláteis que libertam odores e à degradação parcial e/ou alterações de proteínas, dando origem a propriedades reológicas indesejáveis e a descoloração dos músculos. Durante os primeiros dias de conservação (em gelo), as enzimas endógenas estão envolvidas e o processo tem o nome de autólise. Mais tarde, o metabolismo bacteriano predomina e dá origem à deterioração. A maior parte das reações de

decomposição poderão ser catalisadas tanto por enzimas endógenas como por bactérias enzimáticas, logo não é possível distinguir de forma precisa entre alterações autolíticas e alterações bacterianas (Sikorski et al., 1990).

#### 1.3.3.3. Alterações proteicas

A degradação proteica *post-mortem* nos músculos do peixe, catalisada pelas proteinases dos tecidos assim como pelas proteinases bacterianas, origina lentas alterações nas propriedades reológicas de peixe em refrigeração. Este facto deve-se a fragmentação parcial das moléculas e à desintegração da estrutura das proteínas (Sikorski et al., 1990).

As alterações autolíticas em peixes são causadas não apenas por enzimas endógenas mas também pelas catepsinas do fígado e dos rins, assim como pelas enzimas presentes no trato digestivo. Este efeito depende da atividade enzimática, do pH dos músculos, das propriedades dos tecidos conetivos e da presença de inibidores de proteases (Sikorski et al., 1990; Rebhein e Oehlenschläger, 2009).

#### 1.3.3.4. Degradação de lípidos

Parte da degradação lipídica *post-mortem*, tanto em peixes gordos como em peixes magros, decorre de hidrólise enzimática. Os ácidos gordos livres originários da hidrólise acumulam-se no músculo do peixe (Kaneniwa, 2011) e contribuem para o aumento da acidez (Huss et al., 2003). Por outro lado, os abundantes lípidos polinsaturados contendo ácidos gordos (PUFA na sigla em inglês) do pescado são alvo de oxidação, originando aldeídos e cetonas, responsáveis pelo desenvolvimento de sabores e odores acres e desagradáveis (“off-flavours” e “off-odours” em inglês) designados genericamente por rancidez (Huss et al., 2003; Nazemroaya et al., 2011). Em refrigeração, a oxidação de lípidos é pouco significativa mas cerca de 20% dos lípidos de peixe congelado são hidrolisados durante o seu tempo de conservação útil. Durante este período, o conteúdo em ácidos gordos duplica. Os fosfolípidos são

hidrolisados de imediato, seguidos pelos triacilgliceróis e éster colesteróis (Sikorski et al., 1990).

A oxidação de lípidos ocorre com maior predominância/relevância em espécies com elevado teor em gorduras pois há maior disponibilidade em lípidos livres e os músculos são mais propícios a desenvolver a reação. Pelo contrário, a oxidação lipídica não ocorre se houver deterioração bacteriana e a autooxidação poderá também ser retardada pelos produtos resultantes da hidrólise fosfolipídica e por compostos azotados não-proteicos (Sikorski et al., 1990).

Os ácidos gordos e os produtos de oxidação lipídica poderão reagir com outros componentes (proteínas, hidratos de carbono ou água), tornando difícil a determinação de rancidez (Rustad, 2010). Para além disto, aquando da presença de deterioração bacteriana, a rancidez torna-se impercetível. A oxidação dos lípidos presentes tem um efeito muito importante na qualidade de peixe congelado armazenado (Sikorski et al., 1990) e é um fator determinante no tempo de vida útil do pescado (Rustad, 2010).

#### 1.3.4. Alterações microbiológicas

Os objetivos da pesquisa microbiológica no pescado são o registo da evolução da qualidade e a possível deteção de microrganismos patogénicos (Lyhs, 2009).

Os microrganismos podem ser encontrados em todas as superfícies exteriores (pele e guelras) e nas vísceras de peixe vivo ou capturado recentemente (Huss, 1988). O estado em termos da microbiota do pescado após captura está relacionado com as condições ambientais a que está sujeito (e.g. microbiologia da água, temperatura e conteúdo em sal) (Lyhs, 2009) e começa a sofrer alterações logo após a captura ao contatar com uma microbiota totalmente diferente (Nychas e Drosinos, 2010) ou aquando do processamento (Lyhs, 2009).

#### 1.3.4.1. Microbiota total

O número e tipo de microrganismos presentes nos alimentos são importantes indicadores da sua qualidade e segurança alimentar e a pesquisa de organismos como *Enterobacteriaceae*, coliformes ou enterococos é feita através da pesquisa de microbiota total (Özoğul, 2010). A contaminação microbiana do peixe pós-captura depende da poluição do habitat ou pesqueiro, do método de pesca e das condições de manuseamento a bordo (ou em terra). O peixe capturado individualmente em águas superficiais frias ou temperadas contém entre 1 e 10 bactérias por cada  $\text{cm}^2$ . Por outro lado, a microbiota total de peixe comercializado e pescado em águas profundas poderá “atingir” valores de  $10^5$  por  $\text{cm}^2$ . A microbiota presente na pele de peixe fresco proveniente de águas frias é composta predominantemente por bactérias Gram-negativas enquanto nas espécies de águas mais quentes predominam as formas Gram-positivas (Sikorski et al., 1990).

#### 1.3.4.2. Organismos patogénicos

O pescado é capturado em redes, anzóis ou armadilhas o que faz com que haja pouco controlo nas condições no momento da morte (Derrick, 2009) e tem sido atribuída muita importância à ocorrência no pescado de microrganismos prejudiciais para a saúde pública. Apesar de o pescado proveniente de áreas sem poluição estar livre de salmonelas e estafilococos, poderão ser contaminados após a captura em consequência do manuseamento e processamento. Em humanos, a infeção por bactérias patogénicas de origem marinha está relacionada maioritariamente com consumo de ostras cruas, pescado não-cozinhado, pescado fumado, fermentado e salgado (Sikorski et al., 1990).

### 1.3.4.3. Crescimento bacteriano no pescado

O músculo de peixe vivo saudável é tido como estéril uma vez que o seu sistema imunitário previne o crescimento bacteriano. Aquando da morte por captura ou abate, o sistema imunitário deixa de funcionar e as bactérias presentes nas guelras, pele e intestinos poderão proliferar. As bactérias “penetram” no músculo através das guelras e das cavidades corporais, durante o armazenamento e processamento. A microbiota dos produtos da pesca é composta pela sua flora natural e da flora proveniente do processamento (Lyhs, 2009). O manuseamento e armazenamento do pescado em gelo – método mais corrente no circuito comercial - originam alterações no número, distribuição e composição da sua microbiota.

O crescimento de bactérias (figura 4) poderá ser representado por um modelo típico em que o período “lag” se mantém até ao final do *rigor mortis*.

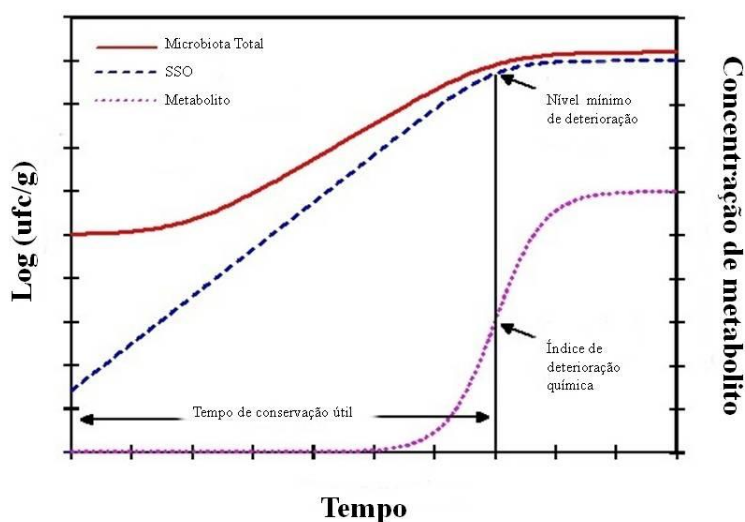


Figura 4. Conceito de organismo de deterioração específica (SSO). O nível mínimo de deterioração e o índice químico de deterioração são, respetivamente, o número de SSO e a concentração de metabólitos determinados no momento de rejeição sensorial (Fonte: [http://sssp.dtuqua.dk/HTML\\_Pages/Help/English/MSM/MSM-intro/msm.htm](http://sssp.dtuqua.dk/HTML_Pages/Help/English/MSM/MSM-intro/msm.htm)).

Durante os primeiros dias de gelo, a população está concentrada na superfície e a penetração no tecido dos músculos ocorre em sítios em que a pele/músculo apresenta cortes que permitam a migração. As camadas de músculo expostas dos filetes de peixe são particularmente vulneráveis à “penetração” bacteriana (Sikorski et al., 1990).

Muitas bactérias são capazes de produzir trimetilamina (TMA) (Sikorski et al., 1990), responsável pelo odor a “peixe” característico de peixe deteriorado (Rebhein e Oehlenschläger, 2009) e têm também a capacidade de utilizar óxido de trimetilamina (OTMA) como recetor terminal de elétrons. A capacidade de redução de OTMA foi encontrada em várias espécies de *Enterobacteriaceae* (Sikorski et al., 1990) e este processo mantém-se durante o armazenamento do peixe/filete (Rebhein e Oehlenschläger, 2009)

A deterioração bacteriana é um fenómeno que ocorre principalmente à superfície do músculo do peixe, sendo que são os produtos resultantes do seu metabolismo que penetram nas camadas mais profundas do pescado (Sikorski et al., 1990; Rebhein e Oehlenschläger, 2009). As estirpes psicrotóficas Gram-negativas são o grupo de bactérias mais importante na deterioração do pescado, sendo que as bactérias são ainda responsáveis pela formação de amins biogénicas através de descarboxilação de aminoácidos (Rebhein e Oehlenschläger, 2009).

#### 1.3.5. Perigo para a saúde relacionados com a produção/consumo de pescado

A globalização da atividade piscatória e o declínio dos recursos da pesca deram origem ao aumento das cadeias de distribuição dos produtos da pesca que são, atualmente, consumidos muito longe do ponto da sua pesca. Esta globalização do mercado tem sérias implicações na sua segurança alimentar e os “produtores” deverão continuar a investir num controlo efetivo dos agentes patogénicos – agente biológico que pode causar doenças ao seu hospedeiro (Bagenda e Yamazaki, 2011) - a fim de proteger os consumidores. Os patogénicos de origem alimentar assumem uma grande importância na saúde pública. Nos EUA são reportados 14 milhões de casos de doenças alimentares por ano, sendo que 1800 resultam em morte (Rodríguez-Lázaro e Hernandez, 2010). As principais doenças transmitidas para o homem através de

alimentos provenientes da pesca são as infecções bacterianas (Sikorski et al., 1990) e o número de gastroenterites bacterianas associadas ao pescado tem aumentado consideravelmente ao longo das últimas décadas devido à globalização e desenvolvimento do mercado (Rodríguez-Lázaro e Hernandez, 2010). Estas infecções estão relacionadas a contaminação direta do produto por águas poluídas ou a contaminação secundária devido a processamento, manuseamento, armazenamento e distribuição (Sikorski et al., 1990). As principais bactérias responsáveis por infecções de produtos da pesca são *Salmonella* spp., *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Clostridium perfringens* e *Listeria monocytogenes* (Rodríguez-Lázaro e Hernandez, 2010).

#### 1.3.6. Indicadores de qualidade do pescado

A “frescura” determinante para a qualidade dos produtos da pesca e torna-se essencial para a qualidade do produto final (i.e. após transformação/processamento). Tem sido estabelecido que nenhum método é, por si só, suficiente para a avaliação da “frescura” e qualidade dos produtos em questão. Portanto, um lote de métodos subjetivos (sensoriais), objetivos (não-sensoriais) e estatísticos, têm sido propostos para a referida avaliação da frescura/qualidade de pescado (Alasalvar et al., 2011). As alterações devidas à ação microbiológica, à autólise enzimática ou às reações químicas, podem servir como indicadores de (perda de) qualidade ou de deterioração em pescado durante armazenamento (Dalgaard, 2000). É necessário que um teste de “frescura” seja rápido, de confiança e com padrões sensoriais consistentes. Isto torna-se difícil de alcançar pois as várias espécies apresentam diferentes alterações bioquímicas e/ou microbiológicas (Sikorski et al., 1990).

A análise sensorial (i.e. método subjetivo *sensu* (Alasalvar et al., 2011)) é a disciplina científica que evoca, avalia, analisa e interpreta reações humanas a características dos alimentos (Martinsdóttir et al., 2009) e emprega vários critérios, incluindo aparência da pele, dos olhos, das guelras e a firmeza do músculo assim como o odor. Estes critérios são em grande medida subjetivos, ainda que, em aplicações industriais/comerciais sejam realizados por especialistas treinados que utilizam os sentidos: visão, tato, olfato e, eventualmente, paladar (Schubring, 2010).

Os métodos objetivos incluem indicadores químicos/bioquímicos, físico-químicos, microbiológicos/biológicos e, de acordo com Alasalvar et al. (2011) são muito mais fiáveis e favoráveis do que os métodos sensoriais. De entre os métodos químicos, o teor em hipoxantina (Hx) e o valor K são indicadores de “frescura” de grande importância apesar do fato de aumentarem consoante a degradação enzimática assim como de atividade bacteriana. O conteúdo em hipoxantina aumenta linearmente em relação ao tempo de prateleira (Sikorski et al., 1990). O método para a determinação de hipoxantina é relativamente elaborado e requer bastante perícia. O valor K é considerado mais correlacionado com a “frescura” do peixe do que o teor em hipoxantina (Huss, 1988). Várias espécies de peixes acumulam inosina em vez de hipoxantina. Desta forma, poder-se-á calcular o valor K:

$$\% K = [(Hx + Inosina) / (ATP + ADP + AMP + IMP + Inosina + Hx)] \times 100$$

ATP (adenosina trifosfato); ADP (adenosina difosfato); AMP (adenosina monofosfato); IMP (inosina monofosfato)

Imediatamente a seguir à captura, os valores de K do pescado não ultrapassam 10% e posteriormente aumenta devido à ação de bactérias. Um valor de K igual a 20% representa a “frescura” e ao atingir os 60% deverá rejeitar-se o produto. A taxa de aumento nos valores de K permitem identificar quais os peixes com maior tempo de conservação (Sikorski et al., 1990). Contudo, o valor K não pode ser utilizado como índice de deterioração pois, para muitas espécies, atinge valores máximos muito antes da rejeição sensorial (Dalgaard, 2000).

Um dos métodos (bio)químicos mais utilizado (em Portugal é objeto de normas, NP 3141-1/2 (IPQ, 2011)) para testar a qualidade de peixe é a determinação da concentração em trimetilamina (TMA), que é um composto volátil que se encontra em baixa quantidade no peixe fresco mas que se vai acumulando à medida que se desenvolve a deterioração, como resultado da redução de óxido de trimetilamina (OTMA) por parte de bactérias. Isto significa que a análise não fornece informação acerca de alterações autolíticas ou acerca do grau de frescura mas fundamentalmente acerca de alterações bacterianas e acerca do grau de deterioração (Huss, 1988). As alterações no conteúdo em TMA no peixe armazenado estão, de facto, correlacionadas com as contagens bacterianas (Sikorski et al., 1990). Tem sido recomendado que o

conteúdo em TMA em peixe de ótima qualidade deverá ser inferior a 1,5 mg TMA-N/100 g de peixe (Huss, 1988). O limite de rejeição cifra-se entre os 5 e 10 mg TMA-N por cada 100 g de pescado (Sikorski, 1990). Refira-se que há grande formação de TMA em armazenamento em anaerobiose, caso da embalagem em vácuo no período final de conservação útil (Huss, 1988).

Em alternativa ao método de TMA é determinado o teor em compostos azotados básicos voláteis totais (ABVT) (Huss, 1988). Este método tem o inconveniente de haver baixo teor de ABVT durante o período de armazenamento e só já quando o produto está próximo da rejeição há um rápido aumento. Por outras palavras, assim como para TMA, um valor de ABVT não pode ser utilizado como grau de frescura nas fases iniciais de armazenamento mas sim como grau de deterioração (Huss, 1988). O conteúdo em ABVT inclui amónia, trimetilamina e pequenas quantidades de dimetilamina e metilamina (Dalgaard, 2000). A amónia é produzida por enzimas e bactérias presentes nos tecidos. Um aumento significativo destes compostos azotados coincide com deterioração bacteriana (Sikorski et al., 1990). O teor em ABVT varia consoante a espécie e é um método com vasta utilização pois poderá ser utilizado em espécies com baixo ou nenhum conteúdo em OTMA (Huss, 1988). De modo geral, o limite de aceitabilidade no conteúdo em ABVT é de 30 mg N por cada 100 g (Sikorski, 1990), estando definido no Regulamento (CE) 2074/2005 limites entre 25 a 35 mg por 100 g de pescado, sendo que é sugerido por Connell (1975) um limite entre 30 e 35 mg por cada 100 g (Huss, 1988).

A presença significativa de diaminas (i.e. aminas biogénicas), em particular putrescina, cadaverina e histamina são indicadores de deterioração do peixe. Peixe fresco bem refrigerado contém apenas vestígios destes compostos e o seu conteúdo aumenta à medida que ocorre deterioração por ação bacteriana (Sikorski et al., 1990). As diaminas são estáveis quando sujeitas a aquecimento, sendo úteis como indicadores de “frescura” em produtos enlatados (Dalgaard, 2000).

De forma a desenvolver um modelo de testes microbiológicos em pescado, tem que ser estabelecida a natureza da microbiota. A contaminação bacteriana proveniente do trato intestinal, pele e guelras ocorre depois da morte e a microflora dominante depende do habitat natural (água, temperatura, hábitos de alimentação, etc.), condições

de armazenamento e outros potenciais contaminantes. Os testes microbiológicos para identificação de níveis de “frescura” de pescado incluem o estudo de microbiota total mais propriamente de microrganismos cultiváveis (utilizado em todo o mundo) e de microrganismos específicos de deterioração (SSO) (e.g. *Shewanella putrefaciens*, *Photobacterium phosphoreum*) (Alasalvar et al., 2011).

#### 1.4. Breve história da conservação de alimentos

Ao Homem sempre interessou a preservação de alimentos de modo a prolongar o seu tempo de conservação útil. Pensa-se que os métodos de preservação de alimentos terão começado nos trópicos, ou nas zonas temperadas através da secagem ao sol durante o verão e congelação atmosférica durante o inverno. A indústria de processamento atual “começou” em 1810 quando Nicholas Appert inventou o processo de apertização. Em 1860, Louis Pasteur descobriu a relação entre os microrganismos e a deterioração dos alimentos, o que deu origem ao desenvolvimento das técnicas de preservação com o intuito de controlar a ocorrência e/ou crescimento desses microrganismos. Recentemente, com o aumento da preocupação individual com a saúde e bem-estar, a sua relação com a alimentação e com o impacto ambiental, tem-se dado uma maior atenção à forma como os alimentos são produzidos, processados, embalados, armazenados, distribuídos e consumidos. A procura de alimentos frescos e com ótimo tempo de conservação útil estimularam o desenvolvimento de processos inovadores de conservação de alimentos, entre eles a embalagem em atmosfera modificada (Ooraikul e Stiles, 1991).

#### 1.5. Tempo de conservação útil

Todos os produtos alimentares são suscetíveis à alteração de qualidade durante o armazenamento e o tempo durante o qual a qualidade é mantida (aceitável ao consumo humano) denomina-se tempo de conservação útil. O tempo de conservação útil é, para muitos autores, o tempo que decorre entre a produção e o momento em que o produto embalado se torna inaceitável para consumo. O final do tempo de conservação útil será

devido a alterações provocadas por meios biológicos, químicos, bioquímicos ou físico-químicos ou ainda por crescimento de elementos patogênicos que não alterem a qualidade do produto mas que sejam prejudiciais para o consumidor (Stringer e Dennis, 2000). É um conceito complexo que depende da natureza do produto alimentar, das tecnologias de conservação/preservação utilizadas e das condições ambientais às quais o produto está sujeito. No caso dos alimentos embalados, a embalagem tem um papel muito importante em manter a qualidade e tempo de prateleira dos alimentos (Ooraikul e Stiles, 1991). A determinação do tempo de conservação útil de um produto é alcançada pela combinação de requisitos de segurança, questões relacionadas com qualidade e marketing e necessidades do consumidor. Determinar o correto tempo de conservação útil de um produto é essencial para o seu sucesso comercial (Stringer e Dennis, 2000).

Antes de se poder dar início ao desenvolvimento de um novo produto têm que ser tidas em conta algumas considerações que irão afetar o tempo de conservação útil. O tempo de conservação útil é influenciado pelo produto (e.g. de acordo com o produto, ir-se-ão pesquisar os microrganismos que nele se poderão desenvolver com maior probabilidade), pela embalagem (e.g. se há ou não pasteurização, se é uma embalagem em atmosfera modificada, entre outros), pela presença (ou não) de conservantes e por restrições inerentes ao tempo de conservação útil (e.g. poderá ser o caso de ter que ser alcançado um tempo de conservação útil mínimo para que o produto seja viável e este aspeto tem que ser considerado no início do estudo) (Stringer e Dennis, 2000).

No que concerne o tempo de conservação útil de pescado vários estudos verificaram que existe uma relação direta entre a temperatura de conservação e o tempo decorrente até à deterioração (Gorga e Rosinvali, 1988).

Na tabela 2 relacionam-se os tempos de conservação útil de filetes de pescado de várias espécies estimados para diferentes temperaturas.

Tabela 2. Tempo prateleira de filetes de peixe conservados a temperaturas selecionadas (Gorga e Rosinvali, 1988).

Temperatura (°C)	Tempo de prateleira
26,7	1 dia
15,6	2,5 dias
5,6	6 dias
0	2 semanas
-1,7	3 a 4 semanas
-12,2	Apróx. 2 meses
-17,28	Apróx. 1 ano
-23,3	Apróx. 2 anos
-28,9	> 2 anos

## 1.6. Embalagem

O desenvolvimento dos materiais de embalagem e tecnologias de processamento criaram oportunidades para o aproveitamento do potencial de produtos alimentares cujo tempo de conservação útil (ou de prateleira) é reduzido mas que, ainda assim, são procurados pelo consumidor. Salvo raras exceções, a qualidade de um alimento diminui ao longo do tempo de armazenamento, independentemente dos métodos de preservação utilizados e do controlo das condições de armazenamento, sucedendo o mesmo até para alimentos congelados. As alterações de qualidade durante o armazenamento poderão afetar a textura, sabor, cor, aspeto geral, valor nutritivo e segurança alimentar do produto. Contudo, a taxa de muitas destas alterações pode ser minimizada com embalagens apropriadas, desenvolvidas de forma a controlar a influência dos fatores extrínsecos de deterioração, nomeadamente humidade, oxigénio, luz, temperatura e transferência de aromas (Ooraikul e Stiles, 1991). A embalagem é um dos mais importantes processos para manter a qualidade dos produtos alimentares para armazenamento, transporte e consumo final uma vez que previne a deterioração e facilita a distribuição e marketing (Kelsey, 1985).

As funções básicas da embalagem são proteger, conter, informar e ao mesmo tempo proporcionar conforto ao consumidor (Kelsey, 1985). A embalagem é/deve ser desenvolvida de forma a acondicionar e proteger os alimentos e valorizar o produto que chega ao consumidor. Hoje em dia, nos híper e supermercados, os produtos “têm que se vender a eles próprios” e a embalagem, é, portanto, muito importante para chamar a atenção do consumidor (Ooraikul e Stiles, 1991). Uma boa embalagem não só preserva a qualidade do alimento como também contribui para a sua venda e posterior lucro. Contudo, o mais importante é a preservação das qualidades dos alimentos (neste caso de pescado) até ao momento da aquisição/consumo. Durante a distribuição, poderá haver deterioração biológica, química ou física e a embalagem deverá contribuir para manter a qualidade e segurança alimentar (Han, 2005).

A embalagem dos produtos da pesca poderá ser em derivados de plástico (e.g. polietileno, polipropileno, nylon, poliéster), em metal (e.g. latas alumínio ou de aço estanhado) ou em derivados de papel (e.g. caixas de papel) dependendo do produto, do local ou do propósito da embalagem (Bradley e Castle, 2010).

#### 1.6.1. Embalagem em vácuo

O primeiro método de embalagem em atmosfera protetora que se utilizou comercialmente foi a embalagem em vácuo (vacuum package, VP, em inglês). Trata-se de um procedimento muito simples em que se retira o ar contido na embalagem. Se o processo for corretamente realizado, o valor final de oxigénio presente no interior da embalagem será inferior a 1%. Na embalagem em vácuo, o material da embalagem adere ao alimento como resultado do decréscimo da pressão interna em relação à pressão atmosférica. O material de embalagem deve assegurar uma permeabilidade muito baixa aos gases, incluindo o vapor de água. Inicialmente, a embalagem VP limitava-se a carnes vermelhas e curadas, queijos duros e café moído. Atualmente é utilizada em variados alimentos (Iglesias et al., 2006).

A embalagem em vácuo apresenta vantagens, tendo em conta outros métodos de embalagem em atmosfera protetora. É um método simples e económico pois não há consumo de gases e a baixa concentração de oxigénio restante na embalagem inibe o

crescimento de microrganismos aeróbios e as reações de oxidação, favorece a retenção de compostos voláteis responsáveis pelo aroma, sendo por exemplo, muito importante na embalagem de café, impede queimaduras por frio, a formação de cristais de gelo e a desidratação da superfície do alimento devido à barreira de humidade que se forma entre o alimento e a própria embalagem. Em contrapartida é um método pouco recomendável para produtos de textura frágil, com formas irregulares e para aqueles cuja apresentação é de grande importância porque poderá haver deformação irreversível. Deverá haver preocupação em alimentos com superfícies salientes ou cortantes, de forma a evitar a rutura do material que constitui a embalagem o que permitiria a entrada de ar. Não é uma embalagem adequada a alimentos que necessitam de determinadas quantidades de oxigénio, tais como as carnes vermelhas que sofrem de alterações de cor na ausência daquele gás. Em determinadas situações, a formação excessiva de rugas no material de embalagem dificulta a visualização do produto e a sua apresentação torna-se pouco agradável ao consumidor. Em alguns casos foi observada a acumulação de exsudado em produtos embalados em vácuo durante prolongados períodos de tempo (Iglesias et al., 2006).

Em refrigeração, as atuais tecnologias de embalagem em vácuo permitem que os produtos da pesca permaneçam em condições aceitáveis de consumo durante cerca de 8 a 15 dias, dependendo da espécie e condições de armazenamento (Jeyasekaran et al., 2004).

#### 1.6.2. Embalagem em atmosfera modificada

O peixe fresco é altamente suscetível à degradação devido à autólise *post-mortem* e ao crescimento microbiano. As temperaturas ambientais favorecem um rápido crescimento de microrganismos. Atualmente, a utilização de gelo e de refrigeração (mecânica) são os meios mais comuns para conservar e retardar a degradação microbiana e bioquímica dos produtos da pesca e aquicultura. Contudo, a fusão do gelo poderá, diretamente, contaminar os produtos – se a água que deu origem ao gelo não for de qualidade – e, indiretamente, contribuir para criar um ambiente favorável ao crescimento de microrganismos, o que leva à aceleração da deterioração e consequente redução do tempo de conservação útil. A embalagem em atmosfera modificada

(modified atmosphere packaging, MAP, em inglês) tem sido aplicada como “complemento” ao gelo à utilização de refrigeração (mecânica) de forma a aumentar o tempo de vida útil do pescado (Gopal e Shankar, 2011).

A atmosfera modificada e a atmosfera controlada são tecnologias que aumentam o tempo de conservação útil dos alimentos (Stiles, 1991). Apesar de serem termos que surgem muitas vezes associados, não têm o mesmo significado (Floros e Matsos, 2005). A MAP é o processo pelo qual o “ar” (atmosfera) presente na embalagem é retirado e substituído por uma atmosfera com composição desejada. “Pelo contrário”, a atmosfera controlada é o processo pelo qual a atmosfera desejada é mantida ao longo do tempo de conservação (Stiles, 1991). Todavia, a embalagem em atmosfera modificada é parte integrante da prática atual da indústria alimentar. A atmosfera modificada é um processo relativamente antigo. De acordo com antigas escrituras, na China, Grécia e outras civilizações eram utilizadas determinadas formas de conservação em atmosfera modificada. Estas civilizações conservavam frutas em recipientes de barro junto a folhas frescas e ervas. A respiração das folhas e ervas criava um ambiente rico em dióxido de carbono e pobre em oxigénio fazendo com que o amadurecimento da fruta fosse retardado (Floros e Matsos, 2005).

A MAP evoluiu muito desde a descoberta do efeito inibidor de teores de 10% a 20% de CO<sub>2</sub> (com temperaturas inferiores a 4 °C) sobre o crescimento de *Pseudomonas* spp na década de 1930 (Esteves, 2012). Contudo, o interesse nas técnicas de preservação utilizando/manipulando os gases que compõem as embalagens apenas teve o seu reconhecimento “comercial”/“económico” a partir de 1970, dando origem à comercialização de produtos em MAP (Floros e Matsos, 2005).

Os fatores mais importantes na conservação de alimentos em atmosfera modificada são a atmosfera gasosa, a temperatura, a humidade e a pressão. O fator chave da MAP é a atmosfera gasosa no interior da embalagem e especialmente a sua concentração em dióxido de carbono. A atmosfera que envolve o produto deverá ser escolhida de forma a garantir a extensão máxima do seu tempo de conservação útil, mantendo a segurança alimentar/inocuidade e a qualidade máxima do mesmo. A atmosfera gasosa ótima para cada produto deverá ser determinada através de ensaios experimentais/laboratoriais. Quando as plantas e os tecidos animais respiram,

consomem oxigénio e libertam dióxido de carbono. Alguns microrganismos também têm o mesmo método de respiração. O aumento de dióxido de carbono ou o decréscimo de oxigénio causa a redução da taxa de respiração dos tecidos. A redução da taxa de respiração contribui para a diminuição da energia disponível para as trocas bioquímicas que ocorrem nos produtos (Stiles, 1991).

Os gases que normalmente são utilizados em MAP são o dióxido de carbono, azoto e oxigénio. No ar atmosférico (ao nível do mar), a composição é 78,1% N<sub>2</sub>, 20,9% O<sub>2</sub> e 0,03% CO<sub>2</sub>. O enriquecimento da atmosfera da embalagem com dióxido de carbono permite o controlo do crescimento de microrganismos, o que resulta no aumento do tempo de conservação útil (Floros e Matsos, 2005; Gopal e Shankar, 2011). O pescado deverá ser conservado em atmosferas ricas em dióxido de carbono, incluindo ou não o oxigénio (Stiles, 1991). O dióxido de carbono diminui o pH intra/extracelular dos tecidos. Além disso, poderá afetar o equilíbrio de enzimas de descarboxilação dos microrganismos (Gopal e Shankar, 2011). Por outro lado, a maior quantidade de oxigénio, reduz a taxa de produção de TMA a partir de OTMA (Floros e Matsos, 2005). A atmosfera de uma embalagem sujeita ao processo de embalagem modificada poderá sofrer alterações não só devido às transmissões gasosas mas também como resultado da libertação de oxigénio por parte do alimento e das bactérias presentes (Stiles, 1991).

A temperatura assume um papel importante na MAP pois, quanto mais baixa for a temperatura mais lenta será a taxa de respiração de microrganismos assim como da maioria das reações químicas relevantes e, por conseguinte, mais lenta será a taxa de deterioração (Stiles, 1991).

Os produtos em MAP oferecem várias vantagens aos produtores e aos consumidores de alimentos. Para o consumidor, há uma enorme conveniência e elevada qualidade do produto. Pode ainda haver redução ou eliminação de uso de conservantes químicos o que torna o alimento mais “natural” e mais “saudável”. Ao mesmo tempo, os produtores beneficiam do elevado tempo de conservação útil. Ao utilizarem MAP, os produtores podem embalar o produto numa central e reduzir o custo na distribuição pois haverá menos distribuições (Floros e Matsos, 2005). Mais ainda, segundo Iglesias et al. (2006), a embalagem em MAP oferece outras vantagens. É um sistema que se aplica a uma grande variedade de produtos (e.g. vegetais, carnes, lacticínios, etc.)

independentemente do processamento a que são sujeitos (e.g. frescos, congelados ou refrigerados) e das suas características (ao contrário da embalagem em vácuo, a MAP é aplicável a alimentos de textura macia). Mantém a qualidade organoléptica do produto porque inibe reações de escurecimento e de oxidação, preserva a cor vermelha da carne fresca e suporta o metabolismo ativo dos produtos frescos ou minimamente processados. Por outro lado, é imprescindível alcançar uma composição ótima da atmosfera interna de forma a garantir a conservação do produto durante o tempo necessário e uma vez fechada a embalagem não se pode controlar a composição gasosa, não sendo possível compensar as variações que ocorrem causadas pelo metabolismo do próprio alimento ou pela saída de gases através do material da embalagem. Para este tipo de embalagem é necessário mais espaço de armazenamento, transporte e exposição de venda pois os pacotes em MAP são volumosos e existe um custo acrescido em consumo de gases (Floros e Matsos, 2005). Finalmente, mas não menos importante, a MAP depende da formulação dos gases que exige os gases e equipamento especializado e dispendioso (Floros e Matsos, 2005).

#### 1.6.2.1. Utilização de MAP de pescado

Os produtos da pesca (peixe, moluscos e crustáceos) utilizados como alimentos são extremamente perecíveis. A deterioração de produtos da pesca é, geralmente, atribuída a sua natureza microbiana. Está comprovado que a embalagem em atmosfera modificada aumenta o tempo de prateleira de uma grande variedade de produtos da pesca, contudo, não é igualmente eficaz em todos eles (Stiles, 1991). A comparação de dados resultantes de diversos estudos acerca de várias espécies em MAP torna-se difícil pois existem diferenças na captura do peixe, nas misturas gasosas utilizadas e nos materiais de embalagem utilizados. As temperaturas de armazenamento e os tipos de análises efetuadas (químicas, microbiológicas e sensoriais) também condicionam a comparação. Os princípios de armazenamento de pescado em atmosfera modificada são menos complexos do que no processamento de frutas e vegetais contudo, a segurança alimentar do peixe conservado/armazenado/embalado em atmosfera modificada é “questionável” pois há indícios do crescimento de *Clostridium botulinum* tipo E, que poderá dar origem a contaminação por toxinas ainda antes da deterioração do pescado.

Este facto tem contribuído para que a MAP não seja muito comum nos produtos da pesca e aquicultura. Contudo, o armazenamento de peixe em atmosferas ricas em dióxido de carbono e sob refrigeração (0 – 2 °C) retarda o crescimento microbiano e reduz a taxa de produção de aminas é também reduzida. O mecanismo de inibição de aminas não é ainda muito conhecido (Stiles, 1991).

O tempo de prateleira de produtos da pesca embalados em MAP poderá ser aumentado significativamente quando a atmosfera for rica em CO<sub>2</sub> e a temperatura seja inferior a 2 °C. Isto em muito se deve ao efeito inibitório do CO<sub>2</sub> no crescimento de *Pseudomonas* spp. e outros microrganismos psicrotópicos (Floros e Matsos, 2005).

A composição da atmosfera para conservação MAP de peixe depende do seu conteúdo em gordura. Para peixes magros deverá ser utilizado uma razão de 30% O<sub>2</sub>, 40% CO<sub>2</sub> e 30% N<sub>2</sub> Para peixes gordos deverão ser utilizados valores superiores de CO<sub>2</sub>, menores valores de O<sub>2</sub> e entre 40 a 60% de azoto (Alasakar et al., 2011). Contudo, a relativamente elevada quantidade de oxigénio contribui para o aumento do tempo de conservação útil através da redução de OTMA a TMA (Floros e Matsos, 2005).

### 1.7. Objetivos

O objetivo geral deste trabalho foi o estudo do efeito de diferentes modos de embalagem (em ar, sob vácuo e em atmosfera modificada) sobre a qualidade (em termos físico-químicos e microbiológicos) e o tempo de conservação útil de filetes de peixe-porco (*Balistes capriscus*).

Relativamente aos objetivos específicos, pretendeu-se:

- Estudar a variação de parâmetros físicos (textura e cor) e químicos (pH) de filetes em ao longo do tempo de armazenamento.
- Estudar a “dinâmica” dos compostos azotados (nomeadamente do ABVT) em função do tempo.
- Estudar a qualidade microbiológica enquanto indicador da qualidade microbiológica/deterioração através da análise de microbiota total, microrganismos

psicrotróficos, microrganismos sulfito-redutores e bactérias ácido-láticas (LAB) em função do tempo.

- Estudar e comparar o tempo de conservação útil dos filetes conferido pelos diferentes modos de embalagem.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Amostra de peixe e filetagens

Para os ensaios experimentais foi utilizado peixe-porco *Balistes capriscus* adquirido no Mercado Municipal de Faro e capturado na madrugada do dia da aquisição. Os espécimes (n=15), de tamanho comercial, tinham um peso médio de  $337,73 \pm 47,97$  g.

As amostras foram transportadas para os laboratórios do Departamento de Engenharia Alimentar do Instituto Superior de Engenharia da Universidade do Algarve em mala térmica e em gelo, a temperaturas controladas entre os -1 e 3 °C.

Em laboratório, foram cortados manualmente os filetes, sendo que cada animal deu origem a dois filetes cujo peso médio foi de  $69,71 \pm 11,61$  g. O rendimento médio do processo de filetagem foi de  $\pm 20,6\%$ .

### 2.2. Embalagem

Os filetes foram embalados individualmente. Todas as embalagens foram devidamente identificadas e eram compostas por um filme Combitherm<sup>®</sup> XX (Wolff Walsrode AG, Germany) com 0,115 mm de espessura e gramagem de 115,0 g/m<sup>2</sup>, com as seguintes características de permeabilidade aos gases: vapor de água 2,5 g/m<sup>2</sup>.d; azoto < 0,1 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.d.bar; oxigénio 0,8 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.d.bar; dióxido de carbono 0,8 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>.d.bar. O filme de embalagem é composto por exterior em camada laminada co-extrudida de poliamida (PA), barreira interior co-extrudida em camada de EVOH (ethylene vinylidene alcohol) e uma camada selante em polietileno.

Neste trabalho, as amostras foram embaladas em ar (selagem simples), em vácuo e em atmosfera modificada sendo que esta era composta por 30% de azoto (N<sub>2</sub>), 40% de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e 30% de oxigénio (O<sub>2</sub>). Para o processo de embalamento (figura 5) utilizou-se uma termoseladora Speedy I0709 (Quickpack s.r.l., Itália).



Figura 5. Aspecto dos filetes de peixe-porco embalados (Fonte: arquivo pessoal)

O trabalho experimental deste estudo decorreu em Abril de 2011. As embalagens foram armazenadas refrigeradas a  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante o período dos ensaios. As amostras foram analisadas, em duplicado, quanto aos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos (descritos de seguida) nos dias 0 (peixe fresco), 1, 5, 10 e 15 após filetagem e embalagem.

### 2.3. Determinação de parâmetros físico-químicos

#### 2.3.1. Cor

A evolução da cor dos filetes de peixe-porco foi monitorizada através de um colorímetro (Dr. Lange Spectro Color, Espanha). Utilizou-se o sistema de cor CIE  $L^*a^*b^*$  em que  $L^*$  representa a luminosidade ( $0 < L^* < 100$ , de preto a branco),  $a^*$  representa a variação de verde ( $a < 0$ ) a vermelho ( $a > 0$ ) e  $b^*$  representa a variação de azul ( $b < 0$ ) a amarelo ( $b > 0$ ). O equipamento foi calibrado de acordo com as instruções do fabricante.

As medições foram efetuadas nas mesmas condições para cada amostra, sendo registadas 5 medidas de cor em cada filete. Utilizou-se para análise dos resultados a média dessas 5 medições. Determinou-se a variação total de cor dos filetes através da equação:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

em que  $\Delta L^* = L_i - L_f$  ;  $\Delta a^* = a_i - a_f$  ;  $\Delta b^* = b_i - b_f$  e  $L_i$ ,  $a_i$  e  $b_i$  representam as coordenadas no início do estudo e  $L_f$ ,  $a_f$  e  $b_f$  representam as coordenadas no dia em que foi feita amostragem.

### 2.3.2. Textura

A análise da textura dos filetes foi realizada utilizando um texturómetro Brookfield LFRA 1500 Texture Analyser (Brookfield Engineering Labs Inc., USA). Foram realizados 6 testes de compressão em outros tantos pontos em cada filete e os dados obtidos foram analisados através do software informático TexturePro Lite v1.1 (Brookfield Engineering Labs Inc., USA) para calcular a dureza (em grama·força, gf) (1 kgf = 9,80665 N).

### 2.3.3. Determinação de pH

O valor de pH dos filetes foi medido diretamente, à temperatura ambiente utilizando um medidor de pH Meter Basic 20+ GLP 21 (Crison Instruments, Espanha) equipado com sonda de penetração. Foram feitas leituras em triplicado a cada amostra. Não foram registados valores para o dia 15 do estudo por motivos de falha no equipamento.

#### 2.3.4. Azoto Básico Volátil Total (ABVT)

Para a determinação do teor em ABVT foi usado o método de microdifusão de Conway e Byrne – método de referência – como descrito na Norma NP 2930 (IPQ, 1988).

A execução do método de Conway e Byrne na determinação do ABVT consistiu em pipetar para a parte central de uma célula de Conway uma solução de ácido bórico, à qual foi adicionada indicador verde de bromocresol com vermelho de metilo. Na parte exterior da célula de Conway foi colocada água destilada, extracto de amostra filtrado e solução saturada de carbonato de potássio e logo após a adição deste, a célula de Conway foi completamente coberta com tampa esmerilada untada com silicone. As células foram ligeiramente agitadas para que ocorresse a mistura das soluções, dando lugar ao início da volatilização das bases presentes na amostra. As bases voláteis libertadas pelo extracto de amostra foram recolhidas na solução de ácido bórico e determinadas por titulação com ácido clorídrico até ao aparecimento de uma solução de cor rosa.

#### 2.4. Parâmetros microbiológicos

Foram utilizadas para as análises microbiológicas amostras de peixe-porco sujeitas às condições de armazenamento em estudo. De cada filete foi recolhida uma amostra de 10 g e diluída em 90 ml de água peptonada tamponada e homogeneizada durante 2 minutos em Stomacher®.

De seguida, prepararam-se as diluições decimais através da adição de 1 ml de suspensão a 9 ml de água peptonada tamponada. Procedeu-se desta forma até à diluição  $10^{-6}$  (figura 6 e 7).

Os meios de cultura utilizados foram preparados em assepsia de acordo com as instruções de cada fabricante.



Figura 6. Preparação de placas de Petri. (fonte: arquivo pessoal)



Figura 7. Placas de Petri inoculadas. (fonte: arquivo pessoal)

Os resultados obtidos referem-se ao número de unidades formadoras de colónias (UFC) contadas em cada placa de Petri de duas diluições sucessivas, que contenham entre 15 e 150 colónias, e expressam-se em unidades formadoras de colónias por grama (UFC/g), tendo em conta o fator de diluição. Nos casos em que o nº de UFC se revelou

“incontável” ( $> 150$  UFC) calculou-se uma estimativa, para efeitos de apresentação dos resultados e da análise estatística dos resultados, expressando-se os resultados como maior que 6500 multiplicando pela maior diluição.

#### 2.4.1. Determinação de microbiota total

Para a determinação da microbiota total foi utilizada a técnica descrita na norma portuguesa NP 4405 (IPQ, 2002). Foram retirados 10 g de músculo de cada filete que foram colocados em suspensão em água peptonada tamponada. Foram semeadas alíquotas de diluições decimais (1 ml) por incorporação no meio de cultura PCA (Plate Count Agar). As placas de Petri foram incubadas durante  $72\text{h} \pm 3\text{h}$  a  $30\text{ }^\circ\text{C} \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ .

#### 2.4.2. Microrganismos psicotróficos

A determinação de microrganismos psicotróficos foi realizada de acordo com a norma ISO 17410 (IPQ, 2001). Utilizando 10 g de músculo de filete em suspensão em água peptonada tamponada, semearam-se alíquotas de diluições decimais (1 ml) por incorporação em meio de cultura PCA. As placas inoculadas foram incubadas durante 10 dias a  $6,5\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$ .

#### 2.4.3. Determinação de microrganismos sulfito-redutores

A determinação de microrganismos sulfito-redutores foi realizada de acordo com procedimento adaptado da norma ISO 15213 (ISO, 2003) utilizando incorporação no meio de cultura Iron Agar (IA) e posterior adição de nova camada de meio de modo a garantir anaerobiose, com tempo de incubação de 72 horas, a  $25\text{ }^\circ\text{C}$ .

#### 2.4.4. Bactérias ácido-láticas (LAB)

A determinação de bactérias ácido-láticas (LAB) foi realizada de acordo com a norma ISO 15214 (ISO, 1998). Foi utilizado o meio de cultura Man, Rogosa e Sharpe (MRS Agar) com incubação a 30 °C durante 48 horas.

#### 2.5. Análise estatística

Os resultados apresentados e analisados correspondem à média  $\pm$  desvio-padrão dessas medições. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA) a dois fatores – tempo de conservação (0 a 15 dias) e modo de embalagem (AR/VP/MAP) – para testar a significância dos efeitos dos fatores sobre cada parâmetro de qualidade estudado. Em caso de efeitos significativos, designadamente da interação dos fatores tempo e modo, compararam-se as médias num determinado tempo de conservação através de testes de comparação dos efeitos médios (“Tests of Significance Using Unique Sums of Squares” ou “Simple Effects Tests”) (Maroco, 2003). A análise estatística foi realizada recorrendo ao software IBM® SPSS Statistics v.20 (IBM Corp., USA).

## 3. Resultados

### 3.1. Parâmetros físicos

#### 3.1.1. Cor

A tabela 3 mostra a evolução da cor para os filetes embalados em AR, VP e MAP em função do tempo e a tabela 4 resume os resultados das ANOVA relativas aos parâmetros de cor analisados nos filetes de peixe-porco. Com o decorrer dos dias, os valores de  $L^*$  e de  $a^*$  aumentaram significativamente (ANOVA,  $P > 0,001$ ) para todas as embalagens (de  $L^*= 41,85$  para  $50,52$  em AR,  $45,86$  em VP e  $49,86$  em MAP; e de  $a^*= -1,57$  para  $-1,21$  em AR,  $-0,82$  em VP e  $-1,26$  em MAP). Pelo contrário, os valores de  $b^*$  aumentaram muito significativamente (ANOVA,  $P < 0,001$ ) em filetes embalados em AR e em MAP – de  $b^*= -2,40$  para  $+2,57$  e  $+1,52$ , respectivamente – e em menor grau nas amostras embaladas em VP (de  $b^*= -2,40$  para  $-1,11$ ).

Tabela 3. Evolução dos parâmetros de cor em função do tempo para amostras de peixe-porco embalado. Os resultados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

Parâmetro de cor	Modo de embalagem	Tempo (dias)				
		0	1	5	10	15
L*	AR	41,85 $\pm 0,24$	42,36 $\pm 0,57$	43,77 $\pm 1,79$	48,01 $\pm 3,04$	50,52 $\pm 1,37$
	VP	41,85 $\pm 0,24$	42,22 $\pm 0,50$	44,21 $\pm 1,70$	47,54 $\pm 1,04$	45,86 $\pm 3,15$
	MAP	41,85 $\pm 0,24$	43,31 $\pm 0,20$	46,87 $\pm 1,20$	47,02 $\pm 0,52$	49,66 $\pm 2,27$
a*	AR	-1,57 $\pm 0,38$	-1,48 $\pm 0,03$	-1,22 $\pm 0,49$	-1,13 $\pm 0,09$	-1,21 $\pm 0,67$
	VP	-1,57 $\pm 0,38$	-1,35 $\pm 0,01$	-1,18 $\pm 0,06$	-1,16 $\pm 0,36$	-0,82 $\pm 1,09$
	MAP	-1,57 $\pm 0,38$	-1,37 $\pm 0,04$	-1,30 $\pm 0,40$	-0,98 $\pm 0,18$	-1,26 $\pm 0,92$
b*	AR	-2,40 $\pm 0,83$	-2,85 $\pm 0,29$	-3,29 $\pm 1,14$	-3,42 $\pm 1,14$	2,57 $\pm 2,69$
	VP	-2,40 $\pm 0,83$	-1,97 $\pm 0,04$	-1,34 $\pm 0,11$	-1,24 $\pm 0,002$	-1,11 $\pm 2,28$
	MAP	-2,40 $\pm 0,83$	-1,89 $\pm 0,02$	-1,18 $\pm 0,11$	-1,11 $\pm 0,09$	1,52 $\pm 4,44$
$\Delta E$	AR	-	0,81 $\pm 0,20$	2,15 $\pm 0,56$	6,44 $\pm 2,65$	10,01 $\pm 0,09$
	VP	-	0,68 $\pm 0,24$	2,67 $\pm 1,50$	5,80 $\pm 1,01$	5,08 $\pm 0,92$
	MAP	-	1,56 $\pm 0,19$	5,19 $\pm 1,77$	5,36 $\pm 0,50$	8,58 $\pm 0,04$

Tabela 4. ANOVA da variância de valores de cor para L\*, a\*, b\* e ΔE.

Parâmetro de cor	Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
L*	Modelo	377,64	14	26,97	15,82	0,0000
	Constante	62378,06	1	62378,06	36579,83	0,0000
	Tempo	354,37	4	88,59	51,95	0,0000
	Embalagem	0,05	2	0,03	0,02	0,9850
	Tempo *	23,21	8	2,90	1,70	0,1785
	Embalagem					
	Erro	25,58	15	1,71	-	-
	Total	62781,28	30	-	-	-
	Total corrigido	403,22	29	-	-	-
a*	Modelo	2,61	14	0,19	2,53	0,0428
	Constante	60,01	1	60,01	813,27	0,0000
	Tempo	1,64	4	0,41	5,57	0,0059
	Embalagem	0,12	2	0,06	0,81	0,4627
	Tempo *	0,85	8	0,11	1,43	0,2612
	Embalagem					
	Erro	1,11	15	0,07	-	-
	Total	63,73	30	-	-	-
	Total corrigido	3,72	29	-	-	-
b*	Modelo	26,61	14	1,90	5,88	0,0008
	Constante	86,67	1	86,67	268,21	0,0000
	Tempo	10,33	4	2,58	7,99	0,0012
	Embalagem	0,13	2	0,06	0,19	0,8257
	Tempo *	16,15	8	2,02	6,25	0,0012
	Embalagem					
	Erro	4,85	15	0,32	-	-
	Total	118,13	30	-	-	-
	Total corrigido	31,46	29	-	-	-
ΔE	Modelo	199,48	11	18,13	14,50	0,0000
	Constante	491,69	1	491,69	393,09	0,0000
	Tempo	161,04	3	53,68	42,92	0,0000
	Embalagem	11,69	2	5,85	4,67	0,0315
	Tempo *	26,74	6	4,46	3,56	0,0291
	Embalagem					
	Erro	15,01	12	1,25	-	-
	Total	706,18	24	-	-	-
	Total corrigido	214,49	23	-	-	-

### 3.1.2. Textura

Apresenta-se na figura 8 o registo da dureza das amostras de peixe-porco embaladas em AR, VP e MAP em função do tempo de conservação em refrigeração. A variação da dureza dos filetes ao longo do tempo foi significativa (ANOVA,  $P < 0,001$ ; tabela 5) embora a dinâmica fosse diferente (ANOVA,  $P = 0,0044$ ) entre os modos de embalagem estudados. Os valores das amostras em VP e MAP decresceram até ao dia 5 (de 279,5 gf para aproximadamente 122,1 gf e 102,8 gf, respetivamente) aumentando os seus valores após este dia e até ao final do teste (159,2 em VP e 119,6 em MAP). Pelo contrário, os valores de dureza de amostras embaladas de amostras em AR aumentaram no dia 1 (de 279,5 gf para 337,5 gf) e depois diminuíram até ao final do teste (76,7 gf).

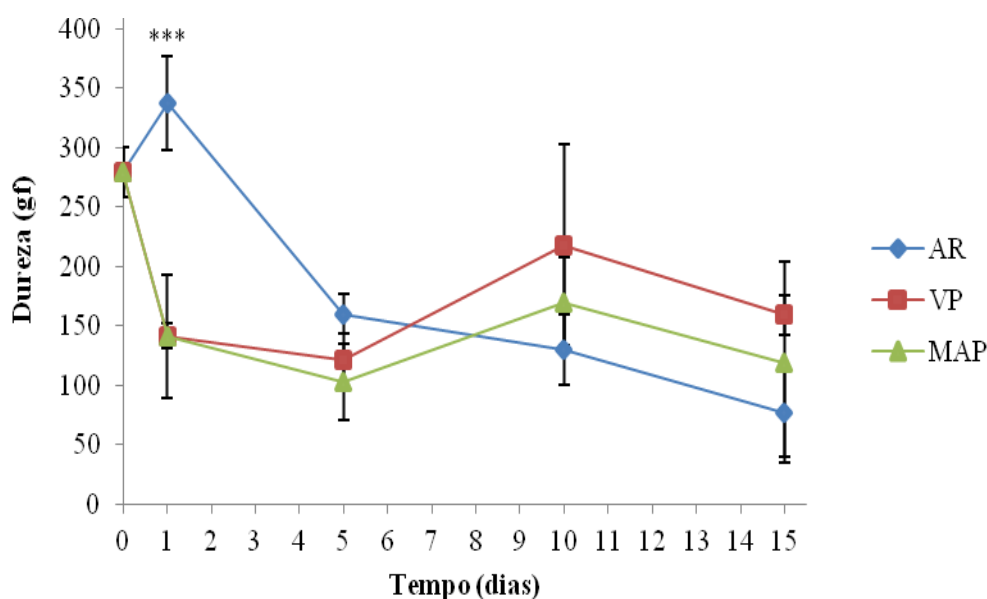


Figura 8. Evolução de dureza nas amostras de peixe-porco embaladas em AR, VP e MAP em função do tempo. Os resultados são expressos em grama.força. As diferenças significativas entre modos de embalagem num determinado tempo estão assinaladas como \* para  $p < 0,05$ , \*\* para  $p < 0,01$  e \*\*\* para  $p < 0,001$ .

Tabela 5. Análise ANOVA da variância de valores dureza.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
Modelo	193347,92	14	13810,57	8,52	0,0001
Constante	940932,30	1	940932,30	580,45	0,0000
Tempo	119640,84	4	29910,21	18,45	0,0000
Embalagem	11476,18	2	5738,09	3,54	0,5510
Tempo * Embalagem	62230,90	8	7778,86	4,80	0,0044
Erro	24315,66	15	1621,04	-	-
Total	1158595,88	30	-	-	-
Total corrigido	217663,58	29	-	-	-

### 3.2. Parâmetros químicos

#### 3.2.1. pH

Durante o período experimental, os valores de pH diminuíram significativamente (ANOVA,  $P < 0,05$ ; tabela 6) em todos os modos de embalagem (figura 9), tendo os filetes embalados em AR diminuído de 7,02 a 3,63, em VP foi registada diminuição de 7,02 a 4,17 e em MAP registaram-se valores de diminuição de 7,02 a 4,25 (entre o início e o final do estudo). Apenas após 10 dias de conservação se verificaram diferenças significativas (Teste dos efeitos médios,  $P < 0,05$ ) no pH de filetes entre modos de embalagem, designadamente entre os filetes embalados em AR por comparação com aqueles embalados em VP e MAP.

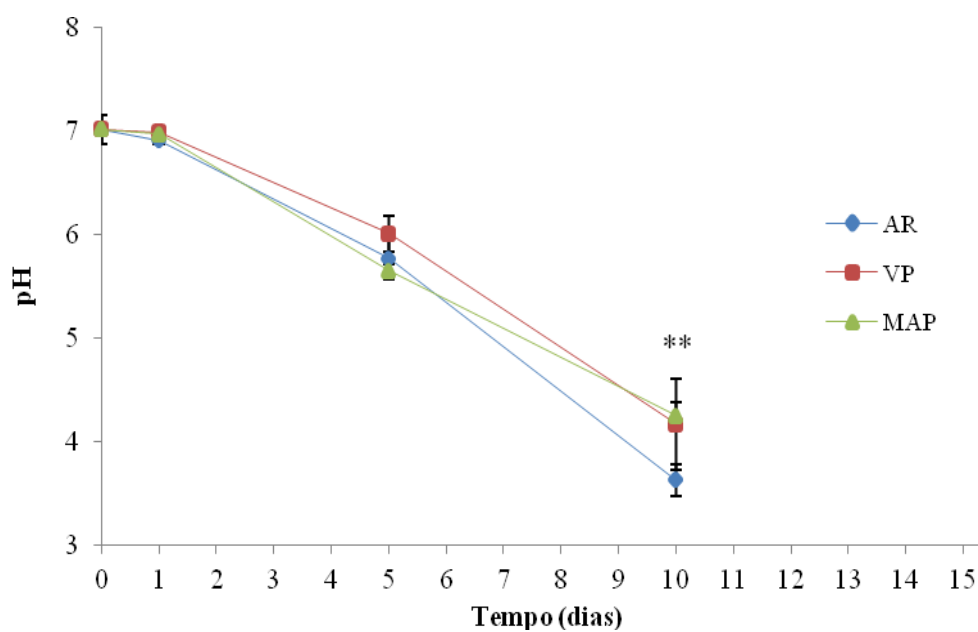


Figura 9. Evolução de pH nas amostras de peixe-porco em função do tempo. As diferenças significativas entre modos de embalagem num determinado tempo estão assinaladas como \* para  $p < 0,05$ , \*\* para  $p < 0,01$  e \*\*\* para  $p < 0,001$ .

Tabela 6. Análise ANOVA da variância de valores de pH.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
Modelo	37,33	11	3,39	107,57	0,0000
Constante	856,10	1	856,10	27134,65	0,0000
Tempo	36,75	3	12,25	388,28	0,0000
Embalagem	0,19	2	0,10	3,05	0,0849
Tempo * Embalagem	0,39	6	0,07	2,06	0,1343
Erro	0,38	12	0,03	-	-
Total	893,81	24	-	-	-
Total corrigido	37,71	23	-	-	-

### 3.2.2. ABVT

Na figura 10 apresenta-se a variação do conteúdo em azoto básico volátil total (ABVT) em amostras de peixe-porco embaladas em AR, em VP e em MAP. As diferenças entre tempos de conservação e/ou modos de embalagem revelaram-se (tabela 7) significativas (ANOVA,  $P < 0,001$  e Teste dos efeitos médios,  $P > 0,001$ ).

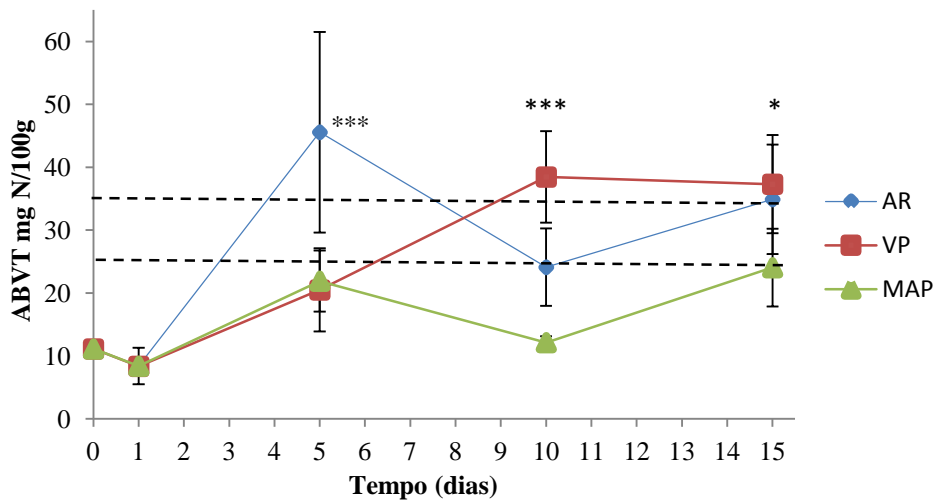


Figura 10. Variação de ABVT em amostras de peixe-porco embaladas em AR, vácuo e MAP em função do tempo. As linhas a tracejado representam os valores referência. As diferenças significativas entre modos de embalagem num determinado tempo estão assinaladas como \* para  $p < 0,05$ , \*\* para  $p < 0,01$  e \*\*\* para  $p < 0,001$ .

Tabela 7. Análise ANOVA da variância de valores de ABVT.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
Modelo	4373,12	14	312,37	13,52	0,0000
Constante	13614,11	1	13614,11	589,41	0,0000
Tempo	2698,74	4	674,69	29,21	0,0000
Embalagem	521,45	2	260,73	11,29	0,0010
Tempo * Embalagem	1152,92	8	144,12	6,24	0,0012
Erro	346,47	15	23,10	-	-
Total	18333,69	30	-	-	-
Total corrigido	4719,59	29	-	-	-

As linhas a tracejado na figura 10 representam os valores-limite de referência (entre 25 a 35 mg N/100 g) que constam do Regulamento (CE) 2074/2005. De acordo com os dados obtidos, as amostras embaladas em AR atingiram o limite de referência ao dia 5 (com um valor de 34,91 mg N/100 g), as amostras embaladas em VP ultrapassaram esse valor sensivelmente ao dia 10 (37,32 mg N/100 g) e as amostras em MAP não alcançaram o limite de referência até ao final do estudo (determinou-se um valor de 24,05 mg N/100 g ao dia 15).

### 3.3. Parâmetros microbiológicos

#### 3.3.1. Microbiota total

A figura 11 ilustra a variação da microbiota total (abundância de microrganismos cultiváveis a 30 °C) de amostras de filetes de peixe-porco, ao longo do tempo de conservação ensaiado. A abundância de microrganismos registou um ligeiro decréscimo nas contagens no dia 1 para as amostras embaladas em AR, sucedidas por aumentos até 7,42 log UFC/g ao dia 10, sendo que ao dia 15 do estudo as amostras eram incontáveis (estimaram-se as contagens para dia 15). Nos casos de VP e MAP registaram-se aumentos de 2,95 para 6,85 log UFC/g (dia 0 e 15, respetivamente) para VP e de 2,95 a 6,97 log UFC/g (entre dia 0 e dia 15) para as amostras embaladas em MAP. Note-se que as embalagens em AR ultrapassaram o limite de aceitabilidade ao dia 8 enquanto as

embalagens em VP e em MAP não atingiram o valor de referência até ao final do estudo. Na tabela 8 apresenta-se a análise de variância ANOVA do referido parâmetro microbiológico. Os filetes embalados em AR apresentaram abundâncias significativamente maiores (Teste dos efeitos médios,  $P > 0,001$ ) da microbiota total em relação aos outros modos de embalagem a partir do dia 5.

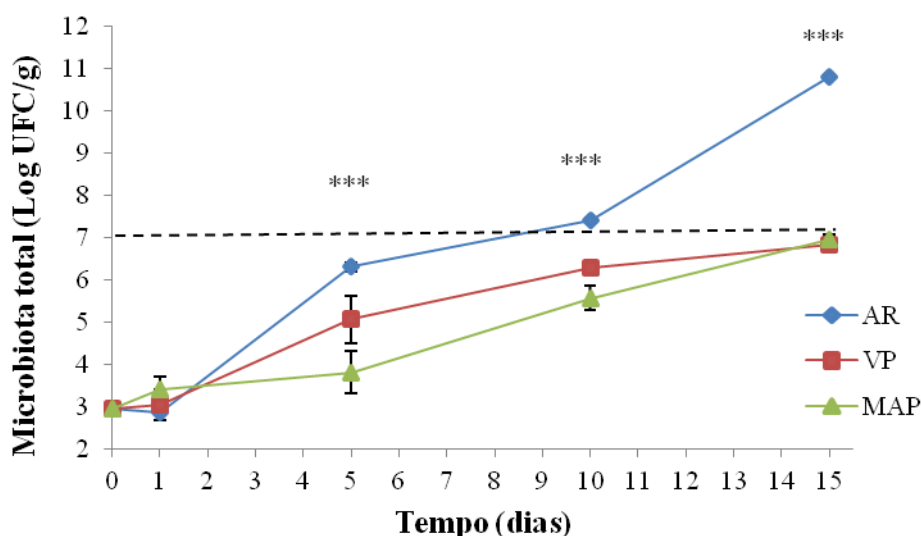


Figura 11. Microorganismos viáveis a 30 °C em função do tempo (dias). Os valores são expressos em Log UFC /g. A linha a tracejado representa o limite de aceitabilidade ICMSF (7 Log UFC/g). As diferenças significativas entre modos de embalagem num determinado tempo estão assinaladas como \* para  $p < 0,05$ , \*\* para  $p < 0,01$  e \*\*\* para  $p < 0,001$ .

Tabela 8. Análise ANOVA da variância de valores de microbiota total.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
Modelo	150,90	14	10,78	164,81	0,0000
Constante	795,98	1	795,98	12170,39	0,0000
Tempo	120,52	4	30,13	460,69	0,0000
Embalagem	13,13	2	6,57	100,40	0,0000
Tempo * Embalagem	17,25	8	2,16	32,96	0,0000
Erro	0,98	15	0,07	-	-
Total	947,87	30	-	-	-
Total corrigido	151,89	29	-	-	-

### 3.3.2. Microrganismos psicrotróficos

A figura 12 representa a variação da abundância de microrganismos psicrotróficos em função do tempo. A abundância deste grupo de microrganismos aumentou significativamente ao longo do tempo de conservação (ANOVA,  $P < 0,001$ ) ainda que de forma diferente entre os modos de embalagem estudados (ANOVA,  $P = 0,0001$  e Teste dos efeitos médios,  $P > 0,001$ ) (tabela 9). As contagens nos filetes embalados em AR aumentaram de 2,65 até 7,00 log UFC/g ao dia 10, sendo que ao dia 15 as placas eram incontáveis (estimaram-se as contagens para o dia 15). Estes filetes atingiram o limite de aceitabilidade proposto ao 10º dia. Nas amostras em VP, os psicrotróficos aumentaram até valores de 7,04 log UFC/g, tendo ultrapassado o limite de aceitabilidade ao dia 15, enquanto as amostras em MAP aumentaram até contagens de 7,03 log UFC/g e atingiram o limite de aceitabilidade ao dia 15.

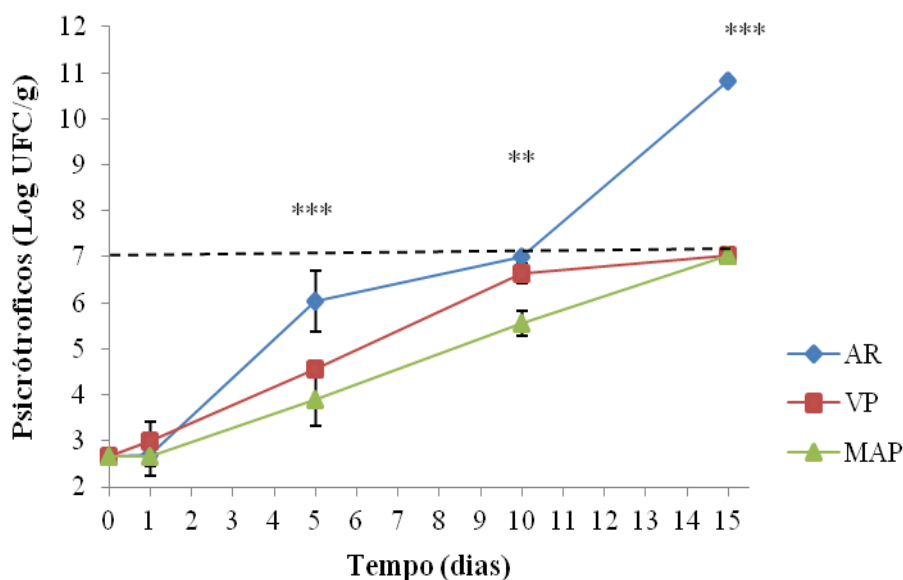


Figura 12. Microrganismos psicrotróficos em função do tempo (dias). Os valores são expressos em Log UFC / g. A linha a tracejado representa o limite de aceitabilidade (os limites não se encontram estabelecidos mas Dalgaard et al., 1993, determinou o limite para *P. phosphoreum* em pescado sendo que este microrganismo constitui a maior parte dos microrganismos psicrotróficos). As diferenças significativas entre modos de embalagem num determinado tempo estão assinaladas como \* para  $p < 0,05$ , \*\* para  $p < 0,01$  e \*\*\* para  $p < 0,001$ .

Tabela 9. Análise ANOVA da variância de valores de microrganismos psicrotróficos.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
Modelo	165,54	14	11,82	125,24	0,0000
Constante	746,20	1	746,20	7903,60	0,0000
Tempo	139,32	4	34,83	368,92	0,0000
Embalagem	11,63	2	5,82	61,60	0,0000
Tempo * Embalagem	14,58	8	1,82	19,31	0,0001
Erro	1,42	15	0,09	-	-
Total	913,16	30	-	-	-
Total corrigido	166,95	29	-	-	-

### 3.3.3. Microrganismos sulfito-redutores

A dinâmica dos microrganismos sulfito-redutores em função do tempo de conservação de filetes de peixe-porco deu origem à figura 13. Estes microrganismos aumentaram significativamente (ANOVA,  $P < 0,001$ ) (tabela 10) em nº ao longo do ensaio, particularmente nos filetes embalados em AR em comparação com restantes (ANOVA,  $P < 0,001$ ). As contagens de amostras embaladas em AR evoluíram de 2,65 para 6,95 log UFC/g (dia 10, ao dia 15 as amostras eram incontáveis e o valor foi estimado: 10,81 log UFC/g), as embalagens em VP variaram entre 2,65 e 7,11 log UFC/g (dia 10) e diminuíram até 6,39 log UFC/g (no dia 15). No caso dos filetes em MAP, aumentaram as contagens de sulfito-redutores até ao dia 15 (6,53 log UFC/g).

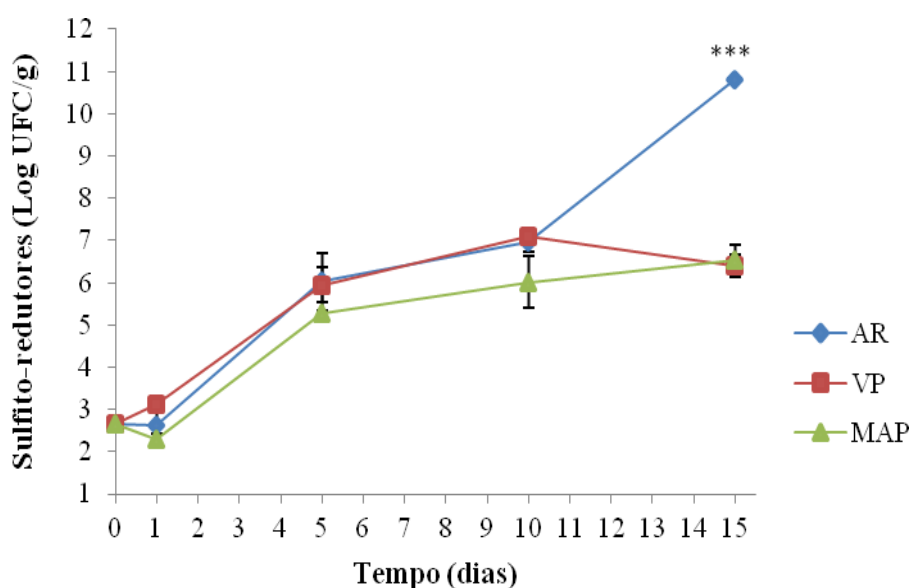


Figura 13. Microrganismos sulfito-redutores em função do tempo (dias). Os valores são expressos em Log UFC / g. As diferenças significativas entre modos de embalagem num determinado tempo estão assinaladas como \* para  $p < 0,05$ , \*\* para  $p < 0,01$  e \*\*\* para  $p < 0,001$ .

Tabela 10. Análise ANOVA da variância de valores de microrganismos sulfito-redutores.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
Modelo	164,55	14	11,75	109,40	0,0000
Constante	789,51	1	789,51	7348,81	0,0000
Tempo	136,45	4	34,11	317,52	0,0000
Embalagem	8,10	2	4,05	37,70	0,0000
Tempo * Embalagem	20,00	8	2,50	23,27	0,0000
Erro	1,61	15	0,11	-	-
Total	955,66	30	-	-	-
Total corrigido	166,16	29	-	-	-

### 3.3.4. Bactérias ácido-láticas

A figura 14 é relativa à variação ao longo do tempo da abundância de bactérias ácido-láticas (LAB) em amostras de filletes de peixe-porco. As concentrações de LAB aumentaram significativamente (ANOVA,  $P < 0,001$ ) ao longo do ensaio em qualquer dos modos de embalagem (tabela 11). As contagens para amostras em AR, VP e MAP diminuem no dia 1, aumentam no dia 5, tornam a diminuir no dia 10, aumentando claramente no dia 15 (6,88 log UFC/g para amostras em AR, 6,60 log UFC/g para amostras em VP e 6,16 log UFC/g para amostras em MAP).

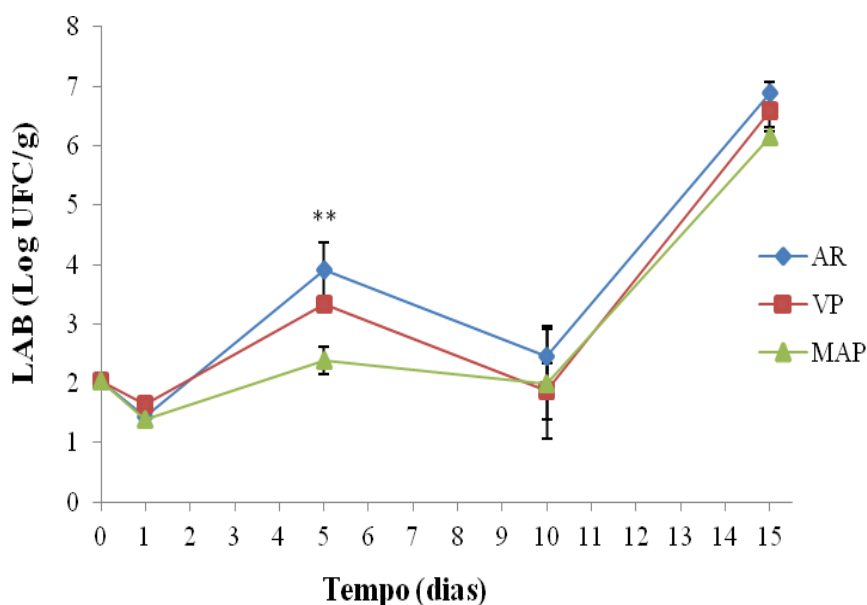


Figura 14. Bactérias ácido-láticas em função do tempo (dias). Os valores são expressos em Log UFC/g. As diferenças significativas entre modos de embalagem num determinado tempo estão assinaladas como \* para  $p < 0,05$ , \*\* para  $p < 0,01$  e \*\*\* para  $p < 0,001$ .

Tabela 11. Análise ANOVA da variância de valores de bactérias ácido-láticas.

Fonte de variação	SQ	gl	MQ	F	valor P
Modelo	102,86	14	7,35	62,55	0,0000
Constante	284,28	1	284,28	2420,33	0,0000
Tempo	99,53	4	24,88	211,84	0,0000
Embalagem	1,52	2	0,76	6,49	0,0093
Tempo * Embalagem	1,81	8	0,23	1,93	0,1304
Erro	1,76	15	0,12	-	-
Total	388,91	30	-	-	-
Total corrigido	104,62	29	-	-	-

### 3.4. Tempo de conservação útil

De acordo com os dados obtidos para os parâmetros físicos, a alteração da cor dos filetes foi menor para a embalagem em VP ( $\Delta E_{VP} = 5,08 \pm 0,92 < \Delta E_{MAP} = 8,58 \pm 0,04 < \Delta E_{AR} = 10,01 \pm 0,01$ ). No caso da textura, a embalagem VP foi a que melhor contribuiu para a manutenção da dureza, com valor final de 222,3 gf “contra” 179,9 gf em MAP e 128,6 gf em AR. Recorde-se que o valor inicial das amostras era de 278,55 gf (dia 0).

No que se refere aos parâmetros químicos, a embalagem MAP registou menor alteração de pH (de 7,02 a 3,63 na embalagem em AR; de 7,02 a 4,17 na embalagem em VP e de 7,02 a 4,25 em MAP) e melhor “desempenho” no índice ABVT (as amostras em AR atingiram o limite referência ao dia 5, as amostras em VP ao dia 10 enquanto que as amostras em MAP não tinham alcançado esse valor no final do estudo, dia 15).

Nos resultados dos parâmetros microbiológicos a embalagem MAP destacou-se das demais em todos os parâmetros pesquisados (microbiota total, microrganismos psicrótróficos, microrganismos sulfito-redutores e LAB), não atingindo os valores propostos como limite pela ISCMF (1986) ou por Dalgaard (1993) no caso da microbiota total e psicrótróficos ou revelando-se a embalagem com menores abundâncias de microrganismos.

## 4. Discussão

O estudo do efeito de diferentes modos de embalagem sobre a qualidade e o tempo de conservação útil de filetes de peixe-porco (*Balistes capriscus*) deu origem aos resultados físicos, químicos e microbiológicos – para as amostras embaladas em AR, em VP e em MAP – que são apresentados e discutidos em seguida.

A cor é um dos atributos que sofre grandes alterações durante a degradação do pescado e que poderá ser influenciada por uma atmosfera modificada. A utilização de MAP revelou uma maior variação de cor no período compreendido entre a amostra fresca e a amostra ao 5º dia.

As amostras embaladas em AR apresentam valores de  $L^*$  a aumentar, o que significa que as amostras estão a aumentar a sua luminosidade, a perder cor, o que também sucedeu para as amostras em VP (ligeiro decréscimo ao dia 15) e em MAP. A percentagem de mioglobina mais hemoglobina é a principal responsável pela luminosidade do peixe. Quanto maior a percentagem, mais escuro será o peixe. As amostras do presente estudo estão de acordo com outros estudos (Santos, 2008; Torrieri et al., 2006). No caso da embalagem em MAP, a possível acidificação do músculo devido, entre outros fatores, à dissolução de  $CO_2$  na amostra provoca a desnaturação das proteínas sarcoplasmáticas que se tornam insolúveis e provocam a libertação de água. A luz refletida por estas proteínas insolúveis faz com que a carne dos filetes pareça mais branca e mais opaca (Santos, 2008). Como os valores de pH descem, há favorecimento da alteração de conformação dos pigmentos respiratórios MetaMb. Esta alteração poderá afetar os pigmentos de mioglobina e hemoglobina, através de formação de metamioglobina e metahemoglobina (MetaMb e MetaHb) tornando a coloração menos avermelhada e mais acastanhada (Sarmiento, 2006).

Para as amostras embaladas em AR, em VP e em MAP obtiveram-se valores de  $a^*$  a aumentar, o que significa que parece existir uma tendência para a amostra se tornar mais próxima do vermelho. Os valores de  $a^*$  para AR e MAP ao 15º dia decrescem, ao contrário das amostras em VP.

Os valores de  $b^*$  para as amostras em AR diminuíram ao longo do tempo (exceção feita para dia 15), deste modo pode-se afirmar que as amostras nesta atmosfera estão a perder a sua componente amarela. As amostras em VP e em MAP (exceção feita para dia 15) mostram os seus valores de  $b^*$  a aumentar, o que significa que estão a tornar-se mais “amareladas”. Os valores de cor para as amostras em vácuo e em atmosfera modificada são muito próximos, o que indica que ambas as formas de conservação preservam a coloração de forma idêntica. As alterações observadas em  $a^*$  e em  $b^*$  neste estudo estão de acordo com as descritas em outros estudos, nomeadamente em pregado e em robalo (Santos, 2008; Torrieri et al., 2006).

Analisando os valores de variação total de cor ( $\Delta E$ ), verifica-se que em relação às amostras frescas (dia 0)  $\Delta E$  final para a embalagem em AR é de  $10,01 \pm 0,09$  enquanto para VP é de  $5,08 \pm 0,92$  e para MAP é de  $8,58 \pm 0,04$ , sendo VP a embalagem com menor variação em relação à cor inicial. Em qualquer caso, a variação de cor deve ser perceptível pelos consumidores uma vez que  $\Delta E > 1,0$ ; em 1,0 é o limiar teórico, não-empírico (JND, “just-noticeable-difference”) proposto por Mahy et al. (1994).

Através das ANOVA para os parâmetros de cor, pode-se verificar que tanto para  $L^*$ , como  $b^*$  apenas parecem existir diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre tempos de conservação e não entre modos de embalagem. Num estudo semelhante mas em mexilhão, Caglak et al. (2008) obtiveram o mesmo tipo de resultado (não havendo correlação estatística entre tipos de embalagem e parâmetros de cor). Por outro lado, Torrieri et al. (2006), que trabalharam com robalo eviscerado embalado em MAP, sugerem que apenas os parâmetros  $a^*$  e  $b^*$  são influenciados pelo tempo de conservação e que o parâmetro  $L^*$  é independente do tempo decorrido.

A textura é uma característica muito importante para avaliação da qualidade dos alimentos em geral e do pescado em particular. Esta característica sofre alterações ao longo do tempo devido às reações de degradação autolítica e deterioração microbiológicas (Santos, 2008). A dureza das amostras, determinada através de texturómetro, diminuiu ao longo do tempo de armazenamento sendo que as amostras embaladas em AR decrescem de 278,55 gf até valores de cerca de 128,6 gf; as amostras em VP e em MAP foram as que menor decréscimo apresentaram de 278,55 gf até

222,3 gf e de 278,55 gf até 179,9 gf respectivamente. Os valores de dureza alcançados neste estudo estão de acordo com o estudo de Torrieri et al. (2006) que, utilizando atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> (20% O<sub>2</sub> + 70% CO<sub>2</sub> e 30% O<sub>2</sub> + 50% CO<sub>2</sub>), obtiveram melhores resultados com MAP do que com as demais. Este tipo de resultados é ainda suportado por estudos semelhantes em filetes de tilápia (Liu et al., 2010) e filetes de garoupa (Siah et al., 2007) cujos valores de dureza tendem a diminuir.

A diminuição de valores de dureza é influenciada, sobretudo, pela autólise e desnaturação das proteínas presentes no músculo, durante o tempo de armazenamento em refrigeração ou congelamento. São exetáveis diferenças na textura tanto inter- como intra-especificamente devido às diferenças na estrutura das proteínas, ao diâmetro das fibras do músculo, ao conteúdo químico ou aos métodos de análise (Liu et al., 2010). Estes autores sugerem ainda que a textura de peixe é também influenciada pelo decréscimo no pH *post-mortem*, pelas reações proteolíticas, pelo conteúdo em gorduras e pela sua composição e distribuição no músculo. A diminuição dos valores de dureza pode estar relacionada com a perda de água pelas fibras musculares (Sarmiento, 2006).

A ação das enzimas endógenas e dos microrganismos é responsável pela degradação do colagénio do músculo, resultando na alteração da textura do produto. Uma vez que a carga microbiana dos filetes embalados em MAP era consistentemente menor, o efeito das enzimas de origem microbiológica (proteases e collagenases) foi também retardado devido ao efeito inibitório do CO<sub>2</sub> (Santos, 2008; Masniyom et al., 2005). Por outro lado, a dissolução de CO<sub>2</sub> nos tecidos do músculo provoca acidificação devido à formação de ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) o que poderá afetar a textura do produto (Sivertsvik et al., 2003; Torrieri et al., 2006). Santos (2008) sugere ainda que uma concentração de 40% de CO<sub>2</sub> em embalagem MAP não será suficiente para manter a textura típica de um filete fresco, pelo que será necessária uma maior concentração do referido gás.

O valor inicial de pH medido nos filetes de peixe-porco foi de cerca de 7,02, o que está de acordo com a literatura (e.g. Grigorakis et al., 2003) que citam que o valor de pH *post-mortem* deverá estar entre 5,4 e 7,2. O pH do músculo do pescado é superior a 6 no momento da sua captura, o que contribui para a sua rápida deterioração (Santos, 2008). No presente estudo, os valores de pH desceram de valores iniciais de

7,02 até 3,63 (amostras em AR), até 4,17 (amostras em VP) e até 4,25 (amostras em MAP).

As amostras em MAP foram aquelas que registaram menor alteração de pH. Esta diminuição de pH está de acordo com outros estudos, nomeadamente em mexilhão (Caglak et al., 2008; Masniyom et al., 2011), peixe-espada preto (Pacheco, 1999) e em robalo (Torrieri et al., 2006). Caglak et al. (2008) registaram decréscimos de pH em mexilhão embalado em MAP (em 15 dias de estudo com pH inicial de aproximadamente 6) assim como Masniyom et al. (2011) em mexilhão embalado em MAP e em VP (12 dias de estudo), Pacheco (1999) e Torrieri et al. (2006) que estudaram amostras em MAP (9 dias de estudo).

Geralmente, a degradação do pescado é acompanhada por um aumento de pH, devido à acumulação de produtos resultantes de degradação autolítica e bacteriana (como as bases azotadas) (Santos, 2008). Neste trabalho verificou-se que as atmosferas em que as amostras foram embaladas evitaram esse aumento dos valores de pH, contribuindo, inclusive, para a sua diminuição. A diminuição de valores de pH poderá estar relacionada com a inibição de crescimento de bactérias nas atmosferas selecionadas em resultado da quantidade de CO<sub>2</sub> dissolvido ou devido à acumulação de ácido láctico, produzido em condições anaeróbias a partir de glicogénio (Masniyom et al., 2011). No caso da embalagem em atmosfera modificada, a baixa produção de compostos básicos como resultado do efeito de preservação por parte do CO<sub>2</sub> poderá dar origem à diminuição de valores de pH (Goulas e Kontominas, 2007). Phapinyo et al., (2007) estudaram o efeito de atmosfera modificada em caranguejo, tendo obtido valores de pH que decresciam com o decorrer do tempo. Nesse mesmo estudo é sugerido que o efeito tampão das proteínas do músculo e a libertação de aminoácidos resultantes da atividade proteolítica de microrganismos de deterioração aeróbios e aeróbios facultativos leva a diminuição de pH. A diminuição de valores de pH poderá ainda ser explicada pela dissolução de CO<sub>2</sub> nos tecidos e produção de ácido láctico resultante do crescimento de bactérias ácido-láticas (Phapinyo et al., 2007).

Em termos bioquímicos, inicialmente as amostras apresentavam um teor médio de ABVT de cerca de 11 mg/100 g. Ao longo do tempo, este teor aumentou entre cerca de 8 e 45 mg/100 g. As amostras em AR aumentam cerca de 0,089 mg/100 g por dia, as amostras em VP aumentam cerca de 0,101 mg/100 g por dia e as amostras em MAP tiveram um aumento de cerca de 0,060 mg/100 g por dia. Os valores determinados neste estudo ao final de 15 dias de amostragem foram 34,91 mg N/100 g para as amostras em AR, 37,32 mg N/100 g para as amostras em VP e 24,05 mg N/100 g para as amostras embaladas em MAP.

O índice ABVT está diretamente associado à degradação de compostos azotados, tais como proteínas e aminas livres dos alimentos em amoníaco e aminas voláteis, consequência da proliferação de microrganismos e do aumento de atividade enzimática. O teor em ABVT é mais um indicador de deterioração do que de avaliação da qualidade/frescura de pescado. No Regulamento (CE) 2074/2005 preconiza-se a sua utilização como método de verificação (confirmatório) depois de resultados inaceitáveis de ponto de vista sensorial (Özoğul, 2010).

Segundo Huss (1988), os valores-limite de aceitabilidade do pescado em termos de teor de ABVT situam-se entre 30 a 35 mg N/100 g. Legalmente, constam do Regulamento (CE) 2074/2005 da Comissão Europeia que considera para algumas espécies valores limite entre 25 a 35 mg N/100 g, dependendo da espécie. Desta forma, observa-se no final do ensaio que apenas as amostras em MAP se encontram no intervalo limite de aceitabilidade. As amostras embaladas em AR ultrapassaram o valor de referência, 35 mg N/100 g, ao 5º dia, atingindo 45,58 mg N/100 g. Este valor, muito elevado relativamente aos outros, poderá revelar alguma falha técnica relacionada com o procedimento de determinação de ABVT para o referido dia e tipo de embalagem. A amostra embalada em VP atingiu os valores limite de referência sensivelmente ao 8º dia, enquanto a amostra em MAP não ultrapassou os limites de referência durante o período experimental.

Supõe-se que a atmosfera modificada contribui para inibir o crescimento de bactérias produtoras de ABVT. Lopes et al. (2004) sugerem, num estudo acerca de sardinha, que o armazenamento em MAP diminui a produção de derivados de ATP, inibindo desta forma o crescimento de bactérias e a consequente formação de ABVT.

Comparativamente a outros estudos considera-se que os valores alcançados estão de acordo com o que foi pesquisado anteriormente. Lopes et al. (2004) registou um aumento do teor em ABVT em AR e em MAP (utilizando 40% CO<sub>2</sub>) sendo que esta atmosfera foi a que registou um menor aumento. Supõe-se que há tendência para o aumento do índice de ABVT, o que pode ser comprovado em outros estudos (Alak et al., 2010; Bøknæs et al., 2000; Fagan et al., 2004; Goulas e Kontominas, 2007; Ibrahim et al., 2008; López-Gálvez et al., 1998; Santos, 2008; Tao, 2005b; Teixeira, 2009). Alak et al. (2010) estudaram o índice de ABVT em cavala em VP e em MAP, que ao 14º dia do estudo apresentava aumentos em ambos os modos de embalagem (de 13,2 ± 0,5 mg N/100 g para 33,6 ± 0,3 mg N/100 g em VP e para 28,9 ± 0,8 mg N/100g para MAP). Num outro estudo, em pregado embalado em MAP (Santos, 2008), foram registados aumentos de 13,32 ± 3,76 mg N/100g até 18,9 ± 3,01 mg N/100 g ao fim de 15 dias. Em solha em MAP e em VP (López-Gálvez et al., 1998) e em tainha em MAP (Ibrahim et al., 2008) registaram-se aumentos em ABVT sendo que López-Gálvez et al. (1998) registaram maior índice em amostras de solha embaladas em VP comparativamente às amostras embaladas em MAP.

A microbiota total cresceu significativamente ao longo do tempo, para as diferentes atmosferas usadas para embalagem de filetes de peixe-porco. Inicialmente com valores de 2,95 log UFC/g foram atingidos valores que se estimam superiores a 9 log UFC/g (incontáveis na diluição 10<sup>-6</sup>) no final do ensaio com filetes embalados em AR. Neste parâmetro microbiológico, as amostras embaladas em VP foram aquelas que apresentaram menor crescimento microbiano, 6,85 log UFC/g ao fim de 15 dias. Esta abundância foi praticamente idêntica àquela que se obteve para a embalagem em MAP, 6,97 log UFC/g.

Segundo Huss (1988) valores inferiores a 4 log UFC/g dão indicação de frescura do peixe, pelo que o valor inicial se pode considerar adequado, tendo em conta que o corte dos filetes (apesar dos cuidados higiénicos) não foi executado em condições de assepsia o que poderia ter dado origem a contaminação do músculo devido a contaminação provocada pelos utensílios utilizados, pela manipulação ou devido à microbiota da pele do peixe. Por outro lado, de acordo com ICMSF (1986), o valor

limite para microbiota total do peixe destinado a consumo humano é 7 log UFC/g. Apenas no caso dos filetes embalados em AR foi ultrapassado aquele limite.

Nas embalagens em VP e em MAP verificou-se um menor aumento do número de microrganismos viáveis, que no caso da embalagem VP poderá estar relacionado com a ausência de oxigênio que “funciona” como fator inibitório para o desenvolvimento de microrganismos. No caso da embalagem em MAP, a dissolução do CO<sub>2</sub> da atmosfera no produto, que é essencial para que a ação antimicrobiana deste gás possa atuar sobre o desenvolvimento dos microrganismos no alimento, poderá ter contribuído para menor taxa de crescimento (em número) de microrganismos viáveis totais (Santos, 2008). O dióxido de carbono retarda o crescimento de bactérias como *Pseudomonas* spp. e *Shewanella* spp., sendo que atmosferas enriquecidas com este gás são utilizadas em pescado porque equilibram a descarboxilação enzimática, levando à inibição da atividade metabólica por parte de microrganismos em resultado de uma extensão da fase lag e redução na fase log do ciclo de vida das bactérias de deterioração (Masniyom et al., 2011). Os resultados alcançados no presente trabalho são consistentes com estudos anteriores realizados em pescado, nomeadamente em solha (López-Gálvez et al., 1998), red fish (Mausse, 2000), truta (Özoğul e Özoğul, 2002), sardinha (Lopes et al., 2004), caranguejo (Phapinyo et al., 2007), carpa (Hudecová et al., 2010) e mexilhão (Masniyom et al., 2011). O posterior aumento na carga microbiana presente na embalagem em MAP poderá estar relacionada com a permeabilidade ao O<sub>2</sub> e aos gases que irá resultar no aumento de O<sub>2</sub> e conseqüente diminuição de CO<sub>2</sub>. Juntamente com a perda da capacidade protetora da atmosfera, falhas de selagem provocam uma maior contaminação (Santos, 2008) e favorecem o crescimento de microrganismos.

Em relação aos microrganismos psicrotópicos observou-se crescimento em todas as atmosferas estudadas sendo que os valores estão entre 2,65 log UFC/g nos filetes frescos e valores incontáveis (e por isso estimados como > 9 log UFC/g) em filetes embalados em AR no final do ensaio. As amostras embaladas em AR ultrapassaram o valor indicado por Dalgaard et al. (1993) como limite de “aceitabilidade”, 7 log UFC/g, ao dia 10 enquanto nas amostras em VP e em MAP essa ocorrência se verificou ao 15º dia e por margem mínima, 7,04 log UFC/g e 7,03 log UFC/g respetivamente para VP e MAP.

Os resultados obtidos estão de acordo com outros estudos semelhantes (Alak et al., 2010; Hudecová et al., 2010; Lopes et al., 2004; Tao, 2005b) em que os valores de microrganismos psicrotróficos tendem a aumentar em função do tempo decorrido. Em amostras de bonito embaladas em AR, VP e MAP (100% CO<sub>2</sub>), Alak et al. (2010) obtiveram menores valores para amostras embaladas em MAP do que para aquelas em VP. Hudecová et al. (2010) registaram aumentos de microrganismos psicrotróficos em amostras de carpa embaladas em MAP desde  $3,60 \pm 0,30$  log UFC/g até  $6,70 \pm 0,30$  log UFC/g, valores semelhantes aos registados neste ensaio.

A embalagem em VP ou MAP de filetes de peixe-porco, como se verifica no presente estudo, tem o potencial de aumentar o tempo de conservação útil através da inibição do crescimento de bactérias psicrotróficas tais como *Pseudomonas* spp., o mais comum dos microrganismos de degradação de produtos da pesca (Phapinyo et al., 2007). Erkan et al. (2006), que estudaram o efeito de MAP de sardinha sobre o tempo de prateleira, sugerem que o CO<sub>2</sub> retarda a deterioração de pescado fresco através de inibição de bactérias psicrotróficas aeróbias Gram negativas. No entanto, a magnitude do efeito depende da população bacteriana inicial, da percentagem de gás utilizado na embalagem e do material de embalagem utilizados.

As amostras em MAP apresentaram menor crescimento de microrganismos sulfito-redutores relativamente às outras atmosferas/embalagens em estudo. Os resultados obtidos variam entre 2,65 log UFC/g nos filetes frescos e > 9 UFC/g (estimativa a partir de resultado dado como “incontável”) nos filetes embalados em AR. Nas amostras embaladas em AR e em VP foram atingidos valores de ca. 6 log UFC/g no dia 5 do estudo, e em MAP isso apenas aconteceu ao 10º dia. As amostras submetidas a embalagem em VP e MAP apresentaram, no final do ensaio (i.e. ao fim de 15 dias), menor crescimento de sulfito-redutores, 6,39 log UFC/g e 6,53 log UFC/g, respetivamente. A diminuição de crescimento de microrganismos sulfito-redutores é muito importante para a qualidade final do produto pois estes microrganismos são responsáveis não só pela deterioração mas também pela produção de “off-flavours” – em boa parte resultantes da sua capacidade de reduzir o sulfito a sulfureto - que afetam sobremaneira a qualidade do peixe fresco (Reale et al., 2008).

São, por isso, utilizados na avaliação de qualidade de produtos de origem animal (Tao, 2005a).

O aumento de microrganismos sulfito-redutores poderá ser explicado pelo desenvolvimento de microrganismos como *Shewanella putrefaciens* e *Vibrionaceae* que são capazes de utilizar OTMA como recetor final de eletrões e, desta forma, produzir TMA. Esta reação é determinante para que estes microrganismos sejam capazes de se desenvolver em condições anaeróbias quando o teor de oxigénio for reduzido (Tao, 2005a).

Neste estudo, observou-se o aumento da abundância de LAB de 2,04 log UFC/g (em filetes frescos) até ca. de 6 – 7 log UFC/g em qualquer dos modos de embalagem ensaiados. As amostras em AR foram as que mais rapidamente alcançaram o valor de 6 log UFC/g (sensivelmente ao dia 13) seguidas pelas amostras em VP (dia 14) e finalmente, pelas amostras em MAP (dia 15 do estudo). As LAB são tolerantes ao CO<sub>2</sub> e embalagens ricas neste gás inibem organismos aeróbios (Tao, 2005b) e o facto de este tipo de bactérias ter tido um pequeno crescimento até ao décimo dia de estudo está de acordo com o estudo de Masniyom et al. (2005) em que o crescimento de bactérias ácido-lácticas em mexilhão foi limitado nos 14 dias iniciais e armazenamento em refrigeração.

As bactérias ácido-lácticas (LAB) estão diretamente associadas à deterioração do pescado embalado (Lyhs, 2009). Constituem um grupo microbiano que predomina e se multiplica em produtos mantidos em refrigeração uma vez que se desenvolvem facilmente em substratos ricos em hidratos de carbono, através de degradação proteica. O CO<sub>2</sub> presente na embalagem em MAP é responsável por efeito bacteriostático e os seus efeitos traduzem-se numa diminuição de crescimento durante a fase logarítmica (Hudecová et al., 2010). Ainda assim, as LAB conseguem desenvolver-se em atmosferas ricas em CO<sub>2</sub> o que, deste modo, inibe o crescimento de bactérias aeróbias Gram negativas devido à diminuição de pH provocada pela fermentação láctica (Santos, 2008).

Propõe-se, para futuros trabalhos, confrontar os resultados físico-químicos e microbiológicos com avaliação sensorial pois, a avaliação do consumidor é “determinante”. Seria ainda importante a verificação experimental de algumas

determinações – nomeadamente pH – e complementar a componente de avaliação microbiológica com determinação de parâmetros como microrganismos produtores de H<sub>2</sub>S e/ou “SSO” (e.g. *Photobacterium phosphoreum*, *Shewanella putrefaciens*). Numa perspetiva mais económico-financeira e, por isso, fora de âmbito de Mestrado em Ciências e Tecnologia Alimentar, propõe-se a avaliação, em termos de investimento, da transformação e embalagem de filetes de peixe-porco em VP ou MAP para comercialização.

## 5. Conclusões

Este trabalho teve como objetivo geral estudar o efeito de diferentes atmosferas de embalagem (AR, VP e MAP) sobre aspectos da qualidade de filetes de peixe-porco *Balistes capriscus* durante o tempo de conservação em refrigeração.

Relativamente aos parâmetros físicos, tanto para a cor como para a textura, observaram-se resultados muito semelhantes nos filetes em que se utilizaram embalagens em VP e em MAP o que deixa antever que ambas as formas de conservação são eficazes de modo semelhante. Mais ainda, os resultados foram claramente superiores àqueles que se verificaram nos filetes embalados em AR.

Por outro lado, as amostras em MAP foram aquelas cujo valor de pH sofreu menor alteração no final do período de ensaios 15 dias – embora com valores muito próximos das amostras em VP. Estas formas de conservação (VP e MAP) de filetes de peixe-porco parecem ser as mais eficazes também neste parâmetro.

Relativamente ao teor em ABVT, as embalagens em MAP demonstraram ser mais “fiáveis” que as demais uma vez que as amostras ficaram aquém do limite de aceitabilidade de 30 – 35 mg N/100 g proposto por Huss (1995) e também do limite definido no Regulamento (CE) 2074/2005 (25 – 35 mg N/100 g), alcançando um teor de cerca 24 mg N/100 g ao fim de 15 dias de estudo. Pode-se concluir que as amostras em MAP foram a melhor forma de conservação em alternativa às demais, tendo como referência o teor em ABVT.

Tendo em consideração os resultados obtidos para os parâmetros microbiológicos estudados neste trabalho, designadamente contagens totais (microrganismos viáveis a 30 °C), de psicrotróficos, sulfito-redutores e bactérias ácido-lácticas as amostras em VP e em MAP foram aquelas que mais se destacaram em termos de limitação do crescimento daqueles microrganismos, com valores de abundância mais baixos e relativamente semelhantes no final dos ensaios.

Tomando em consideração todos os parâmetros de qualidade estudados neste trabalho, conclui-se que os filetes de peixe-porco, *Balistes capriscus*, embalados em AR têm um tempo médio de conservação útil de cerca de 6 dias, as amostras conservadas

em VP terão sensivelmente 9 dias de vida útil e que as amostras embaladas em MAP terão um tempo médio de vida útil a rondar os 13 dias. Conclui-se ainda que a embalagem em atmosfera modificada (neste estudo utilizou-se uma composição de 30% N<sub>2</sub>; 40% CO<sub>2</sub> e 30% O<sub>2</sub>) permite prolongar o tempo de conservação útil de peixe-porco fresco em cerca de 117 % em relação à embalagem “controlo” (AR). Os resultados também indicam que a embalagem de filetes em VP é uma alternativa a ter em conta.

## 6. Referências Bibliográficas

- Aggrey-Finn, J. (2007). The Fishery of *Balistes capriscus* (Balistidae) in Ghana and possible reasons for its collapse. Center for Tropical Marine Ecology (ZMT). University of Bremen, Bremen, 1 – 10.
- Agustin, L. e Luna, S. (2011). *Balistes capriscus* Gmelin 1789. <http://www.fishbase.org>. (Acedido em Abril 2011).
- Alak, G., Hisar, S. A., Hisar, O., Kaban, G. e Kaya, M. (2010). Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, Turkey*, Vol. 16 (Suppl – A), S73 – S80.
- Alasalvar, C., Shalidi, F., Miyaslita, K. e Wanasundara, U. (2011). Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. Blackwell Publishing Ltd. UK.
- Bagenda, D. K. e Yamazaki, K. (2011). Food-borne Pathogens in Seafood and their Control. In: Alasalvar, C., Shalidi, F., Miyaslita, K. e Wanasundara, U. (Eds.) Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. Blackwell Publishing Ltd. UK, 197 – 205.
- Bernardes, R. e Dias, J. (2000). Aspectos da Reprodução do Peixe-porco, *Balistes capriscus* (Gmelin) (Actinopterygii, Tetraodontiformes, Balistidae) Coletado na Costa Sul do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, Vol. 17, 687 – 696.
- Bester, C. (2011). *Balistes capriscus*. Biological Profiles. Florida Museum of Natural History. <http://www.flmnh.ufl.edu/>. (Acedido em Abril 2011).
- Borges, T. C., Fonseca, L. C. e Machado, M. (2006). Biodiversidade nas pescas do Algarve. Universidade do Algarve.

- Bøknæs, N., Østerberg, C., Nielsen, J. e Dalgaard, P. (2000). Influence of Freshness and Frozen Storage Temperature on Quality of Thawed Cod Fillets Stored in Modified Atmosphere Packaging. *LWT*, Vol. 33, 244 – 248.
- Bradley, E. L. e Castle, L. (2010). Residues of Food Contact Materials. In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, USA, 851 – 870.
- Caglak, E., Cakli, S. e Kilinc, B. (2008). Microbiological, Chemical and Sensory Assessment of Mussels (*Mytilus galloprovincialis*) Stored under Modified Atmosphere Packaging. *European Food Research Technology*, Vol. 226, 1293 – 1299.
- Connell, J. J. (1975). *Control of Fish Quality*. Fishing News (Books) Ltd. Farnham, Surrey, UK.
- Coppes-Preticorena, Z. (2011). Texture Measurements in Fish and Fish products. In: Alasalvar, C., Shalidi, F., Miyasita, K. e Wanasundara, U. (Eds.). *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. Blackwell Publishing Ltd. UK, 130 – 138.
- Dalgaard, P. (2000). Freshness, Quality and Safety in Seafoods. URL:[http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=fresh%20lightly%20preserved%20seafood%20download&source=web&cd=1&ved=0CBsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fseafood.ucdavis.edu%2Fpubs%2Fqualitysafety.doc&ei=PtGuTvXPHcqs8QOs1cy0Cw&usq=AFQjCNECHTHJOS6jButYj2Jj1UKI11R\\_g&cad=rja](http://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=fresh%20lightly%20preserved%20seafood%20download&source=web&cd=1&ved=0CBsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fseafood.ucdavis.edu%2Fpubs%2Fqualitysafety.doc&ei=PtGuTvXPHcqs8QOs1cy0Cw&usq=AFQjCNECHTHJOS6jButYj2Jj1UKI11R_g&cad=rja). (Acedido em Outubro de 2011).
- Dalgaard, P., Gram, L. e Huss, H. H. (1993). Spoilage and Shelf-life of Cod Fillets Packed in Vacuum or Modified Atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 19, 283 – 294.
- Derrick, S. (2009). Chilled and Frozen Prepared Fish Products. In: Fernandes, R. (Ed.). *Microbiology Handbook Fish and Seafood*. Leatherhead Food International, Cambridge, UK, 27 – 51.

- DOP (2006). Departamento de Oceanografia e Pescas. Universidade dos Açores. <http://www.horta.uac.pt/>. (Acedido em Abril 2011).
- Erkan, N., Özden, Ö., Alakavuk, D. Ü., Yildirim, Ş. Y. e İnuğur, M. (2006). Spoilage and Shelf-life of Sardines (*Sardina pilchardus*) Packed in Modified Atmosphere. *European Food Research Technology*, Vol. 226, 667 – 673.
- Esteves, E. (2012). Tecnologia dos Produtos de Origem Animal – Produtos da Pesca e Aquicultura. Departamento Engenharia Alimentar, Instituto Superior Engenharia, Universidade do Algarve. (Disponível em [w3.ualg.pt/~eesteves](http://w3.ualg.pt/~eesteves)).
- Fagan, J. D., Gormley, T. R., e Uí Mhuirheartaigh, M. M. (2004). Effect of Modified Atmosphere Packaging with Freeze-chilling on some Quality Parameters of Raw Whiting, Mackerel and Salmon Portions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, Vol. 5, 205 – 214.
- FAO (2004). Marine Biotoxins. FAO Food and Nutrition Papers, Roma.
- FAO (2012). Global Capture Production. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-capture-production/query/en>. (Acedido em Abril de 2012).
- Fernandes, R. (2009). Microbiology Handbook Fish and Seafood. Leatherhead Food International, Cambridge, UK.
- Floros, J. D. e Matsos, K. I. (2005). Introduction to Modified Atmosphere Packaging. In: Han, J. H. (Ed.). *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Ltd, 160 - 172.
- Gopal, T. K. S. e Shankar, C. N. R. (2011). Quality and Safety of Packaging Materials for Aquatic Products. In: Alasalvar, C., Shalidi, F., Miyaslita, K. e Wanasundara, U. (Ed.). *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. Blackwell Publishing Ltd. UK, 145 - 155.
- Gorga, C. e Rosinvali, L. J. (1988). Quality Assurance of Seafood. Avi Publishing Company, Nova Iorque.
- Grigorakis, K., Taylor, K. D. A. e Alexis, M. N. (2003). Seasonal Patterns of Spoilage of Ice-stored Cultured Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, Vol. 81, 263 – 268.

- Goulas, A. E. e Kontominas, M. G. (2007). Effect of Modified Atmosphere Packaging and Vacuum Packaging on the Shelf-life of Refrigerated Chub Mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical and Sensory Attributes. *European Food Research and Technology*, Vol. 224, 545 – 553.
- Gram, L. e Dalgaard, P. (2002). Fish Spoilage Bacteria - problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 13, 262.
- Gram, L. e Huss, H.H. (2000). Fresh and Processed Fish and Shellfish in the Microbiology Safety and Quality of Food. In: Lund, B.M., Baird-Parker, T.C. e Gould, G.W. (Eds.), *Aspen Publishers*, Gaithersburg, MD, 472 – 502.
- Green, D. P. (2011). Sensory Evaluation of Fish Freshness and Eating Qualities. In: Alasalvar, C., Shalidi, F., Miyaslita, K. e Wanasundara, U. (Eds.). *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. Blackwell Publishing Ltd. UK, 29 - 38.
- Han, J. H. (2005). *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Ltd, UK, 3 - 54.
- Howgate, P. (2009). Traditional Methods. In: Oehlenschläger, J. e Rebhein, H. (Eds.). *Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity*. Wiley-Blackwell. West Sussex, 19 – 41.
- Hudecová, K., Buchtová, H. e Steinhauserová, I. (2010). The Effects of Modified Atmosphere Packaging on the Microbiological Properties of Fresh Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, Vol. 79, S93 – S100.
- Huss, H. H. (1988). *Fresh Fish – Quality and Quality Changes*. A training manual prepared for the FAO/DANIDA Training Programme on Fish Technology and Quality Control. (FAO Fisheries Series, no. 29). FAO e DANIDA, Roma, 43 – 66.
- Huss, H. H., Ababouch, L. e Gram, L. (2003). *Assessment and Management of Seafood Safety and Quality*. FAO Fisheries Technical Paper 444, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.

- Ibrahim, S. M.; Nassan, A. G. e El-Badry, N. (2008). Effect of Modified Atmosphere Packaging and Vacuum Packaging Methods on Some Quality Aspects of Smoked Mullet (*Mugil cephalus*). *Global Veterinaria*, Vol. 2, 296 – 300.
- ICMSF (1986). Sampling Plans for Fish and Shellfish. In: ICMSF, *Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications*. Vol. 2 (2<sup>a</sup> ed.), ed. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Toronto, Canada. University of Toronto Press.
- Iglesias, E. G., Cabezas, L. G. e Nuevo, J. L. F. (2006). *Tecnologías de Envasado en Atmósfera Protectora. Informe de Vigilancia Tecnológica*, Dirección General de Universidades e Investigación, Madrid.
- IPQ (2002). NP 4405:2002. *Microbiologia Alimentar – Regras Gerais para a Contagem de Microrganismos – Contagem de Colónias a 30 °C*, Instituto Português da Qualidade, Caparica.
- IPQ (2009). NP 2930:2009. *Produtos da Pesca e da Aquicultura – Determinação do Teor de Azoto Básico Volátil Total (ABVT). Método de Conway*, Instituto Português da Qualidade, Caparica.
- IPQ (2011). NP 3141-1:2011. *Produtos da Pesca e da Aquicultura – Determinação do Teor em Azoto do Óxido de Trimetilamina (N-OTMA), parte 1: Método de Conway*, Instituto Português da Qualidade, Caparica.
- IPQ (2011). NP 3141-2:2011. *Produtos da Pesca e da Aquicultura – Determinação do Teor em Azoto do Óxido de Trimetilamina (N-OTMA), parte 1: Método Espectrofotométrico*, Instituto Português da Qualidade, Caparica.
- ISO (1998). ISO 15214:1998. *Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of Mesophilic Lactic Acid Bacteria – Colony-Count Technique at 30 °C*, International Organization for Standardization, Geneva.

- ISO (2001). ISO 17410:2001(E). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of Psychrotrophic Microorganisms, International Organization for Standardization, Geneva.
- ISO (2003). ISO 15213:2003(E). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of Sulfite-reducing Bacteria Growing under Anaerobic Conditions, International Organization for Standardization, Geneva.
- IUCN (2012). IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org). (Acedido em Março de 2012).
- Jeyasekaran, G., Maheswari, K., Shakila, J., Ganesan, P. e Akshmanan, R. L. (2004). Bacterial Quality of Vacuum Packed Tuna (*Euthynnus affinis*) Chunks Stored under Abused Refrigerated Temperatures. Asian Fisheries Science, Vol. 17, 217 -227.
- Kaneniwa, M. (2011). Quality of Freshwater Products. In: Alasalvar, C., Shalidi, F., Miyaslita, K. e Wanasundara, U. (Eds.). Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. Blackwell Publishing Ltd. UK, 119 – 130.
- Kelsey, R. J. (1985). Packaging in Today's Society. 3<sup>rd</sup> ed. Technomic Publishing Co., Lancaster, PA.
- Leal, M. C. (1990). Transformação de Produtos da Pesca – O Desafio da Integração Europeia. Banco de Fomento e Exterior, Lisboa, 7-54.
- Levinton, B., Rogovaia, A., Polischuk, L., Tikhomirova, L. e Zvenigorodskaja, I. (1981). New Type of Commercial Fish, the Triggerfish (*Balistes capriscus*), in Human Nutrition. Voprosy Pitaniia, Vol. 6, 43 – 5.
- Liu, S., Fan, W., Zhong, S., Ma, C., Li, P., Zhou, K., Peng, Z. e Zhu, M. (2010). Quality Evaluation of Tray-packed Tilapia Fillets stored at 0 °C based on Sensory, Microbiological, Biochemical and Physical Attributes. African Journal of Biotechnology, Vol. 9, 692 - 701.

- Lopes, M., Mársico, E., Sobreiro, L., Silva, L., Conte-Júnior, C., Pardi, H. e Mano, S. (2004). Efeito da Embalagem em Atmosfera Modificada sobre a Conservação de Sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). Departamento. de Tecnologia dos Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- López-Gálvez, D. E., Hoz, L., Blanco, M. e Ordóñez, J. A. (1998). Refrigerated Storage (2 °C) of Sole (*Solea solea*) Fillets under CO<sub>2</sub>-Enriched Atmospheres. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 46, 1143 – 1149.
- Lyhs, U. (2009). Microbiological Methods. In: Oehlenschläger, J. e Rebhein, H. (Eds.). Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity. Wiley-Blackwell. West Sussex, 318 – 348.
- Mahy, M., Van Eyckden, L. e Oosterlinck, A. (1994). Evaluation of Uniform Color Spaces Developed after the Adoption of CIELAB and CIELUV. Color Research Applications Vol. 19, 105 – 121.
- Maroco, J. (2003). Análise Estatística com Utilização do SPSS. Edições Sílabo, 2<sup>a</sup> edição, Lisboa.
- Martinsdóttir, E., Schelvis, R., Hyldig, G. e Sveinsdóttir, K. (2009). Sensory Evaluation of Seafood: General Principles and Guidelines. In: Rehbein, H. e Oehlenschläger (Eds.), J. Fishery Products – Quality, Safety and Authenticity. John Wiley & Sons, Ltd, Publications, 411 – 424.
- Masniyom, P., Benjakul, S. e Visessanguan, W. (2005). Collagen Changes in Refrigerated Sea Bass Muscle Treated with Pyrophosphate and Stored in Modified-atmosphere Packaging. European Food Research Technology, Vol. 220, 322 – 325.
- Mausse, E. C. J. (2000). Shelf-life of Red Fish Stored in Ice and Modified Atmosphere (MA) and Some Aspects on the Development of a Quality Index Method (QIM) Scheme for Red Fish Stored in MA. The United Nations University, UNU – Fisheries Training Programme, Iceland.
- Munro, J. (1983). Caribbean Coral Reef Fishery Resources. International Center for Living Aquatic Resources Management, Philippines.

- National Institute of Aquatic Resources, Technical University of Denmark (2009). Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP) ver. 3.1. <http://sssp.dtuqua.dk/>. (Acedido em Março de 2013).
- Nazemroaya, S., Sahari, M. A. e Rezaei, M. (2011). Identification of Fatty Acid in Mackerel (*Scomberomorus commersoni*) and Shark (*Carcharhinus dussumieri*) Fillets and their Changes during Six Month of Frozen Storage at -18°C. *Journal of Agricultural Science and Technology*, Vol. 13, 553 – 566.
- Nollet, L. e Toldrá, F. (2010). *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, USA.
- Nychas, G. E. e Drosinos, E. H. Detection of Fish Spoilage (2010). In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, 537 – 555.
- Ólafsdóttir, G. e Jónsdóttir, R. (2010). Volatile Aroma Compounds in Fish. In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, 97 – 117.
- Ooraikul, B. e Stiles, M. E. (1991). *Modified Atmosphere Packaging of Food*. Ellis Horwood Ltd, Inglaterra.
- Özoğul, Y. (2010). Methods for Freshness Quality and Deterioration. In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, USA, 189 – 214.
- Özoğul, Y. e Özoğul, F. (2002). Degradation Products of Adenine Nucleotide in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Stored in Ice and in Modified Atmosphere Packaging. *Turkish Journal of Zoology*, Vol. 26, 127 – 130.
- Pacheco, M. H. M. (1999). Peixe-espada Preto: Caracterização Nutricional e Conservação em Atmosferas Modificadas. Dissertação de Tese de Mestrado, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto.

- Phapinyo, N., Chaowalit, T., Tanpipattanakul, A., Sooknet, K., Kumthong, A., Worawattanamateekul, W. e Smith, J. P. (2007). Shelf-life of Refrigerated Soft Shell Mud Crab (*Scylla serrata* Forskal) by Ozone Water and Storage under Air and Modified Atmosphere Packaging. *Kasetsart Journal (National Science)* Vol. 41, 539 – 547.
- Porteiro, F. e Dâmaso, C. (2006). Guia do Consumidor dos peixes Açoreanos. Fishpics & ImagDop, Universidade dos Açores, Horta.
- Reale, A., Sorrentino, E., Iaffaldano, N., Rosato, M. P., Ragni, P., Coppola, R., Capitani, D., Sobolev, A. P., Tremonte, P., Succi, M. e Mannina, L. (2008). Effects of Ionizing Radiation and Modified Atmosphere Packaging on the Shelf-life of Aqua-cultured Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 24, 2757 – 2765.
- Regulamento (CE) N°2074/2005 (2005). *Jornal Oficial da União Europeia*, L338/27.
- Rehbein, H. e Oehlenschläger, J. (2009). *Fishery Products – Quality, Safety and Authenticity*. John Wiley & Sons, Ltd, Publications.
- Rodríguez-Lázaro, D. e Hernandez, M. (2010). Detection of the Principal Foodborne Pathogens in Seafoods-related Environments. In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, USA, 557 – 578.
- Rustad, T. (2010). Lipid Oxidation. In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC Press, USA, 87 – 95.
- Sacharow, S. e Griffin, R. C. (1980). *Principles of Food Packaging – 2<sup>nd</sup> edition*. Avi Publishing Company, Connecticut.
- Salgado, R. L. (2006). Efeito da Embalagem em Atmosfera Modificada sobre a Conservação de Pargo (*Pagrus pagrus*). Dissertação, Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ.

- Santos, J. M. S. (2008). Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da Qualidade Física, Química e Microbiológica. Dissertação, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.
- Sarmiento, A. M. L. (2006). Características Microbiológicas, Físico-químicas e Sensoriais de Filés de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) Conservados em Atmosferas Modificadas sob Refrigeração. Pós-graduação em Ciências e Tecnologias de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- Schubring, R. (2010). Quality Assessment of Fish and Fishery Products by Color Measurement. In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. CRC Press, USA, 395 – 424.
- Siah, W. M. e Ariff, W. M. (2007). Shelf-life of Modified Atmosphere Packaged Fresh Grouper (*Epinephelus sp.*) Fillets. Asian Fisheries Science Society, Vol. 20, 359 – 368.
- Sikorski, Z. E. (1990). Seafood: Resources, Nutricional Composition and Preservation. Department of Food Preservation and Technical Microbiology, Technical University Politechnika Gdanska e CRC Press Inc., Florida.
- Sikorski, Z., Kolakowska, A. e Burt, J. (1990). Postharvest Biochemical and Microbial Changes. In: Sikorski, Z. E. (Ed.). Seafood: Resources, Nutricional Composition and Preservation. Department of Food Preservation and Technical Microbiology, Technical University Politechnika Gdanska e CRC Press Inc., Florida, 55 - 75.
- Sivertski, M., Rosnes, J. T. e Kleiberg, G. H. (2003). Effect of Modified Atmosphere Packaging and Superchilled Storage on the Microbial and Sensory Quality of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fillets. Journal of Food Science, Vol. 68, 1467 – 1472.
- Souza, M. R. e Ávila-da-Silva, A. O. (2010). Impacto do Sistema Pesqueiro Multifrota sobre o Estoque do Peixe-porco (*Balistes capriscus*) capturado no Estado de São Paulo. Acta Scientiarum, Biological Sciences, Maringá, Vol. 32, 1 – 7.

- Stiles, M. E. (1991). Scientific Principles of Controlled/Modified Atmosphere Packaging. In: Ooraikul, B. e Stiles, M. E. (Eds.) Modified Atmosphere Packaging of Food. Elis Horwood Ltd, Inglaterra, 18 - 25.
- Stringer, M. e Dennis, C. (2000). Chilled Foods. A Comprehensive Guide. 2<sup>nd</sup> Ed. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, England.
- Szedlmayer, S. T. (1997). Life History of the Gray Triggerfish. Auburn University Marine Extension & Research Center. <http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-1017>. (Acedido em Abril 2011).
- Tao, W. (2005a). Enhancing the Quality of Seafood Products Through New Preservation Techniques and Seaweed-based Antioxidants: Algal Polyphenols as Novel Natural Antioxidants. Faculty of Food Science and Nutrition, School of Health Sciences, University of Iceland, Reykjavík.
- Tao, W. (2005b). Combined Application of Modified Atmosphere Packaging (MAP) and Superchilled Storage to Extend the Shelf-life of Fresh Cod (*Gadus Morhua*) Loins. The United Nations University, UNU – Fisheries Training Programme, Iceland.
- Teixeira, C. E. (2009). Avaliação do Efeito Combinado dos Processos de Irradiação e Atmosfera Modificada na Qualidade Bacteriológica, Físico-química e Sensorial do Filete de Tilápia (*Oerochromis niloticus*) Refrigerado. Dissertação, Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ.
- Teodoro, A. J., Andrade, E. C. B. e Mano, S. B. (2007). Avaliação da Utilização de Embalagem em Atmosfera Modificada sobre a Conservação de Sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Vol. 27, 158 – 161.
- Torrieri, E., Cavella, S., Villani, F. e Masi, P. (2006). Influence of Modified Atmosphere Packaging on the Chilled Shelf-life of Guttled Farmed Bass (*Dicentrarchus labrax*). Journal of Food Engineering, Vol. 77, 1078 – 1086.

- Valle, M., Legault, C. M. e Ortiz, M. (2001). A Stock Assessment for Gray Triggerfish, *Balistes capriscus*, in the Gulf of Mexico. <http://www.sefsc.noaa.gov/>. (Acedido em Abril de 2011).
- Vianna, M., Rodrigues, A. M. T. e Lin, C. F. (2007). Descrição da Pescaria de Peroá (*Balistes capriscus*) com a utilização do puçá-grande no sudeste do Brasil. Boletim Instituto da Pesca. São Paulo, Vol. 33, 229 – 236.
- Visentainer, J. V., Noffs, M., Carvalho, P., Almeida, V., Oliveira, C. e Souza, N. (2007). Lipid Content and Fatty Acid Composition of 15 Marine Fish Species from the Southeast Coast of Brazil. Journal of the American Oil Chemists' Society, Vol. 84, 543 – 547.