



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITO ANTIMELANÓSIDO DA ACEROLA E
METABISSULTIFO DE SÓDIO ASSOCIADO À EMBALAGEM
EM ATMOSFERA MODIFICADA SOBRE A QUALIDADE DO
CAMARÃO BRANCO (*Litopenaeus vannamei*).**

ADRIENE ROSCELI MENEZES DE OLIVEIRA

Médica Veterinária

MOSSORÓ-RN

AGOSTO, 2013

ADRIENE ROSCELI MENEZES DE OLIVEIRA

**EFEITO ANTIMELANÓSIKO DA ACEROLA E
METABISSULTIFO DE SÓDIO ASSOCIADO À EMBALAGEM
EM ATMOSFERA MODIFICADA SOBRE A QUALIDADE DO
CAMARÃO BRANCO (*Litopenaeus vannamei*).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Alex Augusto Gonçalves
Co-orientador: Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva

MOSSORÓ-RN
AGOSTO, 2013

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e
catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFRSA**

O48e Oliveira, Adriene Rosceli Menezes de.

Efeito antimelanósico da acerola e metabissulfito de associado à embalagem em atmosfera modificada sobre a qualidade do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*). / Adriene Roseli Menezes de Oliveira. -- Mossoró, 2013.

102f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Alex Augusto Gonçalves
Co-orientador: Prof. Dr. Jen Berg Alves da Silva

Dissertação (Mestrado em Ciência do Animal: Área de concentração em Sanidade e produção) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pós-Graduação.

1. Crustáceos. 2. Melanose. 3. Camarão. 4. MIQ. I. Título.
CDD: 639.5

Bibliotecária: Vanessa Christiane Alves de Souza

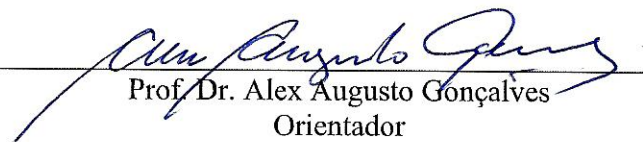
ADRIENE ROSCELI MENEZES DE OLIVEIRA

**EFEITO ANTIMELANÓSIDO DA ACEROLA E
METABISSULTIFO DE SÓDIO ASSOCIADO À EMBALAGEM
EM ATMOSFERA MODIFICADA SOBRE A QUALIDADE DO
CAMARÃO BRANCO (*Litopenaeus vannamei*).**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

APROVADA EM ____/____/____

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Alex Augusto Gonçalves
Orientador


Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva (UFERSA)


Prof. Dr. Rodrigo Antonio Ponce de Leon Ferreira de Carvalho (UFRN)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ADRIENE ROSCELI MENEZES DE OLIVEIRA – Nasceu no município de Mossoró, RN, no dia 22 de Maio de 1987, filha de Maria Tereza Menezes de Oliveira, concluiu o ensino médio no Colégio GEO Studio, no final do ano de 2004. Durante a graduação foi bolsista BITEC por dois semestres e atuou nas áreas de Clínica de Pequenos Animais, Saúde Pública e Inspeção de Produtos de Origem Animal. Graduou-se em Medicina Veterinária, na turma de 2010.2, com o TCC intitulado: Inspeção na indústria do pescado. Em Agosto de 2011 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (UFERSA) orientada pelo Prof. Dr. Alex Augusto Gonçalves.

À minha mãe, por tudo, sempre.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Alex Augusto Gonçalves, pelo exemplo de profissional e de vida. Obrigada pela dedicação, pelo carinho e principalmente, pela paciência. Deixo aqui também meu agradecimento à sua esposa, Márcia, que se tornou uma amiga querida dando força em momentos difíceis.

Ao meu co-orientador, Prof. Jean Berg Alves da Silva, pela amizade e ajuda, durante tantos anos, desde a graduação. Obrigada por sempre estar presente e disponibilizar seu tempo e conhecimento para me auxiliar em vários momentos.

Ao Prof. Rodrigo Carvalho, por se comprometer em participar da banca e ajudar a melhorar esse trabalho.

À Rociene e à Bárbara, por todas as manhãs, tardes e noites, me ajudando a realizar esse experimento. Sem vocês, dificilmente teria conseguido fazer tudo.

À maravilhosa família que me foi dada, Romão, tio Binho, Marialice, tio Cacá, tio Dom, Xavier Jr., e meus primos lindos Vitinho e Gabriel. Por sempre, sempre me apoiarem em tudo e serem o motivo pelo qual sorrio todo dia. Especialmente, à minha mãe, a pessoa mais maravilhosa que conheço e a que mais amo no mundo inteiro.

À família que escolhi. Meus incríveis amigos, Sávio, Manuella, Wanessa, Rociene, Patrícia, Eudmar e Luana, por sofrerem e comemorarem junto comigo, e especialmente, à Rebeca, por todo o bem que me faz.

Finalmente, a todos que ajudaram direta ou indiretamente nesse trabalho, meu muito obrigada!

“It is impossible to live without failing at something, unless you live so cautiously that you might as well not have lived at all – in which case, you fail by default.”

“After all this time?”

“Always”

(Joanne Rowling)

EFEITO ANTIMELANÓSIDO DA ACEROLA E METABISSULFITO DE SÓDIO ASSOCIADO À EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA SOBRE A QUALIDADE DO CAMARÃO BRANCO (*Litopenaeus vannamei*).

OLIVEIRA, Adriene Rosceli Menezes de. **Efeito antimelanósido da acerola e metabissulfito de sódio associado à embalagem em atmosfera modificada sobre a qualidade do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*)**. 2013. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

RESUMO: A melanose em crustáceos consiste na formação de pigmentos enegrecidos, acumulados principalmente no cefalotórax desses animais. Apesar de não causar prejuízos à saúde dos consumidores, essa condição afeta as características sensoriais do alimento, reduzindo a vida de prateleira e a qualidade do produto, gerando perdas financeiras. Para evitar tais perdas, a medida mais comumente adotada por pescadores e produtores é a utilização de metabissulfito de sódio (MBS) ou outros sulfitos. No entanto, o uso dessas substâncias deve ser cauteloso, tendo em vista que são frequentemente relacionadas a problemas respiratórios em humanos. Então, alternativas orgânicas, como extratos de plantas, sementes, ervas e fungos têm sido pesquisados visando substituir os sulfitos na prevenção da melanose. A acerola é rica em vitamina C e compostos fenólicos, com potencial antioxidante acima da média entre as frutas tropicais, o que a torna um agente antimelanósido em potencial. O objetivo deste trabalho foi investigar a capacidade da acerola em inibir a formação da melanose e preservar a qualidade de camarões brancos (*L. vannamei*) por mais tempo, em comparação com o MBS, e observar o efeito combinado dos tratamentos antimelanósidos associados à Embalagem em Atmosfera Modificada. Para tanto, 96 amostras de camarão foram submetidas a banhos de imersão em soluções de acerola e de MBS durante 10 minutos e embaladas em ar atmosférico, ATM 1 (7N₂:3CO₂:1O₂), ATM 2 (3N₂:7CO₂:1O₂) e vácuo. A cada três dias (durante 21 dias) foram realizadas as análises microbiológicas (contagem total de mesófilas e psicotróficas, estafilococos coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* spp.), físico-químicas (N-BVT, TMA e pH) e sensoriais (MIQ). Dos grupos amostrais embalados em ar atmosférico, o grupo tratado com MBS apresentou vida de prateleira de 10,5 dias, enquanto que o grupo tratado com acerola e o controle estavam aceitáveis até os dias 12,3 e 14,6, respectivamente. . Amostras submetidas a banho com solução de acerola e, em seguida embaladas em ATM 1, ATM 2 e vácuo, tiveram vidas de prateleira de 11,6; 11,8; e 14,0, respectivamente, já aquelas tratadas com MBS tornaram-se inaceitáveis depois dos dias 16,7; 15,4; e 20,6, simultaneamente. Na maioria das análises, entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos, o que indica que o banho em solução de acerola por 10 minutos inibiu a melanose tão eficientemente quanto o MBS, mesmo assim estudos futuros são necessários para definir precisamente o efeito antimelanósido da acerola.

Palavras-chave: crustáceos, melanose, vida de prateleira, MIQ, atmosfera modificada

ANTIMELANOSIC EFFECT FROM ACEROLA FRUIT AND SODIUM METABISULPHITE ASSOCIATED TO MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING ON THE QUALITY OF WHITE SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*).

OLIVEIRA, Adriene Rosceli Menezes de. **Antimelanotic effect from acerola fruit and sodium metabisulphite associated to modified atmosphere packaging on the quality of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**. 2013. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2013.

SUMMARY: Melanosis in crustaceans consists on the formation of black spots, gathered mainly in the cephalothorax. While not harmful to consumers' health, this condition affects the sensory characteristics of food, reducing shelf life and product quality, and originating financial losses. To avoid such loss, one of the most common practices amongst fishermen and farmers is to use sodium metabisulphite (SMS) or other sulfites to prevent melanosis from happening. However, use of these substances should be cautious, for they are often related to respiratory problems in humans. So, organic alternatives, such as extracts from plant, seeds, herbs and fungi have been investigated as substitutes to sulphites in preventing melanosis. Acerola fruit is rich in vitamin C and phenolic compounds, and has antioxidant potential above average among tropical fruits, which makes it a potential antimelanotic agent. This study was aimed at investigating acerola's potential on inhibiting the formation of melanosis and preserving the quality of white shrimp (*L. vannamei*) longer when compared to SMS, and observe the combined effect of antimelanotic treatments with Modified Atmosphere Packaging, as well. For such purpose, samples of shrimp underwent immersion baths in solutions of acerola and SMS for 10 minutes and were then packed in air, MAP 1 (7N₂:3CO₂:1O₂), MAP 2 (3N₂:7CO₂:1O₂) and vacuum. Every three days, during 21 days, microbiological (total mesophilic and psychrotrophic count, coagulase-positive staphylococci, and *Salmonella* spp.), physico-chemical (TVB-N, TMA and pH) and sensory (QIM) analyses were performed. Of all sample groups packaged in atmospheric air, the one treated with SMS had shelf-life of 10.5 days, while those treated with acerola solution and the control were acceptable up until 12.3 and 14.6 days, respectively. Samples immersed in acerola solution, and then packed in MAP 1, MAP 2 or vacuum had shelf lives of 11.6, 11.8, and 14.0 days, respectively, the samples treated with SMS became unacceptable after 16.7, 15.4, and 20.6 days of storage, simultaneously. In most analyses, however, no significant difference was found between treatments, indicating that immersion in acerola solution for 10 minutes inhibits melanosis as efficiently as SMS, yet future studies are needed to precisely define the antimelanotic effect of acerola.

Keywords: crustaceans, melanosis, shelf-life, QIM, modified atmosphere

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4-HR – 4-hidroxilresorcinol

AA – Ácido ascórbico

Ac – Acerola

ATM – Atmosfera Modificada

BHI – *Brain-Heart infusion*

B-P – *Baird-Parker*

EAM – Embalagem em Atmosfera Modificada

EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético

FAO – *Food and Agriculture Organization*

IM – Índice de Melanose

IQ – Índice de Qualidade

LANARA – Laboratório Nacional de Referência Animal

LAPESC – Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado

log.UFC.g⁻¹ – logaritmo de unidade formadora de colônia por grama de meio

MBS – Metabissulfito de sódio

mgN.100g⁻¹ – miligramas de nitrogênio em cem gramas de amostra

MIQ – Método do Índice de Qualidade

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

N-BVT – Nitrogênio das Bases Voláteis Totais

PCA – Ágar padrão para contagem (*Plate Count Agar*)

pH – Potencial hidrogeniônico

PO – Fenoloxidase

PPO – Polifenoloxidase

t – Tonelada

TMA – Trimetilamina

UF – Unidade Federativa

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFERSA – Universidade Federal Rural do Semi-Árido

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Produção mundial de pescados de 2006 a 2011 em milhões de toneladas.....	21
Tabela 2: Produção de pescado (t) da aquicultura marinha entre 2008 e 2010 nas regiões e Unidades Federativas do Brasil.....	22
Tabela 3: Dimensão da carcinicultura nacional.....	24
Tabela 4: Teor de AA em diferentes frutas tropicais.....	34
Tabela 5: Teor de compostos fenólicos em diferentes frutas tropicais.....	35
Tabela 6: Grupos formados de acordo com a combinação dos tratamentos aos quais as amostras foram submetidas.....	44
Tabela 7: Critérios para verificação de coágulo.....	47
Tabela 8: Esquema do MIQ desenvolvido para esta pesquisa.....	51
Tabela 9: Resultados das análises de pH em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em ar, submetidas a diferentes tratamentos antimelanósicos, e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	58
Tabela 10: Resultados da regressão linear e vida de prateleira dos grupos C-Ar, M-Ar e A-Ar obtidos após 21 dias de armazenamento a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	61
Tabela 11: Resultados das análises de pH em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenados durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	68
Tabela 12: Resultados da regressão linear e vida de prateleira dos grupos C-Ar, C-ATM1, C-ATM2 e C-V obtidos após 21 dias de armazenamento a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	71
Tabela 13: Resultados das análises de pH em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão com solução de acerola ou MBS, e armazenados durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	78
Tabela 14: Resultados da regressão linear e vida de prateleira dos grupos A-Ar, A-ATM1, A-ATM2, A-V, M-Ar, M-ATM1, M-ATM2 e M-V obtidos após 21 dias de armazenamento a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	83

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desempenho das exportações de camarão cultivado entre 1998 e 2012.....	23
Figura 2: A) Camarão branco (<i>L. vannamei</i>) com melanose no cefalotórax, pleópodes e articulações entre os segmentos da cutícula; B) Detalhe da melanose na zona caudal do <i>L. vannamei</i> – urópodes e telson.....	25
Figura 3: Esquema do sistema de ativação da proPO em artrópodes: (1) Reconhecimento de PAMPs através de (2) PRPs (β GBP – proteína ligadora de β -1,3-glucano; LGBP – proteína ligadora de lipopolissacarídeos e β -1,3-glucano; PGBP – proteína ligadora de peptidoglicano), desencadeando uma cascata de proteinases do soro, entre elas proPPAE (3), o zimogênio da PPAE – enzima que promove a ativação da proPO em PO (4), a enzima responsável por transformar fenóis em quinonas (5), que por sua vez passam por polimerização não enzimática e dão origem à melanina (6).....	27
Figura 4: A) Fórmula molecular do MBS; B) Aspecto físico do MBS; C) MBS acondicionado em embalagem comercial pequena.....	29
Figura 5: A) Camarões submetidos a banho de imersão com MBS 1,25%; B) Camarões submetidos a banho de imersão com solução de acerola; C) Drenagem do excesso de líquido das amostras.....	43
Figura 6: A) Embaladora Sulpac®Supervac B) Módulo compressor e misturador de gases; C) Amostras embaladas.....	44
Figura 7: A) 25 g da amostra triturada; B) D1 – erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada aonde foram adicionados os 25 g da amostra, tendo a mistura sido homogeneizada em stomacher; C) D2 – tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada e 1 mL da D1; D) D3 – tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada e 1 mL da D2.....	46
Figura 8: A) Alça de Drigalski sendo utilizada para semear <i>S. aureus</i> em B-P; B1) Tubos de ensaio contendo 3 mL de caldo BHI; B2) Tubos de ensaio contendo 0,3 mL de plasma de coelho.....	47
Figura 9: A) Amostras trituradas e homogeneizadas com ácido tricloroacético 10% passando pela filtração; B) Destilador de nitrogênio utilizado durante o experimento; C) Titulação com NaOH 0,01N até coloração final rosa pálido.....	49
Figura 10: Resultados das contagens totais de bactérias mesófilas (A) e psicrófilas (B) realizadas em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em ar atmosférico, submetidas a diferentes tratamentos antimelanósicos e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=2$).....	55
Figura 11: Resultados das análises de N-BVT e TMA realizadas em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em ar atmosférico, submetidas a diferentes tratamentos antimelanósicos, e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$. Barras	

representam o desvio padrão (n=3).....	58
Figura 12: Escores do IM (A) e do IQ (B) de amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em ar atmosférico, submetidas a diferentes agentes antimelanósicos, e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras representam o desvio padrão (n=5).....	60
Figura 13: Fotografias de camarões brancos (<i>L. vannamei</i>), embalados em ar atmosférico, submetidos a diferentes agentes antimelanósicos, e armazenados durante 21 dias a 5±1°C.....	62
Figura 14: Resultados das contagens totais de bactérias mesófilas (A) e psicotróficas (B) realizadas em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras representam o desvio padrão (n=2).....	65
Figura 15: Resultados das análises de N-BVT e TMA realizadas em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras representam o desvio padrão (n=3).....	67
Figura 16: Escores do IM (A) e do IQ (B) de amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras representam o desvio padrão (n=5).....	70
Figura 17: Fotografias de camarões brancos (<i>L. vannamei</i>), embalados em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenados durante 21 dias a 5±1°C.....	72
Figura 18: Resultados das contagens totais de bactérias mesófilas realizadas em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão com solução de acerola (A) e de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras representam o desvio padrão (n=2).....	74
Figura 19: Resultados das contagens totais de bactérias psicotróficas realizadas em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão com solução de acerola (A) e de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras representam o desvio padrão (n=2).....	75
Figura 20: Resultados das análises de N-BVT e TMA realizadas em amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão em solução de acerola (A) ou de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras representam o desvio padrão (n=3).....	79
Figura 21: Escores do IM de amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão em solução de acerola (A) ou de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C. Barras	

representam o desvio padrão (n=5).....	81
Figura 22: Escores do IQ de amostras de camarão branco (<i>L. vannamei</i>), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão em solução de acerola (A) ou de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$. Barras representam o desvio padrão (n=5).....	82
Figura 23: Fotografias de camarões brancos (<i>L. vannamei</i>), embalados em diferentes atmosferas gasosas, submetidos a banho de imersão em solução de acerola, e armazenados durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	84
Figura 24: Fotografias de camarões brancos (<i>L. vannamei</i>), embalados em diferentes atmosferas gasosas, submetidos a banho de imersão em solução de MBS, e armazenados durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$	85

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 OBJETIVOS	20
2.1 OBJETIVO GERAL	20
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	20
3 REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 AQUICULTURA: MERCADOS BRASILEIRO E MUNDIAL.....	21
3.2 MELANOSE EM CRUSTÁCEOS: QUALIDADE E DETERIORAÇÃO	24
3.3 O USO DE SULFITOS NA CARCINICULTURA E SUAS ALTERNATIVAS....	28
3.4 EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA (EAM).....	30
3.5 A ACEROLA COMO AGENTE ANTIMELANÓSICO.....	32
3.6 PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO CAMARÃO.....	35
3.6.1 Parâmetros microbiológicos.....	35
3.6.1.1 Bactérias mesófilas e psicrotróficas.....	35
3.6.1.2 <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Salmonella</i> spp.	36
3.6.2 Parâmetros físico-químicos.....	37
3.6.2.1 Nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT) e trimetilamina (TMA)	37
3.6.2.2 pH	38
3.6.3 Métodos sensoriais.....	39
3.6.3.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ).....	39
4 MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1 AMOSTRAS E TRATAMENTOS	43
4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	45
4.2.1 Mesófilas e psicrotróficas	45
4.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	46
4.2.3 <i>Salmonella</i> spp.	47
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	48
4.3.1 Nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT) e trimetilamina (TMA)	48
4.3.2 pH	50

4.4 ANÁLISE SENSORIAL (MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE – QIM)	50
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1 INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO ANTIMELANÓSIDO COM ACEROLA SOBRE A QUALIDADE DO CAMARÃO BRANCO (<i>L. vannamei</i>)	53
5.1.1 Análises microbiológicas	53
5.1.2 Análises físico-químicas	56
5.1.3 Análise sensorial	59
5.2 INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE EMBALAGEM SOBRE A QUALIDADE DO CAMARÃO BRANCO (<i>L. vannamei</i>)	63
5.2.1 Análises microbiológicas	63
5.2.2 Análises físico-químicas	66
5.2.3 Análise sensorial.....	68
5.3 EFEITO COMBINADO DO TRATAMENTO ANTIMELANÓSIDO À BASE DE ACEROLA OU METABISSULFITO DE SÓDIO ASSOCIADO A DIFERENTES MÉTODOS DE EMBALAGEM SOBRE A QUALIDADE DO CAMARÃO BRANCO (<i>L. vannamei</i>).....	73
5.3.1 Análises microbiológicas	73
5.3.2 Análises físico-químicas	77
5.3.3 Análise sensorial.....	80
6 CONCLUSÕES.....	86
REFERÊNCIAS	87

1 INTRODUÇÃO

O pescado e seus derivados estão entre os produtos mais valorizados no mercado internacional de alimentos. Os crustáceos não são exceção, constituem um grupo de alto valor comercial e são muito apreciados em diversos países. O camarão, por si só, representou em 2010, aproximadamente, 15% do valor total dos produtos da pesca negociados internacionalmente, sendo o *Litopenaeus vannamei* responsável por 71,8% da produção mundial de todas as espécies de camarões marinhos cultivados (FAO, 2012a). Porém, apesar do alto valor mercadológico, os produtos da pesca, como um todo, são extremamente perecíveis e deterioram-se rapidamente caso não sejam manuseados ou armazenados de maneira adequada (MANHEEM et al., 2012). Os crustáceos e moluscos, em especial, precisam de bastante atenção por parte da indústria da pesca, pois sua deterioração tende a ser mais acelerada que a dos demais tipos de pescado (ZENG, 2003).

Dentre os problemas de qualidade encontrados nos crustáceos, destaca-se a melanose, um dos resultados do processo de deterioração dos crustáceos, que consiste no escurecimento, principalmente, do cefalotórax e da carapaça desses animais (OGAWA et al., 1984). Ocasionalizada devido a reações bioquímicas catalisadas por enzimas chamadas polifenol-oxidases (PPOs), a melanose nada mais é que o acúmulo de melanina – formada a partir de compostos previamente incolores – sob o exoesqueleto do crustáceo (PARDIO; WALISZEWSKI; ZUÑIGA, 2011). Apesar da melanose não causar malefícios à saúde dos consumidores, ela ocasiona prejuízos aos atributos sensoriais dos crustáceos, reduzindo a qualidade, o tempo de prateleira, e consequentemente, o valor comercial do produto final (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2005; NIRMAL; BENJAKUL, 2011a).

Pelo fato da deterioração do pescado estar intimamente relacionada à temperatura de armazenamento, há muito tempo o frio (em diferentes formas, como água resfriada, gelo, refrigeração, congelamento) vem sendo utilizado na tentativa de prevenir a melanose (AUBOURG et al., 2007; KRAUS, 1992). Entretanto, esse método de conservação não é suficiente para inibir totalmente a melanogênese, porque as PPOs permanecem ativas durante a refrigeração (com ou sem gelo), e em produtos descongelados (DÍAZ-TENORIO; GARCÍA-CARREÑO; PACHECO-AGUILAR, 2007; MONTERO; LÓPEZ-CABALLERO; PÉREZ-MATEOS, 2001). Por este motivo, muitos produtores fazem uso de aditivos químicos, aplicados no momento da despesca e na indústria de processamento, para evitar o

escurecimento dos crustáceos. Os sulfitos – em particular o metabissulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ – MSB) – sozinhos ou associados a substâncias tais como os ácidos: ascórbico, cítrico, fosfórico e etilenodiamino tetra-acético (EDTA), constituem a forma mais eficiente de prevenir a melanose em crustáceos e, conseqüentemente, a mais utilizada em todo o mundo (ARAGÃO; CASTRO; COSTA-LOTUFO, 2008; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2005; MACHADO; TOLEDO; VICENTE, 2006).

O uso de sulfitos, no entanto, há algum tempo vem sendo contraindicado. Seus efeitos, apesar de eficientes no tratamento da melanose, muitas vezes são danosos à saúde humana (COLLINS-WILLIAMS, 1983; KIM; MARSHALL; WEI, 2000). Pesquisas apontam que os sulfitos estão conectados a ataques asmáticos em pessoas sensíveis, podendo vir a acarretar, quando em contato com a mucosa oral ou nasal, irritação, dificuldade de respirar, cianose e até morte por edema pulmonar (ATKINSON; SIM; GRANT, 1993).

Legislações restritivas e, principalmente, demandas dos consumidores por produtos mais saudáveis, vêm estimulando produtores, processadores e pesquisadores a buscarem alternativas ao uso desses agentes químicos. Tecnologias como a embalagem em atmosfera modificada (EAM), onde as concentrações dos gases normalmente presentes do ar atmosférico são alteradas visando preservar a qualidade do produto, são opções viáveis, eficientes e não prejudiciais à saúde humana (OTWELL; KRISTINSSON; BALABAN, 2006; SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002; THEPNUAN; BENJAKUL; VISESSANGUAN, 2008).

Ultimamente, o uso de compostos naturais extraídos de plantas, sementes, ervas e fungos, por exemplo, também é muito bem visto e aceito entre os consumidores (JANG et al., 2003). Várias pesquisas envolvendo extrato de cogumelo *enokitake* comestível (ENCARNACION et al., 2011a); chás verde e de amora (*mulberry*) (NIRMAL; BENJAKUL, 2011b); alecrim (SEABRA et al., 2011); leucena (NIRMAL; BENJAKUL, 2011a); extrato de semente de uva (GOKOGLU; YERLIKAYA, 2008); entre outros, foram realizadas para observar o potencial desses produtos em inibir a melanose.

A acerola, além de rica em niacina, tiamina, riboflavina, carotenoides e sais minerais como ferro, fósforo e cálcio, também possui teor de vitamina C (ácido ascórbico – AA) até 30 vezes maior que o da laranja (ANDRADE et al., 2002), e potencial antioxidante inigualável entre as frutas tropicais (MELO et al., 2008; PRADO, 2009). Por estes motivos, é plausível pensar nesta fruta como potencial agente inibidor de melanose.

Este experimento investigou o uso da acerola como agente antimelanósico, em comparação ao MBS e associado a ele – em camarões brancos (*L. vannamei*) de cultivo, submetidos também à EAM. Através de análises microbiológicas (contagem de bactérias mesófilas, psicrotróficas e *Staphylococcus aureus*, e presença de *Salmonella* spp.), físico-químicas (N-BVT, TMA e pH) e sensoriais (por meio do Método do Índice de Qualidade – MIQ), foram observadas as características de qualidade deste crustáceo durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito combinado da imersão do camarão branco (*L. vannamei*) de cultivo em solução de acerola ou metabissulfito de sódio (MBS) com a Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) sobre sua qualidade e vida de prateleira.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar o potencial uso da acerola como agente antimelanósico em camarão branco (*L. vannamei*) em comparação ao MBS;
- Avaliar diferentes atmosferas quanto a sua capacidade de preservar a qualidade do camarão branco (*L. vannamei*) por maiores períodos de tempo;
- Observar o efeito das interações entre os tratamentos antimelanósicos e os tipos de embalagem utilizados em amostras de camarão branco (*L. vannamei*);
- Associar o Método do Índice de Qualidade (MIQ) aos resultados das análises microbiológicas e físico-químicas para avaliar a evolução da qualidade sensorial do camarão branco (*L. vannamei*), durante 21 dias.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 AQUICULTURA: MERCADOS BRASILEIRO E MUNDIAL

O mercado dos produtos da pesca atingiu altos números em 2011, produzindo 154 milhões de toneladas (entre pesca extrativa e aquicultura) (Tabela 1), e espera-se que ele continue a crescer, tendo em vista que o consumo mundial *per capita* destes produtos aumentou de 9,9 kg/habitante/ano nos anos 60, para 18,6 kg/habitante/ano em 2010 (FAO, 2012a). No Brasil, entretanto, apenas no ano de 2010 o consumo *per capita* atingiu 9,75 kg/habitante/ano (BRASIL, 2012).

Tabela 1: Produção mundial de pescado de 2006 a 2011 em milhões de toneladas

Ano	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Produção	137,3	140,2	142,6	145,3	148,5	154,0
Aumento ^a	-	2,1%	1,7%	1,9%	2,2%	3,7%

^a Em relação ao ano anterior. Adaptado de FAO (2012).

A produção brasileira de pescado reflete esse consumo *per capita*. Apesar do extenso litoral e do conjunto de bacias hidrográficas situadas no seu território, em 2009, o Brasil contribuiu 1.240.813 t para a produção mundial, representando 0,86% do total e garantindo a 18ª colocação no ranking de maiores produtores, atrás de países bem menores como Peru (4º), Japão (5º), Filipinas (6º), Vietnã (7º), Coréia do Sul (13º), Tailândia (14º) e México (17º) (BRASIL, 2012).

No que se refere somente à produção aquícola, o Brasil é o 17º no mundo e o 2º na América do Sul, tendo produzido 479.398 t no ano de 2010, o que indica um crescimento de 31,2% quando comparado a 2008 (365.366 t). Deste total, 85.058,6 t (maior valor registrado desde 2004) foram provenientes da aquicultura marinha que atualmente no Brasil, pode ser dividida em dois cultivos predominantes: a malacocultura e a carcinicultura, mas vem apresentando um decréscimo da sua participação na produção. (BRASIL, 2012) (Tabela 2).

De acordo com a FAO (2010), dentre os produtos da pesca, o camarão é a *commodity* mais valiosa em termos monetários, sendo sozinha responsável por 15% do valor total do pescado comercializado internacionalmente. Em 2010, por exemplo, o cultivo de uma única espécie de camarão gerou US\$ 11,3 bilhões (FAO, 2012b).

Tabela 2: Produção de pescado (t) da aquicultura marinha entre 2008 e 2010 nas regiões e Unidades Federativas do Brasil

Regiões e UFs	2008	2009	2010
BRASIL	83.358,6	78.296,4	85.058,6
NORTE	265,2	246,1	257,9
Pará	265,2	246,1	257,9
NORDESTE	67.740,4	62.859,1	67.327,9
Maranhão	271,4	251,8	302,5
Piauí	1.767,2	1.639,8	1.978,3
Ceará	22.109,0	20.515,8	21.219,8
Rio Grande do Norte	28.534,2	26.478,1	28.649,7
Paraíba	1.574,9	1.461,4	1.898,8
Pernambuco	3.791,2	3.518,0	3.966,1
Alagoas	207,4	192,4	174,7
Sergipe	2.994,4	2.778,7	2.577,2
Bahia	6.490,8	6.023,1	6.560,8
SUDESTE	800,8	780,1	855,5
Espírito Santo	631,7	611,0	675,1
Rio de Janeiro	26,2	26,2	26,5
São Paulo	142,9	142,9	153,9
SUL	14.552,2	14.411,0	16.617,4
Paraná	1.140,5	1.101,4	961,8
Santa Catarina	13.388,7	13.288,3	15.636,2
Rio Grande do Sul	22,9	21,3	19,3

Adaptado de Brasil (2012).

No Brasil, a categoria “*crustáceos*” representou 39% da pauta de exportação de pescado no ano de 2010 em valores monetários, o que significa, aproximadamente, US\$ 103 milhões do total de exportações (BRASIL, 2012).

O cultivo de camarões tem sua origem histórica no sudeste da Ásia, onde pescadores artesanais construíam diques de terra nas zonas costeiras. Porém, apenas entre 1975 e 1985, o cultivo do camarão marinho atingiu um nível de rentabilidade capaz de atrair a atenção de investidores. O início da carcinicultura no Brasil data da década de 70, com incentivo, por parte do governo de alguns estados, para alavancar a produção deste crustáceo objetivando o comércio internacional (SEBRAE, 2008).

Em 2003, o camarão brasileiro ocupou o primeiro lugar das importações de camarão pequeno e médio dos Estados Unidos (25%), e no ano seguinte, ocupou também o primeiro lugar das importações de camarão tropical da União Europeia e da França e o segundo lugar da Espanha (ROCHA, 2013). Entretanto, a partir de 2004, a carcinicultura brasileira sofreu diversos contratempos; os Estados Unidos, que eram os maiores importadores, passaram a

adotar uma Lei *Antidumping* em relação à importação de camarões de diversos países para evitar que seu mercado ficasse supersaturado e que seus próprios produtores fossem prejudicados; houve uma progressiva desvalorização cambial do dólar em relação ao real (sem compensação financeira para os produtores); e por fim, enchentes nos anos de 2004, 2008 e 2009 devastaram os grandes polos carcinicultores do Brasil (ROCHA, 2013).

Todos estes fatores fizeram com que o camarão brasileiro perdesse competitividade de maneira tal, que entre 2004 e 2006 ele acabou saindo dos mercados norte americano e europeu, o que obrigou o produtor brasileiro a reduzir sua produção e reorientar suas vendas para o mercado interno, sendo que a parcela destinada para esse mercado era de 22% em 2003 e passou para 100% em 2012 (ROCHA; BORBA; NOGUEIRA, 2013; ROCHA, 2013) (Figura 1).

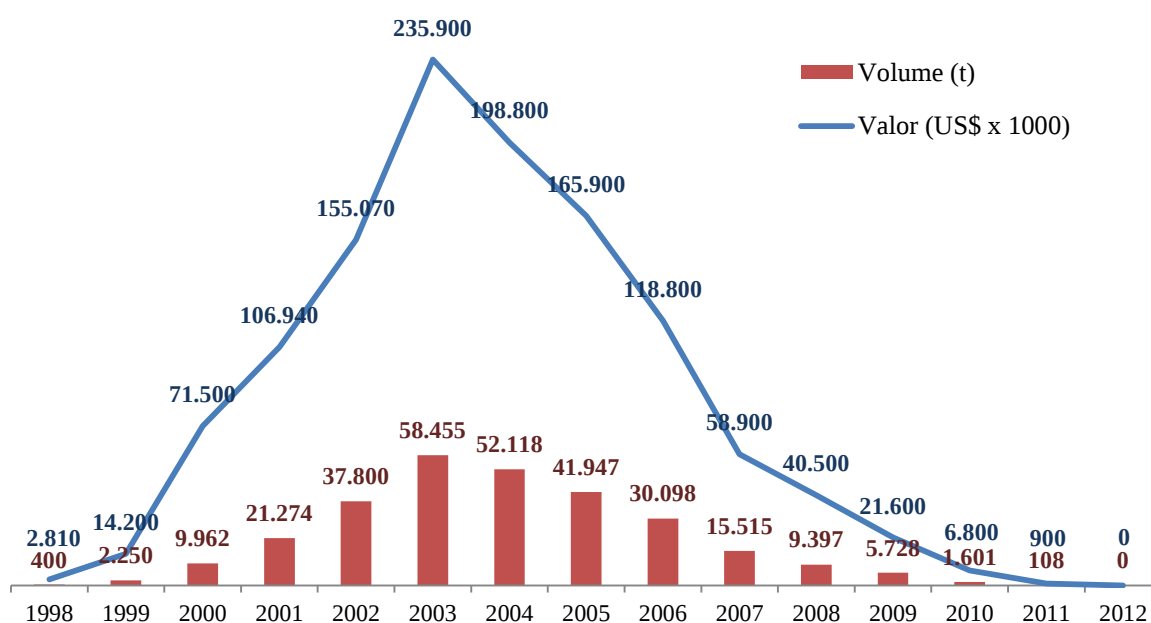


Figura 1: Desempenho das exportações de camarão cultivado entre 1998 e 2012. Adaptado de Rocha (2013).

Conforme Rocha (2013), os dados do Censo da Carcinicultura Nacional de 2011 revelam que apesar da grande crise pela qual este setor passou nos últimos anos, ele conseguiu sobreviver, embora a produtividade tenha diminuído 22,27% entre 2003 e 2011, o número de produtores e a área total da produção aumentaram significativamente (Tabela 3).

Tabela 3: Dimensão da carcinicultura nacional

Variáveis levantadas/ano	2003	2004	2011	Variação^a
Nº de produtores	905	997	1.544	55%
Área total (ha)	14.824	16.598	19.847	20%
Produção (t)	90.190	75.904	69.571	-8%
Produtividade (kg/ha/ano)	6.084	4.510	3.505	-22,27%
Exportações (US\$ Milhões)	226,0	198,0	0,90	-99,55%

^a Calculado em relação ao ano anterior. Adaptado de Rocha (2013).

O Nordeste ainda é, indiscutivelmente, o maior polo produtor de camarões do Brasil, chegando a ser responsável por 99,3% da produção total. Dentre os estados desta região, o Rio Grande do Norte e o Ceará se destacam e, entre os anos de 2008 e 2010, ambos contribuíram para que o camarão representasse naquele período cerca de 80% do total produzido na aquicultura marinha em todo o país (ROCHA, BORBA, NOGUEIRA, 2013).

A carcinicultura do Rio Grande do Norte foi por muitos anos a maior produtora de camarões em território nacional, no entanto, a produção cearense na aquicultura continental é muito superior à potiguar, o que fez com que o Ceará se tornasse o maior produtor brasileiro de camarões nos últimos anos, tendo contribuído 31.982 t para a produção total de 2011, enquanto o RN contribuiu com 17.742 t (BRASIL, 2012; ROCHA, 2013).

Em 2011, o cultivo de camarão gerou aproximadamente um bilhão de reais e 70 mil empregos, dos quais 88% foram ocupados por mão-de-obra com a mínima qualificação profissional. Isso demonstra que apesar dos contratemplos, a carcinicultura ainda é uma atividade com grande importância socioeconômica, especialmente nos principais polos produtores, onde parte da população está envolvida no setor direta ou indiretamente (ROCHA, 2013).

3.2 MELANOSE EM CRUSTÁCEOS: QUALIDADE E DETERIORAÇÃO

O conceito de qualidade em pescado é muito abrangente. O consumidor ao fazer sua decisão final leva em conta diversos aspectos relacionados a esse conceito, como por exemplo: a qualidade nutricional, relacionada à busca por alimentos saudáveis; a qualidade higiênica, que se refere à manipulação e processamento do produto; a qualidade sensorial, que depende do fator da cultura local; a qualidade de uso, que diz respeito à facilidade de preparo, disponibilidade do produto no mercado, etc.; a qualidade simbólica, que relaciona-se com

significado de se alimentar de pescado, tanto para si próprio quanto para outros; e por fim, a qualidade social, onde se leva em conta a implicação da produção do alimento que se consome sobre o meio ambiente (SANTOS, 2011).

Uma grande dificuldade em se trabalhar com o pescado é que, dentro dos produtos de origem animal, ele é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, perdendo rapidamente sua qualidade logo após a captura (BRESSAN; PEREZ, 2000). Os crustáceos não são diferentes, sua alta perecibilidade força a indústria do pescado a constantemente buscar soluções viáveis para este problema (MANHEEM et al., 2012).

Segundo Vieira (2011) camarões são os animais aquáticos mais propensos a sofrerem alterações oxidativas, hidrolíticas e ou microbiológicas graças à sua elevada atividade de água, composição química – alto teor de gordura insaturada – e pH próximo à neutralidade. Ainda de acordo com a mesma autora, esses animais também possuem maior nível de aminoácidos livres do que os peixes e contêm enzimas que quebram as proteínas rapidamente, o que os torna alvos fáceis para o ataque de microbiota deteriorante.

Entre os processos mais importantes na deterioração dos crustáceos em geral, está a melanogênese, nome dado à formação da melanose, mancha preta ou *black spot*, que consiste no escurecimento progressivo das articulações e exoesqueleto desses animais, especialmente no cefalotórax (OGAWA et al., 1984) (Figura 2).



Figura 2: A) Camarão branco (*L. vannamei*) com melanose no cefalotórax, pleópodes e articulações entre os segmentos da cutícula; B) Detalhe da melanose na zona caudal do *L. vannamei* – urópodes e telson. Fonte: Arquivo pessoal.

Essa coloração começa a aparecer dentro de horas após a despesca, ao entrarem em contato com o oxigênio atmosférico, caso os crustáceos não sejam refrigerados e tratados com

antioxidantes imediatamente (GOKOGLU; YERLIKAYA, 2008; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ; GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2008). Entretanto, flutuações de temperatura e interrupção da cadeia do frio também facilitam o processo de deterioração microbiológica e enzimática (HUSS, 1995), de forma que até camarões congelados, depois de sofrerem descongelação podem apresentar melanose (DÍAZ-TENORIO; GARCÍA-CARREÑO; PACHECO-AGUILAR, 2007).

A melanização possui importante papel no sistema imune de invertebrados, permitindo rápida resposta à infecções causadas por diferentes tipos de patógenos. Entre as várias respostas imunes humorais possíveis, como a cascata de coagulação e a ação de enzimas antioxidantes de defesa, o encapsulamento melanótico de corpos estranhos é um dos mecanismos mais eficientes em animais invertebrados (AMPARYUP; CHAROENSAPSRI; TASSANAKAJON, 2013). Métodos inadequados de captura e manipulação, e outros eventos “traumáticos” podem ativar o mecanismo de defesa dos crustáceos e resultar no aumento da formação de melanose (BARTOLO; BIRK, 1998; McEVILY; IYENGAR; OTWELL, 1991).

Melanose em crustáceos é causada pela oxidação enzimática de compostos incolores chamados fenóis em quinonas, que por sua vez sofrem polimerização não enzimática e dão origem aos pigmentos negros denominados melanina (BENJAKUL; VISESSANGUAN; TANAKA, 2006; JANG et al., 2003; ZAMORANO et al., 2009).

A enzima-chave no processo de formação da melanose é a fenoloxidase (PO), também conhecida como polifenoloxidase, tirosinase, catecoloxidase, o-difenoloxidase ou monofenoloxidase, dependendo do tipo de fenol que utilizam como substrato (BENJAKUL; VISESSANGUAN; TANAKA, 2006; GARCÍA-CARREÑO; COTA; NAVARRETE del TORO, 2008; WHITAKER; RAMÍREZ; VIRADOR, 2003). Autores concordam que a hemocianina, uma enzima ligadora de cobre presente na hemolinfa de moluscos e artrópodes, responsável pelo transporte de oxigênio, também pode apresentar atividade fenol-oxidativa, contribuindo para a melanogênese (ADACHI et al., 2001; COATES; NAIRN, 2013; FAN et al., 2009; GARCÍA-CARREÑO; COTA; NAVARRETE del TORO, 2008).

Moléculas microbianas específicas, denominadas padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), como por exemplo β -1,3-glucano, lipopolissacarídeos e peptidoglicanos, são reconhecidas através de proteínas reconhecedoras de padrões (PRPs) ativando uma cascata de proteinases presentes no soro (entre elas, a enzima ativadora de proPO – PPAE) e, eventualmente, culminando na clivagem do zimogênio proPO em PO ativa, que transforma

fenóis em quinonas, esta última substância, por sua vez, pode cruzar moléculas vizinhas, sem a presença de enzimas, para dar origem a melanina (AMPARYUP; CHAROENSAPSRI; TASSANAKAJON, 2013) (Figura 3).

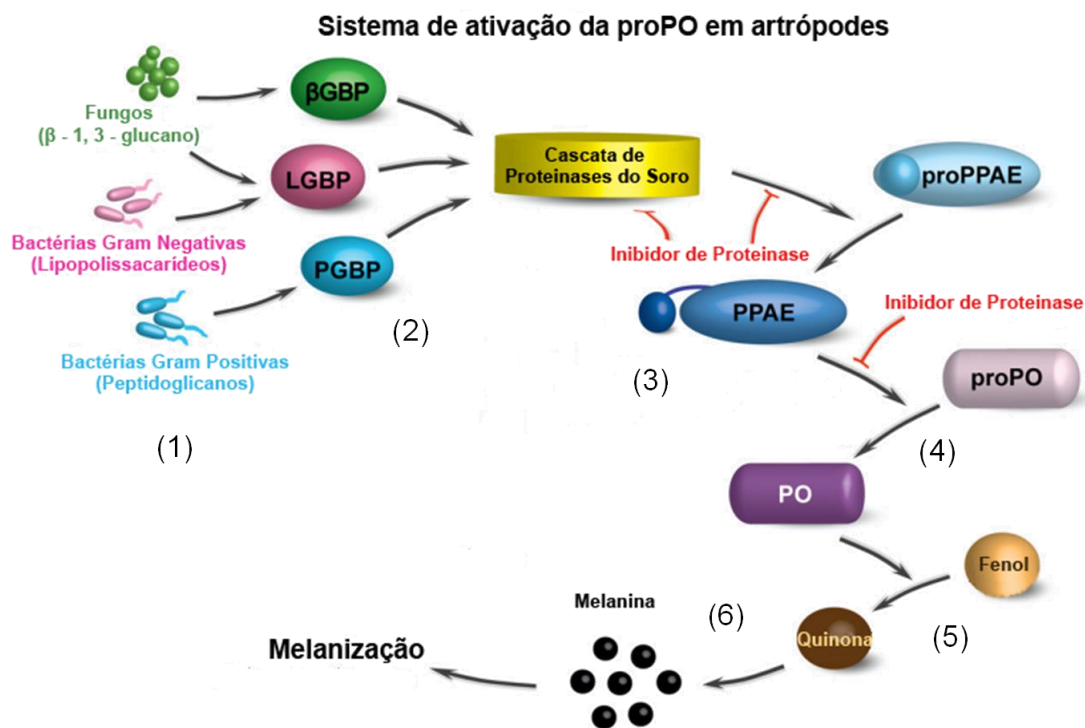


Figura 3: Esquema do sistema de ativação da proPO em artrópodes: (1) Reconhecimento de PAMPs através de (2) PRPs (β GBP – proteína ligadora de β -1,3-glucano; LGBP – proteína ligadora de lipopolissacarídeos e β -1,3-glucano; PGBP – proteína ligadora de peptidoglicano), desencadeando uma cascata de proteinases do soro, entre elas proPPAE (3), o zimogênio da PPAE – enzima que promove a ativação da proPO em PO (4), a enzima responsável por transformar fenóis em quinonas (5), que por sua vez passam por polimerização não enzimática e dão origem à melanina (6). Adaptado de Amparyup, Charoensapsri e Tassanakajon (2013).

Os produtos das reações que dão origem à melanose não são prejudiciais à saúde humana e não indicam, necessariamente, deterioração microbiana (NIRMAL; BENJAKUL, 2009a; PHONPALA et al., 2009). Entretanto, causam danos aos atributos sensoriais, diminuindo a qualidade, vida de prateleira e, conseqüentemente, o valor comercial desses produtos, já que a melanose reduz a aceitabilidade dos consumidores, ocasionando perdas financeiras para empresas que trabalham com pescado (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2005; MONTERO; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ; GÓMEZ-GUILLÉN, 2004).

Visando evitar tais perdas, pescadores e produtores de crustáceos fazem uso de diversas técnicas que buscam prolongar a vida de prateleira, além de inibir ou prevenir a melanose eliminando um ou mais componentes essenciais durante a cascata de reações, e.g. enzimas e oxigênio (GOKOGLU; YERLIKAYA, 2008). Dentre as mais tradicionais estão o uso de gelo (AUBOURG et al., 2007; MENDES; QUINTA; NUNES, 2001), o congelamento (BENJAKUL et al., 2003), o cozimento ou pré-cozimento (MANHEEM et al., 2012; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2009), o uso de embalagens em atmosfera modificada (EAM) (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002), e principalmente, o uso de sulfitos ou soluções à base de sulfitos (FIEGER, 1951; OTWELL; MARSHALL, 1986).

3.3 O USO DE SULFITOS NA CARCINICULTURA E SUAS ALTERNATIVAS

Os sulfitos são os aditivos mais eficiente e amplamente utilizados em todo o mundo para prevenir melanose em crustáceos (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2005; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2006). Eles agem como esterilizantes, antioxidantes e conservantes (MOURA; DANTAS; SANTOS, 2008), sendo, geralmente, misturados com ácidos orgânicos, como o ácido ascórbico, ácido cítrico e EDTA, ou com agentes quelantes para aumentar sua eficiência (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ; GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2008). Esses compostos começaram a ser utilizados na década de 50 (FIEGER, 1951), sendo que desde a Grécia antiga já existem relatos do uso do dióxido de enxofre (SO_2) e seus sais como conservantes (OUGH, 1983). Dentre todos os tipos de agentes sulfitantes, o metabissulfito de sódio ($\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_5$ – MBS) (Figura 4) é o mais comumente utilizado, especialmente logo após a despesca, quando os animais são sacrificados com choque térmico em solução de água, gelo e MBS (ARAGÃO; CASTRO; COSTA-LOTUFO, 2008; GÓES et al., 2006; MONTERO; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ; GÓMEZ-GUILLÉN, 2004).

O efeito antioxidante do MBS é devido à formação de íons redutivos (SO_3^{-2}) que sequestram o O_2 do meio, gerando um ambiente anaeróbio inadequado tanto para o crescimento de microrganismos aeróbios, quanto para a formação da melanose, que consiste em várias reações oxidativas, enzimáticas ou não (ELMAS et al., 2005; GÓES et al., 2006). Os sulfitos podem estar ou não ligados, de forma reversível ou irreversível às moléculas presentes em alimentos, com a sua fração de íons livres em equilíbrio dinâmico formando SO_2

molecular (MOURA; DANTAS; SANTOS, 2008). Ao reagir com a água, o gás dióxido de enxofre (SO_2), liberado pelo MBS, forma ácido sulfuroso (H_2SO_3) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) (FIALHO, 2010). Como o efeito desse aditivo não dura indefinidamente, altas concentrações e repetições de doses são, por vezes, necessárias para prevenir a melanose eficazmente (MONTERO; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ; GÓMEZ-GUILLÉN, 2004).



Figura 4: A) Fórmula molecular do MBS – Fonte: Google Imagens; B) Aspecto físico do MBS – Fonte: Google Imagens; C) MBS acondicionado em embalagem comercial pequena. Fonte: Arquivo pessoal.

Autores concordam que sulfitos, em geral, podem causar danos tanto à saúde dos trabalhadores que os aplicam sobre os alimentos, quanto à de quem consome esses produtos (ATKINSON; SIM; GRANT, 1993; COLLINS-WILLIAMS, 1983; MONTERO et al., 2006; WARNER; DIACHENKO; BAILEY, 2000). Entre os malefícios ocasionados por estes aditivos e seus resíduos, está a intoxicação aguda quando eles entram em contato com mucosas, resultando em distúrbios neurológicos em pessoas sensíveis, dificuldades respiratórias, reações alérgicas na pele, ataques de asma, cianose e até morte por edema pulmonar; além disso, a exposição crônica a concentrações elevadas de SO_2 provoca nasofaringite, atrofia das mucosas respiratórias, ulceração no septo nasal, etc. (ATKINSON; SIM; GRANT, 1993; FIALHO, 2010). Outra preocupação em relação ao uso de sulfitos na carnicultura é o impacto ambiental que a liberação desses resíduos na natureza pode causar, especialmente nos corpos d'água próximos as fazendas de cultivo, que recebem grandes quantidades, principalmente de MBS todo dia (ARAGÃO; CASTRO; COSTA-LOTUFO, 2008; BOYD, 2002).

Por todos estes motivos, o uso do MBS e de outros sulfitos passou a ser regulamentado pelas agências de saúde de vários países. Na Europa, a diretiva 95/2/EC, emendada pela

2006/52/EC, lista o MBS como aditivo alimentar autorizado, obrigando informação na rotulagem caso os sulfitos residuais ultrapassem 10 ppm e estabelecendo um limite máximo de 150 ppm desses mesmos resíduos em crustáceos (EUROPEAN PARLIAMENT, 2006). No Brasil, a resolução nº 4 de Novembro de 1988, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), permite o uso de MBS entre vários outros sulfitos, estabelecendo um limite máximo de SO_2 residual em camarões e lagostas frescas, de $0,003 \text{ g.100g}^{-1}$ no produto cozido e $0,01 \text{ g.100g}^{-1}$ no produto cru (BRASIL, 1988).

Buscando evitar todos esses problemas encontrados com os sulfitos, várias alternativas vêm sendo estudadas ao longo dos anos, dentre elas, a considerada mais eficiente é o 4-hidroxilresorcinol (4-HR), que inibe a melanose e, ainda assim, é inócuo (KIM; MARSHALL; WEI, 2000; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2007; MONTERO et al., 2006). Entretanto, doses eficazes de 4-HR dependem do estado fisiológico do camarão, da estação do ano, do método de aplicação e da espécie (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2006).

Outros tratamentos como EAM (BONO et al., 2012; SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002; THEPNUAN; BENJAKUL; VISESSANGUAN, 2008) e alta pressão (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2000; MONTERO; LÓPEZ-CABALLERO; PÉREZ-MATEOS, 2001) também se mostraram efetivos na inibição da melanose e manutenção da qualidade do produto por mais tempo, mas quando comparados com o MBS tornam-se métodos mais onerosos e menos práticos (CANN, 2001).

Atualmente, vários pesquisadores buscam alternativas orgânicas e sustentáveis para os sulfitos, recorrendo a extratos de plantas, frutos, folhas, sementes, fungos, chás, etc. (ENCARNACION et al., 2012; FANG et al., 2013; NIRMAL; BENJAKUL, 2009a, 2011b; SEABRA et al., 2011).

3.4 EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA (EAM)

Tecnologias de embalagem são maneiras importantes de prolongar a vida de prateleira, retardar a deterioração e manter a qualidade dos produtos (MASNIYOM, 2011). Para Otwell, Kristinsson e Balaban (2006), a crescente dependência em ofertas de mercados distantes, que consomem tempo para serem comercializados demanda da indústria da pesca opções de processamento e empacotamento que ajudem a preservar o produto com qualidade por longos períodos de tempo. Além disso, as embalagens são convenientes para os consumidores, e

fazem parte das estratégias de marketing e comunicação das empresas com seus clientes (RESTUCCIA et al., 2010).

O princípio da EAM é substituir o ar atmosférico dentro de uma embalagem com uma mistura de concentrações gasosas fixas que, uma vez introduzida, não mais permite ser controlada, dessa forma, durante o armazenamento, a composição gasosa das embalagens é lentamente alterada (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002). De acordo com Cann (2001), a diferença entre a EAM e a embalagem em atmosfera controlada (EAC) é justamente que nesta última, a composição gasosa é continuamente controlada ao longo do armazenamento.

A embalagem a vácuo foi a primeira forma de atmosfera modificada desenvolvida comercialmente, e nada mais é que o acondicionamento do produto em embalagens com barreira aos gases, de onde todo o ar é removido para evitar o crescimento de organismos deteriorantes, a oxidação e descoloração do produto (MANTILLA et al., 2010).

Existem vários tipos de máquinas de EAM, desde as mais simples que utilizam embalagens flexíveis ou com bandejas dentro, até as mais sofisticadas que dão forma a pacotes rígidos a partir de rolos de plástico termoformáveis (CANN, 2001). As embalagens devem ter baixa permeabilidade a gases e levar em consideração especificações das máquinas que vão ser usadas e dos produtos aos quais vão se aplicar, por exemplo, no caso de camarões, é preciso que seja considerado o rostro deste animal, que por ser muito afiado pode perfurar embalagens mais finas ou flexíveis, requerendo assim um tipo especial de empacotamento (BAK et al., 1999; CANN, 2001).

As máquinas podem utilizar uma mistura de gases já pronta ou misturar elas próprias nas concentrações desejadas imediatamente antes da embalagem (CANN, 2001). Dentre os gases utilizados nas EAM, o gás carbônico (CO_2), o oxigênio (O_2), e o nitrogênio (N_2) são os mais comuns, entretanto traços de monóxido de carbono, óxido nitroso, dióxido de enxofre, argônio e xenônio são tidos como possíveis gases para EAM em carnes, vegetais e frutas (MASNIYOM, 2011; ZHANG et al., 2008).

O dióxido de carbono (CO_2) é considerado por Sivertsvik, Jeksrud e Rosnes (2002) o gás mais importante da EAM de pescado, devido às suas propriedades bacteriostáticas e fungistáticas. Ele é bastante solúvel em água e gordura, se tornando facilmente dissolvido na fase líquida dos músculos e dando origem ao ácido carbônico, sua solubilidade aumenta com a diminuição da temperatura, então é preciso observar a concentração desse gás presente no

produto final, pois sua absorção pode resultar no colapso da embalagem (MASNIYOM, 2011; SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002). O ácido carbônico diminui o pH do produto, causando em mudanças sensoriais no produto, e diminuindo a sua capacidade de reter água, o que ocasiona formação de exsudato (MASNIYOM, 2011).

O oxigênio (O₂) é melhor utilizado em pequenas concentrações, no caso de EAM de produtos da pesca, para tentar evitar condições anaeróbias que propiciem o crescimento de microrganismos patógenos estritamente anaeróbios como o *Clostridium botulinum* ou anaeróbios facultativos como a *Listeria monocytogenes*. Além disso, o O₂ contribui pra coloração vermelha em atuns, por exemplo, por estar associado à forma oxigenada da oxiglobulina (MASNIYOM, 2011; RUTHERFORD et al., 2007). Sua presença em grandes quantidades, principalmente em pescado com alto teor de gordura, facilita o ranço oxidativo (MASNIYOM, 2011).

O nitrogênio (N₂) é um gás inerte, inodoro e insípido, comumente utilizado para preencher espaço e evitar que a embalagem colapse, pois possui baixa solubilidade tanto na gordura quanto na água (FARBER, 1991). É utilizado para substituir o O₂ atrasando o aparecimento de ranço oxidativo e diminuindo a taxa de crescimento de microrganismos aeróbios (MASNIYOM, 2011; SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002).

Dentre as desvantagens da EAM citadas por Faria, Cruz e Gonçalves (2011) estão o custo do investimento inicial, com aquisição de maquinário e insumos; a necessidade de aditivos alimentares; o volume da embalagem, que não permite maior economia de espaço; e a dificuldade de detectar fugas de gases. Para Cann (2001), além dessas, outras desvantagens são o colapso da embalagem e a formação de exsudato que acontecem caso a mistura gasosa não seja ideal, e o fato de que se mantida fora de temperaturas de refrigeração durante o processo de distribuição e comercialização, a EAM pode perder sua capacidade de estender a vida de prateleira do produto.

3.5 A ACEROLA COMO AGENTE ANTIMELANÓSIKO

Vários pesquisadores buscam soluções orgânicas e sustentáveis para inibir a melanose em camarões (ENCARNACION et al., 2012; MU et al., 2012; NIRMAL; BENJAKUL,

2011c), pois os métodos mais comumente utilizados podem ser nocivos à saúde do consumidor ou bastante onerosos para os produtores .

A acerola ou cereja das Antilhas (*Malpighia glabra* L., *M. puniceifolia* L. ou *M. emarginata* DC.) é originária da América Tropical (YAMASHITA et al., 2003) e foi introduzida no Brasil em 1956, através de uma docente da Universidade Federal Rural de Pernambuco, com sementes trazidas de Porto Rico (LOPES; PAIVA, 2002).

Hoje, o Brasil é um dos maiores produtores mundiais de acerola (MACIEL et al., 2010). Esta planta produz o ano todo e prefere regiões de baixa altitude, sendo mais presente nos estados do Nordeste, especialmente Bahia, Ceará e Paraíba (LIMA, 2010).

Dentre os vários produtos alimentícios de acerola, as formas mais comuns de consumo, além da fruta *in natura*, são a polpa congelada e o suco engarrafado, pois a qualidade da fruta diminui rapidamente após a colheita (JOHNSON, 2003; SOARES et al., 2001; YAMASHITA et al., 2003).

O principal atrativo da acerola é seu valor nutricional, essa fruta possui altos teores de ácido ascórbico (AA), i.e, vitamina C, além de carotenoides, tiamina, riboflavina e niacina, proteínas e sais minerais, especialmente ferro, cálcio e fósforo (ANDRADE et al., 2002; ASSIS; LIMA; OLIVEIRA, 2001; FREITAS et al., 2006; MATSUURA; ROLIM, 2002; SOARES et al., 2001).

Quando comparada com outras frutas, a acerola pode apresentar o teor de vitamina C centenas de vezes maior que as demais. Matsuura e Rolim (2002) afirmam que foram encontrados teores de AA em acerola variando entre 300 e 4.676 mg.100g⁻¹. Na Tabela 4 estão expostos resultados de autores que analisaram o teor de ácido ascórbico em diferentes frutas tropicais.

A acerola também possui notável atividade antioxidante, muito possivelmente relacionada ao elevado teor de vitamina C que apresenta (ASSIS; LIMA; OLIVEIRA, 2001). Prado (2009), afirma que entre os antioxidantes naturais estão os tocoferóis, a vitamina C, os carotenoides e os compostos fenólicos (substâncias que possuem anel aromático com um ou mais grupos hidroxila). Esses últimos também têm sido considerados grandes responsáveis pela atividade antioxidativa de diversas frutas. Na acerola, os principais compostos fenólicos, presentes na polpa são: malvidina 3,5-diglucosídeo; cianidina 3-glucosídeo; pelargonidina; ácido clorogênico; ácido caféico; ácido *p*-cumárico; ácido ferúlico; quercetina e canferol (VENDRAMINI; TRUGO, 2004). Durante seus experimentos, Prado (2009) e Melo et al.

(2008) compararam os teores de compostos fenólicos em diferentes frutas tropicais, e, em ambos os casos a acerola apresentou as maiores quantidades de fenólicos totais (Tabela 5).

Tabela 4: Teor de AA em diferentes frutas tropicais

Autores	Fruta	AA^a (mg.100g⁻¹)
Canuto et al. (2010)	Abiu	2,0±0,0
	Acerola	378,5±0,0
	Açaí	10,1±0,0
	Araça-boi	0,2±0,0
	Bacaba	0,9±0,2
	Bacuri	0,2±0,0
	Buriti	0,1±0,0
	Cajá	0,3±0,0
	Cajarana	18,3±0,0
	Caju	12,4±0,0
	Cupuaçu	3,3±0,0
	Graviola	0,1±0,0
	Murici	0,3±0,1
	Noni	51,2±0,0
	Tamarindo	0,1±0,0
Andrade et al. (2002)	Araçá	168,9±20,0
	Acerola	1.585,5±441,6
	Laranja	63,8±6,32
Unicamp (2006)	Acerola	941,4
	Graviola	19,1
	Laranja	56,9
	Manga	17,4
	Maracujá	19,8

^aAA: ácido ascórbico; Adaptado de Canuto et al. (2010); Andrade et al. (2002) e Unicamp (2006).

As indústrias de pescado, como já havia sido mencionado, utilizam principalmente antioxidantes químicos como o MBS (ARAGÃO; CASTRO; COSTA-LOTUFO, 2008) para evitar a melanose em crustáceos. O notável potencial antioxidante da acerola, possibilita o uso dessa fruta como agente inibitório ou preventivo da melanose.

Tabela 5: Teor de compostos fenólicos em diferentes frutas tropicais

Autores	Fruta	Fenólicos totais
Prado (2009) ¹	Abacaxi	0,37±0,006
	Acerola	15,8±0,1
	Manga	0,564±0,003
	Maracujá	0,372±0,004
	Melão	0,128±0,002
	Goiaba	0,564±0,002
Melo et al. (2008) ²	Pitanga	1,16±0,01
	Abacaxi	515,55±24,77
	Acerola	3.366,55±67,33
	Caju	808,05±32,32
	Goiaba	468,52±14,06
	Laranja cravo	409,00±12,27
	Laranja pêra	465,25±27,92
	Mamão formosa	509,00±22,91
	Mamão Havaí	284,85±17,09
	Manga espada	157,55±5,51
	Manga rosa	173,45±6,94
	Melancia	454,95±12,65
	Melão espanhol	383,90±16,19
	Melão japonês	575,05±21,85
	Melão Orange flesh	472,65±28,36
	Pinha	179±7,17

¹Compostos fenólicos equivalentes ao ácido gálico, com resultados expressos em mgAG.mL⁻¹;

²Compostos fenólicos equivalentes de catequina, com resultados expressos em µg.mL⁻¹. Adaptado de Prado (2009) e Melo et al. (2008).

3.6 PARÂMETROS PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO CAMARÃO

3.6.1 Parâmetros microbiológicos

3.6.1.1 Bactérias mesófilas e psicotróficas

A quantidade e os tipos de microrganismos encontrados no pescado fresco além de serem influenciados pelo local e método da captura, também dependem da estação do ano e refletem a população microbiana das águas de onde foram capturados (OLIVEIRA, 2005).

Em crustáceos *in natura*, resfriados ou congelados, a contagem total de bactérias não é uma análise exigida pela Resolução nº12, de 2 de Janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que aprova o regulamento técnico sobre padrões

microbiológicos para alimentos (BRASIL, 2001). Entretanto, como esses alimentos são substratos excelentes para crescimento bacteriano, esses microrganismos possuem um papel significativo na sua deterioração, então grande parte dos estudos realizam a contagem total de bactérias, tanto mesófilas quanto psicrotróficas.

Mesófilas são as bactérias que crescem bem entre 20 e 45°C, com temperatura ótima entre 30 e 40°C, enquanto que psicrotróficas crescem em temperaturas entre 0 e 7°C produzindo colônias viáveis dentro de 7 a 10 dias, apesar dessa não ser sua temperatura ótima e de poderem crescer em temperaturas de até 43°C. Então é possível inferir que as bactérias psicrotróficas estão intimamente associadas à deterioração de pescados submetidos a refrigeração. A diferença entre psicrotróficas e psicrófilas é que essas últimas têm temperatura ótima, de fato, entre 10 e 15°C (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). Tradicionalmente, a análise de bactérias mesófilas e psicrotróficas é realizada através da contagem padrão em placa, utilizando PCA (Ágar padrão para contagem – *Plate Count Agar*) como meio de cultivo.

3.6.1.2 *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp.

Vieira (2011) classifica o *S. aureus* como “microrganismo indicador de manipulação inadequada”. O maior depósito de estafilococos é o corpo humano, normalmente em indivíduos sadios se encontram na pele, nariz, mãos garganta, axilas, virilhas e umbigo; também está presente em lesões inflamatórias, como abscessos, espinhas, terçóis, entre outros (EVANGELISTA, 2008). Jay, Loessner e Golden (2005) afirmam que essas bactérias têm como fonte mais importante de contaminação, descargas nasais e feridas sépticas nas mãos ou braços de manipuladores, apesar de também poderem ser encontrada em animais. *S. aureus* é Gram-positiva e, frequentemente, relacionada à DTAs (Doenças Transmitidas por Alimentos), pois produz enterotoxinas responsáveis por causar gastroenterites em seres humanos (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). Por ser prejudicial à saúde pública, a RDC nº12 (BRASIL, 2001) exige a análise de *S. aureus*, e estabelece um limite máximo de 10^3 estafilococos coagulase positiva por grama de amostra.

Quanto à *Salmonella* spp., Vieira (2011) a classifica como um dos “microrganismos indicadores de contaminação fecal”, juntamente com a *Escherichia coli* e o *Enterococcus*

faecalis, e também como um “microrganismo capaz de causar doenças veiculadas ao pescado”. Bactérias desse gênero chegam ao pescado por estarem presentes em águas poluídas por esgotos ou por excretas animais (MALAVOTA, 2008). A pesquisa de *Salmonella* spp. também é exigida pela RDC nº12, e para assegurar a qualidade do crustáceo deve haver ausência de bactérias desse gênero em 25 g de amostra (BRASIL, 2001).

No Brasil, segue-se o Manual de Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água, presente na Instrução Normativa nº62 (BRASIL, 2003) para realizar estas análises exigidas pela RDC nº12.

3.6.2 Parâmetros físico-químicos

3.6.2.1 Nitrogênio em bases voláteis totais (N-BVT) e trimetilamina (TMA)

A formação de N-BVT e suas aminas constituintes – entre elas a TMA – na deterioração do músculo do pescado e sua relevância como parâmetro de frescor têm sido estudados por quase um século (HOWGATE, 2010a). Os níveis de N-BVT e TMA são os responsáveis primários pelos odores amoniacais associados à deterioração, tais níveis, portanto, têm boa correlação com a análise sensorial (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001).

Vale salientar, que os teores de N-BVT e TMA variam consideravelmente de acordo com a espécie de pescado sendo avaliada. Isso porque a composição química natural do músculo de pescado também é extremamente diversa (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001). Variam também de acordo com a embalagem a qual o produto é submetida (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002) e, com o método utilizado para mensurar esses teores (CLANCY et al., 1995).

Vários autores citam um teor máximo de N-BVT de 30 mgN.100g⁻¹ no músculo do pescado (HOWGATE, 2010a), entretanto, houveram sugestões que esse limite poderia variar entre 20 e 60 mgN.100g⁻¹ de acordo com a espécie (GUZMÁN, 1994). Para o TMA a variação é maior, gadiformes geralmente possuem altas concentrações de TMA, entre 70 e 100 mgN.100g⁻¹; os pleuronectiformes apresentam níveis moderados, em torno de 40 mgN.100g⁻¹; e os pelágicos ou espécies de carne escura têm níveis baixos, aproximadamente, 10 mgN.100g⁻¹ (HOWGATE, 2010b).

Entre as várias técnicas existentes para aferir o teor de N-BVT estão: destilação de extrato do músculo do pescado; destilação sob pressão reduzida; método de microdifusão de Conway; decomposição durante a destilação; destilação em temperatura ambiente; análise de injeção de fluxo; entre outras (HOWGATE, 2010a). Para analisar o teor de TMA, Howgate (2010a) cita as seguintes técnicas: método de Conway; método de picrato; destilação com formaldeído; cromatografia gasosa-líquida; análise de injeção de fluxo; cromatografia líquida de alta eficiência; eletroforese capilar; entre outras.

As técnicas mais utilizadas no Brasil para mensurar N-BVT e TMA seguem o manual de Métodos Analíticos Oficiais para o Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes, proposto pelo LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal) (BRASIL, 1981) ou o Manual de Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos proposto pelo Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008a) e consistem, basicamente, em técnicas de destilação do nitrogênio não proteico presente no músculo do pescado.

3.6.2.2 pH

A concentração dos íons hidrogênio é quase sempre alterada quando se processa a decomposição hidrolítica, oxidativas ou fermentativa do músculo do pescado (TAVARES; GONÇALVES, 2011). O potencial hidrogeniônico (pH) de uma amostra indica se as substâncias produzidas, durante o armazenamento do camarão, pelos microrganismos deteriorantes são predominantemente ácidas (por exemplo ácido lático) ou básicas (como amônia, aminas voláteis e outros compostos nitrogenados). Indicando, desta forma, o grau de deterioração do pescado.

Na legislação brasileira não há padrão de pH para crustáceos. O pH característico do peixe fresco é de 6,8 no exterior e 6,5 no interior da carne (BRASIL, 1952). Logo após a morte do pescado, devido à formação de ácido lático em decorrência do gasto de energia, o pH diminui. Entretanto, durante as modificações *post mortem* os valores desse atributo tendem a aumentar, pois a formação de bases em decorrência da ação de enzimas bacterianas ou endógenas, que metabolizam o nitrogênio presente no músculo desses animais, faz com que o meio se torne alcalino (OLIVEIRA, 2005).

Existem basicamente dois processos para aferir o pH, eles são: o colorimétrico, onde o pH é aferido através de indicadores que produzem ou alteram sua coloração dependendo da concentração de íons hidrogênio à qual estão sendo submetidos, apesar de fácil e rápido, não há grande precisão nesse método, e existem limitações quanto ao seu uso em diferentes tipos de alimentos; e o eletométrico, onde há a utilização de aparelhos especialmente produzidos para este fim e que permitem determinação direta, simples e precisa do pH (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008b).

3.6.3 Parâmetros sensoriais

3.6.3.1 Método do Índice de Qualidade (MIQ)

Sant'Ana e Freitas (2011) acreditam que a percepção sensorial é o método mais antigo e confiável para a avaliação do frescor do pescado, sendo largamente empregado no dia a dia da indústria (inspeção e controle de qualidade), pela necessidade da rapidez no julgamento de lotes de matéria-prima e do produto acabado, bem como pela facilidade de execução.

O Instituto de Tecnologistas de Alimentos (*Institute of Food Technologists*) (IFT, 1975) conceitua análise sensorial como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

Para Dutcosky (2011) existiram quatro fases distintas durante a história da ciência da análise sensorial:

- 1ª fase (antes de 1940): época artesanal/ pré-científica, onde o conhecimento empírico dominava a indústria de alimentos e a qualidade sensorial era determinada pelo proprietário da empresa ou pelo funcionário responsável pela produção;
- 2ª fase (1940 – 1950): época de expansão da indústria de alimentos. Aqui houve a incorporação de pessoal técnico e conceitos de controle de processo e de produto final foram introduzidos, entretanto métodos sensoriais não eram muito comuns;
- 3ª fase (1950 – 1970): apenas nessa época considerou-se seriamente a utilização do homem como instrumento de medida das características sensoriais dos alimentos, foram definidos os atributos primários que integram a qualidade sensorial dos

alimentos e os órgãos sensoriais a ele relacionados; foi estabelecido o entendimento de que o homem tem habilidade natural de comparar, diferenciar e qualificar atributos sensoriais, mas que era preciso normalizar a forma e as condições em que a pergunta era feita, bem como dar um tratamento estatístico aos dados obtidos; e foram desenvolvidas pesquisas básicas sobre o processo pelo qual o homem percebe e interpreta um estímulo.

- 4ª fase (após 1970): nesta época ficou definido que a qualidade sensorial não é uma característica própria do alimento, mas sim o resultado da interação entre o alimento e o homem. Sendo função tanto dos estímulos procedentes dos alimentos como também das condições fisiológicas, psicológicas e sociológicas do indivíduo ou do grupo que avalia o alimento, e para obter máxima sensibilidade, reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados, os testes devem ser realizados com equipe de julgadores devidamente selecionados e treinados ou público-alvo muito bem definido, em ambiente apropriado, sob condições rigorosamente controladas, aplicando-se técnicas estatísticas para avaliação dos resultados, desta forma a análise sensorial passou a ser verdadeiramente uma ciência.

A ABNT (1993), através da NBR 12994 classifica os tipos de análise sensorial da seguinte forma: discriminativos (testes de diferença e testes de sensibilidade); descritivos (MIQ – Método do Índice de Qualidade e ADQ – Análise Descritiva Quantitativa, entre outros); e subjetivos (comparação pareada, escala hedônica, escala de atitude, entre outros).

Os testes de diferença e os subjetivos, que indicam apenas diferenças entre as amostras e aceitação ou preferência dos consumidores, não necessitam de equipe treinada para serem realizados, no entanto, para que os resultados sejam significantes estatisticamente é preciso que haja uma grande quantidade de avaliadores, sendo que quanto mais pessoas avaliarem, mais confiança será passada pelo teste.

Já os testes de sensibilidade e os descritivos requerem pessoal especializado, com experiência e treinamento, pois quantificam e qualificam diferenças sutis no perfil sensorial das amostras, sendo assim, menos avaliadores são necessários, entre 5 e 20 são suficientes para seus resultados serem confiáveis.

O Método do Índice de Qualidade (MIQ) é um sistema de controle de qualidade rápido e confiável para avaliar o frescor do pescado (MARTINSDÓTTIR et al., 2001). O MIQ é baseado em um esquema originalmente desenvolvido no final dos anos 70, início dos anos 80

pela Unidade de Pesquisa de Alimentos da Tasmânia (*Tasmanian Food Research Unit – TFRU*), localizada na Austrália, quando pesquisadores conduziram uma série de ensaios sobre diferentes métodos de manipulação e armazenamento após a captura de pescado, e diferentes métodos de embalagem e armazenamento para peixes e filés de peixe (BREMNER, 1985; HYLDIG et al., 2007).

Esquemas de MIQ devem ser desenvolvidos para cada espécie de pescado, individualmente (MARTINSDÓTTIR et al., 2003), e para criá-los deve-se levar em consideração o porquê dele ser solicitado, que vantagens possui sobre esquemas já existentes, sua acurácia e precisão, se supre uma necessidade, para quê ele será usado, as circunstâncias nas quais será usado, sua robustez, sua adaptabilidade, seu potencial em atender futuras demandas, seu valor comunicativo, sua facilidade de uso, seu custo, a possibilidade de ser adotado, sua consistência com a teoria, e então, suas capacidades preditivas (HYLDIG et al., 2007).

Existem vários esquemas de MIQ para diferentes espécies de peixes. No que diz respeito aos crustáceos, esquemas de MIQ foram desenvolvidos para, por exemplo, *Pandalus borealis* (MARTINSDÓTTIR et al., 2001) e *L. vannamei* (OLIVEIRA et al., 2009), no entanto, a literatura ainda é muito restrita em relação a esses animais.

O MIQ avalia diversos atributos de qualidade, como aparência, textura, olhos, guelras (no caso de peixes), entre outros, e na modificação desses atributos de acordo com o tempo de estocagem, o que evita a rejeição do pescado com base em um único critério (SANT'ANA; FREITAS, 2011). Ele parte do princípio que avaliadores não conseguem julgar graus de perfeição, mas podem rapidamente detectar desvios ou mudanças nesses graus. Então, pontos de demérito foram adotados, de maneira que quanto maior o escore total, mais defeitos o produto apresenta, e ao serem somados esses pontos de demérito, eles geram um Índice de Qualidade (IQ), que permitirá fazer a avaliação da qualidade do pescado e prever a vida de prateleira do mesmo (BORGES, 2013; HYLDIG et al., 2007).

Dentre as vantagens do MIQ estão o fato dele ser barato, simples, requerer pouco treinamento e não ser um método destrutivo. Por esses motivos, vários programas para desenvolvimento de MIQs específicos de cada espécie foram criados em diversos países, principalmente na Europa. A maioria possui uma versão para o consumidor com o objetivo de auxiliá-lo a decidir o melhor produto na hora da compra no varejo (NIELSEN; HYLDIG; LARSEN, 2002). Por esses motivos, espera-se que no futuro, o MIQ se torne a principal

referência na avaliação da qualidade do pescado na Comunidade Europeia (MARTINSDÓTTIR et al., 2001).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAS E TRATAMENTOS

Foram utilizados 29 kg de camarão branco (*L. vannamei*) inteiro, com gramatura 10, fresco, adquirido no ato da despesca, sem uso de aditivos, em fazenda de cultivo instalada no município de Mossoró, RN. Os camarões foram armazenados em gelo (na proporção 1:1) e transportados até o Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado (LAPESC) da UFERSA. Depois de lavados e retiradas as impurezas, os camarões foram pesados e separados em 96 embalagens individuais contendo $300 \pm 0,9$ g cada. Esse processo não demorou mais que 5 horas após a despesca e os camarões foram mantidos sob refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$).

Os grupos amostrais foram separados, primeiramente, de acordo com os tratamentos antimelanósicos: 32 amostras não foram submetidas a nenhum tipo de banho de imersão, esse grupo foi denominado “Controle ou C”; 32 amostras foram submetidas à imersão, durante 10 minutos, em solução com 1,25% de MBS ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$), o grupo foi chamado de “Metabissulfito ou M”; e, nas últimas 32, foi realizado um banho de imersão com solução de acerola feita através da diluição de 100 g de polpa concentrada pasteurizada de acerola em 1 litro de água destilada, essas amostras constituíam o grupo “Acerola ou A” (Figura 5). Depois dos banhos de imersão, as amostras foram drenadas em peneiras plásticas durante 5 minutos para que o excesso do líquido fosse drenado.



Figura 5: A) Camarões submetidos a banho de imersão com MBS 1,25%; B) Camarões submetidos a banho de imersão com solução de acerola; C) Drenagem do excesso de líquido das amostras. Fonte: Arquivo pessoal.

Depois do tratamento com os agentes antimelanósicos os grupos amostrais foram subdivididos. Oito amostras de cada grupo já existente (C, M e A) foram embaladas, com embaladora Sulpack® Supervac acoplada a módulo compressor e misturador de gases (Figura 6), nas seguintes atmosferas gasosas: i) ar atmosférico (Ar); ii) atmosfera modificada com 70% N₂, 30% CO₂ e 10 % O₂ (ATM1); iii) atmosfera modificada com 30% N₂, 70% CO₂ e 10% O₂ (ATM2); iv) vácuo (V). A proporção entre gás e produto (G:P) nos grupos Ar, ATM1 e ATM2, foi de aproximadamente 1:1.



Figura 6: A) Embaladora Sulpack® Supervac B) Módulo compressor e misturador de gases; C) Amostras embaladas. Fonte: Arquivo pessoal.

Dessa forma, cada um dos 12 grupos formados a partir da combinação dos tratamentos antimelanósicos (C, M e A) com os tipos de embalagem (Ar, ATM1, ATM2 e V) (Tabela 6), ficou com 8 amostras idênticas. As embalagens foram mantidas em refrigeração ($5\pm 1^{\circ}\text{C}$) e, uma vez por dia, nos dias 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 era retirada uma amostra de cada grupo e realizadas as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais .

Tabela 6: Grupos formados de acordo com a combinação dos tratamentos aos quais as amostras foram submetidas

	C	M	A
Ar	C-Ar	M-Ar	A-Ar
ATM1	C-ATM1	M-ATM1	A-ATM1
ATM2	C-ATM2	M-ATM2	A-ATM2
V	C-V	M-V	A-V

C-Ar: sem banho de imersão, embalagem com ar atmosférico; M-Ar: imersão em MBS 1,25%, embalagem com ar atmosférico; A-Ar: imersão em solução de acerola, embalagem com ar atmosférico; C-ATM1: sem banho de imersão, embalagem em atmosfera modificada 1; M-ATM1: imersão em MBS 1,25%, embalagem em atmosfera modificada 1; A-ATM1: imersão em solução de acerola, embalagem em atmosfera modificada 1; C-ATM2: sem banho de imersão, embalagem em atmosfera modificada 2; M-ATM2: imersão em MBS 1,25%, embalagem em atmosfera modificada 2; A-ATM2: imersão em solução de acerola, embalagem em atmosfera modificada 2; C-V: sem banho de imersão, embalagem em vácuo; M-V: imersão em MBS 1,25%, embalagem em vácuo; A-V: imersão em solução de acerola, embalagem em vácuo.

4.2 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

4.2.1 Mesófilas e psicrotróficas

Para as análises microbiológicas foram seguidos os protocolos do manual de “Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água”, elaborado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). Primeiramente, foram realizadas três diluições decimais – que serviram tanto para a contagem de mesófilas quanto de psicrotróficas e de *S. aureus*. Para isso, de cada amostra foram pesados 25 g de músculo de camarão (descabeçado e descascado) e adicionados a 225 mL de água peptonada tamponada, em seguida essa mistura foi homogeneizada em *stomacher* durante 60 segundos. A partir dessa primeira diluição chamada “diluição 10^{-1} ou D1”, foi retirado 1 mL para ser posto em tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada tamponada, sendo essa a “diluição 10^{-2} ou D2”. Desta segunda diluição, mais 1 mL foi retirado e colocado em outro tubo de ensaio também contendo 9 mL de água peptonada tamponada, esta era “diluição 10^{-3} ou D3” (BRASIL, 2003) (Figura 7).

Para realizar a contagem de bactérias mesófilas das amostras cultivou-se 1 mL de cada uma das suas três diluições em placas de Petri contendo PCA fundido. Depois da homogeneização esperava-se o ágar endurecer, para em seguida, incubar as placas, invertidas, em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 horas. As bactérias psicrotróficas também eram cultivadas em placas de Petri contendo PCA, no entanto, estas eram incubadas, invertidas, em refrigerador a $7 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 7 dias.

Após o devido período (48 horas para mesófilas e 7 dias para psicrotróficas) eram contadas todas as UFC (Unidade Formadora de Colônias), nas placas que continham entre 25 e 250 colônias (BRASIL, 2003).

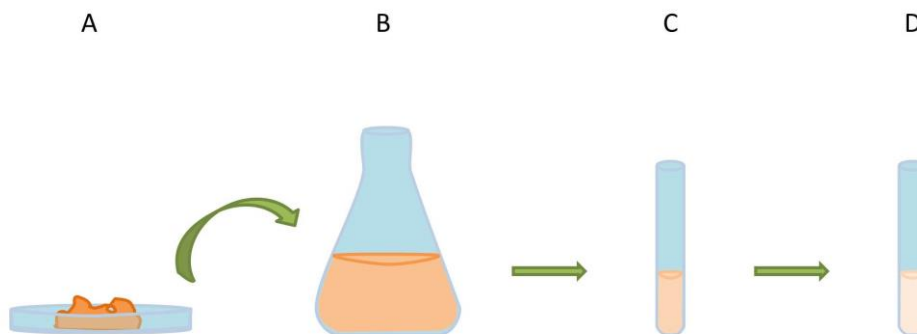


Figura 7: A) 25 g da amostra triturada; B) D1 – erlenmeyer contendo 225 mL de água peptonada aonde foram adicionados os 25 g da amostra, tendo a mistura sido homogeneizada em *stomacher*; C) D2 – tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada e 1 mL da D1; D) D3 – tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada e 1 mL da D2. Fonte: Arquivo pessoal.

4.2.2 *Staphylococcus aureus*

No caso do teste para *S. aureus*, as diluições eram realizadas como descritas anteriormente para mesófilas e psicrotróficas. Porém, o método de cultura em placa era diferente. As placas de Petri contendo ágar Baird-Parker (B-P) enriquecido com emulsão de gema de ovo eram preparadas com antecedência e mantidas em ambiente estéril para que o ágar endurecesse. No momento da realização da análise, 0,1 mL de cada diluição era espalhado na superfície do ágar endurecido, com o auxílio da alça de Drigalski, para que as colônias crescessem sobre o meio de cultura, facilitando seu isolamento (Figura 8) (BRASIL, 2003).

As placas eram incubadas, invertidas, em estufa bacteriológica, durante 48 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Depois disso era realizada a contagem das colônias nas placas que contenham entre 20 e 200 UFC. A partir das placas contadas, eram selecionadas colônias típicas (negras com halo claro) e atípicas (acinzentadas sem halo), que por sua vez, eram semeadas, separadamente, em tubos de ensaio contendo 3 mL de caldo BHI (*Brain Heart Infusion*), para serem incubadas novamente em estufa bacteriológica durante 24 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ (BRASIL, 2003).

Finalmente, 0,3 mL de cada tubo contendo caldo BHI eram transferidos para tubos contendo 0,3 mL de plasma de coelho, que eram incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 6 horas para

verificar se havia presença de estafilococos coagulase positiva, de acordo com a reação de coagulação que ocorria dentro do tubo (Tabela 7) (BRASIL, 2003).

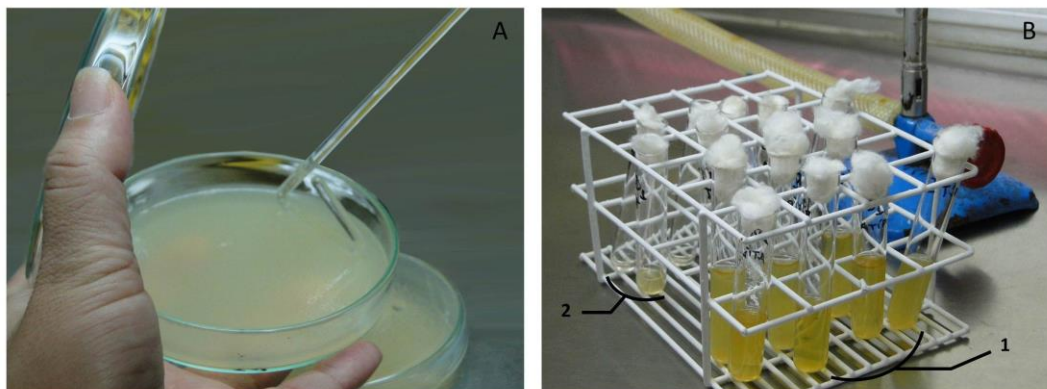


Figura 8: A) Alça de Drigalski sendo utilizada para semear *S. aureus* em B-P; B1) Tubos de ensaio contendo 3 mL de caldo BHI; B2) Tubos de ensaio contendo 0,3 mL de plasma de coelho. Fonte: Arquivo pessoal.

Tabela 7: Critérios para verificação de coágulo

Classificação	Descrição
Reação negativa	Não formação de coágulo
Reação 1+	Coágulo pequeno e desorganizado
Reação 2+	Coágulo pequeno e organizado
Reação 3+	Coágulo grande e organizado
Reação 4+	Coagulação de todo o conteúdo do tubo, que não se desprenderá quando o tubo for invertido

Adaptado de Brasil (2003).

4.2.3 *Salmonella* spp.

A presença de *Salmonella* spp. foi avaliada através de uma série de quatro passos estabelecidos pela Instrução Normativa nº62 (BRASIL, 2003). O primeiro é o pré-enriquecimento, que consistia em adicionar 25 g de amostra a 225 mL de água peptonada, homogeneizar essa mistura em *stomacher* por 60 segundos e incubá-la em estufa bacteriológica durante 20 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

O segundo passo chama-se enriquecimento seletivo, onde 0,1; 1,0 e 1,0 mL da amostra pré-enriquecida eram adicionados a tubos de ensaio contendo 10 mL dos caldos Rappaport-Vassiliadis, Selenito-Cistina e Tetrationato, respectivamente. Esses tubos eram incubados em banho-maria a $41 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

O terceiro passo é o isolamento, nessa etapa eram repicadas colônias a partir de cada um dos caldos de enriquecimento seletivo e as mesmas eram semeadas fazendo estrias em placas de Petri com ágar EMB (*Eosine Methylene Blue*) e em placas com ágar SS (*Salmonella Shigella*), posteriormente elas eram incubadas, invertidas, em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

O último passo é a identificação bioquímica, que era primeiramente realizado isolando as culturas típicas de *Salmonella* spp. dos meios EMB e SS, e inoculando-as em outros dois meios: o ágar TSI (*Triple Sugar Iron*) e o ágar LIA (*Lysine Iron Agar*). Os tubos de ensaio com esses meios eram incubados em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, em seguida as mudanças ocorridas na coloração dos meios eram observadas individualmente, aqueles que apresentarem alterações consistentes com a presença de *Salmonella* spp. (TSI com fundo amarelado e bisel avermelhado; LIA inalterado) eram considerados positivos e repicados para tubos de ensaio contendo o ágar ureia, e mais uma vez incubados a $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Finalmente, se a coloração amarela do ágar ureia permanecesse inalterada, significava que as colônias eram urease negativa, ou seja, eram colônias de bactérias *Salmonella* spp., caso contrário, elas adquiriam coloração rosada, sendo consideradas urease positivas, portanto negativas para *Salmonella* spp.

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

4.3.1 Nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT) e trimetilamina (TMA)

Para determinação do N-BVT e da TMA foi utilizado o protocolo do LANARA (BRASIL, 1981), com algumas alterações.

Inicialmente, 50 g de músculo de cada amostra foram pesados em balança analítica e, após serem adicionados 150 mL de ácido tricloroacético 10%, eram triturados dentro de beakers com auxílio de pistilos. Uma vez corretamente homogeneizada, a mistura era filtrada

(papel filtro quantitativo 110 mm) em balões volumétricos de base chata para a obtenção de extrato límpido. Desse extrato eram retirados 5 mL e transferidos para tubo digestor, que por sua vez era acoplado ao aparelho destilador de nitrogênio Tecnal[®] Modelo TE-0363, e pouco antes de iniciar a destilação recebia 5 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2 M. A destilação era então promovida e o destilado era coletado em erlenmeyer contendo 5 mL de ácido clorídrico 0,01N e três gotas do indicador ácido rosólico, até que se chegasse ao volume de 50 mL de uma solução límpida, totalmente transparente (Figura 9).

Depois das etapas acima citadas, o destilado transparente era submetido à titulação do excesso de ácido com NaOH 0,01N até que uma coloração rósea pálida fosse alcançada. Essa primeira titulação refere-se ao valor de N-BVT, para calcular a TMA eram adicionados 5 mL de formaldeído 16%, de forma que a solução voltasse a ficar transparente e uma segunda titulação com NaOH 0,01N era realizada até que o líquido ficasse novamente rosado.

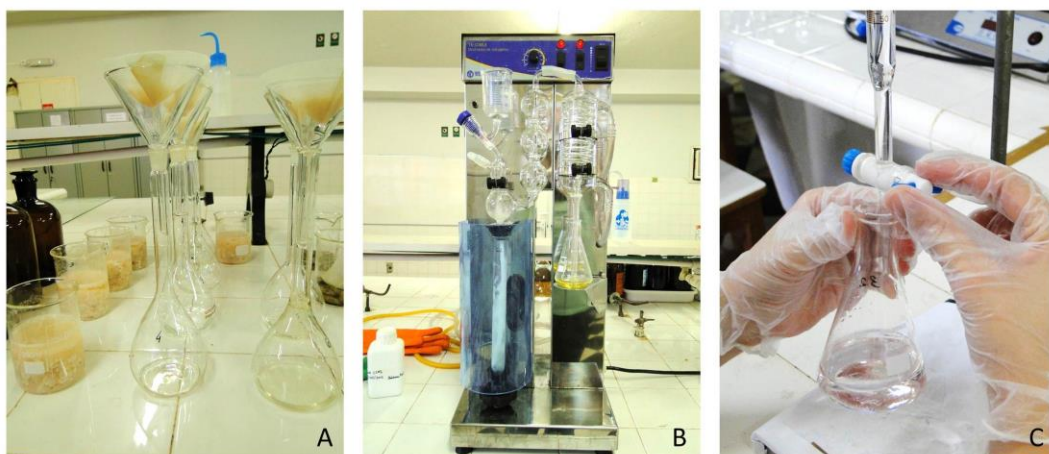


Figura 9: A) Amostras trituradas e homogeneizadas com ácido tricloroacético 10% passando pela filtração; B) Destilador de nitrogênio utilizado durante o experimento; C) Titulação com NaOH 0,01N até coloração final rosa pálido.

O valor do N-BVT, calculado em $\text{mgN} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de amostra, foi obtido com a seguinte fórmula:

$$\text{N} - \text{BVT} = \frac{14 (150 + A) * V * f * N * 100}{V_a * P}$$

Onde,

A – conteúdo de água na amostra, expresso em $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$;

V – volume de ácido consumido na 1ª titulação, indicado pelo volume inicial do ácido e o volume da base consumido na titulação;

f – fator de correção da solução de ácido clorídrico 0,01N;

N – normalidade do ácido clorídrico;

Va – volume da alíquota;

P – peso da amostra.

O valor da TMA, também calculado em mgN.100g^{-1} da amostra é encontrado através da mesma fórmula, porém, neste caso, o “V” irá representar o volume de ácido consumido na 2ª titulação.

O conteúdo de água preconizado para pescado, incluindo o camarão, é de 80%, ou seja, em uma amostra de 50 g, preconiza-se que haja 40 g de água.

4.3.2 pH

Neste experimento, o pH foi aferido por processo eletrométrico com o pH-metro digital Hayonik® Modelo FTP905, para isso, 10 g de músculo da amostra foram homogeneizadas com 40 mL de água destilada, em temperatura ambiente, e o pH foi determinado pelo o aparelho previamente calibrado. De acordo com Bailey, Fieger e Novak (1956) camarões com pH até 7,70 ainda são frescos; entre 7,70 e 7,95 têm má qualidade, porém são aceitáveis; e acima de 7,95 já são considerados inaceitáveis para consumo humano.

4.4 ANÁLISE SENSORIAL (MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE – MIQ)

O Método de Índice de Qualidade (MIQ) foi utilizado para mensurar a vida de prateleira do camarão. O esquema desenvolvido para este experimento foi baseados nos MIQs desenvolvidos por (OLIVEIRA et al., 2009; OTWELL; MARSHALL, 1986).

Foi utilizado um painel de 5 avaliadores previamente treinados. Os parâmetros de qualidade observados nas amostras foram: aroma; presença de melanose; textura; aderência da cabeça; aderência da carapaça; e aparência geral (Tabela 8).

Tabela 8: Esquema do MIQ desenvolvido para esta pesquisa

Parâmetro de qualidade	Descrição	Escore
Aroma	Fresco, suave de algas marinhas	0
	Fraco, lembrando o mar (maresia)	2
	Amoniacal fraco	4
	Amoniacal forte, pútrido	6
Melanose	Ausente	0
	Pouca, pequenos pontos pretos isolados, presentes em até 50% dos camarões da amostra	2
	Moderada, pequenos pontos pretos isolados, presentes em mais de 50% dos camarões da amostra	4
	Moderada, manchas pretas presentes em até 50% dos camarões da amostra	6
	Muita, manchas pretas presentes em mais de 50% dos camarões da amostra	8
	Muita, manchas pretas presentes em 100% dos camarões da amostra	10
Textura	Normal	0
	Amolecida	2
Aderência da carapaça	Fortemente aderida	0
	Aderência média	2
	Aderência fraca	4
Aderência da cabeça ao corpo	Fortemente aderida	0
	Aderência média	2
	Aderência fraca	4
Aparência geral	Excelente	0
	Ótima	2
	Boa	4
	Ruim	6
	Péssima	8
	Inaceitável	10
Índice de Qualidade (IQ)		0-36

Adaptado de Oliveira et al. (2009) e Otwell e Marshall (1986).

As análises sensoriais ocorriam após ser realizada a amostragem para os testes microbiológicos. Geralmente, aconteciam no mesmo horário nas datas predeterminadas, em ambiente adequado no interior do laboratório, e aos panelistas não era permitido discutir as amostras entre si.

O Índice de Qualidade (IQ) representa a soma de todos os pontos de demérito de determinada amostra, varia entre 0 e 36. O Índice de Melanose (IM) é o escore recebido pela amostra nessa categoria, e pode variar entre 0 e 10 pontos deméritos.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição dos dados foi testada com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk antes de eles serem submetidos à *One-way* ANOVA. Posteriormente, o teste de Tukey foi utilizado para comparar as médias e determinar diferenças significativas com $\alpha=0,05$. Os dados foram tabulados em MS Excel, os testes estatísticos realizados no programa STATISTICA (StatSoft), e os gráficos foram feitos no *software* SigmaPlot.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO ANTIMELANÓSIDO COM ACEROLA SOBRE A QUALIDADE DO CAMARÃO BRANCO (*L. vannamei*)

5.1.1 Análises microbiológicas

A influência do tratamento antimelanósico sobre a qualidade e a vida de prateleira do camarão branco (*L. vannamei*) foi avaliada comparando os resultados das análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais dos grupos A-Ar, M-Ar e C-Ar.

A análise microbiológica revelou que no 6º dia de armazenamento o grupo C-Ar excedeu o limite de contagem total de mesófilas, que de acordo com a legislação brasileira é de 5,4 log.UFC.g⁻¹ (BRASIL, 2003). Apesar de este valor ter diminuído nos dias 9 e 12, ele voltou a ultrapassar o limite no dia 15 e permaneceu acima dele após isso (Figura 10A). Semelhantemente, amostras de camarão rosa (*Parapenaeus longirostris*) sem tratamentos antimelanósicos e descongeladas em baixa temperatura (2°C), após passarem três meses armazenadas a -18°C, apresentaram contagem superior a 5,4 log.UFC.g⁻¹ no 11º dia de experimento (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2007).

Amostras dos grupos A-Ar e M-Ar excederam 5,4 log.UFC.g⁻¹ apenas nos dias 15 e 18, respectivamente. Somente nos dias 0 e 3 houve diferença significativa (p<0,05) entre os grupos C-Ar e M-Ar e o grupo A-Ar (Figura 10A). Da mesma forma, Aubourg et al. (2007), que realizaram pesquisas com lagosta da Noruega (*Nephrops norvegicus*) também não encontraram diferença na contagem total de mesófilas entre os grupos controle e o grupo que havia sido imerso em solução antimelanósica contendo 0,5% de metabissulfito de sódio na temperatura ambiente (15°C) durante 30 minutos, ambos obtiveram contagens ligeiramente superiores a 4 log.UFC.g⁻¹ depois de 9 dias de experimento. Resultados similares também foram encontrados por Nirmal e Benjakul (2009b), durante pesquisa que usava ácido felúrico como alternativa orgânica aos sulfitos na inibição da melanose eles encontraram, no 10º dia de armazenamento, contagens de 4,5 e 4,2 log.UFC.g⁻¹ em amostras de camarão branco (*L. vannamei*) inteiro, tratadas com solução de 1 ou 2% de ácido felúrico, respectivamente, durante 15 minutos a 4°C.

Outros pesquisadores, entretanto, não obtiveram resultados semelhantes aos encontrados nesse estudo, tendo em vista que suas contagens eram mais elevadas e ou alcançavam esses valores mais cedo. Por exemplo, Martínez-Álvarez, Gómez-Guillén e Montero (2008) realizando pesquisas em lagostas da Noruega (*N. norvegicus*) observaram que amostras tratadas com 6% (v/v) de produto comercial a base de sulfitos, mas também contendo ascorbato de sódio, ácido cítrico e EDTA obtiveram contagens de $5,27 \pm 0,01$ log.UFC.g⁻¹ a partir do 7º dia de armazenamento a 4°C. Lu (2009), enquanto trabalhou com camarão chinês (*Fenneropenaeus chinensis*), observou que as contagens de aeróbios totais em amostras, tanto de camarão inteiro quanto sem cabeça, embaladas em ar atmosférico e sem tratamento antimelanósico ultrapassavam $5,5$ log.UFC.g⁻¹ já a partir do 5º dia de armazenamento a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Mastromatteo et al. (2010) utilizou óleo essencial de timol como alternativa aos tratamentos antimelanósicos tradicionais à base de sulfitos, porém já no 7º dia de experimento, amostras de camarão (*Palaemon serratus*) descascado mergulhado em soluções aquosas com diferentes concentrações de timol (500, 1000 e 1500 ppm) apresentaram contagens superiores a 7 log.UFC.g⁻¹.

O crescimento de bactérias psicrotróficas não foi observado em nenhuma das amostras no dia 0, demonstrando que não havia contaminação inicial. No entanto, no terceiro dia de armazenamento as contagens aumentaram significativamente ($p < 0,05$), possivelmente devido à fase exponencial (log) do crescimento bacteriano (BOZIARIS; KORDILA; NEOFITOU, 2011). Os grupos C-Ar e A-Ar ultrapassaram o limite de $5,4$ log.UFC.g⁻¹ no 12º dia, enquanto o grupo M-Ar excedeu este valor a partir do 15º dia. Independentemente, não houve diferença ($p < 0,05$) entre a contagem total de psicrotróficas em nenhum dos tratamentos durante o período de análises (Figura 10B). Pesquisadores tailandeses fizeram uso de extrato de chá verde como alternativa para inibir a melanose em camarão branco (*L. vannamei*) em duas ocasiões: durante armazenamento em gelo (NIRMAL; BENJAKUL, 2011b), onde todas as amostras mostraram contagens superiores a 5 log.UFC.g⁻¹ no 12º dia de experimento; e durante armazenamento refrigerado a 4°C associado à EAM (NIRMAL; BENJAKUL, 2011c), onde a partir do 10º dia amostras do grupo controle e do grupo com extrato de chá verde e EAM obtiveram contagens acima de $5,97$ e $3,98$ log.UFC.g⁻¹, respectivamente. Esse mesmo grupo de pesquisa também trabalhou com catequina extraída de chás em camarões brancos (*L. vannamei*), e observou no 10º dia de armazenamento contagens totais de bactérias psicrotróficas com valores entre $5,17$ e $4,61$ log.UFC.g⁻¹ em meio aos grupos controle e

aqueles tratados com imersão em metabissulfito de sódio a 1,25% por 1 minuto, ou imersão em soluções de catequina a 0,05 e 0,1% por 15 minutos (NIRMAL; BENJAKUL, 2009a).

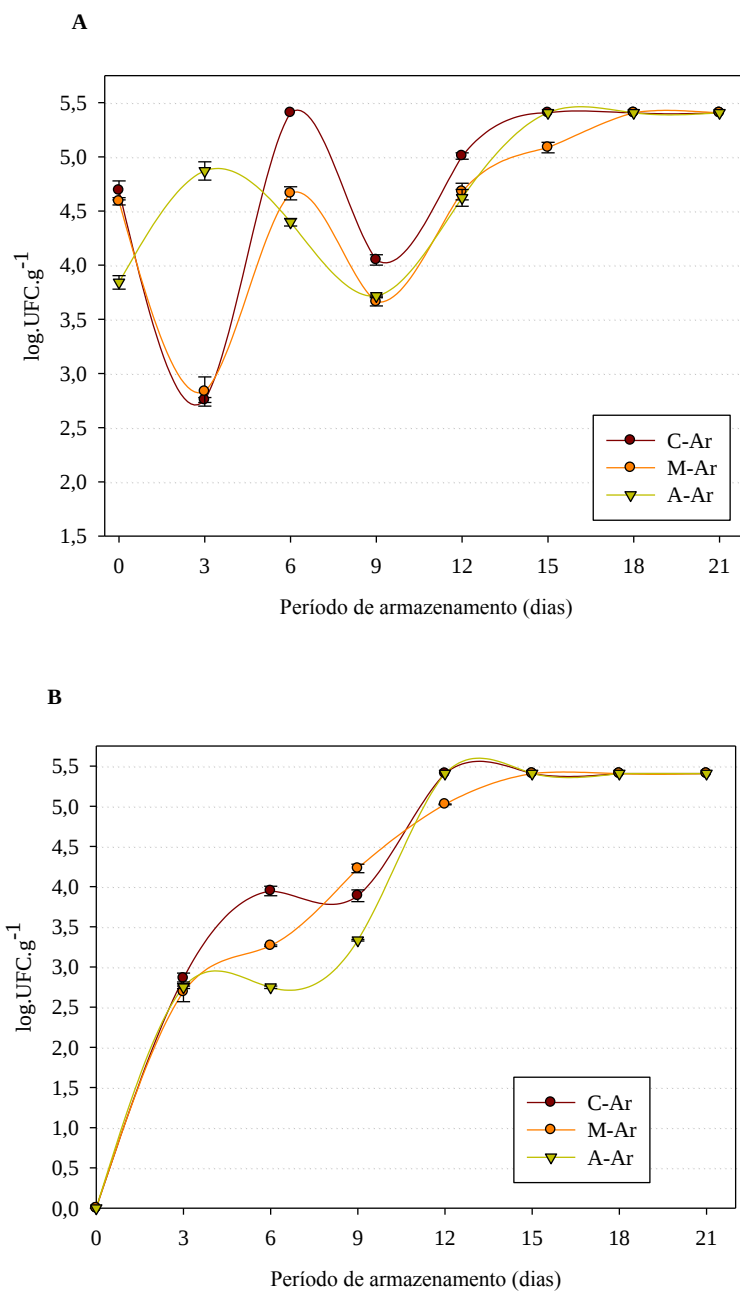


Figura 10: Resultados das contagens totais de bactérias mesófilas (A) e psicrótróficas (B) realizadas em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em ar atmosférico, submetidas a diferentes tratamentos antimelanósicos, e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=2$).

A contagem de estafilococos coagulase positivo e a pesquisa por *Salmonella* spp. foram negativas em todas as amostras durante todos os dias do experimento. Esses microrganismos estão relacionados à falta de higiene dos estabelecimentos e dos manipuladores (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). No presente experimento, os camarões recém-despescados foram lavados antes da embalagem e permaneceram em refrigerador ($5\pm 1^{\circ}\text{C}$), com o mínimo de manipulação, durante os próximos 21 dias, o que pode explicar a ausência dessas bactérias nas amostras analisadas.

5.1.2 Análises físico-químicas

Houve um pico nos níveis de N-BVT no 3º dia de armazenamento, quando todos os grupos ultrapassaram o limite máximo aceitável de 30 mgN.100g^{-1} (HOWGATE, 2010a). Este pico coincide com o crescimento acentuado observado na análise de bactérias psicotróficas (fase log) entre os dias zero e três, como demonstrado na figura 10B. Nirmal e Benjakul (2010a) também correlacionam os níveis de N-BVT a microrganismos, especialmente bactérias deteriorantes, entretanto, Martínez-Álvarez et al., (2009), afirmam que esses valores são mais facilmente relacionados à produção de amônia por enzimas tissulares, do que por ação bacteriana. Independentemente, os valores observados no 3º dia diminuiram nos dias que se seguiram. Somente o grupo M-Ar excedeu o limite novamente, já no 21º dia de armazenamento, além disso, esse grupo também apresentou as maiores médias durante o experimento (Figura 11). Martínez-Álvarez et al. (2009) utilizaram um método de aferição das bases voláteis, semelhante ao usado no presente estudo, para mensurar as N-BVT em amostras de camarão rosa (*P. longirostris*) submetidas a diferentes métodos de cocção e tratamentos antimelanósicos. Seus resultados ultrapassaram o limite aceitável apenas no 23º dia de estudo, com as médias mais elevadas sendo aquelas dos grupos tratados com fórmulas baseadas em sulfitos. Da mesma forma, lagostas da Noruega (*N. norvegicus*) armazenadas em gelo moído e também analisadas através do método de destilação a vapor, apresentaram aumento significativo na formação de N-BVT quando tratadas com metabissulfito (AUBOURG et al., 2007). Camarões chineses (*F. chinensis*) submetidos ao mesmo método analítico de mensuração de N-BVT que os relatados anteriormente, e tratados com água ozonizada e compostos bactericidas, demoraram 13 e 17 dias, respectivamente, para

ultrapassar o limite de 30 mgN.100g⁻¹ (LU, 2009). López-Caballero, Gonçalves e Nunes (2002), e Bono et al. (2012) também trabalharam com o camarão rosa (*P. longirostris*): os primeiros embalsamaram as amostras em diferentes atmosferas e as submetteram ao método de microdifusão de Conway modificado para determinar os valores de N-BVT, todas elas já haviam ultrapassado o limite no 7º dia; os últimos, trataram e embalsamaram os camarões a bordo, e posteriormente, os armazenaram a -18°C por doze meses, no entanto, os resultados demonstram que todas as amostras, três dias após a captura obtiveram valores de N-BVT superiores a 30 mgN.100g⁻¹.

No que diz respeito à TMA, o grupo C-Ar obteve as maiores médias durante o experimento, e 3 mgN.100g⁻¹ foi o valor máximo observado entre as amostras (Figura 11). Tais resultados são similares aos encontrados em lagostas da Noruega (*N. norvegicus*) armazenadas em gelo líquido (*slurry ice*) com ou sem metabissulfito de sódio (AUBOURG et al., 2007); e em camarões rosa (*P. longirostris*) descongelados submetidos a soluções à base de 4-hidroxilresorcinol ou de sulfitos (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2007). Mejlholm, Bøknæs e Dalgaard (2005) não observaram produção de TMA em nenhuma das amostras de camarão (*Pandalus borealis*) submetidos à EAM mesmo depois de serem considerados sensorialmente estragados. Nirmal e Benjakul (2009b) também não detectaram TMA em amostras de camarão branco (*L. vannamei*) tratados com ácido felúrico. Entretanto, camarões rosa (*P. longirostris*) embalados em EAM ultrapassaram 10 mgN.100g⁻¹ antes do 7º dia de armazenamento (LÓPEZ-CABALLERO; GONÇALVES; NUNES, 2002).

A análise de pH demonstrou que todos os grupos começaram o experimento com mensurações entre 6,1 e 6,3. No terceiro dia houve aumento significativo ($p < 0,05$) e os valores se elevaram para 7,5 e 7,6, a partir deste momento em diante o pH se estabilizou e mostrou valores entre 7,6 e 8,1 até o fim do experimento (Tabela 9). Isso acontece devido à formação de compostos básicos como amônia e TMA, por atividade bacteriana ou de enzimas endógenas, facilitado pelo fato que crustáceos tem, naturalmente, altos índices de nitrogênio não-proteico (HUSS, 1995; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2007). A maioria das amostras, após o 6º dia já seriam consideradas de má qualidade por Bailey, Fieger e Novak (1956). Resultados semelhantes foram observados em camarão rosa (*P. longirostris*) embalado em diferentes atmosferas (GONÇALVES; LÓPEZ-CABALLERO; NUNES, 2003); em lagostas da Noruega (*N. norvegicus*) armazenadas em gelo moído ou líquido (*slurry ice*) e tratadas com metabissulfito de sódio (AUBOURG et al., 2007); em camarão (*P. serratus*) descascado

tratado com óleo essencial de timol (MASTROMATTEO et al., 2010); e, especialmente, em camarão branco (*L. vannamei*) tratado com catequina (NIRMAL; BENJAKUL, 2009a).

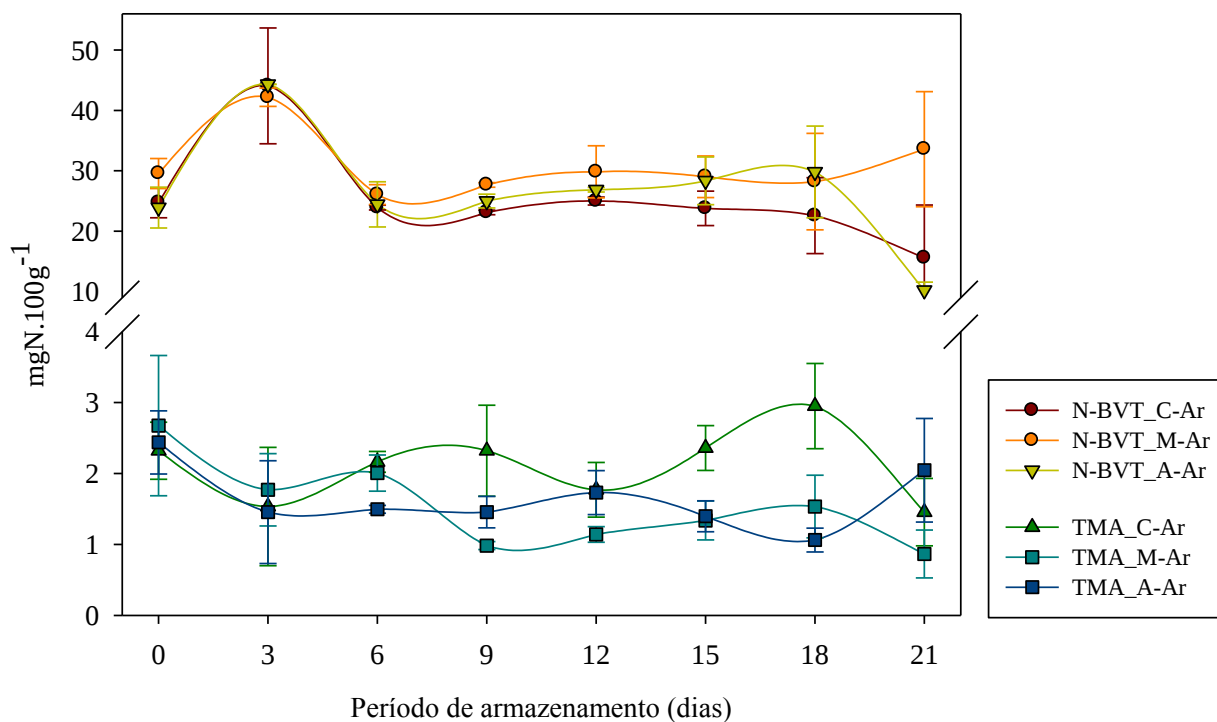


Figura 11: Resultados das análises de N-BVT e TMA realizadas em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em ar atmosférico, submetidas a diferentes tratamentos antimelanósicos, e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=3$).

Tabela 9: Resultados das análises de pH em amostras de camarão branco (*L. vannamei*) embaladas em ar, submetidos a diferentes tratamentos antimelanósicos, e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$

pH	Período de armazenamento (dias)								Média $\pm$ dp
	0	3	6	9	12	15	18	21	
C-Ar	6,19	7,67	7,88	7,80	7,74	7,87	8,01	7,62	7,59 $\pm$ 0,54
M-Ar	6,13	7,59	7,94	7,65	7,75	7,97	8,20	7,74	7,62 $\pm$ 0,59
A-Ar	6,32	7,54	8,15	7,71	7,70	7,83	7,97	7,72	7,61 $\pm$ 0,52

5.1.3 Análise sensorial

Como era antecipado, a melanose apresentou escores crescentes ao longo do período de armazenamento em todos os grupos, com os índices de melanose (IM) médios mais elevadas sendo encontrados no grupo C-Ar (Figura 12A). Tais resultados também foram observados com camarões brancos (*L. vannamei*) tratados com extratos de chá (NIRMAL; BENJAKUL, 2011b, c); camarões rosa (*P. longirostris*) descongelados e tratados com agentes antimelanósicos não orgânicos (LÓPEZ-CABALLERO et al., 2007); e lagostas da Noruega (*N. norvegicus*) tratadas com sulfitos em pó (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ; GÓMEZ-GUILLÉN; MONTERO, 2008). Apesar de poucas amostras já terem apresentado melanose no dia zero, provavelmente devido ao manuseio incorreto durante a despesca, e considerando que os pontos escuros eram poucos e pequenos, de fato a melanose começou a se formar no grupo C-Ar no terceiro dia, para o grupo A-Ar os IM começaram a aumentar notavelmente a partir do sexto dia, e para o grupo M-Ar a partir do 9º dia. Nirmal e Benjakul (2009a) observaram que os escores da melanose elevaram-se significativamente a partir do 4º dia em diante em amostras de camarão branco (*L. vannamei*) e aquelas tratadas com metabissulfito de sódio, juntamente com as amostras controle apresentaram as médias mais elevadas. Gonçalves, López-Caballero e Nunes (2003) relataram que após somente 4 dias de armazenamento em gelo, amostras de camarão rosa (*P. longirostris*) pertencentes ao grupo controle já apresentavam sinais de melanose no cefalotórax.

Os outros atributos analisados também apresentaram escores crescentes com o tempo. Estes foram somados, inclusive com o escore de melanose, para que fosse obtido o Índice de Qualidade ou IQ, uma ferramenta utilizada para mensurar a vida de prateleira dos grupos amostrais. O grupo C-Ar apresentou IQ significativamente maior que dos outros grupos apenas no dia 0 ($p < 0,05$). Apesar das médias do IQ terem sido menores no grupo A-Ar durante todo o período de armazenamento, não houve diferença entre esse grupo e o C-Ar ($p < 0,05$); e somente nos dias 3, 18 e 21 o grupo M-Ar obteve escores significativamente menores que os outros dois grupos ($p < 0,05$) (Figura 12B).

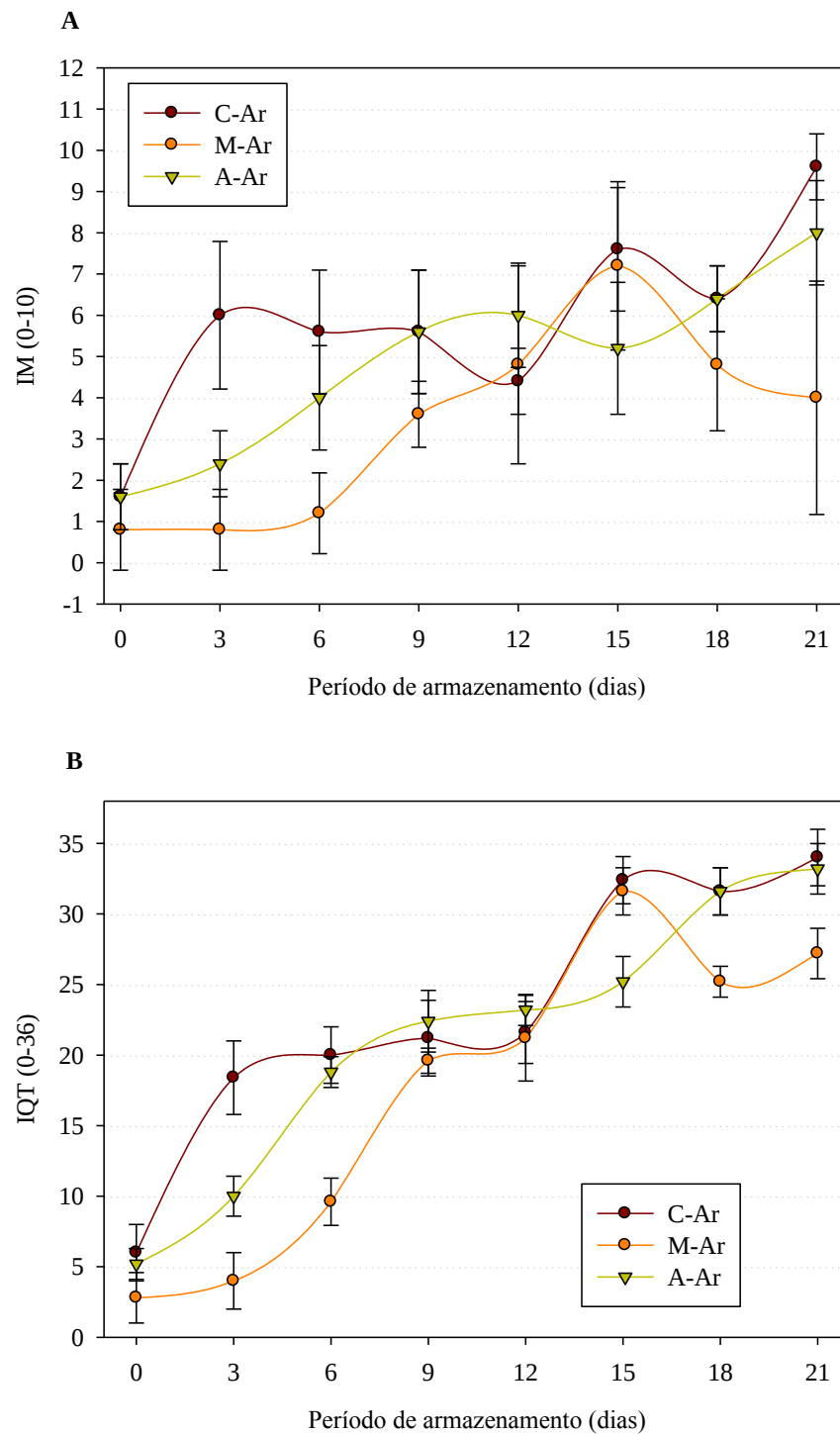


Figura 12: Escores do IM (A) e do IQ (B) de amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em ar atmosférico, submetidas a diferentes agentes antimelanósicos, e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=5$).

Regressões lineares foram realizadas para predizer a vida de prateleira de cada grupo de amostras. Considerando que o índice máximo para que o camarão ainda seja considerado sensorialmente aceitável é 65% do IQ máximo (36 pontos), então pode-se inferir que escores acima de 23,4 pontos não são mais considerados aceitáveis (Figura 13).

Utilizado os modelos de regressão linear e o IQ máximo aceitável as vidas de prateleiras dos grupos C-Ar, M-Ar e A-Ar (Tabela 10) armazenados a $5\pm1^{\circ}\text{C}$ foram calculadas como sendo, respectivamente, 10,7; 14,6 e 12,3 dias. Oliveira et al. (2009) considerou o IQ máximo aceitável em camarões brancos (*L. vannamei*) inteiros armazenados em gelo, como sendo 60% do total, e suas amostras alcançaram esse escore no 12º dia de experimento. Camarão (*P. borealis*) cozido e descascado submetido a congelamento (MEJLHOLM; BØKNÆS; DALGAARD, 2005), e camarão branco (*L. vannamei*) embalado em atmosfera modificada obtiveram vida de prateleira de 15 e 10 dias (NIRMAL; BENJAKUL, 2011c), respectivamente. Por outro lado, lagostas da Noruega (*N. norvegicus*) armazenadas em gelo moído, mesmo tratadas com metabissulfito de sódio, só foram aceitáveis sensorialmente até o 5º dia de análises (AUBOURG et al., 2007), e camarões rosa (*P. longirostris*) mantidos em gelo se tornaram inaceitáveis depois de 7 dias (GONÇALVES; LÓPEZ-CABALLERO; NUNES, 2003).

Tabela 10: Resultados da regressão linear e vida de prateleira dos grupos C-Ar, M-Ar e A-Ar obtidos após 21 dias de armazenamento a $5\pm1^{\circ}\text{C}$

	Modelo de regressão linear	r^2	Vida de prateleira (dias)
C-Ar	$y = 10,667 + 1,189 x$	0,87948	10,7
M-Ar	$y = 3,3 + 1,3667 x$	0,8497	14,6
A-Ar	$y = 7,7 + 1,2857 x$	0,9456	12,3

y = IQ máximo aceitável (65% do total, i.e., 23,4); x = dias refrigerado; r^2 = coeficiente de determinação.

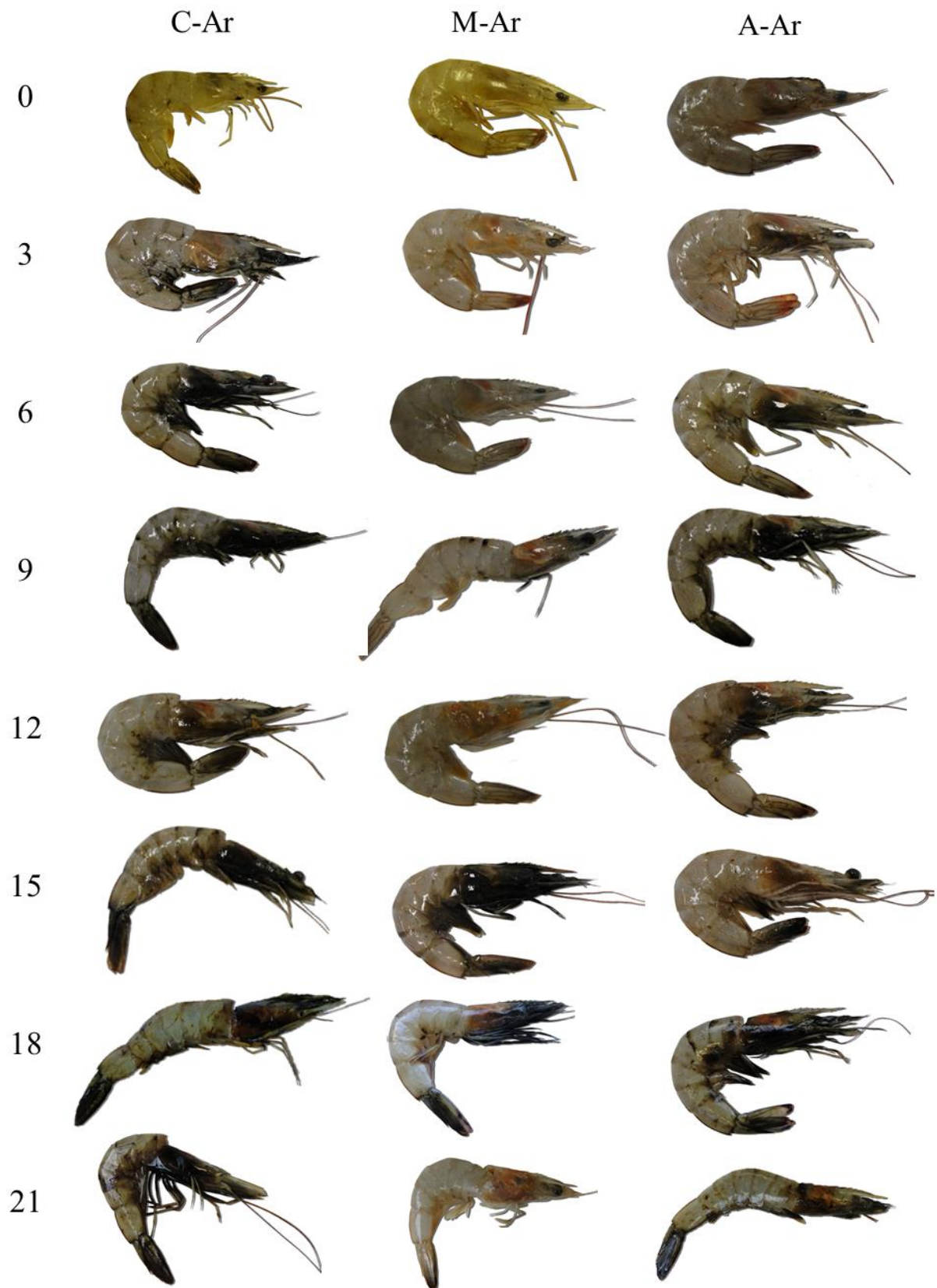


Figura 13: Fotografias de camarões brancos (*L. vannamei*), embalados em ar atmosférico, submetidos a diferentes agentes antimelanósicos, e armazenados durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$.

5. 2 INFLUÊNCIA DO MÉTODO DE EMBALAGEM SOBRE A QUALIDADE DO CAMARÃO BRANCO (*L. vannamei*)

5.2.1 Análises microbiológicas

Para avaliar qual método de embalagem é o mais eficiente em preservar a qualidade do camarão branco (*L. vannamei*) foram comparados os grupos C-Ar, C-ATM1, C-ATM2 e C-V, que não foram submetidos a nenhum tratamento antimelanósico, apenas embalados em ar, 7N₂:3CO₂:3O₂, 3N₂:7CO₂:1O₂ e vácuo, respectivamente.

A análise de bactérias mesófilas mostrou que os grupos C-ATM1 e C-V apresentaram contagens estáveis e superiores a 5,4 log.UFC.g⁻¹ a partir do 12º dia, sendo que as médias desses grupos durante os 21 dias de armazenamento foram 4,69±1,02 log.UFC.g⁻¹ e 4,95±0,85 log.UFC.g⁻¹, respectivamente. Os grupos C-ATM2 e C-Ar ultrapassaram este limiar do dia 15º em diante. Não houve diferença significativa (p<0,05) entre as médias das contagens realizadas ao longo do experimento, porém, considerando que a média das contagens do grupo C-Ar (4,76 log.UFC.g⁻¹) foi superior a do grupo C-ATM2 (4,23 log.UFC.g⁻¹), apesar dos dois terem chegado ao valor máximo no mesmo dia, é possível inferir que este último foi o que ficou por mais tempo dentro dos padrões aceitáveis para bactérias mesófilas (Figura 14A). Esse resultado já era esperado, pois o C-ATM2 possuía a maior concentração de CO₂ (70%), gás com atividade bacteriostática comprovada (OTWELL; KRISTINSSON; BALABAN, 2006). Também em camarões rosa (*P. longirostris*) embalados com 3N₂:4CO₂:3O₂ ou 5N₂:4,5CO₂:0,5O₂ a contagem total de bactérias era menor nas amostras tratadas com EAM que no grupo controle, porém após o 9º dia de armazenamento todos os grupos haviam ultrapassado o limiar de 5 log.UFC.g⁻¹ (LÓPEZ-CABALLERO; GONÇALVES; NUNES, 2002). Também após o 9º dia, amostras de camarão chinês (*F. chinensis*) banhados em compostos bactericidas por 10 minutos e mantidos em embalagens com 3N₂:4CO₂:3O₂ ou 100% CO₂ apresentaram contagens superiores a 5,5 log.UFC.g⁻¹ (LU, 2009). Entretanto, o fato do grupo C-V ter apresentado a maior média não era esperado, já que autores relatam que o uso desse tipo de embalagem estende a vida de prateleira dos produtos e dificulta o crescimento de bactérias aeróbias (MASNIYOM, 2011), então, provavelmente, as contagens elevadas ocorreram devido a características anaeróbicas nos microrganismos

presentes nas amostras, à sua carga bacteriana inicial ou a problemas com o vácuo das embalagens (Figura 14A).

Quanto às bactérias psicrófilas, não houve crescimento no dia 0, tal fato provavelmente se deu devido ao período de adaptação (fase lag) pelo qual esses microrganismos passaram quando foram expostos a baixas temperaturas, entretanto, a partir do terceiro dia houve crescimento significativo ($p < 0,05$) (Figura 14B). Em seu experimento com lagostas da Noruega (*N. norvegicus*), Bozaris, Kordila e Neofitou (2011) observou fase lag de 24 horas nas amostras mantidas a 5°C. No presente estudo, a partir do 3º dia houve aumento significativo ($p < 0,05$) na contagem total de psicrófilas. No 9º dia de armazenamento o grupo C-V já possuía contagens superiores a 5,4 log.UFC.g⁻¹; a partir do 12º dia, o mesmo aconteceu com os grupos C-Ar e C-AM1, enquanto que com o grupo C-AM2 isso ocorreu apenas no 15º.

Trabalhando com a mesma espécie que a usada nesse experimento, Nirmal e Benjakul (2011c) também observaram que amostras armazenadas em EAM (4,5N₂:5CO₂:0,5O₂) apresentavam menores contagens de bactérias psicrófilas que as amostras controle, tanto que apenas o grupo controle ultrapassou o valor de 5 log.UFC.g⁻¹ durante o período de análise, e eles atribuíram os resultados às concentrações de CO₂ nas embalagens. Outros pesquisadores encontraram contagens de psicrófilas menores que 4 log.UFC.g⁻¹ durante os 12 dias de experimento, também em amostras de *L. vannamei*, inteiros e descabeçados submetidos a tratamento antimelanótico (4-HR e pirofosfato), à EAM com 1N₂:8CO₂:1O₂ ou 2N₂:8CO₂ e armazenados a 4°C (THEPNUAN; BENJAKUL; VISESSANGUAN, 2008), provavelmente essas contagens foram menores que as do presente estudo devido à maior quantidade de CO₂ nas embalagens. Assim como ocorreu com a contagem de bactérias mesófilas, não houve diferença ($p < 0,05$) entre as médias das contagens de psicrófilas ao longo dos 21 dias do experimento, e da mesma forma, elas também apresentaram crescimento retardado no grupo C-AM2 (menor média – 3,79±1,90 log.UFC.g⁻¹), onde há maior concentração de CO₂ (70%) dentro das embalagens, e maior crescimento no grupo C-V (maior média – 4,23±1,83 log.UFC.g⁻¹), possivelmente pelos mesmos motivos citados anteriormente (Figura 14B).

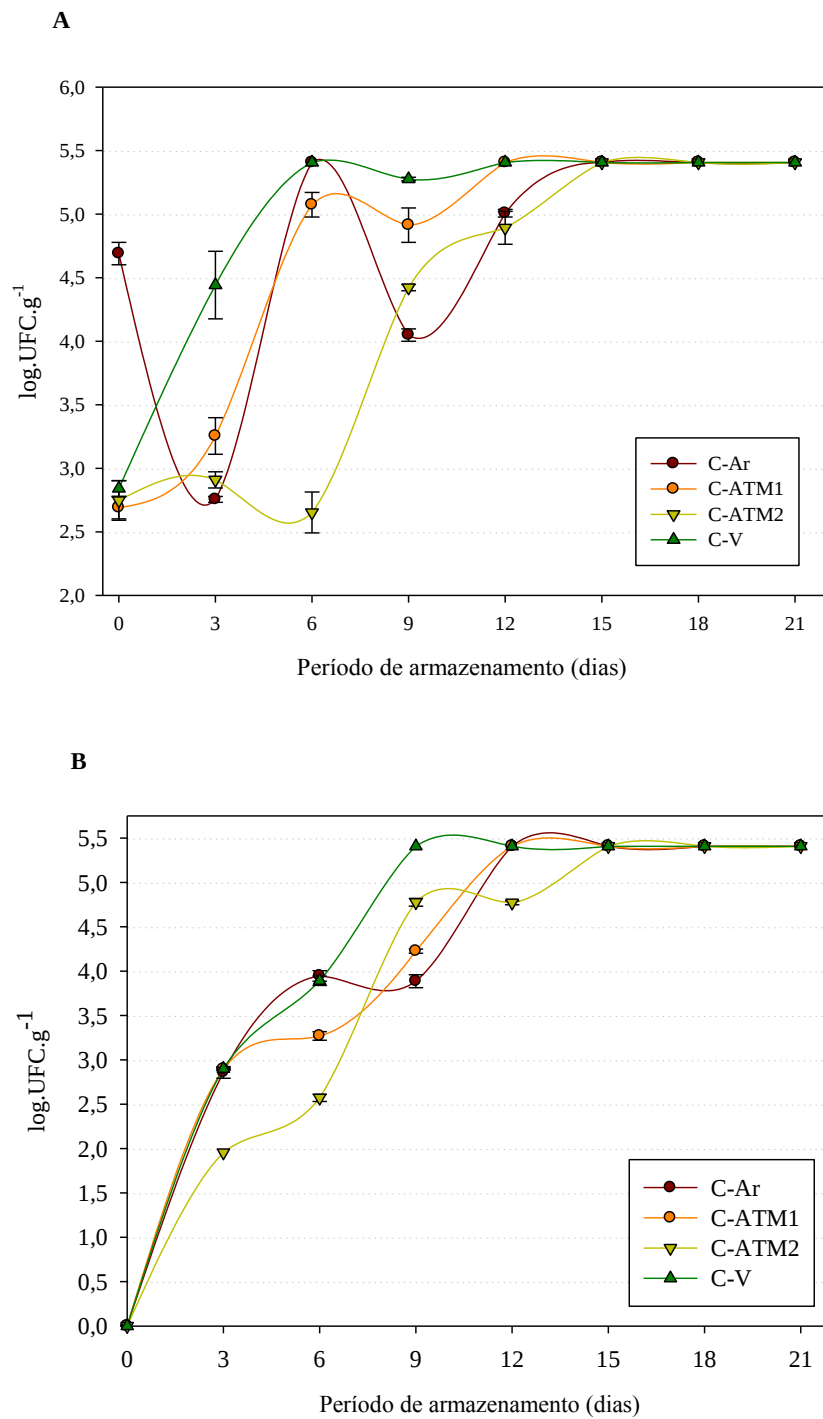


Figura 14: Resultados das contagens totais de bactérias mesófilas (A) e psicrotróficas (B) realizadas em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenadas durante 21 dias a $5\pm1^{\circ}\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=2$).

Foram obtidos resultados negativos em todas as amostras para estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp. durante o experimento. Como já foram discutidos anteriormente, no item anterior, tais resultados ocorreram, provavelmente, em decorrência do frescor das amostras, do fato de terem sido lavadas antes de serem embaladas, e por terem sofrido pouca manipulação durante seu processamento.

5. 2. 2 Análises físico-químicas

Os valores de N-BVT apresentaram um pico ($p < 0.05$) no terceiro dia de experimento, onde todos os grupos ultrapassaram 37 mgN.100g^{-1} (Figura 15), sendo que o limite máximo aceitado para bases voláteis totais é de 30 mgN.100g^{-1} (HOWGATE, 2010a) pressupõe-se que isso tenha ocorrido devido ao aumento significativo ($p < 0,05$) de bactérias psicrotróficas no mesmo período, pois posteriormente esses valores diminuíram e mantiveram-se constantes. Semelhantemente, três dias depois da captura, amostras de lagosta da Noruega (*N. norvegicus*) embaladas a vácuo ou em EAM com 100% N_2 ou $5\text{N}_2:5\text{CO}_2$ apresentaram valores de N-BVT entre 33,5 e $36,5 \text{ mgN.100g}^{-1}$ (BONO et al., 2012). Neste estudo, desde o sexto dia, as grupos C-V e C-Ar não mais ultrapassaram o limite estabelecido, apesar de terem obtido, simultaneamente, a maior e a segunda maior média nas contagens de bactérias mesófilas e psicrotróficas, o que indica que, neste caso, a formação de bases voláteis estava provavelmente mais relacionada à ação de enzimas endógenas. Quanto aos grupos C-ATM1 e C-ATM2, eles obtiveram as maiores médias de N-BVT durante os 21 dias do experimento ($27,87 \pm 7,61$ e $28,92 \pm 7,02 \text{ mgN.100g}^{-1}$, respectivamente), apesar de terem apresentado as menores médias no microbiológico, e dos valores de N-BVT serem, comumente, menores em atmosferas com concentrações elevadas de CO_2 (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002) (Figura 15). Os resultados encontrados por Lu (2009) em camarões chineses (*F. chinensis*), através do método de destilação a vapor (semelhante ao utilizado no presente experimento), demonstraram que o grupo de amostras descabeçadas embaladas em ar ultrapassou o limite de N-BVT no 13º dia, enquanto as todas as outras amostras só atingiram esse valor no 17º e último dia do experimento, sendo que o grupo descabeçado e submetido à EAM com $3\text{N}_2:4\text{CO}_2:3\text{O}_2$ foi o que apresentou a menor média neste dia.

A TMA, em momento algum durante o experimento, ultrapassou 3 mgN.100g^{-1} , também não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias das análises. O grupo C-Ar apresentou a maior média ao final dos 21 dias de armazenamento ($2,11 \pm 0,46 \text{ mgN.100g}^{-1}$) e o grupo C-ATM1, a menor ($1,69 \pm 0,55 \text{ mgN.100g}^{-1}$), apesar dos valores elevados encontrados nesse grupo nas análises de N-BVT, mesófilas e psicrotróficas (Figura 15).

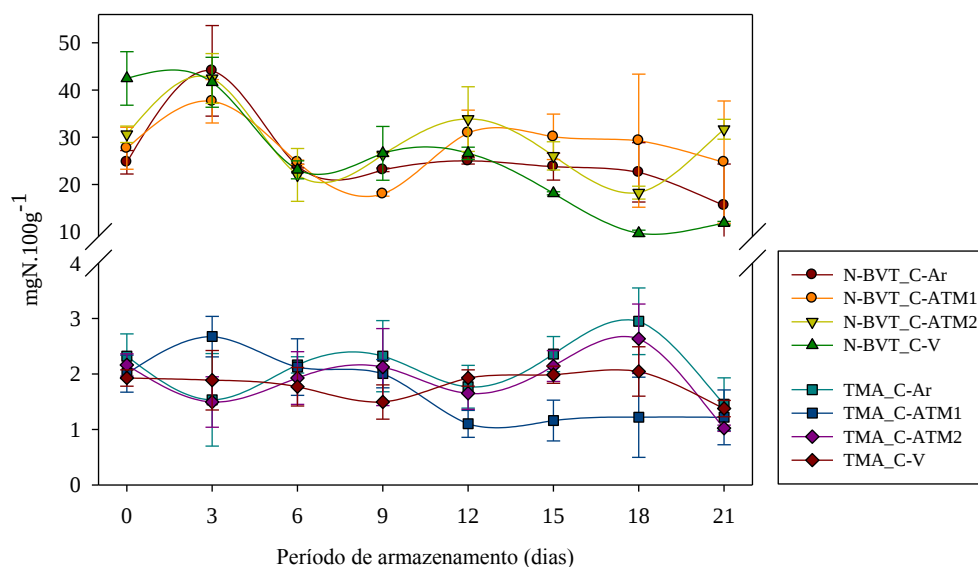


Figura 15: Resultados das análises de N-BVT e TMA realizadas em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenadas durante 21 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=3$).

Mejlholm, Bøknæs e Dalgaard (2005) relataram que não houve produção de TMA – até o momento que o camarão passou a estar sensorialmente inaceitável – nas suas amostras de *P. borealis* cozidos, descascados, e embalados em atmosfera de $3\text{N}_2:5\text{CO}_2:2\text{O}_2$, esses pesquisadores utilizaram o método de microdifusão de Conway modificado para mensurar N-BVT e TMA. Os resultados do presente experimento também foram superiores àqueles obtidos por Thepnuan, Benjakul e Visessanguan (2008) ao analisar *L. vannamei* submetidos a concentrações gasosas de $1\text{N}_2:8\text{CO}_2:1\text{O}_2$ ou $2\text{N}_2:8\text{CO}_2$, que foram valores entre 0,0 e $1,0 \text{ mgN.100g}^{-1}$. Para esses autores teores baixos de TMA podem estar associados aos efeitos bacteriostáticos do CO_2 na EAM.

Em todos os grupos analisados o pH era básico, e em média $7,57 \pm 0,03$, provavelmente em decorrência da formação de compostos alcalinos, como a amônia e outras bases voláteis

nitrogenadas, advindos da deterioração dos tecidos do camarão pela ação de enzimas endógenas ou bacterianas (MASNIYOM, 2011). Depois de um aumento entre os dias zero e três, os valores de pH se estabilizaram com máximo de 8,01 e mínimo de 7,47.

Em pesquisa realizada com camarões da espécie *P. borealis* embalados em 3N₂:5CO₂:2O₂ e armazenados a 5°C a média de pH encontrada foi de 7,8±0,1 (MEJLHOLM; BØKNÆS; DALGAARD, 2005). Assim como na análise de TMA, o grupo com maior média de pH durante o experimento foi o C-Ar (7,60±0,54), entretanto não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias dos grupos (Tabela 11). Amostras de camarões-rosa (*P. longirostris*) coletadas na costa sul de Portugal e embaladas em 3N₂:4CO₂:3O₂ ou 5N₂:4,5CO₂:0,5O₂ apresentaram aumento nos valores do pH até o 4º dia de armazenamento e, depois estabilizaram-se até o fim das análises, com pH variando entre 7,08 e 7,6; no mesmo estudo, as amostras embaladas em ar atmosférico obtiveram valores de pH um pouco maiores, entre 7,08 e 7,83 (GONÇALVES; LÓPEZ-CABALLERO; NUNES, 2003).

Tabela 11: Resultados das análises de pH em amostras de camarão branco (*L. vannamei*) embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico e armazenados durante 21 dias a 5±1°C

pH	Período de armazenamento (dias)								Média±dp
	0	3	6	9	12	15	18	21	
C-Ar	6,19	7,67	7,88	7,80	7,74	7,87	8,01	7,62	7,59±0,54
C-ATM1	6,14	7,67	8,08	7,62	7,75	7,78	7,82	7,71	7,57±0,56
C-ATM2	6,04	7,50	8,14	7,65	7,83	7,87	7,91	7,85	7,59±0,61
C-V	6,18	7,61	7,91	7,47	7,77	7,71	7,66	7,88	7,52±0,52

5.2.3 Análise sensorial

O IM aumentou ao longo dos dias do experimento. Como a melanogênese é um processo oxidativo, observou-se o que já era esperado, a maior média final foi do grupo C-Ar (5,85±2,17), seguido pelo grupo C-ATM2 (4,75±1,94), já que esses são os grupos com maior teor de oxigênio, sendo que neste último grupo, o oxigênio está presente na sua forma simples (O₂), e na combinada (CO₂); e a menor média foi do grupo C-V (4,35±1,57), grupo com a menor quantidade de O₂ (Figura 16A). Gonçalves, López-Caballero e Nunes (2003) também observaram menores escores de melanose nos grupos de camarão rosa (*P. longirostris*) submetidos às atmosferas modificadas (3N₂:4CO₂:3O₂ ou 5N₂:4,5CO₂:0,5O₂), e como

esperado, naquela com maiores concentrações de oxigênio a melanose foi mais aparente. Da mesma forma, em camarões brancos (*L. vannamei*), Thepnuan, Benjakul e Visessanguan (2008) relataram escores de melanose mais baixos na atmosfera 2N₂:8CO₂, quando comparada com a atmosfera 8CO₂:2O₂.

A análise sensorial revelou aumento no IQ ao longo do período de armazenamento ($p < 0,05$) (Figura 16B). Apesar de não haver diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$), como já era esperado, o grupo C-Ar apresentou a maior média final, com IQ de $23,15 \pm 8,71$ depois dos 21 dias, e através da equação obtida com a regressão linear foi possível prever que a vida de prateleira das amostras desse grupo foi de 10,7 dias (Tabela 12). Os grupos C-ATM1 e C-ATM2 obtiveram médias praticamente iguais $21,2 \pm 6,83$ e $21,4 \pm 8,13$, respectivamente. O que indica que, sensorialmente, a diferença entre as concentrações testadas dos gases CO₂ e N₂ é inexistente. No que diz respeito à vida de prateleira, em relação ao sensorial, o grupo C-ATM1 ficou viável até 12,9 dias, e o grupo C-ATM2 até 12,3 dias (Tabela 12). Também trabalhando com *L. vannamei*, Nirmal e Benjakul (2011c) encontraram resultados semelhantes, pois observaram que no 10º dia de armazenamento a 4°C, tanto as amostras controle quanto as que utilizaram EAM (4,5N₂:5CO₂:0,5O₂) obtiveram escores considerados inaceitáveis. Em estudo realizado com camarão chinês (*F. chinensis*), Lu (2009) chegou à conclusão que grupos submetidos a concentrações de 3N₂:4CO₂:3O₂ ou 100% CO₂ obtiveram escores de aceitabilidade melhores que os do grupo embalado em ar atmosférico que ultrapassou o limite máximo no 17º dia de análise, enquanto que os submetidos à EAM só cruzaram esse escore no 21º dia, o que é de se esperar, tendo em vista que as amostras foram submetidas a tratamento com ozônio ou com bactericidas. Neste estudo, o grupo C-V apresentou a menor média final, IQ de $20,2 \pm 7,51$ e, consequentemente, sua vida de prateleira foi a mais longa, com 13,6 dias (Tabela 12), provavelmente devido à inibição do crescimento bacteriano ou de reações oxidativas indesejadas em decorrência da embalagem a vácuo. Os resultados encontrados por Rutherford et al. (2007) em camarão pronto para consumo, armazenado a 3 e 7°C em embalagem a vácuo demonstram que essas amostras não foram consideradas estragadas, mesmo após os 15 dias de experimento, provavelmente devido ao processamento (os camarões foram cozidos, descascados, eviscerados e passaram pelo congelamento rápido) que foram submetidos.

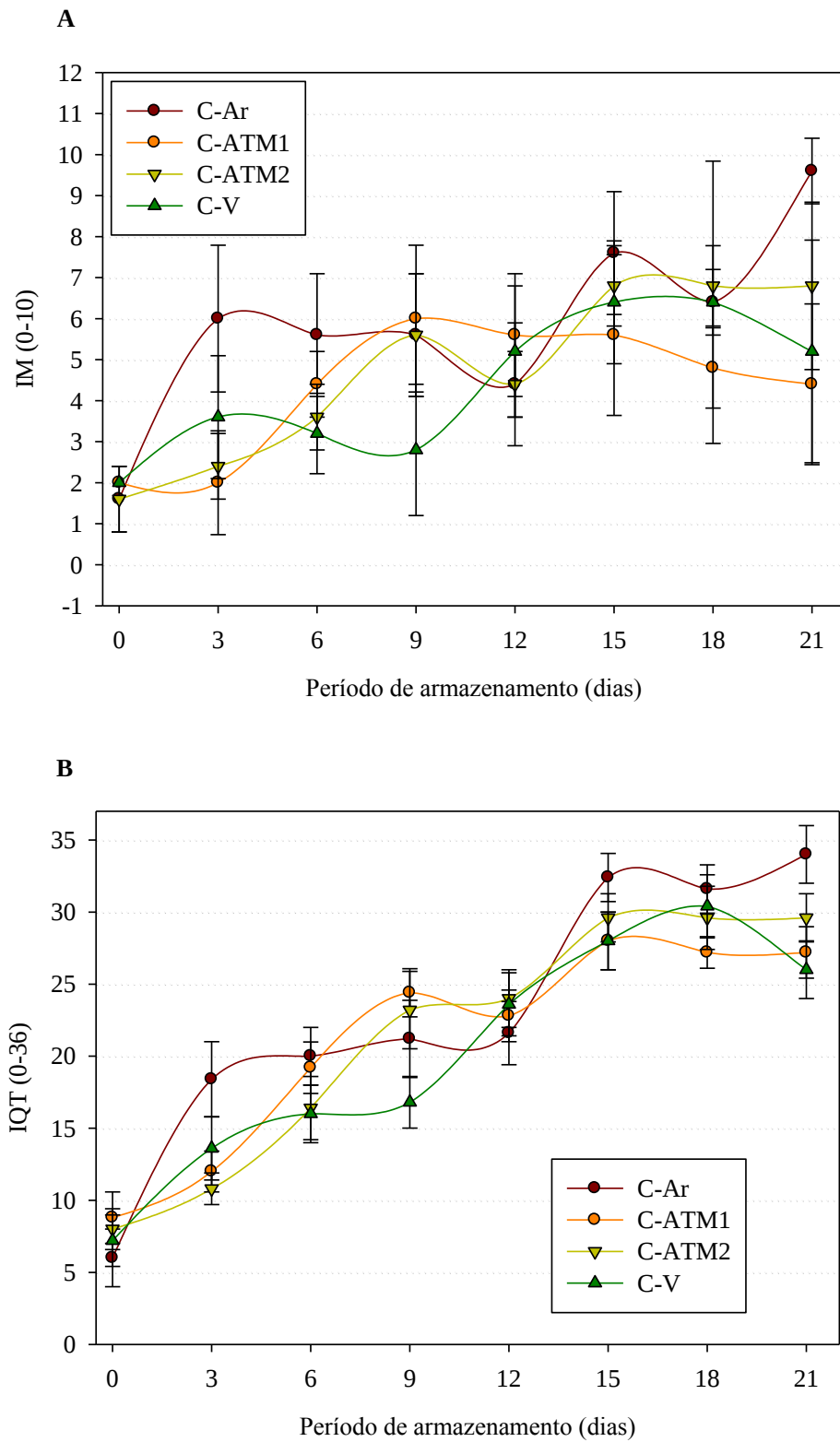


Figura 16: Escores do IM (A) e do IQ (B) de amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenadas durante 21 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=5$).

Tabela 12: Resultados da regressão linear e vida de prateleira dos grupos C-Ar, C-ATM1, C-ATM2 e C-V obtidos após 21 dias de armazenamento a $5\pm 1^\circ\text{C}$

	Modelo de regressão linear	r^2	Vida de prateleira (dias)
C-Ar	$y = 10,667 + 1,189x$	0,8795	10,7
C-ATM1	$y = 11,633 + 0,911x$	0,8403	12,9
C-ATM2	$y = 9,5 + 1,133x$	0,9184	12,3
C-V	$y = 9,433 + 1,025x$	0,8796	13,6

y = IQ máximo aceitável (65% do total, i.e., 23,4); x = dias refrigerado; r^2 = coeficiente de determinação.

Os resultados do MIQ corroboram os achados microbiológicos e físico-químicos, onde a maioria dos grupos amostrais ultrapassou os limites estabelecidos nas legislações, em média, a partir do 12º ou 15º dia de armazenamento (Figura 17).

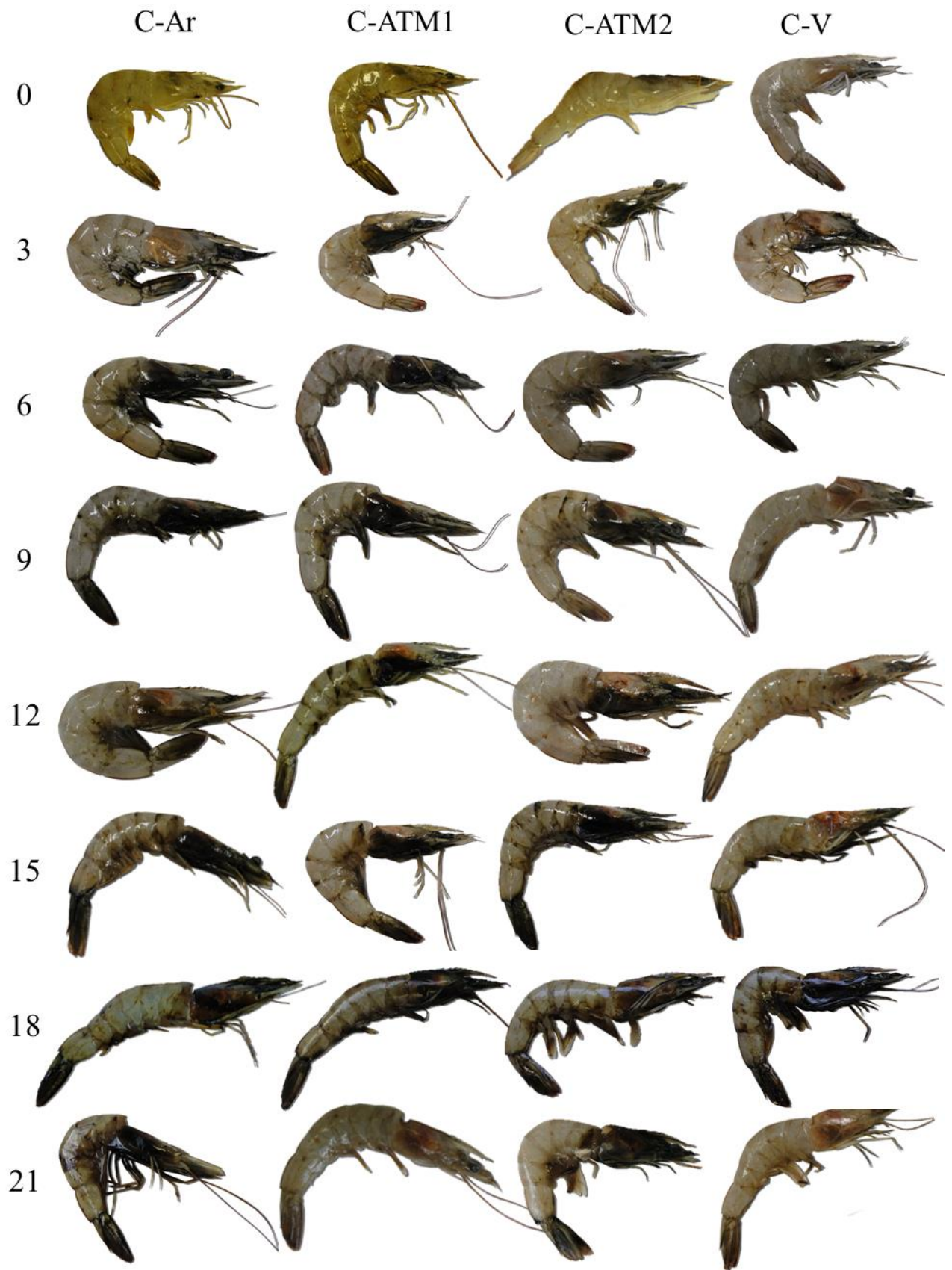


Figura 17: Fotografias de camarões brancos (*L. vannamei*), embalados em diferentes atmosferas gasosas, sem tratamento antimelanósico, e armazenados durante 21 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3 EFEITO COMBINADO DO TRATAMENTO ANTIMELANÓSIDO À BASE DE ACEROLA OU METABISSULFITO DE SÓDIO ASSOCIADO A DIFERENTES MÉTODOS DE EMBALAGEM SOBRE A QUALIDADE DO CAMARÃO BRANCO (*L. vannamei*)

5.3.1 Análises microbiológicas

O efeito do tratamento com imersão em solução de acerola ou de MBS associados à EAM foi avaliado observando os resultados dos grupos A-Ar; M-Ar; A-ATM1 e M-ATM1, ambos com 7N₂:3CO₂:1O₂; A-ATM2 e M-ATM2, ambos com 3N₂:7CO₂:1O₂; A-V e M-V.

A contagem total de mesófilas mostrou que os grupos A-V e M-V ultrapassaram o limite de 5,4 log.UFC.g⁻¹ nos dias 12 e 15, respectivamente. Isto também aconteceu no 15º dia para os grupos A-Ar e A-ATM1, e no 18º para os demais grupos A-ATM2, M-Ar, M-ATM1 e M-ATM2 (Figura 18A; Figura 18B). Apesar de não haver diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias das contagens de cada grupo durante os 21 dias de armazenamento, elas foram superiores em todos os grupos A quando comparada aos M, exceto no grupo A-ATM2, que obteve média de $3,70 \pm 1,28$ log.UFC.g⁻¹, enquanto a do grupo M-ATM2 foi $3,92 \pm 1,13$ log.UFC.g⁻¹.

Pesquisadores que utilizaram a mesma espécie de camarão usada nesse estudo, imergindo-as em solução de cinamaldeído a 1 ou 5 g.kg⁻¹, obtiveram contagens superiores a 6,21 e 4,54 log.UFC.g⁻¹, respectivamente, já no 10º dia de armazenamento a 4°C (MU et al., 2012), o que demonstra que, no presente experimento, pode ter havido efeito antibacteriano, mesmo que pequeno, nos grupos tratados com acerola e MBS, pois mesmo as amostras embaladas em ar atingiram valores de contagens menores após um período de tempo mais longo.

Mastromatteo et al. (2010) observou em camarões *P. serratus* descascados, submetidos a tratamento com óleo de timol e EAM (9,5CO₂:0,5O₂) e mantidos a 4°C, contagens de mesófilas próximas a 5 log.UFC.g⁻¹ a partir do 16º dia de experimento, esses resultados podem ser atribuídos à grande concentração de dióxido de carbono nas suas embalagens.

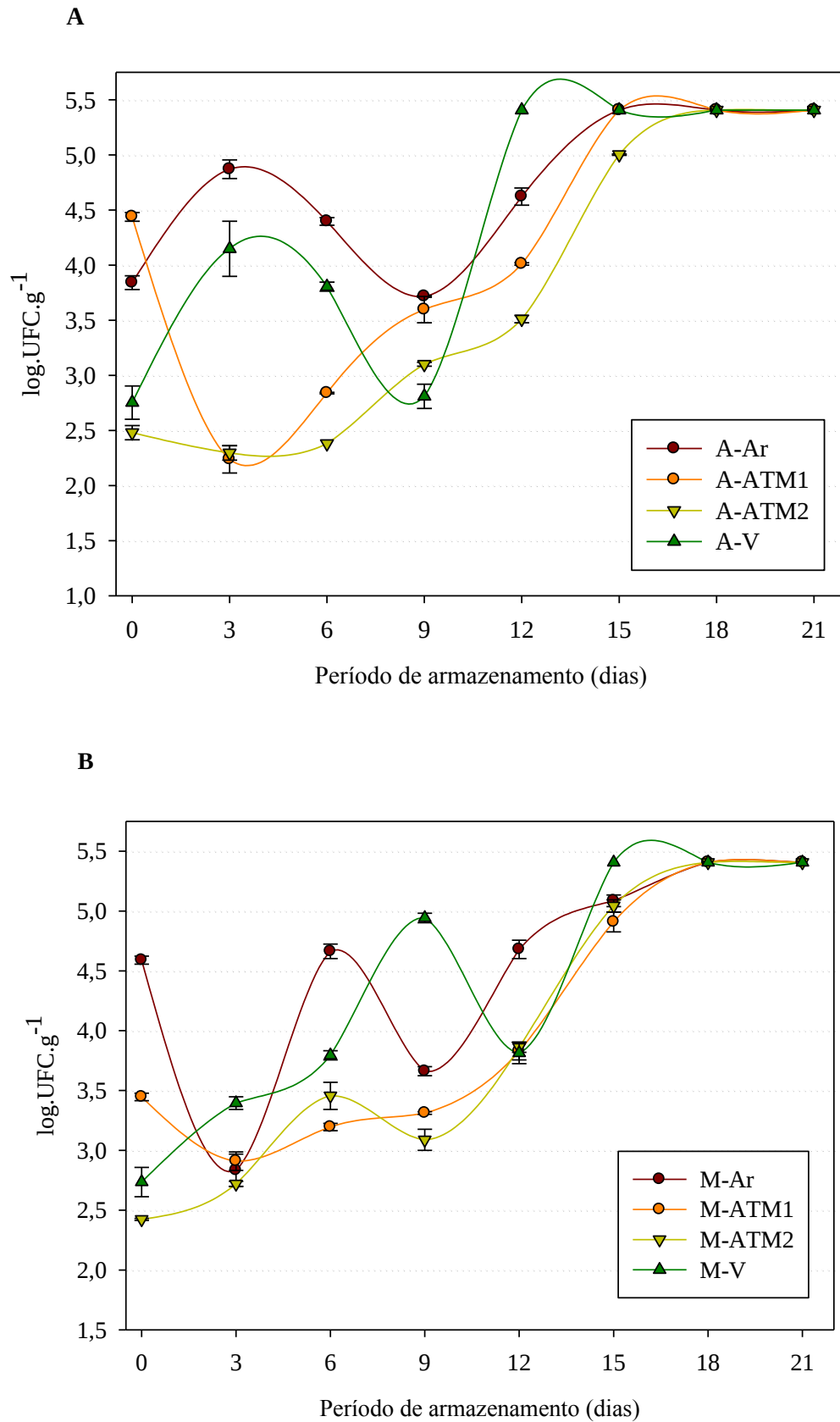


Figura 18: Resultados das contagens totais de bactérias mesófilas realizadas em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão com solução de acerola (A) e de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=2$).

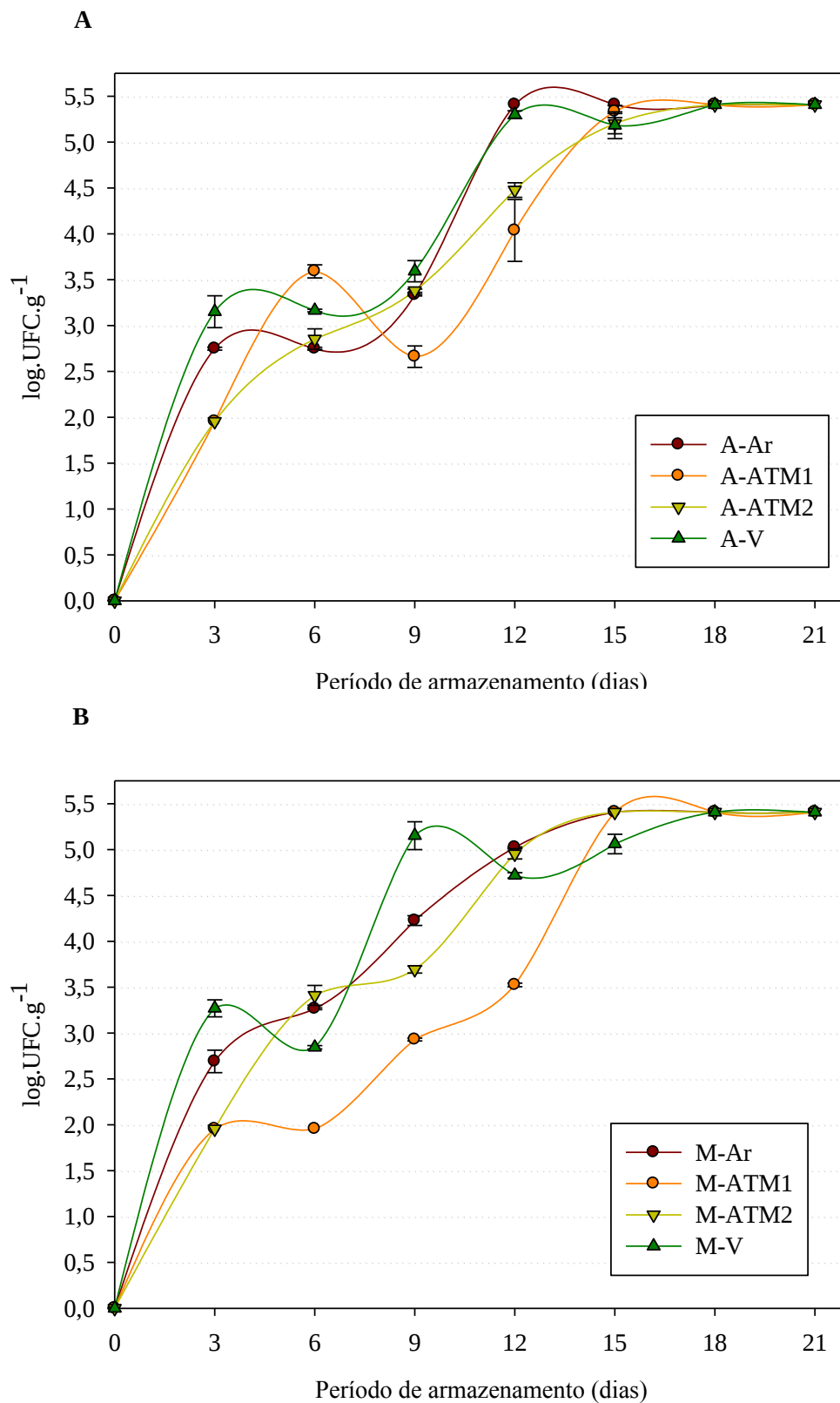


Figura 19: Resultados das contagens totais de bactérias psicrótróficas realizadas em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão com solução de acerola (A) e de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=2$).

As bactérias psicrotróficas não apresentaram contagens no dia zero das análises em nenhum dos grupos amostrais, entretanto, depois desse dia houve crescimento significativo ($p < 0,05$), e apesar de não haver diferença entre os tratamentos em nenhum dos dias ($p < 0,05$) e das médias terem sido bastante similares entre todos os grupos nas duas análises, ocorreu o contrário do que tinha havido na contagem de mesófilas, as médias finais das contagens totais de psicrotróficas dos grupos M foram todas superiores a dos grupos A, exceto a do grupo M-ATM1 ($3,32 \pm 1,87 \log.UFC.g^{-1}$), que foi menor que a do grupo A-ATM1 ($3,55 \pm 1,81 \log.UFC.g^{-1}$). As bactérias psicrotróficas do grupo A-Ar atingiram sua contagem máxima $5,4 \log.UFC.g^{-1}$ no 12º dia de armazenamento e as dos grupos M-Ar, M-ATM1 e M-ATM2 no dia 15, todos os outros grupos chegaram a esse valor a partir do 18º dia (Figura 19A; Figura 19B).

Amostras de *L. vannamei* armazenadas em gelo e tratadas com extrato de chá verde a 0,1% ou extrato de chá verde a 0,1% + ácido ascórbico obtiveram, no 12º dia de armazenamento, contagens totais de psicrotróficas iguais a 4,26 e 4,13 $\log.UFC.g^{-1}$, respectivamente; ambas menores que aquelas tratadas com MBS ($5,89 \log.UFC.g^{-1}$) no mesmo experimento (NIRMAL; BENJAKUL, 2010b).

Outro trabalho deste grupo envolvendo *L. vannamei* tratado com extrato etanólico de chá verde (com remoção da clorofila *a priori*) mostrou que amostras submetidas a 5 e 10 $g.L^{-1}$ desse extrato apresentaram contagem total de psicrotróficas abaixo de 5 $\log.UFC.g^{-1}$ no 10º dia de armazenamento no gelo, enquanto que no mesmo dia, amostras tratadas com MBS já possuíam contagens acima deste valor (NIRMAL; BENJAKUL, 2011b). Os mesmos pesquisadores, trabalhando com a mesma espécie, mas desta vez investigando o efeito da catequina (0,2%) e do ácido felúrico (3%) sobre a melanose e a qualidade geral do camarão branco, observaram contagens totais de psicrotróficas de $4,56 \pm 0,05$ e $3,93 \pm 0,12 \log.UFC.g^{-1}$, respectivamente, já no 4º dia de armazenamento a 4°C (NIRMAL; BENJAKUL, 2010a).

A pesquisa por *Salmonella* spp. e a contagem de estafilococos coagula positiva obtiveram resultados negativos em todas as amostras durante todo o experimento. Tais resultados já foram discutidos nos itens anteriores e ocorreram, provavelmente, pelo fato das amostras serem frescas e manipuladas higienicamente.

5.3.2 Análises físico-químicas

Os resultados da análise de N-BVT demonstraram que no dia zero, a maioria dos grupos apresentaram teor de bases voláteis acima dos 30 mgN.100g⁻¹ recomendados na literatura (HOWGATE, 2010a). No dia zero, os grupos M e os grupos A obtiveram médias de 34,5±6,51 e 31,7±5,99 mgN.100g⁻¹, respectivamente. Logo em seguida, no terceiro dia, houve um pico de produção de N-BVT e as médias passaram a ser simultaneamente, 43,3±4,23 e 42,6±4,33 mgN.100g⁻¹. No sexto dia, as médias diminuíram 26,7±5,31 para os grupos M e 27,1±2,29 mgN.100g⁻¹ para os grupos A (Figura 20A; Figura 20B). Essa variação no N-BVT coincidiu com o aumento considerável ($p<0,05$) na contagem total de psicrotóficas entre os dias zero e três, em todos os grupos amostrais. Trabalhos que compararam amostras de camarão branco (*L. vannamei*) submetidas ao MBS com amostras tratadas com ácido felúrico (NIRMAL; BENJAKUL, 2009b), catequina (NIRMAL; BENJAKUL, 2009a) ou extrato de chá verde (NIRMAL; BENJAKUL, 2010b), também observaram que os valores de N-BVT nos grupos tratados com MBS foram maiores que os demais. Cintra et al. (1999) afirmam que o uso de sulfitos favorece a decomposição do óxido de trimetilamina (OTMA) em outros compostos como dimetilamina (DMA), que são bases voláteis nitrogenadas. Neste estudo, o grupo com a menor média total entre as análises realizadas nos 21 dias de armazenamento foi o grupo A-Ar com 26,6±8,74 mgN.100g⁻¹, enquanto o grupo M-ATM1 obteve a maior média total, que foi 32,7±6,83 mgN.100g⁻¹, seguida pelo A-ATM1, com 31,48±8,11 mgN.100g⁻¹ (Figura 20A; Figura 20B). Tais resultados discordam de Sivertsvik, Jeksrud e Rosnes (2002) que afirmam que análises de N-BVT realizadas em amostras de peixe submetidas a atmosferas modificadas com CO₂ apresentaram valores baixos mesmo depois de a análise sensorial indicar deterioração.

As médias das análises de TMA durante os 21 dias de experimento, em todos os 8 grupos estudados, não ultrapassaram 1,9 mgN.100g⁻¹. As médias foram mais elevadas nos grupos com mais CO₂, A-ATM2 e M-ATM2, com valores de 1,89±0,39 mgN.100g⁻¹ e 1,69±0,29 mgN.100g⁻¹, respectivamente. De maneira geral, os valores de TMA para as amostras imersas em acerola (grupos A) foram superiores aqueles obtidos pelas amostras submetidas ao MBS (grupo M), apesar da diferença entre eles ser muito pequena e não significativa ($p<0,05$) (Figura 20A; Figura 20B). Ao contrário, Nirmal e Benjakul (2009b) reportaram que o grupo de camarões *L. vannamei* tratado com MBS apresentou 0,14

mgN.100g⁻¹ depois de 6 dias de armazenamento em gelo, enquanto que não houve formação de TMA em amostras tratadas com 1 ou 2% de ácido felúrico até o fim do experimento, no 10º dia. Da mesma forma, Mejlholm, Bøknæs e Dalgaard (2005) não observaram formação de TMA em *P. borealis* cozido, descascado e embalado em 3N₂:5CO₂:2O₂, antes do camarão ser considerado sensorialmente inaceitável.

No primeiro dia de análises (dia zero), o pH de todos os grupos foi em média 6,22±0,06. Mais ácido que o normal, provavelmente devido à formação de ácido láctico *post mortem* no músculo do camarão (OLIVEIRA, 2005). A partir do 3º dia, o pH elevou-se consideravelmente. Contudo, a média dos grupos naquele dia foi de 7,53±0,09, indicando que os camarões ainda possuíam características de um produto fresco (BAILEY; FIEGER; NOVAK, 1956). No geral, as médias do pH das amostras de todos os grupos A e todos os M foram iguais (7,58±0,54) (Tabela 13). Porém, dos grupos analisados durante os 21 dias de experimento, o que obteve a maior média geral foi o grupo A-ATM2, seguido por M-ATM1, M-Ar e A-Ar, indicando que a presença de sulfitos não influenciou significativamente (P<0,05) o pH, apesar de que quando o MBS é descartado no meio ambiente, ele pode reagir com o oxigênio presente na água e formar sulfato ácido de sódio, que resulta em sulfatos e íons de hidrogênio, podendo estes produtos finais ocasionar a redução do pH do meio (VALENÇA, 2003). Resultados diferentes foram encontrados por Mastromatteo et al. (2010) em camarões *P. serratus* descascados, onde o pH das amostras embaladas em ar atmosférico foi superior aqueles encontrados nas amostras submetidas à EAM (9,5CO₂:0,5O₂).

Tabela 13: Resultados das análises de pH em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão com solução de acerola ou MBS, e armazenadas durante 21 dias a 5±1°C

pH	Período de armazenamento (dias)								Média±dp
	0	3	6	9	12	15	18	21	
A-Ar	6,32	7,54	8,15	7,71	7,7	7,83	7,97	7,72	7,62±0,52
A-ATM1	6,19	7,65	7,97	7,74	7,55	7,73	7,92	7,71	7,56±0,53
A-ATM2	6,20	7,57	8,13	7,71	7,77	7,93	8,09	7,90	7,66±0,58
A-V	6,26	7,36	7,90	7,42	7,73	7,74	7,75	7,61	7,47±0,49
M-Ar	6,13	7,59	7,94	7,65	7,75	7,97	8,20	7,74	7,62±0,59
M-ATM1	6,24	7,60	8,14	7,66	7,82	7,95	8,08	7,64	7,64±0,56
M-ATM2	6,13	7,47	7,93	7,74	7,67	7,83	7,99	7,62	7,55±0,56
M-V	6,26	7,46	8,06	7,26	7,79	7,79	7,80	7,78	7,52±0,53

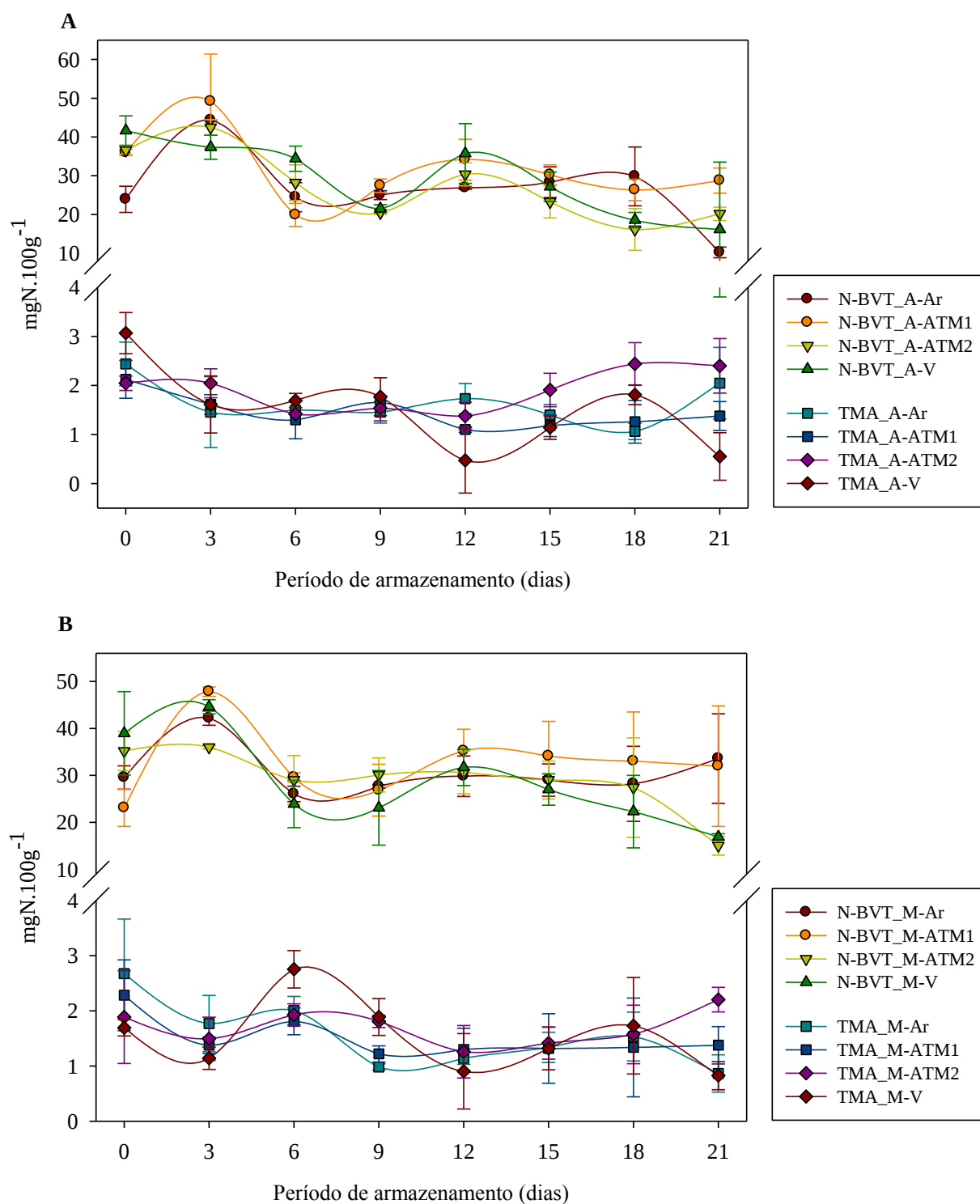


Figura 20: Resultados das análises de N-BVT e TMA realizadas em amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão em solução de acerola (A) ou de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=3$).

5.3.3 Análise sensorial

Os grupos M-Ar, M-ATM1, M-ATM2 e M-V, que foram submetidos banhos de imersão em solução de MBS apresentaram IMs médios de $3,4 \pm 2,15$; $2,6 \pm 1,75$; $3,5 \pm 1,97$; e $1,0 \pm 0,85$, respectivamente. Esses valores foram inferiores aqueles encontrados nos grupos cuja imersão foi realizada em solução de acerola (A-Ar – $4,9 \pm 1,99$; A-ATM1 – $5,35 \pm 1,99$; A-ATM2 – $5,55 \pm 2,34$; e A-V – $3,8 \pm 2,73$) (Figura 21A; Figura 21B). Os resultados demonstram que o MBS foi o antimelanósico testado mais eficiente, porém, deve-se observar que a solução de acerola utilizada foi uma simples diluição, nenhum tipo de purificação, concentração ou separação de diferentes partes da fruta foi realizada. Encarnacion et al. (2011b) também encontraram menor formação de melanose nas amostras tratadas com MBS, apesar de não ter havido diferença significativa entre esse tratamento e o tratamento com 1% de extrato de cogumelo comestível (*Flammulina velutipes*) em caranguejos (*Chionoecetes japonicus*). No presente estudo, em ambos os grupos A e M, os menores IMs médios foram o das amostras embaladas a vácuo, enquanto que os maiores foram das amostras embaladas na ATM2 (3N₂:7CO₂:1O₂), esses achados, provavelmente, estão relacionados ao fato do vácuo ser a embalagem com menor concentração de O₂, enquanto que a ATM2 possuía a maior concentração, já que nela estava presente não só as próprias moléculas de O₂, mas também o oxigênio presente nas moléculas de CO₂. Qian et al. (2012) observaram o efeito da atmosfera modificada, com quantidades variáveis de oxigênio, em camarões *L. vannamei* armazenados a $4 \pm 1^\circ\text{C}$; nas embalagens com baixas concentrações de O₂ (5,5N₂:4CO₂:0,5O₂) foi possível notar uma capacidade de retardar a melanose, enquanto que com concentrações elevadas de O₂ (0,5N₂:4CO₂:5,5O₂) a formação de melanose foi facilitada e a qualidade sensorial do camarão diminuída rapidamente.

Em relação ao IQ as amostras M também apresentaram escores médios menores ao longo do armazenamento, os quatro grupos M obtiveram em média $16,21 \pm 1,78$ pontos, enquanto que nos grupos A, a média foi $21,0 \pm 1,33$. Os grupos com menores médias (dentro da sua respectiva categoria: A ou M) foram A-V ($18,75 \pm 9,78$) e M-V ($13,5 \pm 6,98$) (Figura 22A; Figura 22B). Os resultados do IQ foram muito semelhantes aos do IM, provavelmente porque a correlação entre a melanose e a qualidade sensorial do camarão é bastante alta, haja vista ela influencia a aparência geral do produto (GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2005).

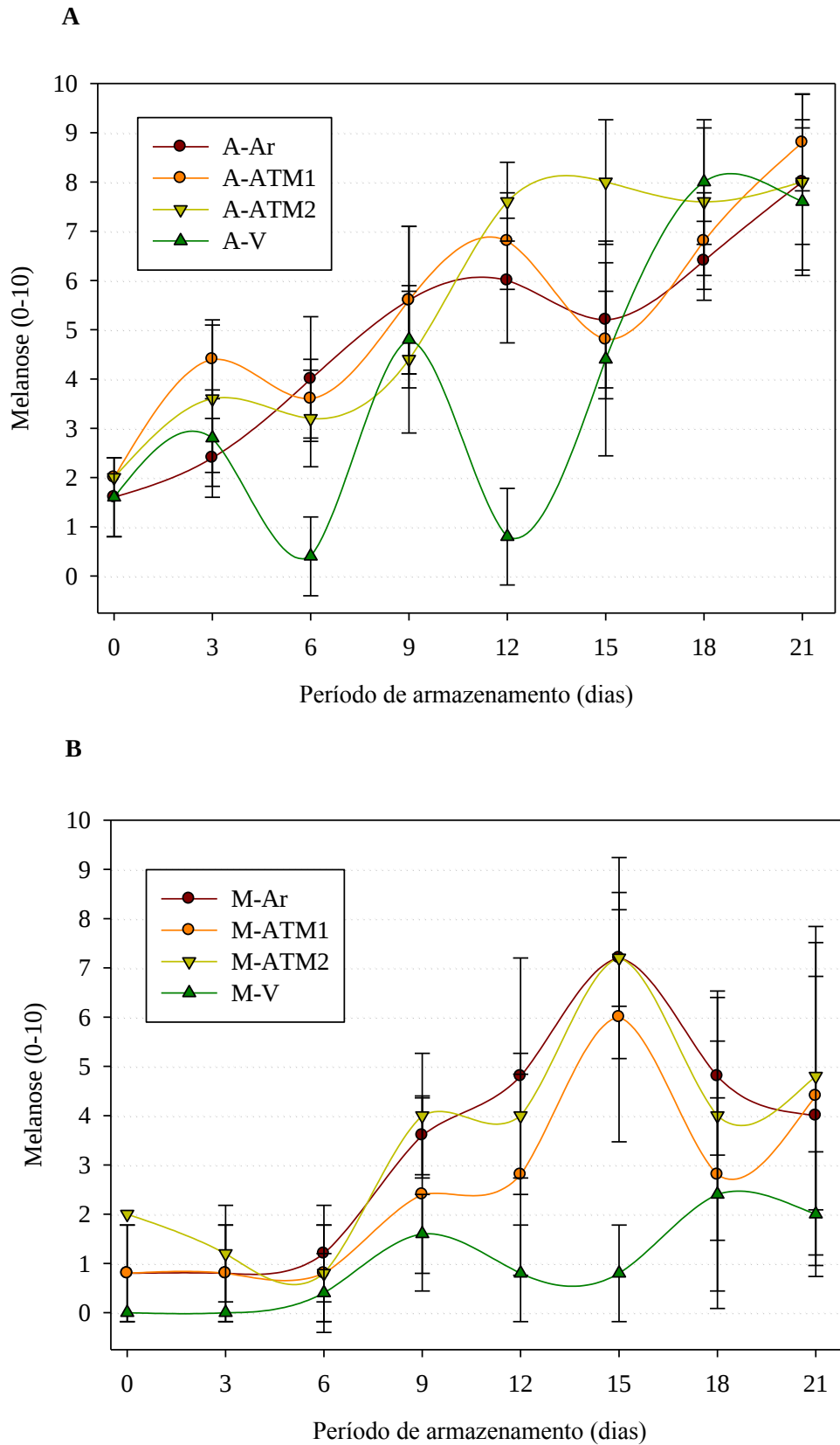


Figura 21: Escores do IM de amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão em solução de acerola (A) ou de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão ($n=5$).

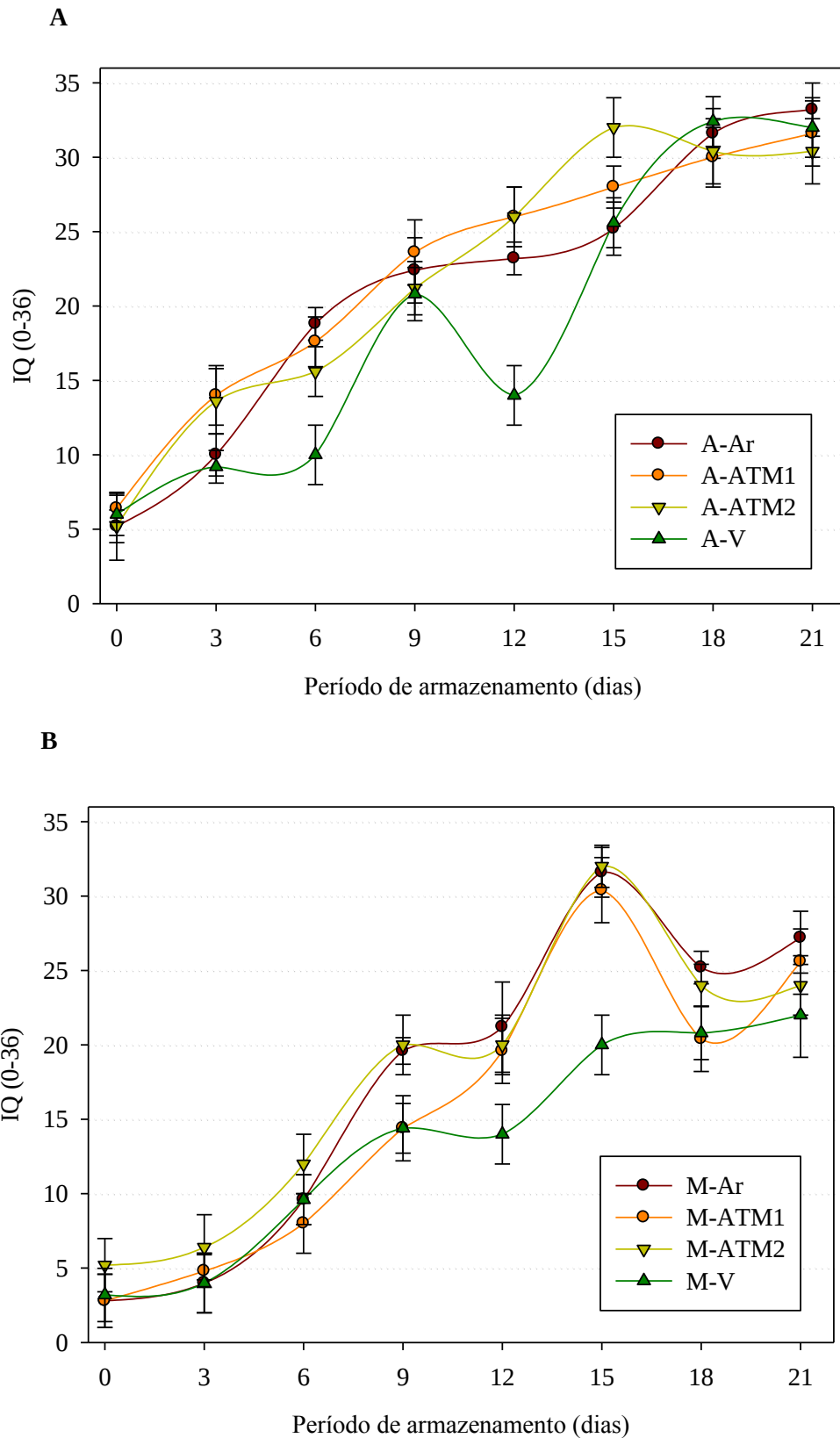


Figura 22: Escores do IQ de amostras de camarão branco (*L. vannamei*), embaladas em diferentes atmosferas gasosas, submetidas a banho de imersão em solução de acerola (A) ou de MBS (B), e armazenadas durante 21 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$. Barras representam o desvio padrão (n=5).

Os resultados do IM e do IQ foram refletidos na vida de prateleira dos grupos analisados, e as amostras imersas em solução de acerola (grupos A) (Figura 23) mantiveram a qualidade sensorial por menos tempo que aquelas imersas em solução de MBS (grupos M) (Figura 24). Novamente, os grupos com maior vida de prateleira foram aqueles que utilizaram a embalagem à vácuo, A-V permaneceu aceitável até 13,97 dias e M-V até 20,62 dias (Tabela 14). Mastromatteo et al. (2010) observaram que a vida de prateleira de camarões *P. serratus* descascados, submetidos a tratamento com óleo essencial de timol (1000 ppm) e EAM (9,5CO₂:0,5O₂) foi de 14,37 dias, enquanto que as amostras apenas com a EAM obtiveram vida de prateleira de 9,87 dias, e as apenas com o timol, 5,09 dias. Ao trabalhar com extrato da casca da romã em camarões brancos (*L. vannamei*) armazenados em gelo por 10 dias, Fang et al. (2013) observaram que o efeito do tratamento com esse extrato na concentração de 15 g.L⁻¹, sobre a inibição da formação de melanose e a melhora geral da qualidade do camarão, apesar de bom, ainda foi menor que aquele conseguido pelo tratamento com 12,5 g.L⁻¹ de MBS.

Tabela 14: Resultados da regressão linear e vida de prateleira dos grupos A-Ar, A-ATM1, A-ATM2, A-V, M-Ar, M-ATM1, M-ATM2 e M-V obtidos após 21 dias de armazenamento a 5±1°C

	Modelo de regressão linear	r ²	Vida de prateleira (dias)
A-Ar	$y = 7,7 + 1,2857 x$	0,9456	12,21
A-ATM1	$y = 10,067 + 1,1508 x$	0,9317	11,58
A-ATM2	$y = 8,7 + 1,2476 x$	0,9035	11,78
A-V	$y = 4,6667 + 1,3413 x$	0,8879	13,97
M-Ar	$y = 3,3 + 1,3667 x$	0,8497	14,71
M-ATM1	$y = 2,8333 + 1,2301 x$	0,8200	16,72
M-ATM2	$y = 6,3 + 1,1095 x$	0,7624	15,41
M-V	$y = 3,233 + 0,9778 x$	0,9500	20,62

y = IQ máximo aceitável (65% do total, i.e., 23,4); x = dias refrigerado; r² = coeficiente de determinação.



Figura 23: Fotografias de camarões brancos (*L. vannamei*), embalados em diferentes atmosferas gasosas, submetidos a banho de imersão em solução de acerola, e armazenados durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$.



Figura 24: Fotografias de camarões brancos (*L. vannamei*), embalados em diferentes atmosferas gasosas, submetidos a banho de imersão em solução de MBS, e armazenados durante 21 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através das análises realizadas demonstraram que apesar de não ser mais eficaz que o MBS, a acerola tem potencial antimelanósico.

No que se refere ao tipo de embalagem que por mais tempo conservou a qualidade sensorial do camarão branco (*L. vannamei*), foi possível observar que o vácuo se destacou, prolongando a vida de prateleira desses crustáceos mais do que qualquer outra embalagem, apesar deste produto apresentar uma característica física (o rostro) que dificulta a integridade das embalagens. No que diz respeito às análises microbiológicas, as EAM com diferentes concentrações de CO₂, O₂ e N₂ atingiam o limite máximo das contagens depois que as amostras embaladas a vácuo já o haviam atingido.

Os tratamentos antimelanósicos, tanto a acerola quanto o MSB, melhoram a qualidade e estendem a vida de prateleira do camarão branco (*L. vannamei*) quando associados à EAM.

O MIQ utilizado nesse experimento predisse com sucesso a vida de prateleira dos vários grupos de camarões brancos (*L. vannamei*). O tempo que era calculado com o modelo de regressão linear obtido através dos resultados do IQ coincidia com os dias onde os valores microbiológicos e físico-químicos ultrapassavam seus respectivos limites máximos.

No geral, os resultados indicam que simplesmente imergir os camarões em solução de acerola e água destilada não é suficiente para melhorar consideravelmente a qualidade e estender a vida de prateleira desses crustáceos. Porém, a atividade antioxidante da acerola é reconhecida devido aos seus altos teores de vitamina C e compostos fenólicos. Desta forma, é aconselhável que outros estudos sejam realizados eventualmente, de preferência buscando separar partes da fruta (casca, polpa, sementes) para identificar onde se encontra o maior teor de compostos fenólicos, ou até purificar extratos de acerola, para que assim o verdadeiro potencial antimelanósico dessa fruta seja conhecido.

REFERÊNCIAS

- ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Métodos de análise sensorial dos alimentos e bebidas**, 1993.
- ADACHI, K.; HIRATA, T.; NAGAI, K.; SAKAGUCHI, M. Hemocyanin a most likely inducer of black spots in kuruma prawn *Penaeus japonicus* during storage. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 8, p. 1130–1136, 2001.
- AMPARYUP, P.; CHAROENSAPSRI, W.; TASSANAKAJON, A. Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 34, n. 4, p. 990–1001, 2013.
- ANDRADE, R. S. G. de; DINIZ, M.C.T.; NEVES, E.A.; NÓBREGA, J.A. Determinação e distribuição de ácido ascórbico em três frutos tropicais. **Eclética Química**, v. 27, p. 393–401, 2002.
- ARAGÃO, J. S.; CASTRO, C. B. de; COSTA-LOTUFO, L. V. Toxicidade do metabissulfito de sódio em *Mysidopsis juniae*. **Arquivos de Ciência do Mar**, v. 41, n. 1, p. 24–29, 2008.
- ASSIS, S. A. de; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, O. M. M. de F. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 133–137, 2001.
- ATKINSON, D. A.; SIM, T. C.; GRANT, J. A. Sodium metabisulfite and SO₂ release: an under-recognized hazard among shrimp fishermen. **Annals of Allergy**, v. 71, n. 6, p. 563–566, 1993.
- AUBOURG, S. P.; SOTELO, C.G.; GALLARDO, J.M. Improvement of the commercial quality of chilled Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in slurry ice: Effects of a preliminary treatment with an antimelanotic agent on enzymatic browning. **Food Chemistry**, v. 103, n. 3, p. 741–748, 2007.
- BAILEY, M. E.; FIEGER, E. A.; NOVAK, A. F. Objective tests applicable to quality studies of ice stored shrimp. **Journal of Food Science**, v. 21, n. 6, p. 611–620, 1956.

BAK, L.S.; ANDERSEN, A.B.; ANDERSEN, E.M.; BERTELSEN, G. Effect of modified atmosphere packaging on oxidative changes in frozen stored cold water shrimp (*Pandalus borealis*). **Food Chemistry**, v. 64, n. 2, p. 169–175, 1999.

BARTOLO, I.; BIRK, E. O. Some factors affecting Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) cuticle polyphenol oxidase activity and blackspot development. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 33, n. 3, p. 329–336, 1998.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Inhibitory effect of cysteine and glutathione on phenoloxidase from kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). **Food Chemistry**, v. 98, n. 1, p. 158–163, 2006.

BENJAKUL, S.; VISSESANGUAN, W.; THONGKAEW, C.; TANAKA, M. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. **Food Research International**, v. 36, n. 8, p. 787–795, 2003.

BONO, G.; BADALUCCO, C.V.; CUSUMANO, S.; PALMEGIANO, G.B. Toward shrimp without chemical additives: A combined freezing-MAP approach. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 274–279, 2012.

BORGES, A. **Parâmetros de qualidade do pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e do seu híbrido eviscerados e estocados em gelo**. Niterói: UFF, 2013, 222 p.

BOYD, C. E. Sodium bisulfite treatments improve shrimp appearance but require proper disposal. **Global Aquaculture Alliance**, v. Ago, p. 70–71, 2002.

BOZIARIS, I. S.; KORDILA, A.; NEOFITOU, C. Microbial spoilage analysis and its effect on chemical changes and shelf-life of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in air at various temperatures. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 4, p. 887–895, 2011.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2010**. Brasília, DF, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº62: Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água**, Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001**. Brasília, DF, 2001.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. 04. **Resolução CNS/MS N.º 04, de 24 de Novembro de 1988** - Sec. Anexos - Tabela I - Conservadores. Brasília, DF, 1988.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). **Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**, Brasília, DF, 1981.

BRASIL, Ministério da Agricultura. **Decreto nº 30.691: Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA**, Brasília, DF, 1952.

BREMNER, H. A. A convenient, easy to use system for estimating the quality of chilled seafood. In: SCOTT, D. N.; SUMMERS, C. (Org.). **Proceedings of the fish processing conference, Nelson, New Zeland, 23-25 April 1985**. New Zeland: Fish Processing Bulletin, 1985. p. 59–703.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000.

CANN, D. C. **Packing fish in a modified atmosphere** - Torry Research Station Note nº 88. Aberdeen: Ministry of Agriculture, fisheries and food - Torry Research Station, 2001.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A.A.O.; NEVES, L.C.; BENASSI, M. de T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196–1205, 2010.

CINTRA, I. H. A.; OGAWA, N.B.P.; SOUZA, M.R.; DINIZ, F.M.; OGAWA, M. Decomposition of trimethylamine oxide related to the use of sulfites in shrimp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, p. 314–317, 1999.

CLANCY, G. S.; BEAMES, R.M.; HIGGS, D.A.; DOSANJH, B.S. **Effect of methodology on the determination of total volatile nitrogen and trimethylamine levels in previously frozen pacific herring (*Culpea harengus pallasi*) stored at 2-5°C up to 15 days.**

Vancouver: Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences - 2047, 1995.

COATES, C. J.; NAIRN, J. Hemocyanin-derived phenoloxidase activity: A contributing factor to hyperpigmentation in *Nephrops norvegicus*. **Food Chemistry**, v. 140, p. 361–369, 2013.

COLLINS-WILLIAMS, C. Intolerance to additives. **Annals of Allergy**, v. 51, n. 2 Pt 2, p. 315–316, 1983.

DÍAZ-TENORIO, L. M.; GARCÍA-CARREÑO, F. L.; PACHECO-AGUILAR, R. Comparison of freezing and thawing treatments on muscle properties of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Food Biochemistry**, v. 31, n. 5, p. 563–576, 2007.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 3. ed. Curitiba: Champagnat, 2011.

ELMAS, O.; ASLAN, M.; ÇAGLAR, S.; DERIN, N.; AGAR, A.; ALICIGÜZEL, Y.; YARGIÇOĞLU, P. The prooxidant effect of sodium metabisulfite in rat liver and kidney. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 42, n. 1, p. 77–82, 2005.

ENCARNACION, A. B.; FAGUTAO, F.; JINTASATAPORN, O.; WORAWATTANAMATEEKUL, W.; HIRONO, I.; OHSHIMA, T. Application of ergothioneine-rich extract from an edible mushroom *Flammulina velutipes* for melanosis prevention in shrimp, *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei*. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 232–237, 2012.

ENCARNACION, A. B.; FUGUTAO, F.; HIRAYAMA, J.; TERAYAMA, M.; HIRONO, I.; OHSHIMA, T. Edible mushroom (*Flammulina velutipes*) extract inhibits melanosis in kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*). **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. C52–C58, 2011a.

ENCARNACION, A. B.; FUGUTAO, F.; SHOZEN, K.; HIRONO, I.; OHSHIMA, T. Biochemical intervention of ergothioneine-rich edible mushroom (*Flammulina velutipes*)

extract inhibits melanosis in crab (*Chionoecetes japonicus*). **Food Chemistry**, v. 127, n. 4, p. 1594–1599, 2011b.

EUROPEAN PARLIAMENT. **Directive 2006/52/EC amending Directive 95/2/EC on food additives other than colours and sweeteners**, Bruxelas, 2006.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FAN, T.; ZHANG, Y.; YANG, L.; YANG, X.; JIANG, G.; YU, M.; CONG, R. Identification and characterization of a hemocyanin-derived phenoloxidase from the crab *Charybdis japonica*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 152, p. 144–149, 2009.

FANG, X.-B.; SUN, H.-Y.; HUANG, B.-Y.; YUAN, G.-F. Effect of pomegranate peel extract on the melanosis of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. **Journal of Food Agriculture & Environment**, v. 11, n. 1, p. 105–109, 2013.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012a.

FAO. **Yearbook 2010 - Fishery and Aquaculture Statistics**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2012b.

FAO. **The state of world fisheries and aquaculture**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2010.

FARBER, J. M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology--a review. **Journal of Food Protection**, v. 54, n. 1, p. 58, 1991.

FARIA, J. de A. F.; CRUZ, A. G. da; GONÇALVES, A. A. Embalagem ativa e com atmosfera modificada. In: GONLAÇVES, A.A. (Ed.) **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 209–216.

FIALHO, D. H. F. **Modificações no processo de despesca do camarão cultivado como medida de minimizar e controlar a exposição dos trabalhadores ao gás dióxido de enxofre (SO₂) (Estudo de caso)**. Universidade de Pernambuco - Escola Politécnica, Recife, 2010, 73 p.

FIEGER, E. A. Cause and prevention of blackspot on shrimp. **Ice Refrigeration**, v. 120, p. 49–50, 1951.

FREITAS, C. A. S. D.; MAIA, G.A.; SOUZA, P.H.M. de; BRASIL, I.M.; PINHEIRO, A.M. Storage stability of acerola tropical fruit juice obtained by hot fill method. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 41, n. 10, p. 1216–1221, 2006.

GARCÍA-CARREÑO, F. L.; COTA, K.; NAVARRETE deL TORO, M. A. Phenoloxidase activity of hemocyanin in whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*: conversion, characterization of catalytic properties, and role in postmortem melanosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6454–6459, 2008.

GÓES, L. M. N. de B.; MENDES, P. de P.; MENDES, E.S.; RIBEIRO, C.M. de F.; SILVA, R.P.P. Uso do metabissulfito de sódio no controle de microorganismos em camarões marinhos *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, n. 2, p. 153–157, 2006.

GOKOGLU, N.; YERLIKAYA, P. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, n. 6, p. 1004–1008, 2008.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; LLAMAS, A.; MONTERO, P. Melanosis inhibition and SO₂ residual levels in shrimps (*Parapenaeus longirostris*) after different sulfite-based treatments. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 7, p. 1143–1148, 2005

GONÇALVES, A. C.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; NUNES, M. L. Quality Changes of Deepwater Pink Shrimp (*Parapenaeus longirostris*) Packed in Modified Atmosphere. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 8, p. 2586–2590, 2003.

GUZMÁN, E. S. C. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

HOWGATE, P. A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 1. Determination. **Eletronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 1, n. 9, p. 29–57, 2010a.

HOWGATE, P. A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 2. Formation of the bases and application in quality assurance. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 1, n. 9, p. 58–88, 2010b.

HUSS, H. H. **Quality and Quality Changes in Fresh Fish - Technical Paper nº348**. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1995.

HYLDIG, G.; GREEN-PETERSON, D.M.B. Quality Index Methods. In: NOLLET, L. M. L. (Org.). **Handbook of Meat, Poultry & Seafood Quality**. Oxford: Blackwell Publishing, 2007. p. 529–549.

IFT. Institute of Food Technologists. Minutes of sensory evaluation. **35th Annual Meeting**, Chicago, 10 de Junho de 1975.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Capítulo XVIII - Pescado e derivados. In: ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Org.). **Manual de Análises Físico-Química do Instituto Adolfo Lutz**. 1^a edição digital ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008a. p. 367–647. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=%20com_remository&Itemid=0&func=select&orderby=1>.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Capítulo IV - Procedimentos e determinações gerais. In: ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (Org.). **Manual de Análises Físico-Química do Instituto Adolfo Lutz**. 1^a edição digital . São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008b. p. 83–160. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/index.php?option=%20com_remository&Itemid=0&func=select&orderby=1>.

JANG, M. S.; SANADA, A.; USHIO, H.; TANAKA, M.; OHSHIMA, T. Inhibitory effect of enokitake extract on melanosis of shrimp. **Fisheries Science**, v. 69, n. 2, p. 379–384, 2003.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7. ed. USA: Springer, 2005.

JOHNSON, P. D. Acerola (*Malpighia glabra* L., *M. puniceifolia* L., *M. emarginata* D.C.): agriculture, production and nutrition. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 91, p. 67–75, 2003.

KIM, J.; MARSHALL, M. R.; WEI, C. Polyphenoloxidase. In: HAARD, N. F.; SIMPSON, B. K. **Seafood Enzymes: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality**. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 271–315.

KRAUS, L. Refrigerated sea water treatment of herring and mackerel for human consumption. In: BURT, J.; HARDY, R.; WHITTLE, K. **Pelagic Fish: The resource and its exploitation**. Holanda: Kluwer Academic Publishers, 1992.

LIMA, R. M. T. **Avaliação da esbidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola orgânica pasteurizada e não-pasteurizada**. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010, 94 p.

LOPES, R.; PAIVA, J. R. Aceroleira. In: BRUCKNER, C. H. (Org.). **Melhoramento de frutas tropicais**. Viçosa: UFV, 2002. v. 1. p. 63–99.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GONÇALVES, A.; NUNES, M. L. Effect of CO₂ /O₂ - containing modified atmospheres on packed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **European Food Research and Technology**, v. 214, p. 192 – 197, 2002.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C.; MONTERO, P. Quality of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with melanosis-inhibiting formulations during chilled storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, p. 1029–1038, 2007.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C.; MONTERO, P. Quality of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) treated with a 4-hexylresorcinol-based formulation. **European Food Research and Technology**, v. 222, n. 3, p. 425–431, 2006.

LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; PÉREZ-MATEOS, M.; BORDERÍAS, J.A.; MONTERO, P. Extension of the shelf life of prawns (*Penaeus japonicus*) by vacuum packaging and high-pressure treatment. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 10, p. 1381–1388, 2000.

LU, S. Effects of bactericides and modified atmosphere packaging on shelf-life of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 286–291, 2009.

MACHADO, R. M. D.; TOLEDO, M. C. F.; VICENTE, E. Sulfitos em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 4, p. 265–275, 2006.

MACIEL, M. I. S.; VASCONCELOS, J.S.; SONATI, J.G.; SAVAY-DA-SILVA, L.K.; GALVÃO, J.A. OETTERER, M. Caracterização físico-química de frutos de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.). **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, n. 4, p. 865–869, 2010.

MALAVOTA, L. C. M. **Avaliação dos pontos críticos no processamento de “sashimis” em restaurantes: análises bacteriológicas e pesquisa de sensibilidade a antimicrobianos**. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2008, 117 p.

MANHEEM, K.; BENJAKUL, S.; KIJROONGROJANA, K.; VISESSANGUAN, W. The effect of heating conditions on polyphenol oxidase, proteases and melanosis in pre-cooked Pacific white shrimp during refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 131, n. 4, p. 1370–1375, 2012.

MANTILLA, S. P. S.; SANTOS, É.B.; VITAL, H. de C.; MANO, S.B.; FRANCO, R.M. Atmosfera modificada e irradiação: métodos combinados de conservação e inocuidade alimentar. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 15, p. 1–23, 2010.

MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C.; MONTERO, P. Effect of different chemical compounds as coadjutants of 4-hexylresorcinol on the appearance of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) during chilled storage. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, n. 11, p. 2010–2018, 2008.

MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C.; MONTERO, P. Chemical and microbial quality indexes of Norwegian lobsters (*Nephrops norvegicus*) dusted with sulphites. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 43, n. 6, p. 1099–1110, 2008.

MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C.; MONTERO, P. The effect of several cooking treatments on subsequent chilled storage of thawed deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) treated with different melanosis-inhibiting formulas. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 8, p. 1335–1344, 2009.

MARTINSDÓTTIR, E.; LUTEN, J.B.; SCHELVIS-SMIT, A.A.M.; HYLDIG, G. Developments of QIM - past and future. In: LUTEN, J. B.; OEHLenschläGER, J.; OLAFSDÓTTIR, G. (Org.). **Quality of Fish from Catch to Consumer**. Holanda: Wageningen Academic Publishers, 2003. p. 265–272.

MARTINSDÓTTIR, E.; SVEINSDÓTTIR, K.; LUTEN, J.B.; SCHELVIS-SMIT, R.; HYLDIG, G. **Sensory Evaluation of Fish Freshness -Reference Manual for the Fish Sector**. Holanda: QIM Eurofish, 2001.

MASNIYOM, P. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. **Songklanakarin J. Sci. Technol.**, v. 33, n. 2, p. 181–192, 2011.

MASTROMATTEO, M.; DANZA, A.; CONTE, A.; MURATORE, G.; NOBILE, M. A. del. Shelf life of ready to use peeled shrimps as affected by thymol essential oil and modified atmosphere packaging. **International Journal of Food Microbiology**, v. 144, n. 2, p. 250–256, 2010.

MATSUURA, F. C. A. U.; ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um “blend” com alto teor de vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 138–141, 2002.

McEVILY, A. J.; IYENGAR, R.; OTWELL, W. S. 4-Hexylresorcinol controls enzymatic browning in shrimp and has potential for application in a variety of other foods and beverages. **Food Technology**, v. 45, p. 80–86, 1991.

MEJLHOLM, O.; BØKNÆS, N.; DALGAARD, P. Shelf life and safety aspects of chilled cooked and peeled shrimps (*Pandalus borealis*) in modified atmosphere packaging. **Journal of Applied Microbiology**, v. 99, p. 66–76, 2005.

MELO, E. de A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G. de; NASCIMENTO, R.S. do. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193–201, 2008.

MENDES, R.; QUINTA, R.; NUNES, M. L. Changes in baseline levels of nucleotides during ice storage of fish and crustaceans from the Portuguese coast. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 2, p. 141–146, 2001.

MONTERO, P.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; ZAMORANO, J.P.; ALIQUE, R.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C. Melanosis inhibition and 4-hexylresorcinol residual levels in deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) following various treatments. **European Food Research and Technology**, v. 223, n. 1, p. 16–21, 2006.

MONTERO, P.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; PÉREZ-MATEOS, M. The effect of inhibitors and high pressure treatment to prevent melanosis and microbial growth on chilled prawns (*Penaeus japonicus*). **Journal of Food Science**, v. 66, n. 8, p. 1201–1206, 28, 2001.

MONTERO, P.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, O.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C. Effectiveness of onboard application of 4-hexylresorcinol in inhibiting melanosis in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **Journal of Food Science**, v. 69, n. 8, p. C643–C647, 2004.

MOURA, E. F.; DANTAS, T. N. de C.; SANTOS, M. J. dos. Contaminação de camarão no comércio do Natal-RN por resíduo de SO₂ devido ao uso de metabissulfito. **Revista da FARN**, v. 7, n. 1, p. 63, 2008.

MU, H.; CHEN, H.; FANG, X.; MAO, J.; GAO, H. Effect of cinnamaldehyde on melanosis and spoilage of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 10, p. 2177–2182, 2012.

NIELSEN, J.; HYLDIG, G.; LARSEN, E. “Eating Quality” of Fish—A Review. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 11, n. 3-4, p. 125–141, 2002.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Inhibition of melanosis formation in Pacific white shrimp by the extract of lead (*Leucaena leucocephala*) seed. **Food Chemistry**, v. 128, n. 2, p. 427–432, 2011a.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Use of tea extracts for inhibition of polyphenoloxidase and retardation of quality loss of Pacific white shrimp during iced storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 924–932, 2011b.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Retardation of quality changes of Pacific white shrimp by green tea extract treatment and modified atmosphere packaging during refrigerated storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, n. 3, p. 247–253, 2011c.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Effect of catechin and ferulic acid on melanosis and quality of Pacific white shrimp subjected to prior freeze–thawing during refrigerated storage. **Food Control**, v. 21, n. 9, p. 1263–1271, 2010a.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Effect of green tea extract in combination with ascorbic acid on the retardation of melanosis and quality changes of pacific white shrimp during iced storage. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 8, p. 2941–2951, 2010b.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Melanosis and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) treated with catechin during iced storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 9, p. 3578–3586, 2009a.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 323–331, 2009b.

OGAWA, M.; PERDIGÃO, N.B.; SANTIAGO, M.E.; KOZIMA, T.T. On physiological aspects of black spot appearance in shrimp. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 50, p. 1763–1769, 1984.

OLIVEIRA, V. M. de; FREITAS, M.Q. de; SÃO CLEMENTE, S.C. de; MÁRSICO, E.T. Método do Índice de Qualidade (MIQ) desenvolvido para camarão (*Litopenaeus vannamei*) cultivado. **Revista de Ciência da Vida**, v. 29, n. 1, p. 60–71, 2009.

OLIVEIRA, V. M. **Estudo da qualidade do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), inteiro e descabeçado estocado em gelo**. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2005, 91 p.

OTWELL, W. S.; KRISTINSSON, H. G.; BALABAN, M. O. **Modified atmospheric processing and packaging of fish**. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2006.

OTWELL, W.S.; MARSHALL, M. **Screening alternatives to sulfiting agents to control shrimp melanosis**. Studies on the use of sulfites to control shrimp melanosis. Technical Paper. Gainesville, FL: Florida Sea Grant College, 1986. 20p.

OUGH, C. S. Sulfure dioxide and sulfites. In: BRANEN, A. L.; DAVIDSON, P. M. (Org.). **Antimicrobials in foods**. Nova York: Marcel Dekker, 1983.

PARDIO, V. T.; WALISZEWSKI, K. N.; ZUÑIGA, P. Biochemical, microbiological and sensory changes in shrimp (*Panaeus aztecus*) dipped in different solutions using face-centred central composite design. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 305–314, 2011.

PHONPALA, Y.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; EUN, J.-B. Sulfur-containing compounds heated under alkaline condition: antibrowning, antioxidative activities, and their effect on quality of shrimp during iced storage. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 6, p. S240–S247, 2009.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agrucultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2009, 107 p.

QIAN, Y.; XIE, J.; YANG, S. XIONG, Q.; ZHANG, L.; GAO, Z.; WU, W. Effect of modified atmosphere with varying O₂ concentrations on the quality of packed Pacific White Shrimp (*Penaeus vannamei*) during cold storage. In: CUI, C. X.; LI, Y. L.; YUAN, Z. H. (Org.). **Advanced Engineering Materials II, Pts 1-3**. Stafa-Zurich: Trans Tech Publications Ltd, 2012. v. 535-537. p. 1054–1059.

RESTUCCIA, D.; SPIZZIRRI, U.G.; PARISI, O.; CIRILLO, G.; CURCIO, M.; IEMMA, F.; PUOCI, F.; VINCI, G.; PICCI, N. New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. **Food Control**, v. 21, n. 11, p. 1425–1435, 2010.

ROCHA, I. de P. Riscos da importação de camarão para os crustáceos cultivados e nativos do Brasil. **Revista da ABCC**, v. 15, n. 1, p. 18–23, 2013.

ROCHA, I. de P.; BORBA, M.; NOGUEIRA, J. O censo da carcinicultura nacional em 2011. **Revista da ABCC**, v. 15, n. 1, p. 24–28, 2013.

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Correlation between biochemical and sensory quality indices in hake stored in ice. **Food Research International**, v. 34, n. 5, p. 441–447, 2001.

RUTHERFORD, T. J.; MARSHALL, D.L.; ANDREWS, L.S.; COGGINS, P.C.; SCHILLING, M.W.; GERARD, P. Combined effect of packaging atmosphere and storage temperature on growth of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat shrimp. **Food Microbiology**, n. 24, p. 703–710, 2007.

SANT’ANA, L. S.; FREITAS, M. Q. de. Aspectos sensoriais do pescado. In: GONÇALVES, A. A. (Ed.). **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 21–32.

SANTOS, C. A. M. L. dos. Qualidade do Pescado. In: GONÇALVES, A. A. (Ed.) **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 95–105.

SEABRA, L. M. J.; DAMASCENO, K.S.F.S.C.; ANDRADE, S.A.C.; DANTAS, M.M.G.; SOARES, N.K.M.; PEDROSA, L.F.C. Effect of rosemary on the quality characteristics of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Food Quality**, v. 34, n. 5, p. 363–369, 2011.

SEBRAE. **Aquicultura e Pesca: Camarões – Estudo de Mercado**. [S.l.]: SEBRAE-ESPM, 2008.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W. K.; ROSNES, J. T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, n. 2, p. 107–127, 8, 2002.

SOARES, E. C.; OLIVEIRA, G.S.F. de; MAIA, G.A.; MONTEIRO, J.C.S.; SILVA Jr., A.; FILHO, M. de S. de S. Desidratação da polpa de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) pelo processo “foam-mat”. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 21, n. 2, p. 164–170, 2001.

TAVARES, M.; GONÇALVES, A. A. Aspectos físico-químicos do pescado. In: GONÇALVES, A. A. (Ed.) **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 10-20.

THEPNUAN, R.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Effect of pyrophosphate and 4-hexylresorcinol pretreatment on quality of refrigerated white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) kept under modified atmosphere packaging. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 3, p. S124–133, 2008.

UNICAMP. Universidade de Campinas. **TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP, 2006.

VALENÇA, A. R. Tratamento de efluentes. **Panorama da Aquicultura**, v. 13, n. 76, p. 73–74, 2003.

VENDRAMINI, A. L. A.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664–668, 2004.

VIEIRA, R. H. S. dos F. Microbiologia do pescado. In: GONÇALVES, A. A. (Ed.). **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. p. 33–42.

WARNER, C. R.; DIACHENKO, G. W.; BAILEY, C. J. Sulfites: an important food safety issue. **Food Testing and Analysis**, v. Ago/Set, p. 1–4, 2000.

WHITAKER, J. R.; RAMÍREZ, E. C.; VIRADOR, V. M. Polyphenol oxidase. In: WHITAKER, J. R.; VORAGEN, A. G. J.; WONG, D. W. S. **Handbook of Food Enzymology**. Nova Iorque: Marcel Dekker, 2003. .

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. de T.; TONZAR, A.C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J.G.. Produtos de acerola: estudos da estabilidade de vitamina C. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 23, n. 1, p. 92–94, 2003.

ZAMORANO, J.-P. MARTÍNEZ-ÁLVARES, Ó.; MONTERO, P.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C. Characterisation and tissue distribution of polyphenol oxidase of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **Food Chemistry**, v. 112, n. 1, p. 104–111, 2009.

ZENG, Q. **Quality Indicators of Northern Shrimp (*Pandalus borealis*) Stored under Different Cooling Conditions**. The United Nations University, Islândia, 2003.

ZHANG, M.; LIU, S.; JI, H.; ZHANG, C. DENG, C.; CAO, W.; MAO, W.; GAO. J. Extending the shelf-life of asparagus spears with a compressed mix of argon and xenon gases. **LWT - Food Science and Technology**, n. 41, p. 686–691, 2008.