

TANIA DENISE POLTRONIERI PACHECO

EFEITO DA ALIMENTAÇÃO E DO TEMPO DE ARMAZE-
NAMENTO SOBRE A CONSERVAÇÃO E FLORA
MICROBIANA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Mestrado em
Ciência dos Alimentos, para obtenção
do grau de "MESTRE".



ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS

LAVRAS - MINAS GERAIS

1988

INSTITUTO DE PESQUISA TECNICA

EFEITO DA ALIMENTAÇÃO E DO TEMPO DE ARMAZEM-
NAMENTO SOBRE A CONSERVAÇÃO E FLORA
MICROBIANA DE TILÁRIA (S. ...)

Investigação desenvolvida à Escola Superior
de Agricultura de Lavras com o apoio
estendido do Curso de Mestrado em
Ciência dos Alimentos, para o trabalho
de grau de "MESTRE".



ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS

LAVRAS - MINAS GERAIS

1988

[REDACTED]

EFEITO DA ALIMENTAÇÃO E DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE A CONSERVAÇÃO E FLORA MICROBIANA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)

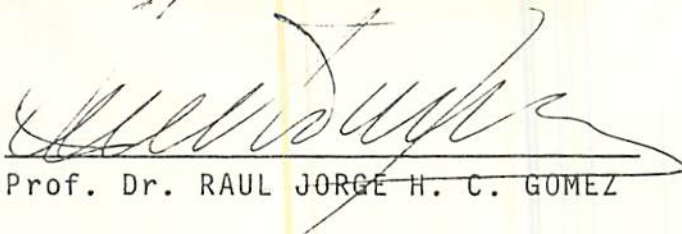
APROVADA:



Prof^a ELIANA PINHEIRO DE CARVALHO
Orientadora



Prof. Dr. VALTER ROBERTO LINARDI



Prof. Dr. RAUL JORGE H. C. GOMEZ

AGRADECIMENTOS

À família, por ser o suporte nos momentos de incertezas, pelas horas felizes, pela compreensão durante esta etapa de vida, pelo apoio.

À professora Dra. S. P. S. da Silva, pela orientação e acompanhamento, pelo exemplo de vida a ser seguido.

À Escola Superior de Agricultura de Jaboticabal, por oferecer o ambiente de trabalho e de aprendizagem, pela oportunidade de fazer parte de um curso de excelência.

À equipe pela sugestão de nome de trabalho durante a elaboração do curso.

Aos professores Drs. Jorge de Almeida, Frederico Linhares, pelo incentivo e valiosa contribuição neste trabalho.

Aos professores do Departamento de Ciências Exatas, pelo auxílio e encaminhamentos necessários.

Aos professores Dr. e Dra. Nilza de Sá e Dr. e Dra. Sílvia de Sá, pela orientação e apoio.

*A meus pais Anita e Cesar,
meu esposo Fábio e
minha filha Mariana,
por tudo o que representam na minha vida,
com amor dedido este trabalho.*

lo Roberto Clemente, pela amizade sincera e incentivo constante.

Ao professor Luiz Carlos Guilherme pela orientação no cultivo dos pescados.

Aos funcionários da Estação de Piscicultura da ESAL, João Mário Vieira e Eleci Pereira pela dedicação e valioso auxílio durante a criação dos pescados.

Aos funcionários do Setor de Microbiologia, do Departamento de Ciência dos Alimentos, Eliane Mara Carvalho Alcântara e Cipriano Porfírio da Silva, pela ajuda valiosa, dedicação e amizade.

A José Angelo Wenceslau Goês, pela presença amiga e incentivo constante.

Aos amigos Milton Moreira de Carvalho, Guilherme e Helton Pinheiro de Carvalho pela acolhida e amizade sincera.

A Irmã São Calixto, pelo incentivo e ajuda espiritual.

BIOGRAFIA

TANIA DENISE POLTRONIERI PACHECO, filha de Cesar Poltronieri e Anita Jautorno Poltronieri, natural de Vitória, Espírito Santo, é bióloga, graduada pela Universidade Federal do Espírito Santo, em 1979.

Em 1984 ingressou no Curso de Mestrado em Ciência dos Alimentos da Escola Superior de Agricultura de Lavras, Minas Gerais, concluindo-o em 1988.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Dados gerais sobre a tilápia	3
2.2. O emprego de resíduos na piscicultura	4
2.3. A utilização do gelo na conservação de pescados	6
2.4. Deterioração	9
2.5. Avaliação química do pescado	13
2.5.1. pH	13
2.5.2. Bases voláteis totais (BVT)	15
2.6. Microbiologia de pescados	17
2.6.1. Padrões microbiológicos	17
2.6.2. Flora microbiana	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. Caracterização geral do experimento	25
3.1.1. Local	25
3.1.2. Amostras	25
3.1.3. Coleta e preparo das amostras	26

	Página
3.1.4. Tratamentos utilizados	27
3.2. Análises efetuadas nas amostras	27
3.2.1. Análises químicas	28
3.2.1.1. pH	28
3.2.1.2. Bases voláteis totais (BVT) ..	29
3.2.2. Análises microbiológicas	29
3.2.2.1. Contagem total de aeróbios me- sófilos	30
3.2.2.2. Contagem total de aeróbios psi- crófilos	30
3.2.2.3. Identificação dos microorganismos	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. Determinações químicas	32
4.1.1. pH	32
4.1.2. Bases voláteis totais	35
4.2. Contagem microbiológica	40
4.2.1. Contagem total de microorganismos aeró- bios psicrofilos	40
4.2.2. Contagem total de microorganismos aeró- bios mesófilos	44
4.2.3. Flora microbiana	48
5. CONCLUSÕES	59
6. RESUMO	61
7. SUMMARY	63
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ANEXOS	77

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Valores de pH de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) <u>a</u> alimentadas com ração e resíduos de suínos e armaze <u>n</u> adas em isopor com gelo e em geladeira	33
2	Valores de Bases Voláteis Totais de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com ração e re <u>s</u> íduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira	36
3	Contagem total de microorganismos aeróbios psicrô <u>f</u> ilos isolados de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armaze <u>n</u> adas em isopor com gelo e em geladeira	41
4	Contagem total de microorganismos aeróbios mesôfi <u>f</u> ilos isolados de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) a <u>l</u> imentadas com ração e resíduos de suínos, armaze <u>n</u> adas em isopor com gelo e em geladeira	46

Figura

- 5 Flora bacteriana Gram positiva e Gram negativa isoladas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira 58

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Gêneros microbianos expressos em porcentagem encontrados nos diferentes tratamentos usados na conservação de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	50
2 Gêneros microbianos isolados a 5°C e 32°C de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) armazenadas em isopor com gelo e em geladeira e alimentadas com ração e resíduos de suínos	51
3 Gêneros microbianos expressos em porcentagem isolados de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo	52
4 Gêneros microbianos expressos em porcentagem isolados de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em geladeira	53

1. INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas do mundo atual consiste na dificuldade em suprir as populações de baixa renda em suas necessidades protéicas, com alimentos de alto valor nutritivo e de custo reduzido. Na satisfação de tais exigências, o pescado pode contribuir de maneira substancial, quer por seu alto valor nutritivo, quer pelo preço médio do produto, quando comparado ao de outras carnes.

A produção e consumo do pescado no Brasil baseia-se na sua quase totalidade, em recursos provenientes da exploração marinha e em menor escala, de pescarias artesanais nas bacias hidrográficas continentais, MAIA (54).

Consciente do baixo índice de produção da pesca no Brasil, a Superintendência do Desenvolvimento da Pesca - SUDEPE (17) tem orientado sua política de ação para os recursos pesqueiros de águas interiores. Desta forma, vem incentivando novos projetos em piscicultura em todo o país, o que acarretará num aumento substancial da oferta de peixes de água doce. Um destes projetos visa a engorda de peixes com dejetos de mamíferos e aves, prática

utilizada com sucesso em países asiáticos, como a China e Vietnã, e recentemente no Brasil.

No Estado de Minas Gerais, muitos municípios têm utilizado a prática de criação de tilápia (*Oreochromis niloticus*) com resíduos de suínos. Em Lavras, a Estação de Piscicultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), desenvolve esta prática e conta atualmente com aproximadamente 40 viveiros de tamanhos variados, que recebem alimentação de 70-80 kg/dia de resíduos de suínos. Estes peixes, depois de aproximadamente 8-10 meses, estão aptos para o consumo pesando cerca de 400-500 gramas.

Embora existam vários projetos sobre a criação consorciada de animais domésticos com pescado, poucas informações sobre a qualidade do produto final são fornecidas.

Face ao exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar o tempo de conservação a baixas temperaturas, de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentada com ração comercial e com resíduos de suínos, através de análises químicas e microbiológicas, assim como identificar os microorganismos predominantes nas referidas amostras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Dados gerais sobre a tilápia

A tilápia é considerada um pescado de águas quentes, vivendo em temperaturas entre 21° e 35°C e que só se reproduz nesta faixa citada, embora tolere o frio até 15°C ou calor acima de 35°C. Em temperaturas inferiores as citadas, não suporta muitos dias, morrendo com facilidade abaixo de 11°C (11, 53, 68). Entretanto, BARD (11) informa que na realidade, as tilápias adaptam-se bem em temperaturas baixas até certo ponto e é bem possível que temperaturas menores sejam toleradas, à medida que estas espécies se adaptam aos ambientes locais.

A maioria das espécies de tilápias cultivadas são resistentes a baixas concentrações de oxigênio, a parasitas e enfermidades, utilizando uma variada gama de alimentos, tais como zooplâncton, fitoplâncton, vegetais e resíduos variados (11, 53, 59, 68).

2.2. O emprego de resíduos na piscicultura

Um dos problemas contínuos associados à agricultura é o aproveitamento dos resíduos gerados; esses incluem esterco de animais, resíduos vegetais e de base agrícola que atualmente são utilizados como suplemento alimentar para peixes e gado (27).

Segundo vários autores (8, 18, 56, 69), a utilização de resíduos vegetais e animais tem sido uma prática tradicional na aquicultura da Ásia e mais recentemente tem sido sujeito a pesquisas por aquiculturistas em Israel e nos Estados Unidos.

BARD (11) informa que é sempre possível criar peixes com ração balanceada, mas é também proveitoso procurar na economia rural brasileira, que é muito diversificada, a possibilidade de utilizar na piscicultura, os subprodutos ou dejetos baratos que não tem utilização (esterco de porco, pato, frango, gado, etc.).

A utilização de estercos animais é sem dúvida o melhor método para alimentação de peixes em estações de piscicultura. O custo do investimento é oneroso mas a rentabilidade é alta, pois, a fertilização orgânica, quando suficiente, poupa o custo da ração (3, 11).

ALMEIDA & BARD (4) informam que a associação de engorda de pescados com dejetos de suínos, além das vantagens econômicas, oferece ao produtor uma nova opção alimentar, melhorando substancialmente a qualidade de sua alimentação, dado o alto valor nutritivo da carne de pescado, além de eliminar ou reduzir a capa-

cidade de poluição decorrente da suinocultura.

Estudos realizados em tanques de pescado contendo uma variedade de espécies, alimentadas com diferentes tipos de resíduos animais, mostraram que os pescados mais populares em tais estudos são as tilápias, devido à sua habilidade em tolerar extremos na qualidade da água (69). DEGANI et alii (27) citam que em experimentos realizados em Israel e Estados Unidos, ficou evidenciado, que a tilápia é, provavelmente, uma das espécies mais convenientes à alimentação com resíduos.

Segundo BARD (11) entre as tilápias não há separação entre a fertilização orgânica e a ração; em outras palavras, o que se chama comumente de fertilizante pode ser aproveitado diretamente pelo peixe e reciprocamente a parte da ração que não é aproveitada entra no ciclo da matéria viva e atua como fertilizante.

ALBUQUERQUE FILHO et alii (3) citam que carpas alimentadas exclusivamente com ração, apresentam um peso médio superior às aquelas alimentadas com resíduos de suínos; no entanto, a palatabilidade destas últimas é nitidamente superior às aquelas alimentadas com ração. Isto possivelmente, prosseguem os autores, decorre do fato de que a substituição da ração por resíduos tenha acarretado uma redução na engorda dos peixes, pois é sabido que o teor de gordura pode influir negativamente no sabor dos mesmos. Entretanto, GOES (37) em experimento semelhante, com tilápias, cita que a alimentação com resíduos de suínos ou com ração comerci

al, não afetou significativamente na sua aceitação e conservação.

2.3. A utilização do gelo na conservação de pescados

Um dos artifícios utilizados para se retardar ou controlar as alterações deteriorativas que ocorrem no pescado, consiste na utilização de temperaturas baixas. O uso de gelo na conservação é hoje largamente utilizado para reduzir a temperatura do pescado, além de ser considerado de baixo custo (63). Segundo GEROMEL & FORSTER (35), o princípio da conservação de pescados por refrigeração, está baseado na redução da temperatura do mesmo; com o abaixamento da temperatura, a velocidade com que os agentes deterioradores atuam, torna-se também menor. De acordo com Domingues, citado por DELLA MODESTA (28) o retardamento na proliferação de microorganismos, ocorre inclusive no caso de psicrófilos.

O "rigor-mortis" também é afetado pela utilização de baixas temperaturas, pois quanto menor a temperatura na qual o pescado é armazenado, maior será o período em que este é mantido neste estágio. A ação deteriorativa das bactérias é dificultada enquanto o "rigor-mortis" não termina; deste modo, a refrigeração faz com que a deterioração causada por bactérias seja retardada. Por outro lado, a velocidade de atuação das enzimas é também diminuída, quando o pescado é mantido em baixas temperaturas. Assim, o grande benefício da utilização de temperaturas baixas é reduzir a velocidade de deterioração do pescado, aumentando des-

ta forma o seu tempo de conservação (35).

Balakrishinan Nair & Lahiry, citados por SANTOS (63), relatam que o gelo é tido como o melhor sistema de resfriamento e conservação do pescado, por apresentar características tais como o seu calor de fusão e alto calor específico; por proporcionar um rápido resfriamento no pescado em contato com a água de degelo e também pela lavagem constante na superfície do pescado, diminuindo assim a carga bacteriana presente no mesmo.

Segundo GEROMEL & FORSTER (35) a atuação do gelo sobre a redução da temperatura do pescado ocorre de duas formas. Uma delas, é pelo contato direto, onde o calor do pescado é transferido para o gelo e, assim, o pescado tem sua temperatura reduzida. A outra forma seria através da água de fusão do gelo pois, à medida que o gelo derrete por reter calor do pescado e do ar ambiente, a água em que se transforma ainda se encontra aproximadamente na mesma temperatura do gelo que lhe deu origem; esta água de fusão escorre sobre os pescados e auxilia, também, de maneira efetiva no resfriamento dos mesmos. O efeito da lavagem do gelo em fusão, contribui também, segundo CURRAN et alii (21) para prolongar a vida de prateleira do pescado.

Os principais tipos de gelo utilizados na pesca comercial e nas indústrias pesqueiras são o gelo britado e/ou em escamas, parecendo não haver uma diferença fundamental em relação à capacidade de ambos no resfriamento do pescado. Porém, pelo seu formato, o gelo em escamas proporciona um melhor contato com o

pescado. Em ambos os casos, no entanto, o gelo deve ser produzido com água potável (35).

Para que ocorra um resfriamento rápido e uniforme no pescado, DELLA MODESTA (28) sugere que a superfície total do mesmo, fique igualmente cercada com gelo; para isto, entretanto, é necessário uma grande quantidade de gelo. Alguns autores, entretanto, relatam outras proporções gelo/pescado em seus trabalhos. LUDORFF (51) recomenda uma quantidade de dois quilos de gelo para cada quilo de pescado, embora aconselhe também o uso da proporção de 1:1. Zaitsev et alii, citados por DELLA MODESTA (28) encontraram em seus trabalhos uma ótima proporção de gelo, utilizando 75% do peso do pescado; usando, porém uma relação maior de 1:1, nenhuma redução apreciável no tempo de resfriamento foi obtida.

Não é possível relatar valores absolutos para a vida de estocagem de pescados mantidos em gelo, pois esta varia enormemente devido a fatores tais como o tipo de pescado, o método de captura, a estação do ano, o local de pesca, o tamanho e a morfologia do pescado e também as condições de manipulação. Além do mais, deve-se ter em conta que os períodos de conservação do pescado em gelo, citados na literatura, geralmente indicam valores máximos, obtidos em condições experimentais ideais em vez de condições comerciais (29, 64).

2.4. Deterioração

O pescado começa a deteriorar-se no momento da sua captura, tornando-se impróprio para o consumo humano, como resultado das ações bacterianas, enzimáticas e oxidativas que progressivamente ocorrem em seu corpo (63).

O "rigor-mortis" está diretamente relacionado aos estágios iniciais de deterioração em pescados ocorrendo neste processo uma série de mudanças bioquímicas e físico-químicas, segundo ESKIN et alii (31).

A formação do ácido láctico durante o "rigor - mortis", leva ao abaixamento do pH do músculo do pescado, de valores iniciais ao redor de 7,0 para 6,0 - 6,5; esta baixa acidez parece ser suficiente para retardar as reações autolíticas e bacterianas que causam a deterioração do pescado, afetando desta forma sua vida de prateleira. Assim, um período de rigor prolongado que pode ser conseguido com o emprego de métodos apropriados de captura, manuseio e estocagem, bloquearia por completo a permeabilidade das células para a troca de substâncias, conferindo ao pescado, melhores propriedades de conservação e organolépticas (12, 35, 61).

Pedraja citado por KUAYE (43), informa que o início e a duração do "rigor-mortis" pode variar significativamente em diferentes espécies, dentro da mesma espécie e ainda em diferentes músculos da mesma espécie. Assim, em pescados como o bacalhau, merluza e linguado armazenados em gelo, o rigor pode começar de

1 a 3 horas após a morte e terminar num período de 1 a 3 dias. CURRAN et alii (24) relatam que em espécies de tilápias o início do "rigor-mortis" em temperatura ambiente ocorre 7 horas após a morte, sendo que o rigor completo é estabelecido após 19 horas.

Vários autores (10, 33, 43, 45, 46) relatam que o pescado é tido como mais susceptível ao processo deteriorativo do que outros produtos cárneos, devido a certas características tais como o pH próximo à neutralidade, à elevada atividade de água em seus tecidos, ao alto teor de nutrientes mais facilmente utilizáveis pelos microorganismos, à rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e vísceras e a facilidade de oxidação dos óleos naturalmente presentes.

O atual conhecimento dos processos de deterioração em pescados de água doce é ainda escasso quando comparado com os pescados marinhos. De acordo com vários autores (13, 14, 44), há contudo, muitas semelhanças entre os padrões de deterioração destas duas categorias, se bem que os pescados de água doce apresentam uma vida de estocagem mais longa que os pescados marinhos.

SANTOS (63) informa que diferenças significativas relacionadas à composição química (ausência de óxido de trimetilamina) e microbiológicas (ausência de *Alteromonas putrefaciens*) somadas à possível ação antimicrobiana, poderiam explicar o período maior de estocagem em gelo dos pescados de água doce. KLEIN & ALEXANDER (42) informam sobre a existência de fatores antimicrobianos por eles encontrados em diferentes lagos. Segundo os au-

tores, tais inibidores, provavelmente são importantes em regular a composição das populações bacterianas. BRAMSTEDT & AUERBACH (14) também relataram a presença destes fatores.

Uma outra característica que confirma o maior tempo de estocagem de pescados de água doce é, conforme BLIGH (13), relacionada com a qualidade da água e aos diferentes tipos de situações climáticas em que este tipo de pescado é submetido, pois em contraste com o pescado marinho, o ambiente no qual os pescados de água doce são capturados pode variar de um lago ártico de águas claras e gélidas, ao extremo oposto de um canal ou tanque de águas quentes, turvas e contaminadas.

De acordo com Zaitsev, citado por BERAQUET & LINDO (12) a taxa de decomposição bacteriana de diferentes espécies de pescado, depende da natureza e teor de suas substâncias nitrogenadas não protéicas, pois todas as proteínas musculares são decompostas na mesma taxa. Como os pescados marinhos contêm um teor mais alto destas substâncias do que os pescados de água doce, de compõem-se mais rapidamente.

BALAKRISHAN NAIR et alii (9) relatam que o processo de deterioração em pescados consiste em dois aspectos distintos:

- 1) a perda de atributos de qualidade desejáveis por meio de mudanças texturais e a degradação de componentes que dão o flavor;
- 2) desenvolvimento de atributos indesejáveis como conseqüência do crescimento de organismos deterioradores e acúmulo de produtos putre

fativos.

As alterações que ocorrem durante a decomposição de pescado geralmente estão associadas às ações químicas, autolíticas e microbiológicas. SANTOS (63) informa que de acordo com as publicações disponíveis, as principais causas de deterioração em pescados ocorrem devido principalmente à autólise e à ação microbiana.

Zaitsev, citado por BERAQUET & LINDO (12) informa que com o amolecimento e posterior degradação dos músculos há um aumento na facilidade para a penetração de microorganismos, que juntamente com as reações autolíticas dão procedimento à deterioração.

Ao lado dos processos de deterioração de natureza intrínseca do pescado, o desenvolvimento bacteriano contribui de maneira marcante para acelerar as alterações ocorridas neste alimento ao longo do seu armazenamento (45).

BERAQUET & LINDO (12) citam que à temperatura do gelo, a multiplicação microbiana é inicialmente lenta e tem pouca influência na perda do frescor, sendo que neste estágio, as alterações ocorridas são devidas principalmente à ação autolítica. Depois de alguns dias, a proliferação microbiana é acelerada e seus efeitos tornam-se aparentes.

Embora não se possa estabelecer com certeza o tempo para que as bactérias penetrem no músculo do pescado, pois o fenô-

meno depende de fatores extrínsecos e intrínsecos, um período de 3 a 5 dias em condições ideais de refrigeração é, segundo MARTIN et alii (55) uma estimativa razoável.

2.5. Avaliação química do pescado

O princípio básico da maioria dos testes químicos utilizados na verificação do estado de frescor de pescados, baseia-se na determinação da presença de substâncias químicas que não existem na carne do pescado fresco, mas que surgem e têm sua quantidade aumentada em função do tempo de estocagem do mesmo; em outros casos, a substância química existe normalmente no pescado fresco, mas tem sua quantidade aumentada ou diminuída com o tempo de estocagem (35).

2.5.1. pH

Entre os métodos químicos para avaliação do frescor do pescado, a determinação do pH tem sido muito utilizada, por ser um método simples e rápido, porém como dado isolado seus resultados são pouco significativos.

De acordo com CUTTING (25), o pH do músculo de pescados e crustáceos é usualmente ao redor de 7,0, decrescendo em poucas horas após a morte, quando o rigor se instala, para valores de 6,1 - 6,9. Em pescados de água doce os valores iniciais de pH situam-se entre 6,9 - 7,3.

ESKIN et alii (31) relatam que geralmente os pescados exibem um pH "post mortem" mais alto que os animais de sangue quente, alcançando valores em torno de 6,2 - 6,6 mesmo no rigor total. Quando há excessiva movimentação antes da morte, o glicogênio armazenado no peixe é consideravelmente exaurido, aumentando assim o pH do pescado durante o rigor, dando origem à condição conhecida como rigor alcalino (33).

O pH do pescado segundo FRAZIER (33), TOMIYASU & ZENITANI (70) tem uma grande influência não só por seus efeitos sobre o "rigor-mortis", mas também sobre o desenvolvimento bacteriano, pois quanto menor o pH muscular, mais lenta será a decomposição bacteriana.

As mudanças no pH durante o início do rigor não ocorrem segundo CUTTING (25) como resultado da ação bacteriana mas sim devido à ação enzimática. Com o acúmulo de produtos de natureza básica, tais como amônia e algumas bases orgânicas, os valores de pH aumentam de forma lenta no início e mais rapidamente no final da deterioração. O mesmo autor continua informando que, quando o pescado é estocado em gelo após sua captura, há normalmente pouca ou nenhuma variação no pH por aproximadamente dez dias; depois deste período, com a produção de substâncias básicas, ocorre um aumento nos valores do pH.

Há uma série de estudos sobre o valor do pH como medida de deterioração em pescado. Embora alguns destes estudos sejam contraditórios, a maioria deles tem sido consistente em suas

conclusões que os valores de pH como dados isolados, tem pequena ou nenhuma significância como índice seguro do estágio de frescor do produto, conforme cita FARBER (32).

A Legislação Brasileira (15) determina que valores de pH da carne externa do pescado superiores a 6,8 e da carne interna acima de 6,5, implicam na condenação do produto para consumo humano.

2.5.2. Bases voláteis totais (BVT)

Outro teste muito utilizado na avaliação do índice de frescor em pescados, consiste na determinação das bases voláteis totais (BVT) e baseia-se na produção de aminas voláteis e amônia liberados durante o processo de deterioração do pescado devido à ação de enzimas autolíticas e de origem microbianas sobre os compostos nitrogenados (32, 47).

Os componentes nitrogenados não protéicos nos músculos do pescado estão dissolvidos nas células do plasma e no fluido intercelular, conforme Zaitsev et alii, citados por KUAYE (43).

Vários autores (12, 43, 58) definem as BVT como o conjunto de bases nitrogenadas como a trimetilamina, dimetilamina, amônia, putrescina, espermidina, cadaverina e outras que estão normalmente presentes no pescado e que têm o seu teor aumentado com a deterioração, sendo desta forma utilizadas como indicadoras do estado de frescor do mesmo.

PEARSON (62) informa que em peixes de água doce, o nitrogênio volátil formado consiste quase inteiramente de amônia.

Vários métodos analíticos para a quantificação de BVT em pescados são sugeridos por vários autores, sendo o método de Lucke & Geidel, descrito por PEARSON (62), o mais utilizado.

Segundo BERAQUET & LINDO (12), tornando-se o músculo do pescado ou seu extrato, alcalino, as bases nitrogenadas tornam-se voláteis e podem ser destiladas, coletadas e neutralizadas com ácido. A quantidade de ácido utilizada serve como medida da quantidade total de bases presentes. Contudo, como essas bases se constituem predominantemente numa mistura de amônia, dimetilamina e trimetilamina, todas contendo nitrogênio, o resultado é normalmente expresso como mg de N/100 g de músculo.

Zaitsev et alii, citados por KUAYE (43) informam que a quantidade de BVT em músculos de pescado muito fresco, logo após a captura, não excede normalmente valores de 15-20 mg N/100 g de músculo.

Existem muitas controvérsias entre os pesquisadores (6, 12, 32, 34) no sentido de se estabelecer limites superiores de BVT para avaliar o grau de frescor do pescado. As sugestões para tal índice variam de 20-60 mg de N/100 g de músculo, dependendo da espécie em estudo. No Brasil (15) e em outros países como Alemanha, Argentina e Austrália (6), o teor de BVT deve ser inferior a 30 g de N/100 g de músculo, para a caracterização do pescado fresco. Alguns autores (9, 39) no entanto, sugerem que os valores

de BVT, não são ideais como índice de deterioração durante as etapas iniciais de armazenamento em gelo de pescados de água doce.

2.6. Microbiologia de pescados

2.6.1. Padrões microbiológicos

Os padrões microbiológicos foram estabelecidos segundo LEITÃO (46) visando basicamente assegurar o fornecimento de um alimento que não ofereça riscos à saúde pública e que tenha sido processado dentro de condições sanitárias adequadas.

LISTON & MATCHES (50) relatam que os pescados ocorrem no mercado sob muitas formas e contêm além da microflora normal proveniente de seus meios, outras bactérias que são adquiridas durante a captura, seleção e manipulação; por isso a utilização de métodos microbiológicos é necessária para determinar a qualidade e a deterioração nestes produtos.

Vários índices são utilizados na avaliação da qualidade microbiológica em pescados, sendo um dos mais utilizados, a contagem total em placas, cujo objetivo principal é segundo NEUFELD (60), medir os números bacterianos, visto que, altos números presentes num dado produto irão deteriorá-lo mais rapidamente. Em pescados frescos e congelados, prossegue o autor, lida-se com grandes números de psicrófilos, que são importantes deterioradores nestes produtos.

MARTIN et alii (55) informam que o uso da contagem total em placas como índice de qualidade deve proporcionar ao menos dois tipos de informação; uma deve ser indicativa do atual estado de deterioração ou frescor do alimento e outra deve permitir prognósticos da vida futura em prateleira.

LEITÃO (46) relata que a contagem total fornece valiosas informações sobre a adequabilidade das condições sanitárias no transporte, armazenamento e processamento, a provável vida de prateleira do produto, além de sugerir sobre as prováveis fontes de contaminação durante o processamento.

LISTON & MATCHES (50) relatam que os pescados são transportados em gelo ou água do mar refrigerada, sendo que, enquanto o crescimento bacteriano é vagaroso durante este procedimento, a população, devido à sua natureza psicrotrófica aumenta e, a contagem do material cru deve ser estimada entre 10^4 - 10^6 bactérias/cm² ou g, na chegada da planta de processamento. Os autores informam também que em um material de boa qualidade mantido sob condições de armazenamento, as contagens variam de 10^4 - 10^5 bactérias/cm² ou g.

Alguns autores (23, 57) entretanto, consideram que é difícil fazer uma estimativa precisa da qualidade de pescados, baseando-se apenas na contagem total em placas. No Brasil, o Compêndio de Normas e Padrões para Alimentos - ABIA (7), na legislação de 1978 estabeleceu como padrão microbiológico para pescados, a contagem total em placas, de um valor máximo de 10^6 microorga-

nismos/g do produto, sendo que em 1987 este padrão foi revisto e não é citado dentro destas normas.

DRAETTA et alii (30) informam que a contagem deve ser feita em placas incubadas à temperatura de 25°C, para pescados refrigerados e permite avaliar não apenas a contaminação por microorganismos mesófilos mas também por psicrófilos.

2.6.2. Flora microbiana

Segundo CONNELL (20) os microorganismos presentes no pescado e seus produtos, podem ser divididos em dois grupos, dependendo dos seus efeitos sobre a qualidade dos mesmos. No primeiro grupo, estão incluídos os microorganismos causadores de deterioração no pescado e no segundo, aqueles com atividade patogênica para o homem.

Em relação aos microorganismos patogênicos para o homem existentes no pescado, somente o *Clostridium botulinum* e o *Vibrio parahaemolyticus* têm uma ocorrência relativamente freqüente em pescados provenientes de águas não poluídas (20, 46). LISTON & MATCHES (50) informam que os coliformes devem estar ausentes ou presentes em baixo número e que *Salmonella*, *Shigella* e outros patógenos entéricos não devem ocorrer, visto que, estes microorganismos não fazem parte da microflora normal do pescado; contudo devido à manipulação inadequada e à contaminação posterior à pesca, um pequeno número de coliformes pode ocorrer.

Os microorganismos deteriorativos do pescado estão localizados no muco superficial, guelras e conteúdo intestinal do mesmo, sendo os tecidos internos e o sistema vascular normalmente estêreis (33, 34, 35). O grau de contaminação destas diferentes áreas é muito variável e conforme FRAZIER (33) e LISTON (49), a mucosa e a pele podem apresentar contagens de $10^2 - 10^7$ bactérias/cm²; nas guelras de $10^3 - 10^9$ /g e no trato intestinal estas contagens dependem da quantidade de alimento presente. Estas variações tão amplas refletem, segundo LISTON (49), os efeitos dos fatores ambientais. Assim, contagens menores são encontradas na pele e guelras do pescado procedente de águas limpas e frias, enquanto são maiores nos pescados de águas tropicais ou subtropicais e, de áreas contaminadas.

FRAZIER (33) relata que a flora microbiana do pescado depende daquela que existe nas águas onde vive e que, o muco que recobre a superfície externa do pescado contém bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina*, *Serratia*, *Vibrio* e *Bacillus*. O autor prossegue informando que as bactérias encontradas nos pescados de águas do Hemisfério Norte são, geralmente psicrófilas, enquanto que no pescado procedente de águas tropicais são encontrados maior número de espécies mesófilas.

Sem dúvida alguma, a temperatura é o fator ambiental que mais influência exerce sobre a composição da microflora do pescado. LISTON (49) cita que as populações bacterianas típicas do pescado de águas temperadas são predominantemente psicrotrofi

cas, sendo reflexo de uma temperatura do ambiente em torno de 10°C ou inferior; já nos pescados de águas tropicais, a microflora é predominantemente mesófila. Com relação à flora microbiana, o autor informa que em águas temperadas e dos mares do Hemisfério Norte predomina a flora Gram negativa, citando os gêneros *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Cytophaga* e *Vibrio*; e que nos pescados provenientes de zonas subtropicais e tropicais do Hemisfério Sul a predominância em certos casos seria de bactérias Gram positivas dos gêneros *Bacillus*, *Micrococcus* e *Corynebacterium*.

Com relação à microflora de pescados de água doce, FRAZIER (33) relata que estes apresentam bactérias próprias de tal água, entre as quais se encontram muitos representantes dos mesmos gêneros encontrados na água salgada, além de espécies de *Aeromonas*, *Lactobacillus*, *Alcaligenes* e *Streptococcus*.

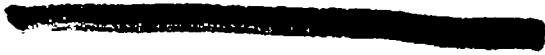
LISTON (49) cita que em pescados de água doce provenientes de águas quentes, ocorre uma predominância de bactérias Gram positivas e naqueles de águas mais frias, há uma maior proporção de bactérias Gram negativas. A presença regular de bactérias dos gêneros *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* e *Corynebacterium* é citada, se bem que as espécies predominantes pertençam aos gêneros *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium*.

Com o decorrer do período de armazenamento em gelo, ocorre uma mudança na proporção de microorganismos inicialmente presentes no pescado. ADAMS et alii (2) relatam que a extensão da

participação de membros individuais de uma população bacteriana tem sido normalmente avaliada com base na preponderância de certos gêneros num dado momento. É muito improvável, entretanto, pro seguem os autores, que todas as bactérias ou grupos bacterianos sejam igualmente ativos na deterioração.

LISTON & MATCHES (50) relatam que espécies de *Pseudomonas* tornam-se dominantes na microflora do peixe congelado, alcançando 70 - 90% em poucos dias, sendo que *Achromobacter* e *Flavobacterium* representam o volume restante; outras espécies também podem estar presentes, particularmente, nos estágios finais da deterioração mas tornam-se diluídas pela flora predominante. KAZANAS (41) relata que filês de perca (*Perca flavescens*) são rapidamente deteriorados por *Pseudomonas* e *Achromobacter* em 5 - 6 dias a 1°C, sendo que estes microorganismos correspondiam a 79% da microflora deteriorativa.

Shewan & Murray, citados por LEITÃO (46) explicam que a prevalência de *Pseudomonas* no processo deteriorativo ao longo do período de armazenamento do pescado sob refrigeração, deve-se ao comportamento psicotrófico deste microorganismo, que resulta numa maior velocidade de crescimento em baixas temperaturas, sobrepujando assim as outras bactérias mesófilas. Além disto, pro seguem os autores, a capacidade destas bactérias em utilizar substâncias nitrogenadas não protéicas como substrato para o seu desenvolvimento, é provavelmente o principal fator a ser considerado.



SHEWAN (66) informa que a emergência de *Pseudomonas* como número dominante na microflora deterioradora, deve-se além da natureza psicrotrófica deste microorganismo, ao seu curto tempo de geração, na faixa entre 0 - 5°C superando os outros tipos bacterianos presentes.

LISTON (49) relata que as bactérias da pele e brânquias dos pescados são predominantemente aeróbicas, embora existam condições em que um número elevado de víbrios possa ocorrer, sendo a população desta forma, predominantemente de natureza facultativa. O autor prossegue informando que a quantidade de anaeróbicos encontrados nas superfícies externas é geralmente muito pequena; porém no intestino, onde as condições anaeróbicas são normais podem ser encontrados clostrídios em quantidades significativas. Não obstante, as provas disponíveis sugerem que mesmo no intestino predominam as bactérias anaeróbicas facultativas.

Com a morte, as defesas naturais deixam de atuar e os microorganismos começam a invadir o corpo do pescado à procura de alimentos. Segundo vários autores (12, 33, 35, 70), a invasão dos microorganismos inicia-se pelas guelras e espalha-se totalmente pelo corpo através do sistema vascular e do revestimento epitelial.

GEROMEL & FORSTER (35) relatam que antes do término do "rigor-mortis" não há ambiente na carne do pescado para o desenvolvimento e reprodução das bactérias invasoras; além disto a produção de ácido láctico também dificulta o desenvolvimento destas.

Após o período do "rigor-mortis", as bactérias começam então a atacar com maior velocidade, as substâncias que constituem a carne do pescado. As substâncias nitrogenadas não proteicas são os primeiros constituintes a serem atacados pelas bactérias; após este período inicial, algumas espécies de bactérias começam a morrer, pois não têm capacidade para utilizar o nitrogênio das proteínas; aquelas espécies que possuem esta capacidade, continuam a se desenvolver e depois de algum tempo produzem substâncias com odor desagradável resultantes da decomposição das proteínas (33, 35).

Liston et alii, citados por KUAYE (43) informam que no transcorrer do "rigor-mortis" há uma pequena mudança no número de bactérias presentes, a chamada fase de latência que é seguida por um período de crescimento gradual, associado com mudanças organolépticas no pescado. A seguir, a população bacteriana entra numa fase exponencial de crescimento que corresponde ao início do surgimento de substâncias indicadoras de putrefação; esta fase é de curta duração e é sucedida por uma fase terminal, mais ou menos estacionária, do crescimento bacteriano na qual é pequena a mudança no número da população bacteriana.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização geral do experimento

3.1.1. Local

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, no período de setembro de 1985 a maio de 1986. As amostras de pescado eram mantidas em tanques de criação e alimentadas com ração comercial e resíduos de suínos, respectivamente.

3.1.2. Amostras

Os pescados utilizados no experimento são de tilápia *in*vertida (*Oreochromis niloticus*) pesando em média 380 g e 540 g para os pescados alimentados com resíduos de suínos e ração comercial, respectivamente.

3.1.3. Coleta e preparo das amostras

Oitenta pescados foram coletados com rede de arrasto, sacrificados, acondicionados em sacos plásticos e transportados em caixas de isopor para o laboratório.

No laboratório, as amostras foram subdivididas em dois lotes, com quarenta pescados cada, sendo o primeiro constituído de pescados alimentados com resíduos de suínos e o segundo daqueles alimentados com ração comercial.

Todo o material foi lavado rapidamente para a retirada de sujidades e do sangue em excesso. Após esta etapa, seguiu-se o armazenamento das amostras em isopor com gelo e geladeira, contendo cada lote 20 pescados de cada tratamento.

Os pescados mantidos em isopor com gelo foram pesados e armazenados com gelo britado na proporção de 1:1, conforme LUDORFF (51). As caixas de isopor eram dotadas de uma perfuração na face interna para a saída da água de degelo. Durante o período de armazenamento, a água de degelo era pesada diariamente e repostada sob a forma de gelo britado em igual proporção. Os pescados armazenados na geladeira foram envolvidos em embalagens plásticas.

Diariamente, a temperatura interna das amostras era verificada através da introdução de um termômetro no interior do corpo do pescado, segundo a técnica descrita por GRAHAM (38). A temperatura média das amostras mantidas em geladeira variou de $5 \pm$

1°C, enquanto naquelas mantidas em isopor manteve-se em torno de $0 \pm 2^\circ\text{C}$.

3.1.4. Tratamentos utilizados

Tratamento I - Pescados alimentados com resíduos de suínos armazenados em isopor com gelo.

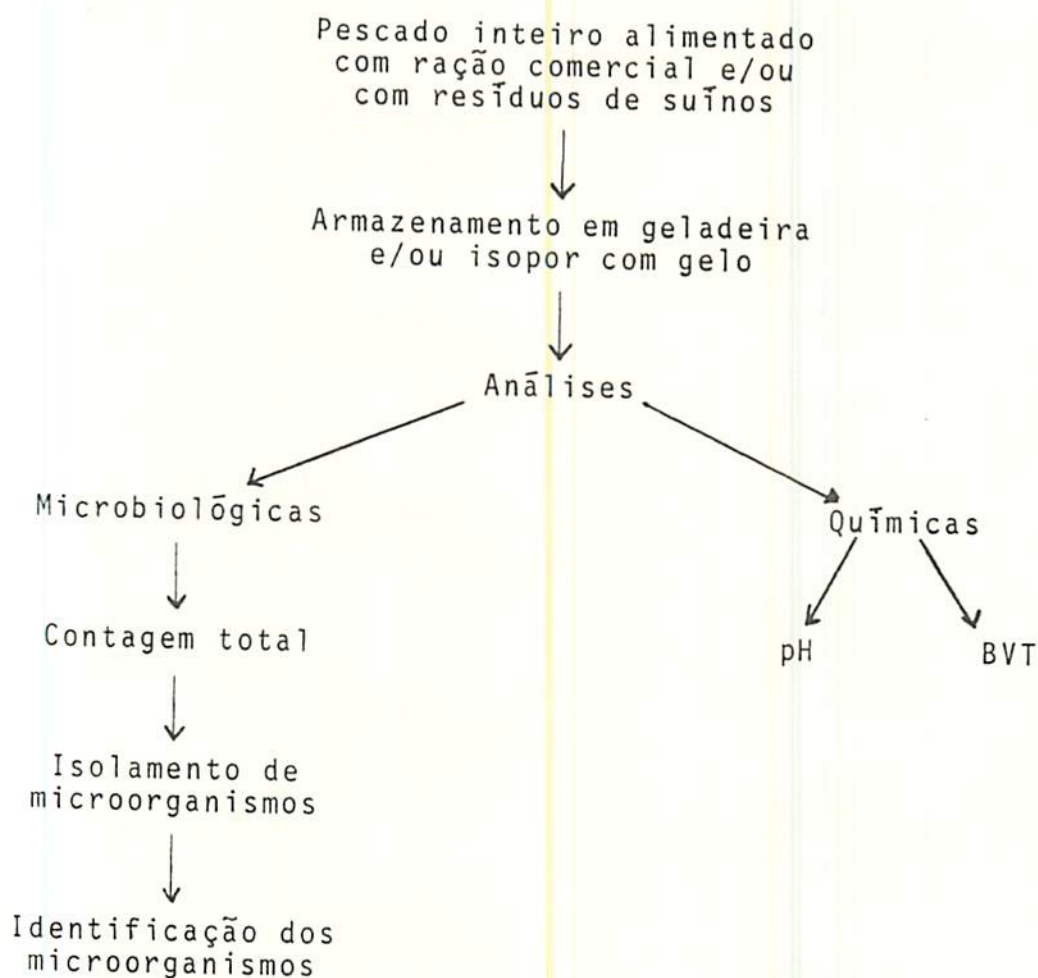
Tratamento II - Pescados alimentados com resíduos de suínos armazenados em geladeira.

Tratamento III - Pescados alimentados com ração comercial armazenados em isopor com gelo.

Tratamento IV - Pescados alimentados com ração comercial armazenados em geladeira.

3.2. Análises efetuadas nas amostras

As análises efetuadas no experimento seguiram o seguinte esquema:



As análises realizadas neste experimento foram feitas em intervalos não regulares de 0, 2, 5, 7, 9, 13, 15, 19, 22, 26, 27 dias de armazenamento para as amostras mantidas em geladeira e em intervalos de 0, 5, 8, 12, 16, 19, 22, 28, 33 dias para aquelas mantidas em isopor com gelo.

3.2.1. Análises químicas

3.2.1.1. pH

Para a determinação do pH foi utilizado o método do INS

TITUTO ADOLFO LUTZ (40), que consiste na homogeneização de 10 g de músculo de pescado com 100 ml de água destilada, sendo o pH de terminado em potenciômetro com eletrodo de vidro.

3.2.1.2. Bases voláteis totais (BVT)

Para a determinação das bases voláteis totais foi utilizado o método de Lucke & Geidel, descrito por PEARSON (62).

Dez gramas de pescado triturado com 100 ml de água destilada, foi macerado mecanicamente em liquidificador comum. Este conteúdo foi transferido para um balão de macro destilação, sendo lavado com 200 ml de água destilada e adicionado 2 g de óxido de magnésio como agente alcalino e algumas gotas de álcool octílico como agente antiespumante.

O balão de destilação foi aquecido à ebulição e após a destilação por 25 minutos, o destilado foi coletado em um frasco contendo 25 ml de solução de ácido bórico e gotas de vermelho de metila; após esta etapa, foi feita a titulação com solução de ácido sulfúrico 0,1 N.

3.2.2. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas seguiram as normas citadas por BRASIL (16), tanto para o preparo da amostra como para as análises.

Foram pesadas 25 g respresentativas do pescado, de modo asséptico, com o auxílio de pinças e faca estéreis e adicionados a 225 ml de água peptonada a 0,1%. A homogeneização foi feita em copo de liquidificador esterilizado com álcool a 70% GL, sendo esta a diluição 10^{-1} ; a partir daí foram feitas as diluições subseqüentes.

3.2.2.1. Contagem total de aeróbios mesófilos

A partir das diluições preparadas anteriormente, foram inoculadas as placas de cultivo, com adição em duplicata de 1 ml das diluições usadas e por incorporação de mais ou menos 15 ml do meio de cultura "Plate Count Agar" (PCA), previamente fundido e resfriado a 45°C.

Após a homogeneização das placas, as mesmas foram incubadas a 32°C por 48 h \pm 3 horas.

3.2.2.2. Contagem total de aeróbios psicrófilos

A técnica seguida foi a mesma utilizada para mesófilos, diferindo apenas na incubação a 5 - 7°C por 7 dias.

3.2.2.3. Identificação dos microorganismos

A partir das placas inoculadas anteriormente, após con

tagem, eram retiradas colônias ao acaso de ambas temperaturas e feita a identificação.

Esta identificação foi realizada segundo MacFADDIN (52), iniciada a partir da coloração de Gram, morfologia e provas bioquímicas específicas para identificar os microorganismos, somente quanto aos gêneros dos mesmos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Determinações químicas

4.1.1. pH

Os valores encontrados na determinação do pH estão relacionados na Figura 1.

Nos quatro tratamentos realizados, os valores encontrados não diferiram muito entre si. Os valores iniciais de pH variaram entre 6,7 - 6,8 e se encontram na faixa de valores iniciais de pH para pescados de água doce, descritos por CUTTING (25). Os valores mínimos de pH encontrados variaram entre 6,0 - 6,2 obtidos entre o 2º e 5º dias de armazenamento e os valores máximos, na faixa de 6,6 - 6,7 nos tratamentos I (isopor e resíduo), II (geladeira e resíduo) e IV (geladeira e ração), no período de armazenamento compreendido entre o 15º - 33º dias, valores estes que são superiores àquele recomendado pela Legislação Brasileira (15).

GOES (37) em sua pesquisa com tilápia armazenada em gelo, obteve resultados semelhantes em seus experimentos, com valo

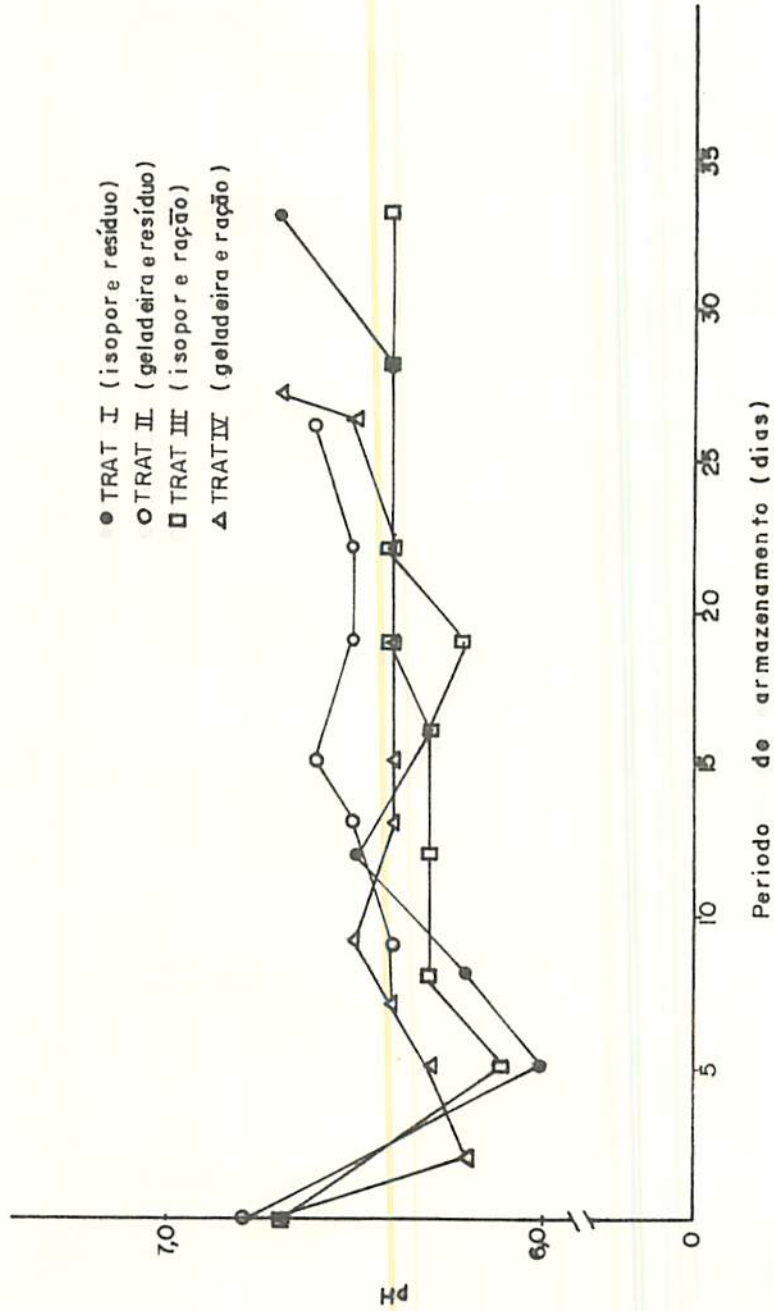


Figura 1. Valores de pH de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resí-
 dãos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

res m̃nimos de pH em torno de 6,0 e valores m̃ximos de 6,8, o mesmo ocorrendo com ACUFF et alii (1) e DISNEY et alii (29).

HOFFMAN et alii (39) e LAHIRY et alii (44) determinaram os valores de pH em diferentes esp̃cies de pescados de ãgua doce armazenados em gelo, obtendo valores m̃nimos de pH ao redor de 6,4 - 6,5 e valores m̃ximos de 7,2 - 7,3.

DELLA MODESTA (28) e TOMIYASU & ZENITANI (70) relataram que os valores m̃nimos de pH encontrados em pescados variam grandemente com a esp̃cie, o teor inicial de glicog̃nio, a capacidade tamponante dos componentes musculares e a velocidade das reações "post-morten". Liston et alii, citados por NETTO (59) informam que a velocidade das reações "post-morten" al̃m de permititir a formação do ãcido lãctico, influem na sua subsequente oxidação e desaparecimento.

Os aumentos nos valores de pH que ocorrem durante o armazenamento, s̃o devidos ao acũmulo de produtos de natureza bãsica como amõnia e aminas, resultantes da decomposição do pescado (25, 44, 75).

Embora neste experimento, os valores m̃ximos de pH observados ño serem muito afetados pelas diferentes temperaturas de armazenamento, CURRAN et alii (21) observaram que os valores m̃ximos de pH obtidos em suas pesquisas ocorrem em pescados armazaenados em temperaturas mais elevadas, em per̃odos menores que os observados com aqueles armazenados em gelo, o mesmo ocorrendo com os experimentos desenvolvidos por HOFFMAN et alii (39).

Com os resultados obtidos por vários pesquisadores (9, 39, 44, 59), nota-se que os valores de pH relatados, muitas vezes se encontram no limite superior estabelecido pela Legislação Brasileira (15), mesmo quando o pescado ainda não apresenta sinais visíveis de deterioração.

4.1.2. Bases voláteis totais

Os resultados das determinações das bases voláteis totais (BVT) estão relacionados na Figura 2.

No tratamento I (isopor e resíduo), pode-se observar três fases na evolução dos teores de BVT. Logo após a morte, o valor apresentado de 16,52 mg N/100 g de músculo, encontra-se dentro dos valores citados na literatura (44, 57), para pescados de água doce, recém-capturados e de boa qualidade. Após cinco dias de estocagem, este valor aumenta para 18,62 mg N/100 g de músculo; a partir deste período observa-se uma redução nos valores de BVT, que se estende até o 19º dia de estocagem, sendo que após o 22º dia estes valores aumentam até o final do experimento (33 dias), embora não tenham atingido o nível máximo de BVT estabelecido pela Legislação Brasileira (15).

ACUFF et alii (1), GOES (37) e NETTO (59) em suas pesquisas com tilápias armazenadas em gelo, também observaram estas três fases distintas na evolução das BVT.

Em relação à redução nos teores observados durante o pe

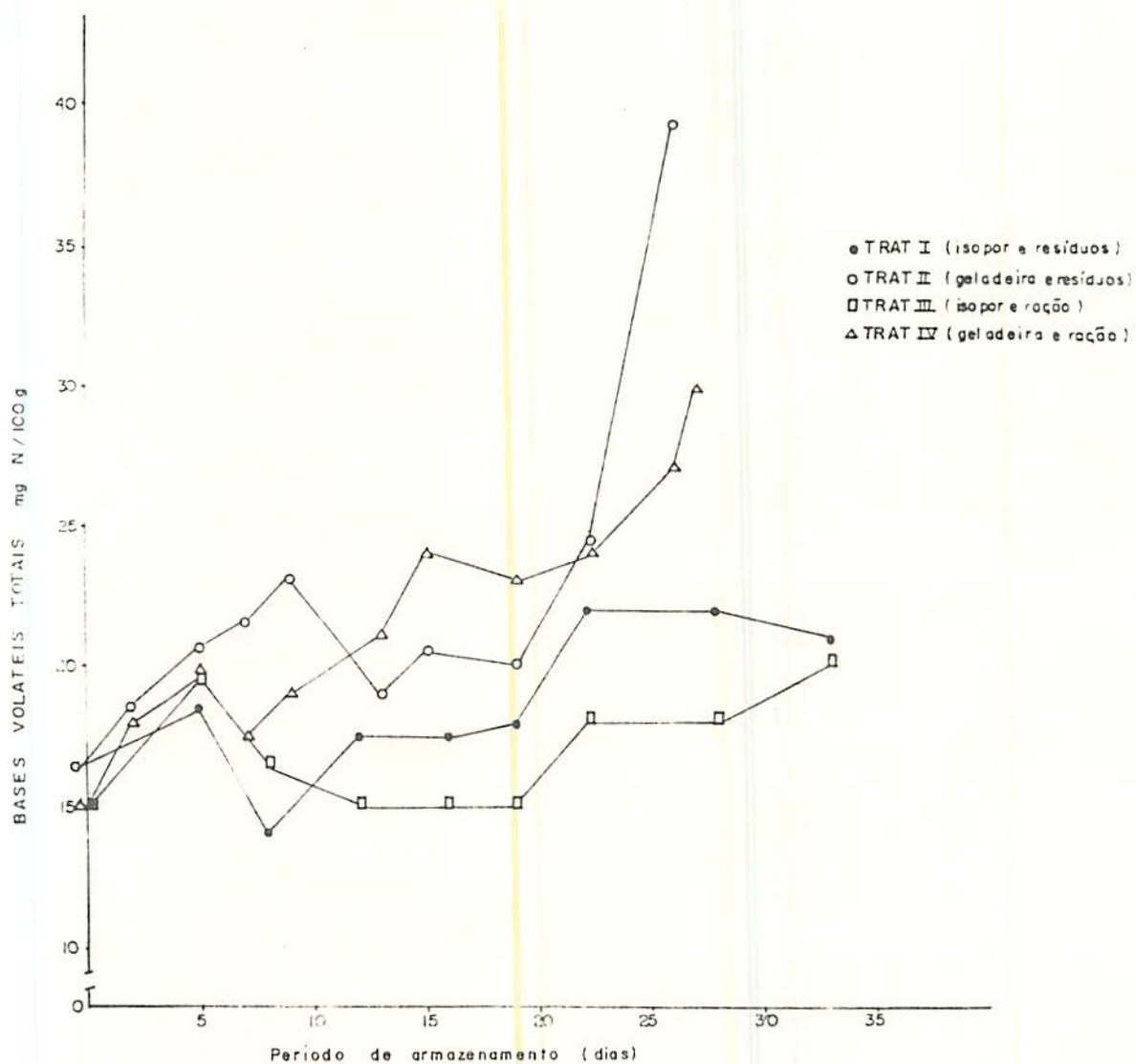


Figura 2. Valores de Bases Voláteis Totais de tilãpia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

rīodo de 8 - 19 dias de armazenamento, KUAYE (43) relata que este fenômeno ocorre ocasionalmente em pescados de água doce, embora seja de difícil explicação, pois sendo as BVT constituídas basicamente por amônia, esta tende a acumular-se nos músculos durante a deterioração; desta forma, seu teor deveria manter-se no mīnimo constante, sem haver decrēscimo.

COBB III et alii (19) trabalhando com camarões (*Penaeus setiferus* e *P. aztecus*) armazenados em gelo, explicam o fenômeno da diminuição das BVT durante seus experimentos, como sendo devido à ação de lavagem pela água do gelo fundido "leaching" sobre o músculo do camarão.

Para Shewan, citado por MAIA (54), as mudanças nas concentrações dos extrativos musculares de pescados (não especificamente amônia) podem ser devidas à ação enzimática ou ao efeito "leaching". Embora não hajam evidências para tal, este efeito poderia também explicar a diminuição das BVT nos experimentos realizados pelo autor em curimatã (*Prochilodus scrofa*).

O comportamento anormal da curva de evolução das BVT, é descrito por KUAYE (43) como sendo devido a um artifício do método de destilação usando-se o músculo do pescado diretamente, tal como ocorre neste experimento. Segundo o autor, durante o início do armazenamento em gelo, os sistemas enzimáticos dos músculos ainda estão ativos e conseguem desaminar amino-ácidos ou hidrolisar uréia, aumentando desta forma o teor de BVT. Com o passar do tempo, os sistemas enzimáticos podem perder sua atividade

e não mais influenciar no teste; esta explicação deve-se ao fato de que os métodos que utilizam a precipitação preliminar de proteínas, com conseqüente inativação enzimática, apresentam valores de BVT sempre crescentes.

Nos tratamentos II (geladeira e resíduo), III (isopor e ração) e IV (geladeira e ração) foi observado um comportamento semelhante àquele do tratamento I, sendo que nos tratamentos II e IV os valores finais de BVT encontrados estão acima daqueles estabelecidos pela Legislação Brasileira (15), observando-se no tratamento II um valor final muito superior àquele do tratamento IV. Esse comportamento pode ser explicado pelo efeito da temperatura sobre a produção de BVT, pois os valores máximos obtidos nos experimentos referem-se àqueles tratamentos em que o pescado foi mantido em geladeira, com temperaturas variando entre $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Nos tratamentos realizados com pescados armazenados em gelo pôde-se observar que o controle da temperatura, mantida em torno de $0 \pm 2^{\circ}\text{C}$, teve um papel importante na produção de BVT, que atingiram valores inferiores àqueles observados no pescado mantido em geladeira durante todo o período de armazenamento.

CURRAN et alii (23) trabalhando com besugo dourado (*Rhabdosargus sarba*) um pescado marinho armazenado a 0°C e 10°C , observaram valores de BVT sempre superiores para àqueles pescados armazenados a 10°C .

MOORJANI et alii (57) em seus trabalhos com várias espécies de pescados de água doce armazenados a 4°C e 30°C , também

relatam índices de BVT sempre superiores para os pescados mantidos a 30°C.

GOES (37) relata em seus experimentos com tilápias armazenadas em gelo, que encontrou baixos valores de BVT, mesmo quando o pescado estava completamente deteriorado. Segundo o autor, o fato de ir substituindo a água de degelo por gelo, durante o período de armazenamento, fez com que a proporção gelo/pescado aumentasse, contribuindo assim para um bom controle da temperatura. Informa ainda, que a aplicação do teste de BVT como índice de frescor para pescados torna-se muito limitada, sendo necessário uma revisão na Legislação no que diz respeito ao seu uso para avaliar a qualidade do pescado de água doce.

MORGA (58) trabalhando com pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) também encontrou dificuldades para estabelecer faixas de valores de BVT claramente delimitadas para diferentes índices de frescor.

Outros autores (9, 39) em seus trabalhos com pescados de água doce, relatam que os valores de BVT não são ideais como índice de deterioração durante as etapas iniciais de armazenamento nestes tipos de pescados.

Com relação ao tipo de alimentação dada às tilápias (ração ou resíduo) observou-se que os pescados alimentados com resíduos e armazenados em geladeira alcançaram valores finais bem superiores àqueles dos outros tratamentos.

4.2. Contagem microbiológica

As análises microbiológicas para se verificar o número de bactérias viáveis/g neste experimento, foram efetuadas em temperaturas de 5° e 32°C, diferindo daquela usada por GOES (37) em trabalho desenvolvido anteriormente nas mesmas condições e com uma metodologia semelhante à usada neste experimento.

4.2.1. Contagem total de microorganismos aeróbios psicrófilos

Os resultados das contagens totais de microorganismos aeróbios psicrófilos incubados à temperatura de 5°C para o músculo de tilápia expressos em logaritmos são mostrados na Figura 3.

No tratamento I (isopor e resíduo), a contagem inicial encontrada nas amostras de tilápia alcançou um valor de 4,5/g que foi mantido até o 5º dia de armazenamento. Entre o 5º e 8º dias de armazenamento ocorreu um pequeno acréscimo na contagem; após este período a carga microbiana aumentou rapidamente até o final do experimento (33 dias) quando um valor de 8,6/g foi atingido.

No tratamento II (geladeira e resíduo), a contagem inicial observada de 4,5/g aumentou durante os dois primeiros dias de armazenamento, alcançando neste período um valor de 5,5/g; após este período, os valores obtidos nas contagens continuaram a aumentar com algumas variações, atingindo um valor de 8,4/g no 26º dia de armazenamento, que neste tratamento foi considerado o úl-

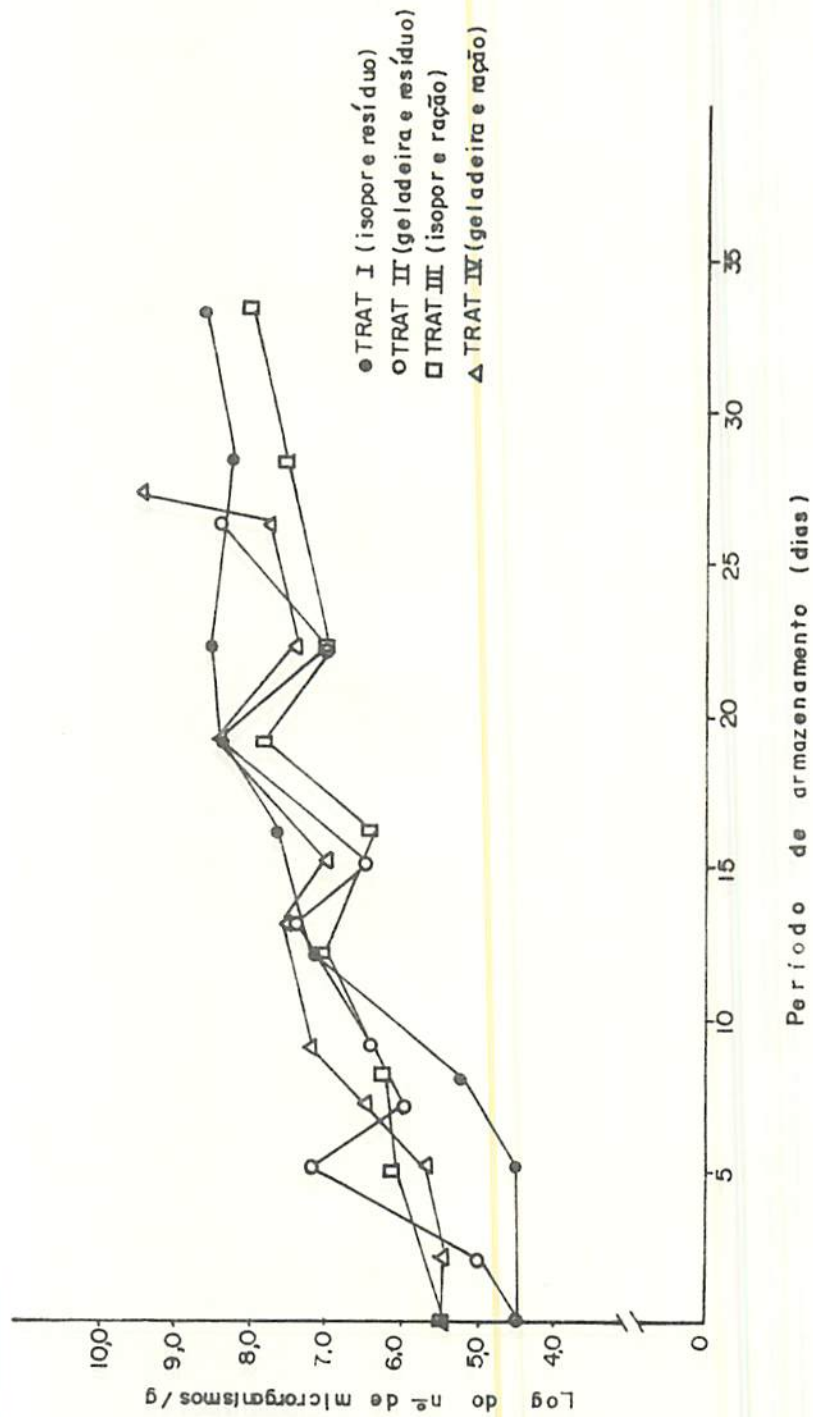


Figura 3. Contagem total de microorganismos aeróbios psicrófilos isolados de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

timo dia de análises, devido a amostra apresentar sinais visíveis de total deterioração, como amolecimento dos músculos e odores repugnantes.

Nos tratamentos III (isopor e ração) e IV (geladeira e ração), a contagem inicial observada foi de 5,5/g. Durante o período compreendido entre o 2º e 8º dias de armazenamento, houve um pequeno acréscimo nas contagens após o que os valores tenderam a aumentar, alcançando um valor de 8,0/g no 33º dia de armazenamento no tratamento III e 9,5/g no 27º dia do tratamento IV, que foi considerado o último dia de análises deste tratamento, por ter ocorrido o mesmo fato descrito anteriormente.

Considerando-se apenas o critério da contagem na avaliação da qualidade de tilápia, observa-se pelos resultados, que as amostras dos tratamentos III e IV apresentavam uma contaminação inicial mais elevada que a dos tratamentos I e II. Por este motivo, naqueles tratamentos, valores de 10^6 /g foram alcançados entre os 5 - 7 dias de armazenamento, ao passo que nos tratamentos I e II, tais valores foram atingidos entre 5 - 12 dias de armazenamento. Resultados semelhantes foram descritos por LEITÃO et alii (47) em seus trabalhos com sardinhas (*Sardinella aurita*), salientando os autores que a limitação da contaminação inicial, por meio de práticas corretas de captura e manuseio, poderia aumentar o tempo de armazenamento em pescados em condições satisfatórias de qualidade.

Segundo LEITÃO et alii (47) não há padrões definidos em

relação à contaminação máxima de pescado, sendo que alguns autores consideram para o pescado fresco uma contagem máxima de $10^6/g$, baseado na incubação a temperatura de $25^\circ C/5$ dias. Os resultados obtidos neste experimento são de contagens feitas com temperaturas de incubação a $5^\circ C$, sendo que o valor de $10^6/g$ foi alcançado em alguns tratamentos logo no início do armazenamento, quando os pescados ainda não apresentavam sinais visíveis de deterioração.

Ronsivalli & Charm, citados por LEITÃO et alii (47), mencionam que a razão da deterioração do pescado depende do número e das espécies de bactérias presentes, uma vez que há grande variação no seu comportamento em relação a capacidade de deterioração. No entanto, os autores afirmam que o papel das bactérias pode ser insignificante após ter ocorrido a atividade bacteriana em certa extensão, não existindo uma relação direta entre o número de bactérias e a taxa de deterioração. Essas observações indicam que a validade de contagens totais na avaliação da qualidade do pescado é limitada pela natureza da microflora contaminante.

Nas amostras dos pescados mantidas em temperaturas mais elevadas, pôde-se notar que as contagens alcançaram valores maiores em um período de armazenamento menor do que aquelas observadas com os pescados mantidos em temperaturas inferiores. CURRAN et alii (23) trabalhando com besugo (*Rhabdosargus sarba*), um pescado marinho armazenado em diferentes temperaturas relatam resultados semelhantes à este experimento. Nos pescados armazenados a $10^\circ C$ os autores encontraram valores de contagens de $10^7/g$ em !!

dias de armazenamento enquanto que naqueles armazenados em gelo, valores de 10^8 /g sō foram descritos no 22º dia.

Um outro fator que poderia explicar a menor variaçāo nas contagens observadas com os pescados armazenados em isopor com gelo, seria atribuída ao efeito da lavagem da āgua de degelo sobre a carga microbiana. ANGEL et alii (5) estudando o efeito da estratificaçāo do gelo sobre o armazenamento de lagostins (*Macrobrachium rosenbergii*) observaram que as contagens bacterianas na āgua de degelo eram normalmente mais altas que aquelas obtidas em algumas camadas de lagostins. Os autores relatam ainda que o gelo derretido tem um efeito de lavagem sobre as bactērias das camadas superiores armazenadas e causam um aumento no grau de contaminaçāo nas camadas inferiores, aumentando deste modo as mudançās deteriorativas mais precoces nos pescados das camadas inferiores.

Com relaçāo ao tipo de alimentaçāo dada ās tilāpias (raçāo ou resíduo) observou-se que nāo houve grandes diferenças entre as contagens obtidas, embora as tilāpias alimentadas com raçāo, tenham apresentado contagens iniciais mais elevadas do que āquelas alimentadas com resídus.

4.2.2. Contagem total de microorganismos aerōbios mesōfilos

Os resultados das contagens totais de microorganismos aerōbios mesōfilos incubados a temperatura de 32°C, para o mūscu

[REDACTED]

lo de tilápia, expressos em logarítmo, estão relacionados na Figura 4.

Nos tratamentos I (isopor e resíduo) e II (geladeira e resíduo), as contagens iniciais observadas alcançaram valores de 4,0/g, tendo um acréscimo entre o 2º e 7º dias de armazenamento; após este período, as contagens tenderam a aumentar mais rapidamente, atingindo valores finais de 8,6/g em 33 dias de armazenamento no tratamento I e em 26 dias, no tratamento II.

Nos tratamentos III (isopor e ração) e IV (geladeira e ração), após uma contagem inicial de 6,5/g, houve um ligeiro acréscimo nos números bacterianos durante os 5 primeiros dias de armazenamento; após este período, a carga microbiana tendeu a aumentar no tratamento III até o 22º dia de armazenamento, havendo então um decréscimo nos valores finais encontrados, porém dentro do mesmo ciclo logarítmico, atingindo um valor de 8,0/g no 33º dia. No tratamento IV, o decréscimo nos valores da carga microbiana foi também observado no 22º dia de armazenamento, ocorrendo logo após uma elevação com índices finais em torno de 9,7/g no 27º dia de armazenamento.

Resultados semelhantes ao tratamento III também foram observados por DAWOOD et alii (26) em trutas (*Salmo irideus*) armazenadas em gelo, com diferentes tempos de espera, com amostras incubadas em diferentes temperaturas. A variação observada por estes autores é também atribuída a um decréscimo na atividade metabólica dos mesófilos seguida por uma gradual asserção da micro

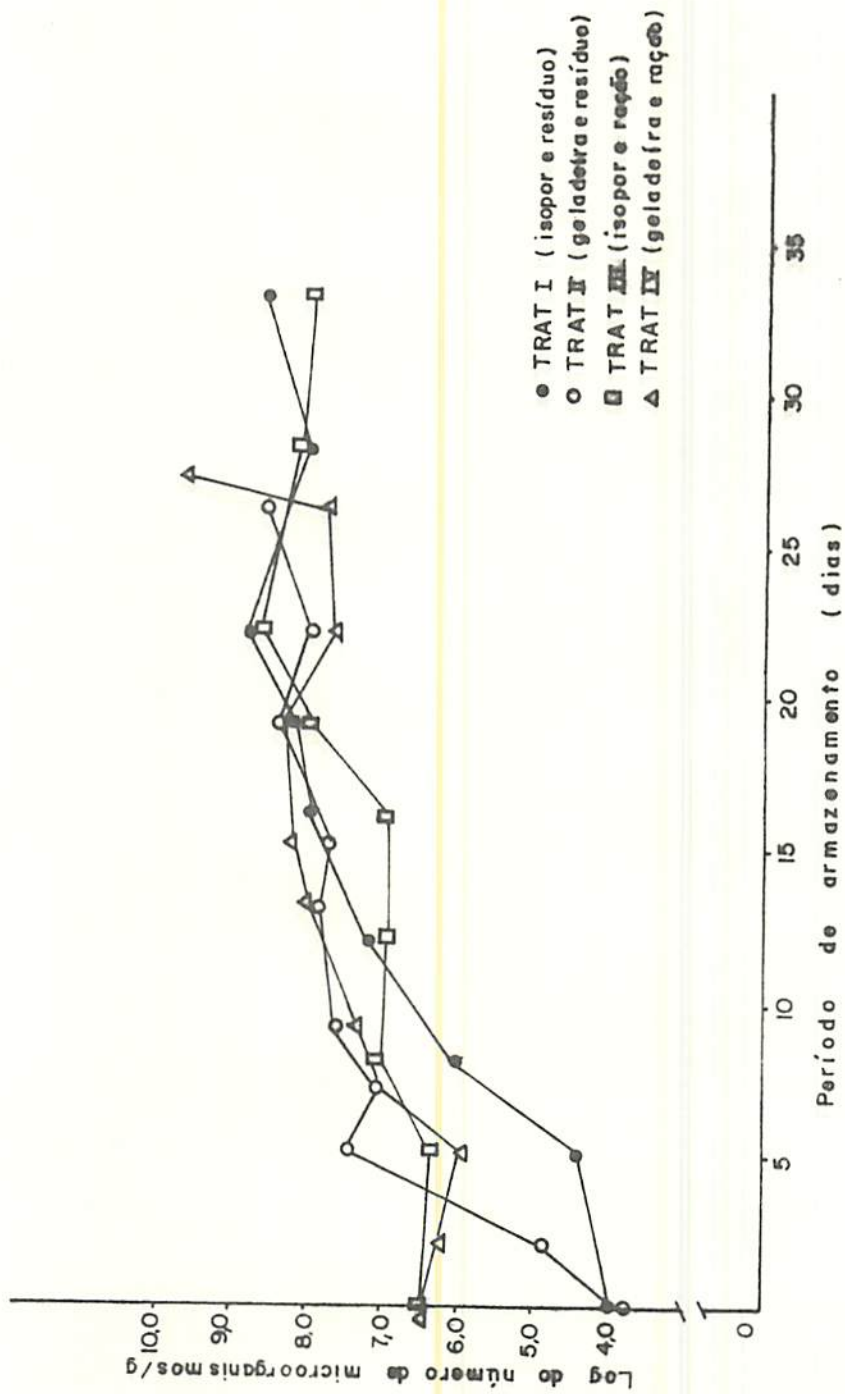


Figura 4. Contagem total de microorganismos aeróbios mesófilos isolados de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

flora psicrotrófica.

Levando-se em consideração apenas o critério da contagem na avaliação da qualidade do pescado pôde-se observar um comportamento semelhante entre a flora mesófila e a psicrófila. Nos tratamentos III e IV, a contagem inicial elevada, acima dos padrões estabelecidos pela Legislação Brasileira (15) fez com que os pescados apresentassem valores de $10^6/g$, quando armazenados em gelo, num período compreendido entre o 2º e 5º dias; já nos tratamentos I e II, estes valores foram alcançados entre o 5º e 7º dias de armazenamento.

CURRAN et alii (22) em seus trabalhos com diferentes espécies de pescados marinhos armazenados em gelo, relataram que as contagens realizadas a 4° e 27°C foram virtualmente as mesmas, ocorrendo apenas algumas variações no início do armazenamento.

Em relação à temperatura de armazenamento também foi observado um comportamento semelhante entre a flora mesófila e a psicrófila, com o pescado armazenado em temperaturas mais elevadas alcançando valores maiores de contagens em um período menor, do que aqueles observados com o pescado mantido em temperaturas menores. CURRAN et alii (21) relataram resultados semelhantes em seus experimentos com *Nemipterus japonicus* armazenados em diferentes temperaturas. Os autores encontraram contagens mais baixas nos pescados armazenados em temperaturas inferiores. Estas diferenças, prosseguem os autores, pode ser devida ao estabelecimento mais rápido da flora em temperaturas mais elevadas e tam -

bem ao efeito da lavagem do gelo de fusão, que pode contribuir para prolongar a vida de prateleira do pescado armazenado a 0°C.

Considerando-se o aspecto do tipo de alimentação das tilápias, também foi observado um comportamento semelhante entre as contagens de mesófilos e psicrófilos.

Fazendo-se uma relação entre a contagem microbiológica com os teores de BVT, observou-se que ao redor do 27º dia de armazenamento, nos tratamentos II e IV, os valores máximos de BVT obtidos coincidiram com o maior valor na contagem; tal fato foi observado por LEITÃO et alii (47). Entretanto, nos tratamentos I e III tal relação não foi observada, como ocorreu nos experimentos de GOES (37).

4.2.3. Flora microbiana

Os microorganismos isolados de tilápia nos diferentes tratamentos podem ser vistos nas Tabelas de 1 a 4. Os seguintes gêneros foram observados: *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Aerococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Acinetobacter*. Tais gêneros são de ocorrência natural em pescados de água doce, conforme anteriormente citado (33, 49).

KAZANAS (41) em suas pesquisas com perca amarela (*Perca flavescens*) um pescado de água doce, relatou a ocorrência de bactérias dos gêneros *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, Ba-

cillus, *Sarcina*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Vibrio* e *Aeromonas*. ACUFF et alii (1) trabalhando com tilápias, relataram um predomínio de espécies Gram negativas, como *Moraxella-Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* e *Vibrio*.

Pode-se observar que muitos dos gêneros isolados neste experimento, são também relatados em pescados marinhos. Assim, LEITÃO et alii (37) trabalhando com sardinhas (*Sardinella aurita*) citaram a ocorrência de *Vibrio*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus* e *Lactobacillus* em seus experimentos, enquanto WATANABLE (71) isolou de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) os seguintes gêneros bacterianos: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus* e *Corynebacterium*.

Na Tabela 1, pode-se observar os gêneros microbianos expressos em porcentagem, encontrados nos diferentes tratamentos utilizados. Em relação à flora Gram positiva, verifica-se que houve uma equivalência no número de *Corynebacterium* isolados, o mesmo ocorrendo com *Bacillus* e *Listeria*, sendo que em relação a *Bacillus* ocorreu uma porcentagem um pouco maior nas amostras de tilápias alimentadas com resíduos de suínos. Na flora Gram negativa, observou-se um predomínio de *Pseudomonas*, ocorrendo uma maior porcentagem destes microorganismos nas amostras de tilápias alimentadas com resíduos de suínos; tal fato poderia explicar a deterioração mais rápida destas amostras quando mantidas em geladeira.

Tabela 1. Gêneros microbianos expressos em porcentagem encontrados nos diferentes tratamentos usados na conservação de tilápia (*Oreochromis niloticus*)

Tratamentos	Gêneros (%)								Totais gêneros isolados por tratamento	
	Gram +				Gram -					
	Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter		Acinetobacter
I										
(Isopor/resíduo)	23,33	40,00	2,22	1,11	2,22	2,22	20,00	6,66	2,22	90
II										
(Gelad./resíduo)	24,00	37,00	4,00	1,00	2,00	1,00	23,00	4,00	1,00	100
III										
(Isopor/ração)	22,22	36,66	8,88	2,22	2,22	3,33	14,44	10,00		90
IV										
(Gelad./ração)	21,82	31,82	10,91	3,64	0,91	4,55	13,64	9,09	2,73	110
Totais de gêneros isolados	22,82	36,15	6,66	2,05	1,79	3,33	17,69	7,43	1,54	390

Tabela 2. Gêneros microbianos isolados a 5°C e 32°C de tilápia (*Oreochromis niloticus*) armazenadas em isopor com gelo e em geladeira e alimentadas com ração e resíduos de suínos

Temperaturas de isolamento (°C)	Gêneros (%)									
	Gram +							Gram -		
	Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Streptococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter	Acinetobacter
5	21,54	34,36	6,15	1,02	0,51	0,51	3,59	20,51	9,74	2,05
32	24,10	37,95	7,18	3,08	3,08	0,51	3,08	14,87	5,13	1,03

Tabela 3. Gêneros microbianos expressos em porcentagem isolados de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo

Dias de armazenamento	Gêneros (%)									
	Gram +					Gram -				
	Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Streptococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter	Acinetobacter
0	50	10	30	10						
5	45	25	15		5			10		
8	30	15	5	5	5			25	10	5
12	40	35						15	10	
16	10	65					10	15		
19	10	65			5		5	10	5	
22	5	50					10	20	10	5
28	10	35			5			30	20	
33	5	45						30	20	

Tabela 4. Gêneros microbianos expressos em porcentagem isolados de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduo de suínos, armazenadas em geladeira

Dias de armazenamento	Gêneros (%)									
	Gram +					Gram -				
	Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Streptococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter	Acinetobacter
0	50	10	30	10						
2	15	15	20		10	10		10	10	10
5	40	15	15	10			10			
7	30	30	5				5	25	5	
9	25	40						15	15	5
13	20	45			5		10	15		5
15	10	65					10	15		
19	10	55					5	15	15	
22	10	50		5				25	10	
26	15	30	10					35	10	
27	30	10						50	10	

Nos diferentes tratamentos utilizados verificou-se uma maior porcentagem de *Bacillus* (36,15%) seguidas por *Corynebacterium* (22,82%) e *Pseudomonas* (17,69%).

A maior porcentagem de gêneros Gram positivos encontrados nos diferentes tratamentos concordam com os relatos de FRAZIER (33) e LISTON (49). Entretanto, HOFFMAN et alii (39) em suas pesquisas com tilápias e outros pescados de água doce, observaram a presença na flora inicial de bactérias Gram negativas dos gêneros *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Flavobacterium* que predominavam também nos períodos finais de armazenamento. Resultados semelhantes foram também descritos por ACUFF et alii (1).

Na Tabela 2 observa-se os gêneros microbianos isolados, com relação às diferentes temperaturas de incubação, utilizadas no isolamento dos microorganismos. Pode-se observar que não houve uma variação acentuada entre os gêneros identificados, ocorrendo isolamento dos mesmos tipos bacterianos a 5°C e 32°C.

Um aspecto que deve ser notado é a ocorrência de um número maior de bactérias Gram positivas isoladas a 32°C, sendo que a flora Gram negativa apresentou um pequeno decréscimo na referida temperatura. As maiores porcentagens obtidas a 5°C, com relação à flora Gram negativa, pode ser explicada pela natureza psicrófila destes microorganismos e também por suas características peculiares, conforme cita SHEWAN (66).

LERKE et alii (48) em suas pesquisas com linguado (*Paraphrys vetulus*) observaram que espécies de *Micrococcus* não fo-

ram isoladas a 5°C mas apresentaram intenso crescimento a 15°C.

As Tabelas 3 e 4 relacionam os gêneros microbianos, expressos em porcentagens, isolados por dias de armazenamento, nos diferentes tratamentos. Observa-se que os gêneros *Corynebacterium* e *Bacillus* apresentaram um leve decréscimo no final do experimento, em todos os tratamentos, sendo que o restante da flora Gram positiva tendeu a desaparecer. Com relação à flora Gram negativa observou-se que *Pseudomonas* e *Achromobacter* apresentaram porcentagens mais ou menos constantes, ocorrendo um ligeiro acréscimo destes tipos bacterianos no final do período de armazenamento.

Velankar & Kamasastri, citados por SHEWAN (67), em seus estudos sobre deterioração de diferentes espécies de pescados da Índia, armazenados a 0°C e 3°C, descreveram que enquanto *Bacillus* eram predominantes na flora inicial, espécies Gram negativas como *Pseudomonas* e *Achromobacter* tornavam-se dominantes na flora final. CURRAN et alii (21) pesquisando a deterioração de besugo (*Nemipterus japonicus*) observaram que o número de *Pseudomonas* no pescado armazenado a 5°C e 10°C foi aproximadamente um ciclo logarítmico menor do que aquele número observado no pescado mantido em gelo. Segundo os autores, isto foi possivelmente devido à habilidade dos outros gêneros presentes nas amostras serem capazes de crescer em temperaturas de armazenamento levemente elevadas.

SHAW & SHEWAN (65) relatam que o abaixamento da temperatura de armazenamento em torno de 1°C na região do zero pode

ser muito importante na redução da taxa de deterioração microbiana. Os autores prosseguem informando que mesmo um leve acréscimo na temperatura citada, pode aumentar a referida taxa apreciavelmente e também permitir que organismos deteriorativos mesófilos cresçam.

Em relação ao tipo de armazenamento utilizado, observou-se que os pescados mantidos em isopor com gelo apresentavam sinais de deterioração e contagem total elevada com 33 dias. Além do efeito da lavagem da água de degelo já relatada (21), um outro fator que poderia explicar o longo período de armazenamento observado, seria a presença em maior porcentagem de microorganismos considerados como não deterioradores. Assim, LERKE et alii (48) em seus estudos sobre a caracterização de microorganismos deterioradores, relataram que *Micrococcus*, *Flavobacterium* e *Corynebacterium* não se apresentavam como deterioradores nos testes utilizados, o mesmo sendo observado por ADAMS et alii (2). No entanto, a ação de deterioradores fracos, segundo LERKE et alii (48) não deve ser desprezada, pois os dados relatados foram obtidos em condições artificiais. A deterioração natural, prosseguem os autores, deve ser totalmente diferente, envolvendo a interação de numerosos fatores provenientes da concorrência ou das atividades sucessivas dos vários microorganismos.

Com relação a porcentagem de *Pseudomonas* encontrada, sua participação no processo deteriorativo foi relatada por vários pesquisadores. SHAW & SHEWAN (65) citam que este gênero é o principal agente deteriorador em pescados armazenados em refrigeração;

GILLEPSIE & MACRAE (36) em seus estudos com pescados marinhos, relatam que *Pseudomonas* foi o principal agente deteriorador encontrado. Entretanto, LERKE et alii (48) assim como ADAMS et alii (2) observaram que entre os gêneros *Pseudomonas* e *Achromobacter* existem espécies deterioradoras e não deterioradoras.

SHAW & SHEWAN (65) informam que o papel dos muitos microorganismos que estão presentes no pescado durante o processo deteriorativo e que contudo, não desenvolvem características deterioradoras, é desconhecido. Segundo os autores, estes microorganismos parecem não ser competidores com os verdadeiros deterioradores e devem exercer efeitos sinérgicos e antibióticos de vários tipos.

Na Figura 5 A e B são mostrados o comportamento da flora Gram positiva e negativa considerando-se os tipos de armazenamentos utilizados no experimento. Verifica-se que não houve grande diferença em relação aos tratamentos usados, notando-se que a tendência foi de um decréscimo na carga Gram positiva total e de um aumento gradual da flora Gram negativa durante o período de armazenamento. Resultados semelhantes foram descritos por ACUFF et alii (1).

Com relação ao tipo de alimentação dada às tilápias, pode-se verificar na Figura 5 C e D que a tendência foi idêntica à anteriormente citada, com pequenas variações.

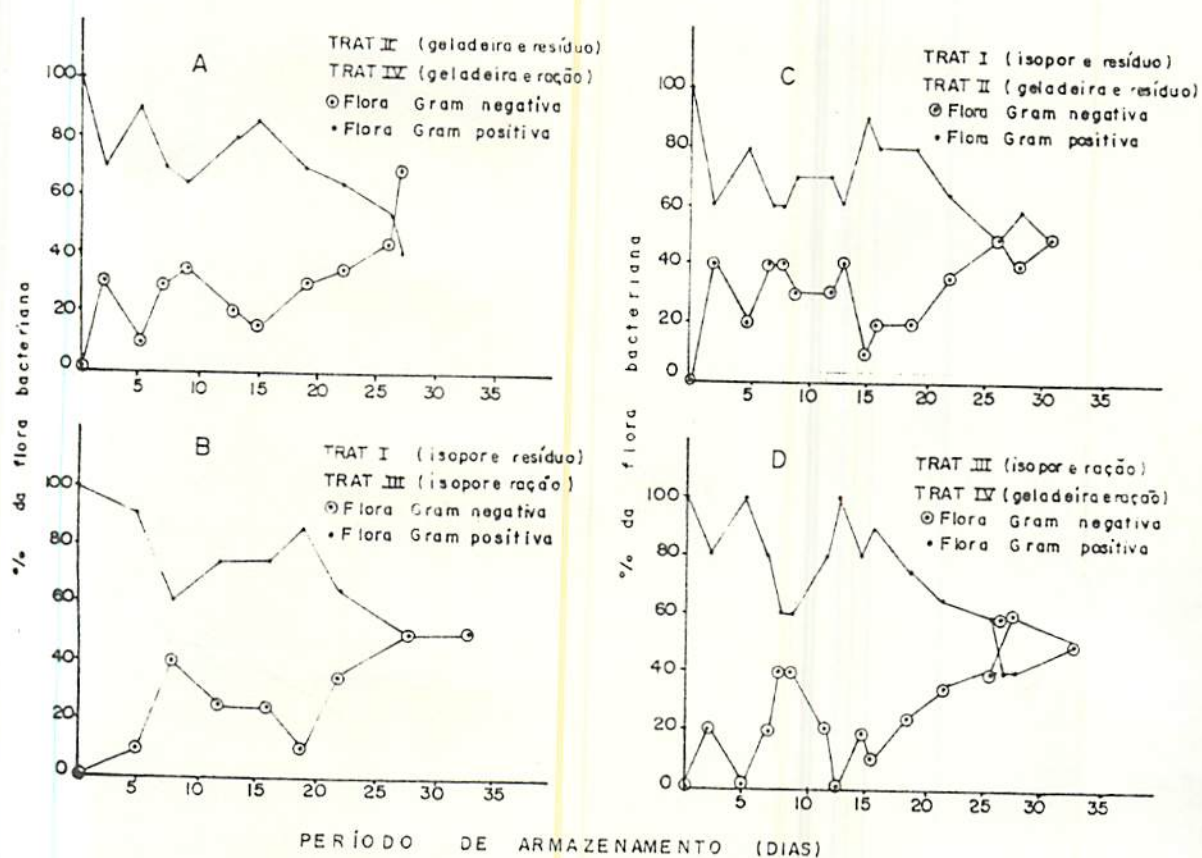


Figura 5. Flora bacteriana Gram positiva e Gram negativa isoladas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

5. CONCLUSÕES

Nas condições em que se realizou este experimento, concluiu-se que:

- 1) O pH não foi afetado pelas diferentes temperaturas de armazenamento e tipo de alimentação usada.
- 2) As bases voláteis totais sō alcançaram valores acima daque - les estabelecidos pela Legislação Brasileira, quando as amostras de tilápia foram armazenadas em geladeira.
- 3) Nos diferentes tratamentos não foi verificada variação apre - ciável com relação ã contagem microbiolōgica apresentando um aumento semelhante durante o período de armazenamento.
- 4) Foram detectados gêneros microbianos de ocorrência natural em pescados de água doce, havendo uma maior predominância, no início do período de armazenamento, da flora Gram positiva, ocorrendo um ligeiro acrêscimo da flora Gram negativa, no fi - nal do experimento.
- 5) Os gêneros *Bacillus* e *Corynebacterium* ocorreram em maior nū - mero seguidos por *Pseudomonas* e *Achromobacter*.

- 6) A relação contagem microbiológica - bases voláteis totais somente foi verificada ao redor do 27º dia de armazenamento em geladeira, o mesmo não ocorrendo em relação ao armazenamento em isopor com gelo.
- 7) Pelas análises realizadas, o tempo de conservação da tilápia armazenada em isopor com gelo situou-se entre 19 e 28 dias e naquelas armazenadas em geladeira, de 13 a 22 dias.

6. RESUMO

Oitenta amostras de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração comercial e resíduos de suínos foram armazenadas em isopor com gelo (temperatura de $0 \pm 2^\circ\text{C}$) e em geladeira (temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$) e analisadas durante trinta e três dias em intervalos irregulares. Objetivou-se neste experimento verificar os teores de bases voláteis totais e índices de pH durante o período de armazenamento, bem como o comportamento da flora bacteriana aeróbica mesofílica e psicofílica e a identificação e predominância dos microorganismos existentes nas amostras analisadas.

Com relação ao parâmetro pH, verificou-se que os valores encontrados não diferiram entre si em todos os tratamentos, sendo que foram encontrados valores superiores a 6,5 (citado como limite na Legislação Brasileira) somente após o décimo quinto dia. O comportamento das bases voláteis totais apresentou valores acima de 30,0 mg N/100 g de pescado somente nas amostras de tilápia armazenadas em geladeira.

A contagem total de microorganismos aeróbios mesófilos

e psicrófilos teve uma variação durante o período de armazenamento de 4,0 a 9,7 UFC/g nos diversos tratamentos. A carga microbiana das amostras de peixes alimentados com ração apresentou-se mais elevada na contagem inicial do que a daqueles alimentados com resíduos de suínos.

A flora microbiana detectada constituiu-se basicamente de bactérias Gram positivas e negativas dos gêneros: *Corynebacterium* (22,82%), *Bacillus* (36,15%), *Micrococcus* (6,66%), *Aerococcus* (2,05%), *Staphylococcus* (1,79%), *Streptococcus* (0,51%), *Listeria* (3,33%), *Pseudomonas* (17,69%), *Achromobacter* (7,43%) e *Acinetobacter* (1,54%). Notou-se uma tendência no aumento da flora Gram negativa ao final do período de armazenamento com consequente decréscimo da flora Gram positiva.

O período de armazenamento para aquelas amostras de tilápia alimentadas com resíduos de suínos e armazenadas em geladeira foi de vinte e seis dias, sendo que após este período as mesmas já apresentavam sinais visíveis de deterioração. O mesmo não ocorreu com os outros tratamentos, que possibilitaram análises de vinte e seis a trinta e três dias.

7. SUMMARY

Eighty samples of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with commercial ration and swine wastes were stored in boxes with ice (temperature from $0 \pm 2^{\circ}\text{C}$) and in refrigerator (temperature from $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$) and observed during thirty three days at irregular intervals. The objectives of this experiment were to verify total volatile bases grades and pH rates during the storage period, as well as the behaviour of psychrophilic and mesophilic aerobic bacterial flora; to identify the microorganisms found in the samples and to observe which of them were predominant.

In relation to pH, it was verified that the values found did not differ from treatment to treatment. Values higher than 6,5 (mentioned as a limit in Brazilian law) were found only after the fifteenth day. The total volatile bases showed values over 30,0 mg N per 100 g of fish only in the samples stored in refrigerator.

The psychrophilic and mesophilic aerobic microorganisms total counts varied during storage time between 4,0 and 9,7 UFC/g in both treatments. The microbial number of the samples

fed with ration was in initial count higher than that from samples fed with swine wastes.

The microbial flora detected was mainly made up of Gram negative and positive bacteria from the genera: *Corynebacterium* (22,82%), *Bacillus* (36,15%), *Micrococcus* (6,66%), *Aerococcus* (2,05%), *Staphylococcus* (1,79%), *Streptococcus* (0,51%), *Listeria* (3,33%), *Pseudomonas* (17,69%), *Achromobacter* (7,43%) and *Acinetobacter* (1,54%). A tendency of growth in Gram negative flora, besides a decrease in Gram positive population, was observed by the end of the storage.

The storage period of the samples fed with swine wastes and stored in refrigerator lasted twenty six days, and after that they were already showing visible signs of spoilage. The same didn't happen to the others, which could be analysed from twenty six up to thirty three days.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACUFF, G.; IZAT, A.L. & FINNE, G. Microbial flora of pond-reared tilapia (*Tilapia aurea*) held on ice. Journal of Food Protection, Ames, 47(10):778-80, Oct. 1984.
2. ADAMS, R.; FARBER, L. & LERKE, P. Bacteriology of spoilage of fish muscle. II - Incidence of spoilers during spoilage. Applied Microbiology, Washington, 12(3):277-9, May 1964.
3. ALBUQUERQUE FILHO, G.C.; CAMPOS, E.J.; CAVALCANTE, S.S. & SAMPAIO, J.B.M. Emprego de fezes de suínos na alimentação de carpas (*Cyprinus carpio* LINNAEUS). Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 28(2):147-52, 1976.
4. ALMEIDA, A.J.L. de & BARD, J. A criação consorciada de animais domésticos/tilapia híbrida. In: CENTER TECHNIQUE FORESTIER TROPICAL. Notes et documents sur la peche et la pisciculture. Nogent-sur-Marne. p.1-16. 1981.

5. ANGEL, S.; WEINBERG, Z.G.; JUVEN, B.J. & LINDNER, P. Quality changes in the fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) during storage on ice. Journal of Food Technology, Oxford, 20(5):553-60, Oct. 1985.
6. ANTONACOPOULOS, N. Métodos sensoriales y químicos de reconocimiento. In: LUDORFF, W. & MEYER, V. El pescado y los productos de la pesca. 2ed. Zaragoza, Editorial Acríbia, 1973. p.231-75.
7. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO. Compêndio de normas e padrões para alimentos. São Paulo, 1978. 281p.
8. BAKER, D.A.; SMITHERMAN, R.O. & McCASKEY, T.A. Longevity of *Salmonella typhimurium* in *Tilapia aurea* and water from pools fertilized with swine waste. Applied and Environmental Microbiology, Washington, 45(5):1548-54, May 1983.
9. BALAKRISHAN NAIR, R.; THAMARANI, P.K. & LAHIRY, N.L. Studies on chilled storage of fresh water fish. I - Changes occurring during iced storage. Journal of Food Science and Technology, Mysore, 8:53-6, June 1971.
10. BANWART, G.F. Basic food microbiology. Westport. 1979. 781p.
11. BARD, J. Piscicultura intensiva de tilápia. Informe Agropecuario. Belo Horizonte, 6(67):24-8. July 1980.



12. BERAQUET, N.J. & LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas "post mortem" em pescado. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 22(2):169-92, abr./jun. 1985.
13. BLIGH, E.G. Specific problems in the quality assessment of freshwater fish. In: KREUZER, R., ed. Fish inspection and quality control. London, Fishing News, 1971. p.81-6.
14. BRAMSTEDT, F. & AUERBACH, M. The spoilage of freshwater fish. In: BORGSTROM, G. ed. Fish as food. New York, Academic Press, 1961. v.1, p.613-34.
15. BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, 1974. 364p.
16. _____. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. I - Métodos Microbiológicos. Brasília, 1981. p.ir.
17. BRASIL. Superintendência de Desenvolvimento da Pesca. Plano anual de trabalho. Brasília, 1976. 119p.
18. BURNS, R.P. & STICKNEY, R.R. Growth of *Tilapia aurea* in ponds receiving poultry wastes. Aquaculture, Netherland, 20: 117-21, 1980.

19. COBB III, B.F.; VANDERZANT, C.; HANNA, M.O. & YEH, C.P.S. Effect of ice storage on microbiological and chemical changes in shrimp and melting ice in a model system. Journal of Food Science, Chicago, 41(1):29-34, Jan./Feb. 1976.
20. CONNELL, J.J. Control de la calidad del pescado. Zaragoza, Editorial Acríbia, 1978. 250p.
21. CURRAN, C.A.; CRAMMOND, V.B. & NICOLAIDES, L. Spoilage of fish from Hong Kong at different storage temperatures. 2- Quality changes in threadfin bream (*Nemipterus japonicus*) stored at 0 (in ice), 5 and 10°C. Tropical Science, London, 23(2):129-45, 1981.
22. _____; NICOLAIDES, L. & AL-ALAWI, Z.S. Quality changes during iced storage of three commercially important species of fish from Bahrain. Tropical Science, London, 23(4): 253-68, 1981.
23. _____; _____; POULTER, R.G. & PONS, J. Spoilage of fish from Hong Kong at different storage temperatures. 1 - Quality changes in gold-lined sea bream (*Rhabdosargus sarba*) during storage at 0 (in ice) and 10°C. Tropical Science. London, 22(4):367-82, 1980.
24. _____; POULTER, R.G.; BRUETON, A.; JONES, N.R. & JONES, N. S.D. Effect of handling treatment on fillet yields and quality of tropical fish. Journal of Food Technology, Oxford, 21(3):301-10, June 1986.

25. CUTTING, C.L. Changes in the pH and buffering capacity of fish during spoilage. Journal Science Food Agriculture, London, 4:597-603, Dec. 1953.
26. DAWOOD, A.A.; ROY, R.N. & WILLIAMS, C.S. Effect of delayed icing on the storage life of rainbow trout. Journal of Food Technology, Oxford, 21(2):159-66, Apr. 1986.
27. DEGANI, G.; DOSORETZ, C.; LEVANON, D.; MARCHAIM, V. & PERACH, Z. Feeding *Sarotherodon aureus* with fermented cow manure. Bamidgeh, Nir Favid, 34(4):119-29, Dec. 1982.
28. DELLA MODESTA, R.C. Estudo do Índice de refração do fluído dos olhos de peixes de água doce como Índice de frescor. Piracicaba, USP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 1976. 173p. (Tese MS).
29. DISNEY, J.G.; CAMERON, J.D.; HOFFMAN, A. & JONES, N.R. Quality assessment in tilapia species. In: KREUZER, R. ed. Fish inspection and quality control. London, Fishing News/FAO. 1971. p.71-2.
30. DRAETTA, I.S.; BALDINI, V.L.S.; IADEROSA, M. & LEITÃO, M.F.F. Alterações bioquímicas e microbiológicas do camarão-sete-barbas (*Xyphopeneaeus kroyeri*) durante a estocagem em gelo. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 23(2):169-202, abr./jun. 1986.

31. ESKIN, N.A.M.; HENDERSON, H.M. & TOWNSED, R.J. Biochemical changes in foods: meat and fish. In: _____. Biochemistry of Foods. New York, Academic Press, 1971. p.ir.
32. FARBER, L. Freshness tests. In: BORGSTRON, G. ed. Fish as food. New York, Academic Press, 1965. v.4, cap.2. p.65.
33. FRAZIER, W.C. Contaminación, conservación y alteraciones del pescado y outros productos marinhos. In: _____. Microbiología de los alimentos. 2.ed. Zaragoza, Editorial Acríbia, 1976. cap.17, p.280-91.
34. GAY, J.M. Food spoilage: spoilage of fresh and cured meats, poultry and seafoods. In: _____. Modern food microbiology. 2.ed. New York. D. Van Nostrand. 1978. cap.7. p.117-46.
35. GEROMEL, E.J. & FORSTER, R.J. Princípios fundamentais em tecnologia de pescados. São Paulo, Secretaria da Indústria, Ciência e Tecnologia, 1982. 127p.
36. GILLEPSIE, N.C. & MACRAE, J.C. The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage. Journal of Applied Bacteriology, New York, 39:91-100, 1975.
37. GÕES, J.A.W. Efeito do atraso no resfriamento sobre a caracterização da qualidade da tilápia (*Oreochromis niloticus*) conservada com gelo. Lavras, ESAL, 1987. 118p. (Tese MS).

38. GRAHAM, J. Temperature measurement and fish. Edinburgh, Majesty's Stationery Office e HMSO, s.d. 11p. (Torry Advisory Note, 20).
39. HOFFMANN, A.; DISNEY, J.G.; PINEGAR, A. & CAMERON, J.D. The preservation of some oest african freshwater fish. African Journal of Tropical Hydrobiology and Fisheries. Jin-ga, Uganda, 25:1-12, 1974.
40. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz; métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2.ed. São Paulo, 1976. v.1, 371p.
41. KAZANAS, N. Proteolytic activity of microorganisms isolated from freshwater fish. Applied Microbiology, Washington, 16(1):128-32, Jan. 1968.
42. KLEIN, T.M. & ALEXANDER, M. Bacterial inhibitors in lake water. Applied and Environmental Microbiology, Washington, 52(4):114-8, July 1986.
43. KUAYE, A.Y. Comparação dos métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescado; parâmetros críticos e modificações. Campinas, UNICAMP - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1982. 98p. (Tese MS).
44. LAHIRY, N.L.; MOORJANI, M.N. & BALIGA, B.R. Factores influencing the keeping quality of freshwater fish in ice. Food Technology, Chicago, 17(9):123-5, Sept. 1963.

45. LEITÃO, M.F. de F. Deterioração microbiana de pescado e sua importância em saúde pública. Revista Higiene Alimentar, São Paulo, 3(3/4):143-52, set./dez. 1984.
46. _____. Microbiologia do pescado e controle sanitário no processamento. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 50:1-35, mar./abr. 1977.
47. _____; FALOMIR, C.O.; SANTOS, L.C. dos; MIYA, E.E.; SHIRO SE, I. & KAI, M. Transformações microbiológicas, químicas e organolépticas em sardinhas (*Sardinella aurita*) armazenadas sob refrigeração. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, 7(1):117-37, jun. 1976.
48. LERKE, P.; ADAMS, R. & FARBER, L. Bacteriology of spoilage of fish muscle. III - Characterization of spoilers. Applied Microbiology, Washington, 13(4):625-30, July 1965.
49. LISTON, J. Pescados, mariscos y sus productos. In: INTERNATIONAL ASSOCIATION OF MICROBIOLOGICAL SOCIETIES. Ecología microbiana de los alimentos. Zaragoza, Editorial Acribia, 1980. v.2, cap.20, p.573-612.
50. _____ & MATCHES, J.R. Fish, crustaceans and precooked seafoods. In: SPECK, M.L. ed. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, American Public Health Association, 1976. cap.40, p.570-21.

51. LUDORFF, W. El pescado como alimento. In: _____. El pescado y sus productos. Zaragoza, Editorial Acríbia, 1963. p.32-55.
52. MacFADDIN. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2.ed. Baltimore, 1980. 527p.
53. MACHADO, C.E.M. de. Criação prática de peixes; (carpa, apaiari, tucunarê, peixe-boi, black-bass, tilápia). 5.ed. São Paulo, Nobel, 1976. 120p.
54. MAIA, E.L. Comparação, conservação e utilização do curimbatã (*Prochilodus scrofa*, Steindachner 1881). Campinas, UNICAMP - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1980. 130p. (Tese MS).
55. MARTIN, R.E.; GRAY, R.J.H. & PIERSON, M.D. Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. Food Technology, New York, 32(5):188-92, May 1978.
56. MOAV, R.; WORLFARTH, G.; SCHROEDER, G.L.; HULATA, G. & BARASH, H. Intensive polyculture of fish in freshwater ponds. I - Substitution of expensive feeds by liquid cow manure. Aquaculture, Netherlands, 10:25-43, 1977.

57. MOORJANI, M.N.; IYENGAR, J.R.; VISWESWARIAH, K.; BHATIA, D. S. & SUBRAHMANYAN, V. Changes in the total volatile base, volatile reducing substances and bacterial count as indices of fresh water fish spoilage. Food Technology, Chicago, 12(8):385-6, Aug. 1958.
58. MORGA, A.A. Avaliação do índice de frescor da pescada-fogueira (*Macrondon ancylodon*) conservada em gelo. Campinas, UNICAMP - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1975. 80p. (Tese MS).
59. NETTO, F.M. Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocada em gelo. Campinas, UNICAMP - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1984. 78p. (Tese MS).
60. NEUFELD, N. Influence of bacteriological standards on the quality of inspected fisheries products. In: KREUZER, R. ed. Fish inspection and quality control. London, Fishing News, 1971. p.234-40.
61. NORT, E. Coletânea de informações práticas à indústria pesqueira; Programa de Pesquisa e Desenvolvimento Pesqueiro do Brasil - PNUD/FAO - PDP. Rio de Janeiro, SUDEPE, 1974. (Documentos Técnicos, 5).
62. PEARSON, D. Fresh foods - meat and fish. In: _____. Laboratory techniques and food analysis. New York, J. Willey, 1973. cap.7, p.167-211.

63. SANTOS, C.A.M.L. dos. Considerações sobre a deterioração dos peixes de águas tropicais. Brasília, DIPES, 1979. 11p. (Boletim Informativo DIPES, Séries Ensaio, 3).
64. _____. The storage of tropical fish in ice - a review. Tropical Science, London, 23(2):97-127, 1981.
65. SHAW, B.G. & SHEWAN, J.M. Psychrophilic spoilage bacteria of fish. Journal of Applied Bacteriology, New York, 31(1):89-96, Mar. 1968.
66. SHEWAN, J.M. The biochemistry and microbiology of low temperature spoilage. Food Tecnology in Australia, North Sydney, 409-10, Nov. 1976.
67. _____. The microbiology of sea-water fish. In: BORGSTROM, G., ed. Fish as food; production, biochemistry and microbiology. New York, Academic Press, 1961. v.4, cap. 14, p.487-560.
68. SOUZA, E.C.P.M. de & TEIXEIRA FILHO, A.R. Piscicultura fundamental. 2.ed. São Paulo, Nobel, 1986. 88p.
69. STICKNEY, R.R.; HESBY, J.H.; McGEACHIN, R.B. & ISBELL, W.A. Growth of *Tilapia nilotica* in ponds with differing histories of organic fertilization. Aquaculture, Netherlands, 17:189-94, 1979.

70. TOMIYASU, Y. & ZENITANI, B. Spoilage of fish and its preservation by chemical agents. Advances in Food Research, New York, 7:41-82, 1957.
71. WATANABLE, K. Spoilage in iced "pescada-foguete" (*Macrodon ancylodon*) from south Brazilian fishing ground. Boletim do Instituto Oceanográfico, São Paulo, 12(2):1961.

ANEXOS

ANEXO 1. Valores de pH de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos: armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

Dias de armazenamento	Tratamentos			
	I	II	III	IV
	Isopor/resíduo	Geladeira/resíduo	Isopor/ração	Geladeira/ração
0	6,8	6,8	6,7	6,7
2		6,2		6,2
5	6,0	6,3	6,1	6,3
7		6,4		6,4
8	6,2		6,3	
9		6,4		6,5
12	6,5		6,3	
13		6,5		6,4
15		6,6		6,4
16	6,3		6,3	
19	6,4	6,5	6,2	6,4
22	6,4	6,5	6,4	6,4
26		6,6		6,5
27				6,7
28	6,4		6,4	
33	6,7		6,4	

ANEXO 2. Valores de bases voláteis totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em mg N/100 g de amostra alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

Dias de armazenamento	Tratamentos			
	I	II	III	IV
	Isopor/resíduo	Geladeira/resíduo	Isopor/ração	Geladeira/ração
0	16,5	16,5	15,0	15,0
2		18,5		18,0
5	18,5	20,5	19,5	19,5
7		21,5		17,5
8	14,0		16,5	
9		23,0		19,0
12	17,5		15,0	
13		19,0		21,0
15		20,5		24,0
16	17,5		15,0	
19	18,0	20,0	15,0	23,0
22	22,0	24,5	18,0	24,0
26		39,5		27,0
27				30,0
28	22,0		18,0	
33	21,0		20,0	

ANEXO 3. Logarítmo do número de microorganismos aeróbios psicrófilos (5°C) totais por gramos isolados de tilápia (*Oreochromis niloticus*) nos diferentes tratamentos

Dias de armazenamento	Tratamentos			
	I	II	III	IV
	Isopor/resíduo	Geladeira/resíduo	Isopor/ração	Geladeira/ração
0	4,5	4,5	5,5	5,5
2		5,5		5,5
5	4,5	7,2	6,1	5,7
7		6,0		6,5
8	5,2		6,2	
9		6,4		7,2
12	7,2		7,0	
13		7,4		7,5
15		6,5		7,0
16	7,6		6,4	
19	8,4	8,4	7,8	8,4
22	8,5	7,0	7,0	7,4
26		8,4		7,8
27				9,5
28	7,6		7,5	
33	8,6		8,0	

ANEXO 4. Logarítmo do número de microorganismos aeróbios mesófilos (32°C) totais por gramos isolados de tilápia (*Oreochromis niloticus*) nos diferentes tratamentos

Dias de armazenamento	Tratamentos			
	I	II	III	IV
	Isopor/resíduo	Geladeira/resíduo	Isopor/ração	Geladeira/ração
0	4,0	4,0	6,5	6,5
2		4,9		6,3
5	4,4	7,5	6,4	6,0
7		7,1		7,0
8	6,1		7,1	
9		7,7		7,4
12	7,2		7,0	
13		7,9		8,0
15		7,7		8,2
16	8,0		7,0	
19	8,2	8,4	8,0	8,3
22	8,8	8,0	8,6	7,7
26		8,6		7,8
27				9,7
28	8,0		8,1	
33	8,6		8,0	

ANEXO 5. Número de microorganismos isolados a temperatura de 5°C e 32°C, de tilãpia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e armazenadas em geladeira

Dias de armazenamento	T°C	Gêneros										Gram -			
		Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Streptococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter	Acinetobacter				
0	5		1	3	1										
	32		1	3	1										
2	5			2			1								2
	32	2	1	1		1									
5	5	4	1												
	32	2			1			2							
7	5		1	1				1						1	
	32	3	2											2	
9	5	1	2												
	32	1	2											1	
13	5	1	3					1							
	32	2	3												
15	5		5												
	32	2	1												
19	5	1	3												
	32		2												
22	5														
	32		4												
26	5														
	32	2	2	2											
27	5														
	32	3	1												
Total		24	35	12	4	1	1	5	15	10	3				

ANEXO 6. Número de microorganismos isolados a temperatura de 5°C e 32°C de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com resíduos de suínos e armazenadas em geladeira

Dias de armazenamento	T°C	Gêneros									
		Gram +					Gram -				
		Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Streptococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter	Acinetobacter
0	5	5									
	32	5									
2	5			1				2	2		
	32	1	2			1	1				
5	5	2	2					1			
	32			3	1			1			
7	5	1	1					3			
	32	2	2					1			
9	5	1	3						1		
	32	2	1					2			
13	5	1	1					2		1	
	32		2			1		1			
15	5		5								
	32		2				2	1			
19	5		3					2			
	32	1	3					1			
22	5	2	3								
	32		3					2			
26	5	1	3						1		
	32		1					4			
Total		24	37	4	1	2	1	3	23	4	1

ANEXO 7. Número de microorganismos isolados a temperatura de 5°C e 32°C, de tilãpia (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com resíduos de suínos e armazenadas em isopor com gelo

Dias de armazenamento	T°C	Gêneros								
		Gram +				Gram -				
		Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter	Acinetobacter
0	5	5								
	32	5								
5	5	1	2					2		
	32	3	1	1						
8	5	2	1					1		1
	32			1	1	1		2		
12	5	1	3							
	32	1	2					2		1
16	5		3					2		
	32		5					2		
19	5	1	3							
	32		5							
22	5		1							
	32		5							
28	5		1				2			
	32	1	2					1		1
33	5		3							
	32		2							
	32	1	2					3		
			2					1		
Total		21	36	2	1	2	2	18	6	2

ANEXO 8. Número de microorganismos isolados a temperatura de 5°C e 32°C de tilápia (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com ração e armazenadas em isopor com gelo

Dias de armazenamento	T°C	Gêneros						Gram -	
		Corynebacterium	Bacillus	Micrococcus	Aerococcus	Staphylococcus	Listeria	Pseudomonas	Achromobacter
0	5		1	3	1				
	32		1	3	1				
5	5	3							
	32	2		2		1			
8	5	4	1						
	32		1						
12	5	3	1						2
	32	3	1					1	1
16	5		3			1		1	
	32	2	2			1			
19	5	1	2				1		
	32		2						
22	5	1	3					2	1
	32		3					1	
28	5		4					3	2
	32	1	3					1	
33	5		1					1	2
	32		4					2	1
Total		20	33	8	2	2	3	13	9

Quadro 9. Gêneros microbianos isolados às temperaturas de 5°C e 32°C em tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos, armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

Tipos	Gêneros										Totais	
	Alimen- tação	Armaze- namento	Temp. °C	Gram +					Gram -			
				Corynebac- terium	Bacillus	Micro- coccus	Aero- coccus	Staphylo- coccus	Strepto- coccus	Listeria		Pseudo- monas
Geladei- ra	Ração	5	7	16	8	1	1	3	12	5	2	55
		32	17	19	4	3	1	2	3	5	1	55
		5	12	14	3	1	1	2	7	5		45
Isopor	Resíduo	32	8	19	5	1	1	1	6	4		45
		5	13	21	1				10	4	1	50
		32	11	16	3	1	2	1	3	13		50
Isopor	Totais	5	10	16				2	11	5	1	45
		32	11	20	2	1	2		7	1	1	45
		5	42	67	12	2	1	1	7	40	19	4
32	47	74	14	6	6	1	6	29	10	2		

ANEXO 10. Carga bacteriana Gram positiva e Gram negativa expressas em porcentagem isoladas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) armazenadas em isopor com gelo e em geladeira

Dias de armazenamento	Flora			
	Geladeira		Isopor	
	Gram +	Gram -	Gram +	Gram -
0	100	0	100	0
2	70	30		
5	90	10	90	10
7	70	30		
8			60	40
9	65	35		
12			75	25
13	80	20		
15	85	15		
16			75	25
19	70	30	85	15
22	65	35	65	35
26	55	45		
27	40	60		
28			50	50
33			50	50

ANEXO 11. Carga bacteriana Gram positiva e Gram negativa expressas em percentagem isoladas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com ração e resíduos de suínos

Dias de armazenamento	Flora			
	Ração		Resíduo	
	Gram +	Gram -	Gram +	Gram -
0	100	0	100	0
2	80	20	60	40
5	100	0	80	20
7	80	20	60	40
8	60	40	60	40
9	60	40	70	30
12	80	20	70	30
13	100	0	60	40
15	80	20	90	10
16	90	10	80	20
19	75	25	80	20
22	65	35	65	35
26	60	40	50	50
27	40	60		
28	40	60	60	40
33	50	50	50	50