



***Avaliação da Qualidade e Segurança Alimentar de
Carapau (*Trachurus trachurus*) Descarregado na Lota de
Peniche. Influência e Características Gerais da Água de
Lavagem no Pescado Descarregado***

Ana Raquel Gomes Teixeira

2012



***Avaliação da Qualidade e Segurança Alimentar de
Carapau (*Trachurus trachurus*) Descarregado na Lota de
Peniche. Influência e Características Gerais da Água de
Lavagem no Pescado Descarregado***

Ana Raquel Gomes Teixeira

Trabalho de Projecto para obtenção do Grau de Mestre em Gestão da Qualidade
e Segurança Alimentar

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação do Doutor Raul José Silvério
Bernardino

2012

Título: Avaliação da Qualidade e Segurança Alimentar de Carapau (*Trachurus trachurus*) Descarregado na Lota de Peniche. Influência e Características Gerais da Água de Lavagem no Pescado Descarregado

Copyright © Ana Raquel Gomes Teixeira
Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche
Instituto Politécnico de Leiria
2012

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação/trabalho de projeto/relatório de estágio através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

*Aos meus pais por toda a sua ajuda, compreensão e amor
À Lua por todas as vezes que manifestou querer a minha atenção só para ela
Ao André pelo apoio, carinho e gargalhadas proporcionadas
Às Meninas!*

*Pela grande ajuda, companheirismo e momentos de puro riso que vivemos
Às amigas e aos amigos de longa data, às amizades recentes, à família e a todos os
meus animais que sem dúvidas são um grande contributo para o meu equilíbrio interior*

RESUMO

Portugal é o país da União Europeia com maior consumo *per capita* de pescado, sendo este consumo de 61,6 Kg/capita/ano; e o carapau (*Trachurus trachurus*) é a terceira espécie mais vendida na lota de Peniche. Com o crescente interesse, por parte das populações, em torno de um estilo de vida e alimentação saudáveis, surgiu o interesse de estudar a qualidade e segurança do carapau descarregado na lota de Peniche. O objetivo principal deste estudo consistiu em avaliar a influência da lavagem do carapau, utilizando a água do porto de pesca em detrimento da sua não lavagem, bem como monitorizar a evolução da degradação do pescado durante o seu percurso, desde a descarga até à sua expedição (através de simulação). Para tal, foram estudadas cinquenta amostras de carapau (trinta amostras através de análises físico-químicas e sensoriais e vinte amostras através de análises microbiológicas), recolhidas entre os meses de Outubro e Fevereiro, cujos grupos foram divididos, conservados e armazenados devidamente. Posteriormente foram determinados os teores de Azoto Básico Volátil Total (ABVT), Azoto de Trimetilamina (N-TMA), Histamina, pH, Temperatura interna, Humidade relativa, *Quality Index Method* (QIM) e realizadas análises microbiológicas ao músculo e pele, nomeadamente, pesquisa de *Escherichia coli* (*E.coli*) e contagem total de aeróbios a 30°C.

Através deste estudo foi possível verificar que em termos físico-químicos e sensoriais, a lavagem do pescado não tem influência na qualidade e segurança do carapau; microbiologicamente concluiu-se que a lavagem do pescado não é prejudicial na sua qualidade e segurança, tendo mesmo sido demonstrada uma redução da carga microbiana inicial, relativamente à contagem total de aeróbios a 30°C, no músculo da espécie em estudo, de $0,91 \times 10^3$ UFC/g. Relativamente à pesquisa de *E.coli*, não foram identificadas colónias típicas deste microrganismo. Este estudo permitiu ainda demonstrar que o método subjetivo QIM é um bom indicador de frescura, para a espécie estudada, tendo sido detetado um padrão entre a pontuação QIM atribuída e os teores de ABVT e N-TMA, sendo que quanto maior a pontuação atribuída a um exemplar de carapau, mais elevado é o seu teor de ABVT e N-TMA.

Palavras-Chave: Carapau (*Trachurus trachurus*); Qualidade Segurança alimentar; Lavagem de pescado; Azoto básico volátil total (ABVT) e Azoto de Trimetilamina (N-TMA).

ABSTRACT

Portugal is the European United country with highest *per capita* consumption of fish, 61.6 kg/capita/year; horse mackerel (*Trachurus trachurus*) is the third species most sold in Peniche. With the growing interest of population, about a healthy lifestyle, increase the interest to study the quality and safety of horse mackerel from Peniche. The main objective of this study was evaluate the influence of fish washing, using water from the fishing port instead the not fish washing; monitoring the progress of degradation of fish during its journey from the discharge until their dispatch (through simulation). To this end, we studied fifty samples of horse mackerel (thirty samples by physico-chemical and sensory and twenty samples through microbiological testing), collected between October and February, which groups were divided, preserved and stored properly. Subsequently it was determinate the levels of Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N), Trimethylamine Nitrogen (TMA-N), Histamine, pH, internal temperature, relative humidity, *Quality Index Method* (QIM) and microbiological analyzes to muscle and skin in particular finding of *Escherichia coli* (*E. coli*) and total aerobic count 30°C.

Through this study we observed, in terms of physico-chemical and sensory, that the fish washing does not influence the quality and safety of horse mackerel; microbiologically it was found that the fish washing is not harmful in their quality and security, has even been demonstrated a reduction of the initial microbial, relative to total aerobic count 30°C, in the muscle of the species under study, $0,91 \times 10^3$ CFU/g. On the subject of the detection of *E.coli*, there were no colonies typical of this microorganism. This study allowed us to demonstrate that the subjective method, QIM, is a good indicator of freshness, for the species studied, a pattern has been detected between the QIM scores assigned and the levels of TVB-N and TMA-N, so higher is the QIM score, for a specimen of horse mackerel, higher it's the level of TVB-N and TMA.

Key words: Horse mackerel (*Trachurus trachurus*); Food safety and quality; fish washing; Total volatile basic nitrogen (TVB-N) and Trimethylamine-nitrogen (TMA-N).

ÍNDICE DE MATÉRIAS

Resumo	vii
Abstract	ix
Índice de matérias	xi
Índice de figuras	xiii
Índice de quadros	xvii
Objetivos	1
Objetivos gerais	1
Objetivos específicos	2
Introdução	5
O Consumo de Pescado e a Atividade da Pesca em Portugal	5
O Pescado como Alimento	5
Consumo <i>Per Capita</i> de Pescado	6
A Atividade da Pesca	6
Descarga de Pescado em Portugal	8
Espécie em análise: Carapau (<i>Trachurus trachurus</i>)	10
Características Gerais do Pescado	10
Morfologia Geral do Pescado	10
Constituição Morfológica e Bioquímica da Carne do Pescado	11
Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado	13
Métodos Sensoriais	13
<i>Quality Index Method</i> (QIM)	14
Métodos Físicos	15
Métodos Químicos	16
Métodos Microbiológicos	17
Alterações do Pescado <i>Post-mortem</i>	17
Alterações sensoriais	18
Alterações físicas e bioquímicas	19
Microrganismos do Pescado	21
Influência dos fatores ambientais no desenvolvimento microrganismos ..	21
Contaminação do pescado	23
Metodologia	23
Amostragem	25
Carapau (<i>Trachurus trachurus</i>)	25
Água de Lavagem do Pescado Descarregado – Porto de pesca	27

Água Tratada Proveniente da Lota	28
Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Métodos Objetivos..	28
pH	28
Humidade Relativa	29
Temperatura Interna	29
Azoto Básico Volátil Total (ABVT)	29
Azoto de Trimetilamina (N-TMA)	30
Histamina	31
Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Método Subjetivo ...	32
QIM (Quality Index Method)	32
Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Microbiologia	33
Preparação das amostras	33
Preparação do diluente e dos meios de cultura	34
Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C (aeróbios totais)	35
Contagem de <i>E. coli</i>	36
Avaliação da Qualidade da Água de Lavagem do Pescado Descarregado (Porto de Pesca) e Água Salgada Tratada	36
pH	36
Contagem Microbiológica – <i>E.coli</i>	36
Tratamento estatístico	37
Resultados	39
Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Métodos objetivos ..	39
pH e Humidade relativa	39
Temperatura Interna	40
Azoto Básico Volátil Total (ABVT) e Azoto de Trimetilamina (N-TMA)	40
Histamina	41
Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Método Subjetivo ...	41
QIM (Quality Index Method)	41
Relação entre os métodos subjetivos e os métodos objetivos	42
Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Microbiologia	44
Contagem de <i>E. coli</i>	44
Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C (aeróbios totais)	46
Avaliação da Qualidade da Água de Lavagem do Pescado Descarregado (Porto de Pesca) e Água Salgada Tratada	48
pH	48
Contagem Microbiológica – <i>E.coli</i>	49

Discussão de Resultados	51
Conclusão e Perspetivas Futuras	65
Bibliografia	69
Anexos	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Classificação das artes de pesca	8
Figura 1.2. Evolução do pescado transacionado em Portugal Continental relativamente aos anos de 1998 a 2011 em toneladas	9
Figura 1.3. Transação de pescado em Portugal Continental relativo aos anos de 2010 e 2011 nas diversas delegações da Docapesca	9
Figura 1.4. Carapau (<i>Trachurus trachurus</i>)	10
Figura 1.5. Esquema da morfologia externa de um peixe ósseo	12
Figura 2.1. (A e B) – Acondicionamento das amostras de carapau recolhidas (as caixas utilizadas são de cor azul – caixa utilizada como sendo a primeira de uma pilha de caixas que são arrastadas pela chão – contudo estas encontravam-se devidamente higienizadas e apenas por esse motivo foi aceite a sua utilização)	27
Figura 2.2. Congelador de placas	27
Figura 2.3. Filetes de carapau congelados e codificados	28
Figura 2.4. Analisador de humidade	29
Figura 2.5. Termómetro digital com sonda	31
Figura 2.6. Célula de <i>Conway</i> utilizada na determinação de ABVT e N-TMA	31
Figura 2.7. Cromatógrafo líquido de alta eficiência, constituído por: 1 – <i>organizer</i> (Merck Hitachi); 2 – detetor DAD (L-2450, Merck Hitachi); 3 – suporte amostras (L-2200, VWR Hitachi); 4 – bomba quaternária (L-2130, VWR Hitachi)	32
Figura 2.8 Avaliação da frescura de Carapau através da aplicação teste QIM	33
Figura 2.9. Esquema das diluições realizadas para cada amostra: A – Pele de carapau lavado e não lavado; B – Músculo de carapau lavado e não lavado	35
Figura 3.1. Relação entre o momento inicial, relativo ao carapau de descarga – controlo, cujo tempo de exposição em lota foi de 0h, e as diferentes amostras estudadas após uma exposição de 2h em lota	45

Figura 3.2. Contagem de Aeróbios a 30°C em músculo de carapau não lavado (diluição -1 e -2)47

Figura 3.3. Contagem de Aeróbios a 30°C em músculo de carapau lavado (diluição -1 e -2)47

Figura 3.4. Contagem de Aeróbios a 30°C em pele de carapau não lavado (diluição -3 e -4)48

Figura 3.5. Contagem de Aeróbios a 30°C em pele de carapau lavado (diluição-3 e-4)...48

Figura 3.6. Colónias (bege e laranja) obtidas a partir do estudo do músculo de carapau não lavado49

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1.1. Consumo <i>Per Capita</i> de peixe na União Europeia relativa ao ano de 2007 ...7	7
Quadro 1.2. <i>Top</i> das cinco espécies mais vendidas na lota de Peniche9	9
Quadro 1.3. Morfologia do músculo branco e escuro12	12
Quadro 1.4. Classificação de microrganismos relativamente à temperatura21	21
Quadro 1.5. Classificação de microrganismos em relação à necessidade de oxigénio ...22	22
Quadro 1.6. Géneros de bactérias em função do tipo de grupo22	22
Quadro 1.7. Classificação de microrganismos dependentes da concentração de sal23	23
Quadro 2.1. Informações acerca da data, número e método de conservação aplicado às amostras de carapau recolhidas aleatoriamente na lota de Peniche. Tipo de análise realizada e período em que as amostras foram sujeitas a análise26	26
Quadro 2.2. Avaliação do grau de frescura do carapau pelo método do Índice de Qualidade34	34
Quadro 2.3. Diluente e meios de cultura, utilizados nas diferentes análises ao carapau lavado e não lavado, pele e músculo35	35
Quadro 2.4. Sementeiras realizadas para cada tipo de amostra36	36
Quadro 3.1 – Resultados obtidos para os parâmetros, pH, humidade relativa e temperatura interna no momento da descarga do pescado em lota, nas diferentes amostras estudadas (30)40	40
Quadro 3.2. Teor de azoto básico volátil total e de azoto de trimetilamina, obtidos na análise de três diferentes amostras de carapau (30)41	41
Quadro 3.3. Valores de QIM (Quality Index Method), e respetiva percentagem, referente à análise da frescura das amostras de carapau (com uma dimensão total de 30 amostras analisadas)42	42
Quadro 3.4. Relação entre as amostras analisadas e o total de pontos de demérito atribuídos (QIM) para um n de 27.42	42

Quadro 3.5. Relação entre o tipo de amostra (carapau descarga, carapau lavado, carapau não lavado) e o índice de qualidade (QIM) relativamente aos parâmetros estudados (pH, humidade relativa, teor de azoto básico volátil total e de azoto de trimetilamina).....	44
Quadro 3.6. Relação entre o valor QIM atribuído aos exemplares estudos, independentemente do seu tipo (descarga, lavado e não lavado) e os parâmetros estudados (pH, humidade relativa, teor de azoto básico volátil total e de azoto de trimetilamina)	45
Quadro3.7. Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C e de <i>E.coli</i> , em carapau lavado e não lavado em diferentes zonas da amostra (pele e músculo)	46
Quadro 3.8. Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C e <i>E.coli</i> , em pele e músculo de amostras de carapau	47
Quadro 3.9. Resultados de pH obtidos na análise dos diferentes tipos de água estudados, água porto de pesca e água salgada tratada	49
Quadro 4.1. Valores de referência para teores de ABVT, N-TMA e histamina	57

Objetivos

Objetivos gerais:

Portugal apresenta um elevado consumo *per capita* de pescado, sendo apenas ultrapassado por países como o Japão, a Islândia e alguns pequenos países insulares. Encontrando-se privilegiada em termos de localização, a península de Peniche, cercada, quase na totalidade, por área marítima, é um importante local de acesso às embarcações pesqueiras e, deste modo, ao abastecimento rápido de indústrias ligadas ao sector e aos consumidores de pescado fresco.

Para que seja possível chegar ao consumidor final, o pescado fresco é submetido, de um modo generalista, a três etapas: captura, descarga em lota e leilão (primeira venda) e por fim venda por parte dos retalhistas ao consumidor final. A última etapa deste processo é a que, ao longo dos anos, vem sendo controlado com maior frequência e alvo de maior número de análises efetivas (por entidades competentes, estudo científicos, etc.) tanto ao produto como às condições em que este é mantido, superfícies de trabalho, manipuladores, etc. Também as indústrias ligadas ao ramo da pesca têm sofrido controlos rigorosos, no entanto têm sido diminutas as análises realizadas (alvo de estudos científicos) nos pontos de origem, nomeadamente a bordo das embarcações e nos locais de descarga. É de reter, contudo, que existe um controlo, por parte das entidades competentes, nomeadamente o Médico Veterinário Oficial, enquanto técnico afeto à Direção Geral de Veterinária, que através de processos de amostragem, realiza o controlo dos produtos da pesca que são descarregados em lota (DGADR, 1998; CE, 2004^{a,b,c})

Devido à escassez de informação científica, sobre a etapa intermédia do processo de obtenção de pescado fresco, nomeadamente a descarga do pescado em lota, surgiu o interesse de estudar o pescado descarregado na Lota de Peniche e iniciar assim, o que poderá vir a ser, um estudo rigoroso de diversas espécies que são trazidas do mar até à nossa costa e posteriormente até ao nosso prato.

A Lota de Peniche é dos locais com maior percentagem de desembarques em Portugal continental e assim de extrema importância para a sociedade. O Decreto-lei n.º 375/98 se 24 Novembro estabelece as normas sanitárias relativas à produção e colocação no mercado dos produtos da pesca destinados ao consumo humano, dado que as características dos edifícios, as condições de higiene, manuseamento e conservação afetam a qualidade do pescado fresco. Depois de identificadas algumas práticas e

condições infraestruturais que poderiam colocar em risco a qualidade e segurança do pescado descarregado surgiu como objetivo deste trabalho avaliar a influência destes fatores no produto em causa. O produto estudado foi o Carapau (*Trachurus trachurus*) pois é uma das principais espécies descarregadas na lota referenciada.

Objetivos específicos:

Neste trabalho pretende-se avaliar a influência da utilização da água do porto de pesca para a lavagem do pescado descarregado no que trata à sua qualidade e segurança; caracterizar a água de lavagem a nível químico e microbiológico; e monitorizar a evolução da degradação do pescado devido à inexistência de refrigeração no local onde o pescado é descarregado, leilado e expedido.

- a) Avaliar a influência da utilização da água do porto de pescado para a lavagem do pescado descarregado através da comparação dos resultados obtidos para as amostras de carapau sujeitas a lavagem e amostras isentas de lavagem através dos seguintes parâmetros:
 - Análises físicas: pH, humidade relativa, *Quality Index Method* (QIM) e temperatura interna;
 - Análises químicas: Azoto Básico Volátil Total (ABVT), Azoto de Trimetilamina (N-TMA) e Histamina;
 - Análises microbiológicas ao músculo e à pele do carapau: *Escherichia coli* e Contagens Totais Mesófilos.
- b) Caracterização da água de lavagem através:
 - Análises físico-químicas: pH
 - Análise microbiológicas: *E.coli*.
- c) Monitorização da evolução da degradação do pescado no percurso da lota, recorrendo à análise do carapau no momento da sua descarga e no momento da sua expedição:
 - Análises físico-químicas: pH, humidade relativa, *Quality Index Method* (QIM) e temperatura interna;
 - Análises químicas: Azoto Básico Volátil Total (ABVT), Azoto de Trimetilamina (N-TMA) e Histamina;
- d) Verificar a influência da inexistência de refrigeração nas zonas de descarga de pescado, leilão e expedição.
 - Análises físico-químicas: pH, humidade relativa, *Quality Index Method* (QIM) e temperatura interna;

- Análises químicas: Azoto Básico Volátil Total (ABVT), Azoto de Trimetilamina (N-TMA) e Histamina;
- e) Verificar a existência de uma relação entre os métodos objetivos e os métodos subjetivos de análise de pescado
 - Através da comparação das análises de pH, HR, ABVT e N-TMA com o QIM.

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

A. O Consumo de Pescado e a Atividade da Pesca em Portugal

A.1 O Pescado como Alimento

É difícil determinar a data exata em que se começou a utilizar o peixe, os moluscos e os crustáceos na alimentação humana. Contudo, são infintos os documentos que comprovam a utilização do pescado na alimentação humana sobretudo na antiguidade clássica: Egípto, Grécia e Roma. Os Fenícios e os Romanos utilizaram as Costas da Península Ibérica como entrepostos conserveiros de pescado, de onde expediam peixe salgado para o abastecimento das populações do interior da Europa. Durante praticamente toda a história de Portugal, o pescado constituiu sempre uma das principais fontes de abastecimento alimentar, sendo a pesca, o meio de subsistência de maior valor na maioria das populações ribeirinhas e litorais.

A importância do pescado encontra-se igualmente retratada na literatura portuguesa onde existem inúmeras referências aos hábitos de consumo de pescado. Fernão Lopes, Gil Vicente, Bocage, Camilo Castelo Branco e Eça de Queiroz são de entre muitos os nomes de maior expressividade (Bernardo, F. *et al.*, 1997).

Atualmente o pescado pode ser comercializado nas formas *in natura* ou processado. A forma *in natura* entende-se como o pescado recentemente capturado, submetido a refrigeração e adquirido pelo consumidor ainda em estado cru. O pescado inteiro compreende apenas a manutenção do mesmo em condições de refrigeração ou de congelação, não sendo considerada esta manutenção uma forma de processamento. Já o pescado processado compreende o pescado que sofre um processo mais elaborado de manuseio e preservação, tais como: preparação de filetes, postas, filetes sem pele, etc., seguidos de congelação e armazenamento; pescado salgado; pescado fumado; pasta de pescado (*Surimi*, etc.); pescado em conserva; pescado fermentado; farinha de peixe; óleo de peixe, entre outros produtos.

O pescado é um alimento importante e até mesmo imprescindível pelos benefícios que as proteínas, os lípidos insaturados, as vitaminas e os sais minerais presentes no mesmo contribuem para a saúde humana (Vaz-Pires, P., 2006). As proteínas apresentam alto valor nutritivo sendo especialmente rico em lisina, aminoácido limitante em cereais como arroz, milho e farinha de trigo. Os lípidos do pescado, para além de uma importante fonte de energia, são ricos em ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa do tipo

ómega-3, especialmente, EPA (ácido eicosapentaenóico) e DHA (ácido docosahexaenóico) que apresentam efeitos redutores sobre os teores de triglicéridos e colesterol sanguíneo, reduzindo assim os riscos de incidência de doenças cardiovasculares (Bandarra, N. *et al.*, 2004; Foran, J. *et al.*, 2005; Hites, R. *et al.*, 2004).

Na atualidade, a exigência dos consumidores tem vindo a tornar-se cada vez maior, e as indústrias têm procurado responder a essa exigência, investindo na qualidade dos seus produtos e assegurando ao consumidor produtos que satisfaçam as suas necessidades e, ao mesmo tempo, que sejam seguros (Pacheco, T. *et al.*, 2004).

A.2 Consumo *Per Capita* de Pescado

Dados anunciados em 2008 revelam que Portugal é o País da União Europeia com o consumo *per capita* de pescado mais elevado, cerca de 61,6 Kg/ano, quadro 1.1 (FAO, 2010), consumo este que o coloca em terceiro lugar a nível mundial, depois do Japão e da Islândia (DGPA, 2007^a).

A produção nacional de pescado permite satisfazer uma procura *per capita* de apenas 23 Kg/ano que, sendo inferior ao valor consumido pela população portuguesa, se manifesta insuficiente face aos valores registados (DGPA, 2007^b). Neste sentido, para cobrir as necessidades, Portugal recorre à importação de mais de 300.000 toneladas de pescado por ano.

De acordo com a publicação do Instituto Nacional de Estatística (INE), a “Balança Alimentar Portuguesa 2003 - 2008” a disponibilidade de pescado para consumo registou um aumento significativo. O aumento de 15% das disponibilidades diárias *per capita* de pescado, no período em análise, resultou do aumento em 21% das disponibilidades para consumo de peixe e de 26% para os crustáceos e moluscos. O bacalhau, produto tão tradicional e apreciado na gastronomia nacional tem, contudo, vindo a perder importância na estrutura de consumo do pescado, apresentando neste período um decréscimo de 20%, em particular a partir de 2006. Para esta tendência não será alheio o aumento de preço que, de acordo com o índice de preços no consumidor para os produtos secos e salgados, aumentou 6,2% em 2007 e 9,4% em 2008, face a preços de 2002 (INE, 2010).

A.3 A Atividade da Pesca

Com uma zona económica exclusiva de aproximadamente 1.700.000 Km² e uma linha de costa de 2.830 Km, a pesca e o consumo de pescado em Portugal revela-se um importante fator socioeconómico (DGPA, 2007^b).

Quadro 1.1. Consumo *Per Capita* de peixe na União Europeia relativa ao ano de 2007 (Adaptado de FAO, 2010).

Consumo <i>Per Capita</i> de Peixe União Europeia 2007			
País	<i>Kg/capita/ano</i>	País	<i>Kg/capita/ano</i>
Portugal	61,6	Reino Unido	20,3
Espanha	44,8	Países Baixos	19,0
Lituânia	37,6	Estónia	16,4
França	34,2	Alemanha	15,3
Finlândia	31,7	Áustria	15,4
Malta	31,7	Letónia	12,6
Suécia	28,5	República Checa	9,9
Luxemburgo	28,0	Eslovénia	10,2
Bélgica	24,2	Polónia	10,9
Dinamarca	22,3	Eslováquia	8,1
Itália	25,4	Roménia	5,3
Chipre	27,3	Hungria	5,1
Irlanda	21,4	Bulgária	4,2
Grécia	20,9	Europa	22,1
		Mundo	17,1

A atividade da pesca em Portugal continental recai, essencialmente, em pesqueiros situados a pequenas distâncias da costa e explora, fundamentalmente, espécies como o carapau, a sardinha, a sarda, a cavala, a pescada, o tamboril, o peixe-espada, o polvo e a amêijoia. Nas Regiões Autónomas dos Açores e da Madeira, o número de bancos de pesca é mais reduzido, sendo que as espécies mais exploradas são na sua maioria pelágicas entre as quais se destacam os atuns e similares, o carapau negrão e a cavala (APA, 2001).

Os principais tipos de pesca em águas oceânicas e interiores marítimas encontram-se regulados através de sete portarias que estabelecem as características das artes passíveis de ser usadas e as suas dimensões máximas. Para além disso regula igualmente as zonas de operação, e as épocas de pesca, as malhagens autorizadas, as espécies a que a captura é dirigida, através da fixação de percentagens mínimas de captura de espécies-alvo e do estabelecimento de máximos para espécies acessórias.

As artes de pesca encontram-se divididas em três grandes grupos: passivas, rebocadas e móveis, sendo que dentro de cada grupo existem subdivisões, tal como ilustra a figura 1.1.

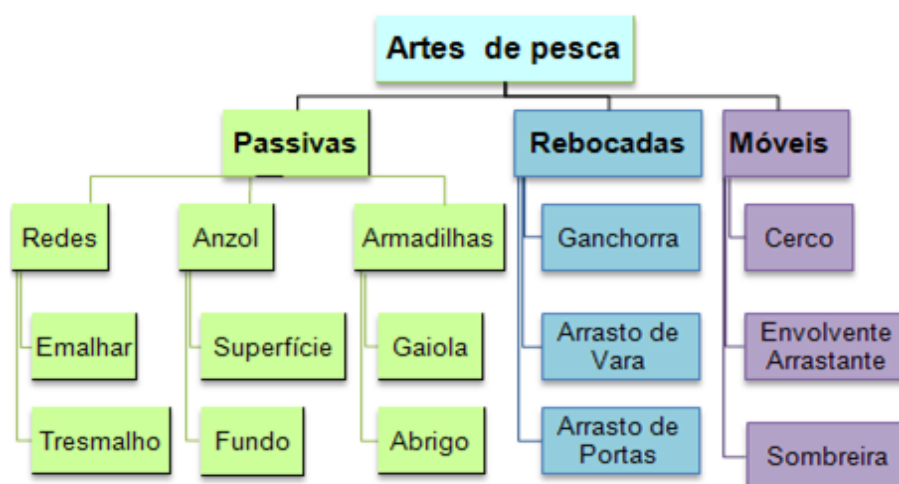


Figura 1.1. Classificação das artes de pesca (Adaptado de DGPA, 2011).

A.4 Descarga de Pescado em Portugal

Segundo dados relativos aos anos de 1998 a 2011, verificou-se que as transações de pescado em Portugal continental têm vindo a diminuir progressivamente. Assim, entre as datas referidas e tal como demonstrado pela figura 1.2, os números relativos ao pescado transacionado no continente passaram de 185.000 toneladas para 129.651 toneladas (Batista, I. *et al.*, 2001; Docapesca, 2012^a). Segundo dados da Docapesca, relativos a 2011, a maioria das capturas foi realizada pelas frotas da pesca do cerco (66%), seguindo-se das embarcações polivalentes (23%) e da pesca de arrasto (11%) (Docapesca, 2012^b).

Portugal Continental conta com seis delegações, da responsabilidade da Docapesca, que são responsáveis pela transação do pescado desembarcado. As delegações do Centro-sul e de Matosinhos registam o maior número de toneladas de pescado transacionado, 61.683 toneladas de um total de 129.649 toneladas, relativamente ao ano de 2011 (figura 1.3).

A lota de Peniche encontra-se integrada na delegação Centro, e os desembarques e transações de pequenos pelágicos, tais como sardinha, carapau e cavala são dominantes no conjunto das capturas registadas. De entre os cefalópodes, destaca-se o polvo cujas capturas têm apresentado nos últimos anos uma tendência crescente, contrariamente ao que se tem registado nas outras espécies.

No quadro 1.2 apresenta-se o ranking das cinco espécies mais vendidas na lota de Peniche, relativamente à quantidade, em toneladas, das espécies transacionadas e o preço médio em que essas transações foram realizadas no ano de 2011. A sardinha é a

espécie cuja transação é mais significativa logo seguida da cavala. O polvo é a espécie que apresenta maior valor comercial (relativamente às espécies mais vendidas) sendo o Carapau o segundo peixe mais caro.

Evolução do Pescado Transacionado em Portugal Continental

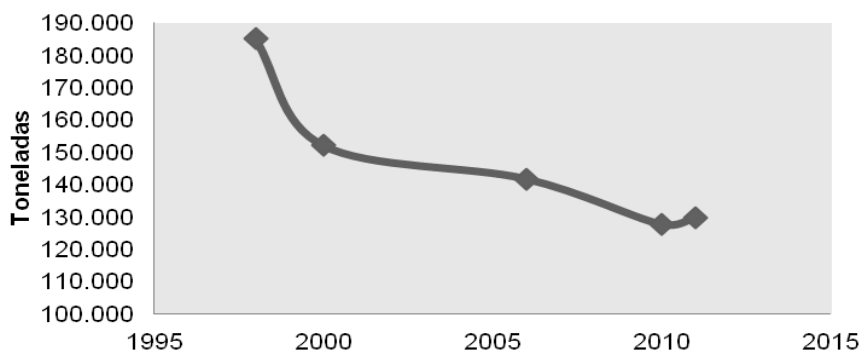


Figura 1.2. Evolução do pescado transacionado em Portugal Continental relativamente aos anos de 1998 a 2011 em toneladas (adaptado de Batista, I. *et al.*, 2001; Docapesca, 2012^a).

Pescado Transacionado em Portugal Continental

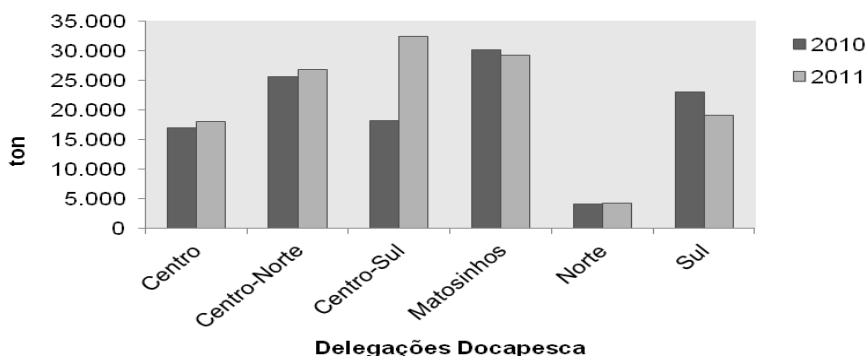


Figura 1.3. Transação de pescado em Portugal Continental relativo aos anos de 2010 e 2011 nas diversas delegações da Docapesca (adaptado de Docapesca, 2012^a).

Quadro 1.2. Top das cinco espécies mais vendidas na lota de Peniche (adaptado de Docapesca, 2012^c).

Top 5 Espécies Mais Vendidas Lota Peniche				
FAO	Nome Científico	Espécie	ton	Preço médio (€)
PIL	<i>Sardina pilchardus</i>	Sardinha	4.333	0,92
MAS	<i>Scomber colias</i>	Cavala	2.953	0,54
HOM	<i>Trachurus trachurus</i>	Carapau	1.256	1,53
JAA	<i>Trachurus picturatos</i>	Carapau negrão	923	0,40
OCC	<i>Octopus vulgaris</i>	Polvo-vulgar	633	6,22

A.5 Espécie em análise: Carapau (*Trachurus trachurus*)

O carapau (*Trachurus trachurus*), figura 1.4, é uma espécie pelágica e é a terceira espécie mais importante na costa portuguesa, tanto em termos de peso como valor, segundo informação revelada pelo INE. No ano de 2011 fora desembarcado cerca 14.287 toneladas de carapau com um valor, aproximado, de 20 milhões de euros (INE, 2012).

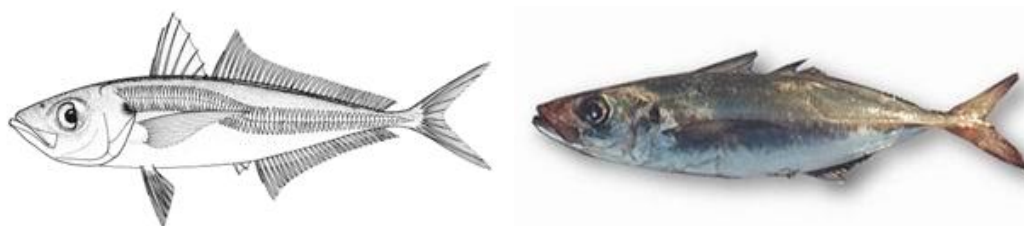


Figura 1.4. Carapau (*Trachurus trachurus*) (FAO, 2011).

Esta espécie encontra-se distribuída ao longo do oceano Atlântico, Mediterrâneo e Mar Negro (Fischer, W. *et al.*, 1987; Whitehead, P. *et al.*, 1986) e a sua idade e o crescimento são calculados através da leitura dos otólitos (Karlou-Riga, C. *et al.*, 1997).

O carapau é capturado pela frota portuguesa e espanhola nas águas atlânticas da Península Ibérica, alongando-se por todo o mar Mediterrâneo.

Os locais de preeminente abundância de carapau têm grande variabilidade pelo que, segundo Cardador, F. (2009), esta espécie se distribui na sua maioria a norte de Peniche na costa noroeste de Portugal. Esta espécie surge sobretudo ao longo da costa entre a Primavera e o Outono, podendo contudo aparecer noutras alturas do ano, em situações de mar calmo e águas claras durante vários dias. A captura é realizada fundamentalmente, por duas artes de pesca: arrasto de fundo e de cerco, entre o anoitecer e o amanhecer; em menor percentagem, a captura pode ser realizada por anzóis e redes de emalhar (Barreto, J., 2011; Moura, O. *et al.*, 2006).

B. Características Gerais do Pescado

B.1 Morfologia Geral do Pescado

No corpo dos peixes distinguem-se três partes: a cabeça, o tronco (parte compreendida entre os planos que passam respetivamente pelo bordo posterior do opérculo e pelo ânus) e a cauda (Figura 1.5). Por sua vez, o tronco dos peixes divide-se em três regiões: dorsal, lateral e ventral. Para além da cabeça, do tronco e da cauda, existem ainda outros órgãos anexos: barbatanas, barbilhos e espinhos.

Nos peixes existem barbatanas pares e ímpares, sendo que as pares são: as peitorais e as abdominais; e as ímpares são a dorsal (com um a três lobos), a caudal e a anal (Bernardo, F. *et al.*, 1997).

Quanto ao revestimento do corpo e tal como em outros vertebrados, a pele dos peixes é a primeira barreira de defesa contra as agressões exógenas. A pele dos peixes é constituída por duas camadas: a externa, designada por epiderme, que é formada por multicamadas de tecidos epiteliais escamosos e uma outra camada mais profunda a derme. Muitos peixes desenvolvem escamas originadas na camada dérmica e que têm contato com a camada muscular através de uma camada hipodérmica.

A coloração corporal é, principalmente, decorrente de pigmentos carotenoides e melanina presentes nos cromatóforos que existem na camada dérmica. Estas células contêm verdadeiros pigmentos de diversas cores: brancos nacarados (purinas), azuis e violetas (indigoides), laranjas e vermelhos (carotenoides), castanho (cromolipoides), preto ou castanho (melanina) e amarelo e verde fluorescente (flavinas).

A mudança de coloração ocorre pela coesão ou dispersão dos pigmentos nos cromatóforos, pois os característicos reflexos iridescentes e prateados dos peixes muito frescos, apenas subsistem enquanto as células que contêm os pigmentos estiverem íntegras. Assim, à medida que a decomposição progride os pigmentos vão-se decompondo e os peixes perdem o brilho e a cor.

Os olhos dos peixes estão, em regra, colocados de um e de outro lado da cabeça e dirigidos para os lados. Contudo podem estar colocados quase na linha dorsal da cabeça, fazendo uma saliência tal como no caso dos peixe-aranha.

As massas musculares esqueléticas dos peixes são constituídas por grandes músculos laterais que se estendem regularmente, de um e outro lado da cabeça, do arco peitoral e vão até à base da cauda. Cada uma das grandes massas musculares é dividida longitudinalmente nas porções dorsais e ventrais. Os músculos dos peixes são segmentados em planos verticais sucessivos de forma característica e variável de espécie para espécie (Bernardo, F. *et al.*, 1997; Masayoshi, Ph., *et al.*, 1999).

B.2 Constituição Morfológica e Bioquímica da Carne do Pescado

Morfologicamente, o pescado é composto pelo músculo comum (branco) e pelo músculo sanguíneo (escuro) cujas características principais se encontram descritas no quadro 1.3.

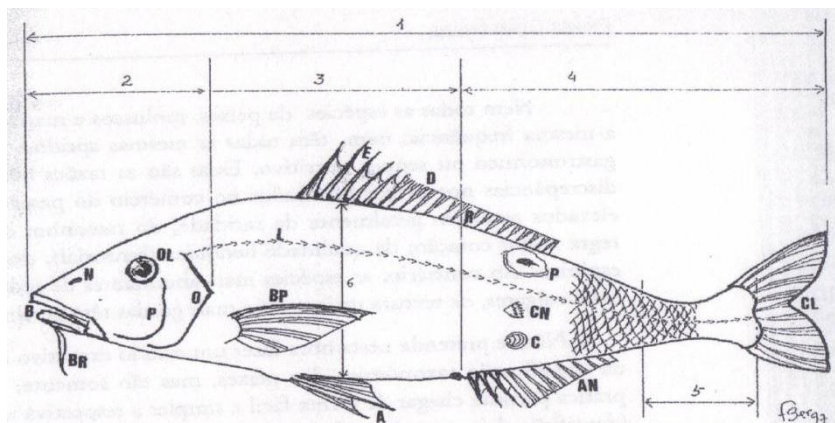


Figura 1.5. Esquema da morfologia externa de um peixe ósseo (Bernardo, F. *et al.*, 1997).

Legenda: 1- Comprimento Total; 2- Cabeça; 3- Tronco; 4- Cauda; 5- Pedúnculo caudal; 6- Altura do corpo; B- Boca; N- Espiráculo; BR- Barbilho; OL- Olho; P- Pré-opérculo; O- Opérculo; S- Escamas; L- Linha lateral; D- Barbatana dorsal; E- Espinhas; R- Raios; BP- Barbatana torácica; A- Barbatanas abdominais; AN- Barbatana anal; CL- Barbatana caudal; C- Escama cicloide; CN- Escama ctenoide; P- Escama placoide.

Bioquimicamente é possível observar que:

- O músculo escuro tem maior proporção de proteína sarcoplasmática e de estroma em relação ao músculo branco;
- O conteúdo de glicogénio é mais alto em carne sanguínea, e por esse motivo, no *rigor mortis* o pH atinge valores mais baixos (músculo escuro pH 5,6 a 6,0; músculo branco pH 6,0 a 6,4);
- O músculo escuro é mais rico em lípidos, taurina e ferro;
- Peixes de carne sanguínea contêm mais nitrogénio extrativo, sobretudo histidina

Quadro 1.3. Morfologia do músculo branco e escuro

Morfologia	Músculo	
	Branco	Escuro
Tamanho da fibra muscular	Grande	Pequeno
Forma de um corte histológico transversal da fibra muscular	Multiangular	Circular
Proporção miofibrila/ sarcoplasma	Grande	Pequena
Quantidade de membranas externas e internas no músculo	Pouco	Muita
Distribuição de vasos sanguíneos no músculo	Dispersa	Compacta

As características bioquímicas da carne do pescado, além de diferirem entre os tipos de músculos, variam também em função da época do ano, de alterações metabólicas durante o crescimento do animal, da mudança na composição do alimento, da maturação sexual, da salinidade e da temperatura da água.

Relativamente ao paladar do pescado, este é determinado pelo seu conteúdo lipídico e pela composição dos seus extratos. Em geral, os peixes que apresentam maior teor lipídico são mais saborosos (Bernardo, F. *et al.*, 1997; Masayoshi, Ph., *et al.*, 1999).

C. Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado

Devido à complexidade do processo de decomposição do pescado, torna-se muito difícil a utilização de apenas um método para avaliar a sua qualidade. Assim, a utilização combinada de alguns métodos, dependendo do objetivo, é atualmente, o mais aplicado em termos de viabilidade (Masayoshi, Ph., *et al.*, 1999).

A qualidade do pescado fresco pode ser determinada por diferentes fatores dos quais se salienta o grau de frescura. Este pode ser avaliado através de métodos físicos, químicos, microbiológicos e sensoriais. Este último é o mais utilizado devido à sua fácil execução e compreensão, não requerendo a utilização de equipamentos ou de qualquer estrutura laboratorial. Porém, este tipo de método exige pessoal treinado e apresenta um carácter subjetivo. Para evitar a subjetividade da análise sensorial é recorrente utilizarem-se tabelas de cotação, previamente estabelecidas, numa tentativa de harmonização de critérios de apreciação. Estas tabelas devem ter também em consideração os atributos que melhor caracterizam as alterações de cada espécie. Relativamente aos métodos físicos, químicos e microbiológicos, apesar da sua utilização ser muito aliciante devido à sua objetividade revelam-se, na sua maioria, morosos, destrutivos, dispendiosos e nem sempre traduzem as alterações do pescado tal como são percecionadas (Meilgaard *et al.*, 1999; Ólafsdóttir *et al.*, 1997).

C.1 Métodos Sensoriais

A necessidade de avaliar o grau de frescura do pescado transacionado em lota, de um modo expedito e sem recorrer a ensaios destrutivos leva a privilegiar a análise sensorial. Neste sentido e com vista a contribuir para a harmonização dos atributos a considerar no decorrer de uma análise sensorial, bem como das respetivas pontuações a atribuir, foram desenvolvidas, a nível da União Europeia, tabela de cotação de frescura que se encontram traduzidas em vários idiomas e publicadas no Regulamento (CE) 2406/96 de 26 de Novembro de 1996. A criação destas tabelas teve por base formação

de grupos de produtos, divididos em peixes brancos, azuis, esqualos, cefalópodes e crustáceos. Apesar do regulamento fixar normas de comercialização para mais de 40 espécies, existe ainda muitas outras, comercializadas nas lotas portuguesas, que não se encontram abarcadas. Para além desta lacuna, existe ainda uma outra relacionada com os descritores que constam nas tabelas, pois estes nem sempre são os mais adequados impedindo a descrição, convenientemente, das alterações que têm lugar. As falhas destas tabelas têm disso apontadas em diversos países o que levou ao desenvolvimento de tabelas alternativas, mais adaptadas às características específicas de cada espécie. Estas tabelas surgem de modo a tornar a sua aplicação mais expedita e para que a evolução das cotações do grau de frescura ao longo do tempo e de conservação seja linear. Esta avaliação sensorial, designada por “*Quality Index Method* – Método do Índice de Qualidade” (QIM), é atualmente utilizada em diversas lotas por toda a Europa (CE, 1996; Martinsdóttir *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2007)

C.1.1 *Quality Index Method* (QIM)

Um dos mais recentes esquemas de avaliação sensorial do grau de frescura, o método do índice de qualidade (QIM), tem como objetivo ultrapassar as dificuldades surgidas na aplicação das tabelas da União Europeia. Este método, que ultimamente tem merecido grande atenção por parte da indústria de processamento do pescado e do sector da comercialização, inspeção e investigação, foi desenvolvido em meados de 1980 na Tasmanian Food Research Unist (Bremmer, 1985; Bremmer *et al.*, 1987; Nunes *et al.*, 2007). O QIM foi desenvolvido, inicialmente, para peixe inteiro armazenado em refrigeração e, atualmente tem sido aplicado entre outros produtos, a filetes e a peixe congelado.

Este método tem por base a avaliação dos atributos que melhor traduzem as alterações que sucedem no pescado, como por exemplo, o aspeto da pele, a forma dos olhos e a cor das guelras. Para cada um dos atributos é atribuído um conjunto de dois a quatro descritores que melhor refletem as alterações ocorridas. A cada um dos descritores é atribuída uma pontuação, designada por pontos de demérito, que varia entre zero e três. O facto de cada atributo poder ter dois a quatro descritores marca uma das diferenças do QIM em relação aos esquemas tradicionais de avaliação do grau de frescura. Outra diferença reside no facto de se utilizarem vários descritores específicos para cada produto. Além disso, o grau de frescura do produto em causa não se baseia numa média, mas no número total de pontos de demérito atribuído o qual é designado por Índice de Qualidade. Os descritores usados para identificar as alterações são, tanto

quanto possível inequívocos, claros e breves, envolvendo normalmente apenas uma ou duas palavras-chave. Com este tipo de descritor foi possível minimizar os erros de interpretação por parte dos provadores, tornando este tipo de avaliação mais fácil, rápida e objetiva. Neste sistema não é dada demasiada ênfase a nenhum aspecto em particular, pelo que a amostra não é rejeitada apenas com base num único atributo. Além disso, pequenas diferenças na avaliação de um atributo não influenciam a pontuação total. Os descritores correspondentes ao estado de maior frescura são pontuados com zero, enquanto os respeitantes aos estados de degradação mais avançados são cotados com dois ou três. Por conseguinte, o Índice de Qualidade do peixe fresco é zero e vai aumentando à medida que a deterioração prossegue. Assim, a curva teórica de evolução dos pontos de demérito inicia-se em zero e o máximo é atingido quando o produto é rejeitado, recorrendo-se, normalmente, à análise sensorial do peixe cozido para definição do ponto de rejeição aquando da elaboração da tabela QIM (Martinsdóttir *et al.*, 2009; Nunes *et al.*, 2007; QIM-Eurofish, 2012).

C.2 Métodos Físicos

Vários estudos acerca da deterioração do pescado têm vindo a ser desenvolvidos com base nas mudanças das propriedades físicas do músculo do peixe. A determinação do pH, da tensão das fibras musculares, das propriedades elétricas, da dureza e da viscosidade do suco extraído do músculo, são exemplos de análises físicas possíveis de serem realizadas neste tipo de método.

Alguns autores consideram que a determinação do pH não é um índice seguro do estado de frescura ou do início da deterioração do pescado, sendo a sua utilização menos utilizada devido à variação que existe entre amostras e pela ocorrência de ciclos de flutuações durante os períodos de armazenamento.

Após a morte, as propriedades elétricas da pele e do tecido muscular do pescado sofrem alterações, pelo que nos tecidos frescos, as membranas são permeáveis a apenas certos iões, originando um determinado potencial em torno de cada uma delas. A condutividade da parede celular é muito baixa e a sua resistência é elevada. Durante o armazenamento, as membranas tornam-se cada vez mais permeáveis aos iões, tornando-se cada vez menos resistentes. Devido há existência de diversos fatores que influenciam nas propriedades elétricas da pele e do tecido muscular do pescado, tais como a quantidade de gordura, a temperatura, danos físicos resultantes do manuseamento e do armazenamento, foi desenvolvido na Escócia um instrumento,

designado de “*Torry meter*” que tem como vantagem ser portátil e proporcionar uma rápida determinação das propriedades elétricas do pescado.

Os restantes métodos físicos são, em geral, simples e rápido de utilizar, contudo apresentam grande variação entre espécies e mesmo entre indivíduos, razão pelo qual não são frequentemente utilizados (Martinsdóttir *et al.*, 2009; Masayoshi, Ph., *et al.*, 1999; Nunes *et al.*, 2007)

C.3 Métodos Químicos

Apesar da avaliação sensorial constituir o método mais importante para avaliação da frescura de pescado, os métodos químicos fornecem informação complementar e alguns trabalhos evidenciam correlações significativas entre os dados sensoriais e químicos (Gonçalves, A. 2010).

As mudanças que ocorrem no pescado, após a sua morte, são difíceis de ser diferenciadas como sendo consequência de atividades microbianas ou enzimáticas. A espécie do pescado bem como a classe e quantidade de substâncias extraídas nitrogenadas disponíveis nos músculos na forma de aminoácidos livres, peptídeos simples, como anserina e glutatona, OTMA, creatina e taurina exercem um importante papel no aparecimento de outros produtos de degradação, uma vez que a sua presença constitui um ponto de partida muito importante para a atividade dos microrganismos.

Os métodos químicos mais utilizados para a avaliação do pescado são: azoto básico volátil, o azoto de trimetilamina e o valor de K. Além destes podem ainda ser incluídas análises a aminoácidos livres, histamina, piperidina, ácidos orgânicos voláteis, substâncias redutoras voláteis, entre outros (Masayoshi, Ph., *et al.*, 1999; Orban, E., *et al.*, 2011; Chomnawang, C., *et al.*, 2007)

Segundo o Regulamento (CE) 2074/2005 de 5 de Dezembro de 2005, a determinação do ABVT é um dos controlos químicos a efetuar para evitar a comercialização de produtos da pesca impróprios para consumo humano. O regulamento mais recente, Regulamento (CE) nº 1022/2008 da Comissão, de 17 de Outubro de 2008, estabelece valores limite ABVT para algumas categorias de peixe fresco, tais como: *Sebastes sp.*, família *Pleuronectidae* e as famílias *Merluccidae* e *Gadidae*. Porém o valor de ABVT em produtos de pescado processados ou minimamente processados, no ponto de rejeição pode ser muito variável. Segundo alguns autores o processamento pode levar a uma alteração da flora microbiana, a principal contribuidora para o aumento deste valor (Cakli, S., *et al.*, 2006; Goulas, A. *et al.*, 2005; CE, 2005; CE, 2008).

O Regulamento (CE) nº 1441/2007, de 5 de Dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) nº 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios estabelece limites para os produtos da pesca de espécies de peixes associadas a um elevado teor de histidina. O teor médio de histamina não pode ser superior a 100 mg/kg, num total de 9 amostras obtidas de um mesmo lote, onde duas amostras (das 9) podem ter um teor superior a 200 mg/kg (CE, 2007).

C.4 Métodos Microbiológicos

As contagens microbianas totais têm sido utilizadas como indicadores da qualidade e segurança do pescado fresco contudo, não tem sido possível estabelecer correlações com o grau de frescura uma vez que apenas uma fração da flora microbiana se encontra relacionada com as alterações que ocorrem no pescado.

Tanto os métodos químicos como os métodos microbiológicos são índices objetivos que podem complementar a apreciação sensorial, mas apresentam varias limitações que decorrem do ciclo de vida de cada espécie, do local de captura, das condições de manuseamento e acondicionamento do produto (Masayoshi, Ph., *et. al.*, 1999).

D. Alterações do Pescado *Post-mortem*

Imediatamente após a morte, o músculo do pescado apresenta quantidades apreciáveis de glicogénio, fosfocreatinina e adenosina 5'-trifosfato (ATP), dependentes do nível de esforço exercido pelo peixe durante a sua captura e abate. Durante este período, que dura apenas algumas horas, o músculo do peixe apresenta-se flexível e elástico. Mais tarde o músculo contrai, devido à ligação irreversível e desordenada das principais proteínas contrácteis, miosina e actina (formando-se o complexo actomiosina), provocada pela diminuição dos níveis de ATP e aumento dos iões cálcio (Ca^{2+}), no sarcoplasma. Este processo altera as propriedades das proteínas e, conseqüentemente, a textura do músculo, que se torna duro, rígido e inextensível, caracterizando a fase de *rigor mortis* (Sikorski, Z. *et al.*, 1990; Huss, H., 1995; Tejada, M., 2009). Este estado, em geral, persiste por algumas horas ou por mais de um dia, seguindo-se o desenvolvimento do rigor mortis, que se caracteriza pela recuperação da flexibilidade do músculo, embora já não exista a elasticidade característica da fase inicial. Segundo, Sikorski, Z. *et al.*, (1990) e Huss, H. (1995) esta fase é induzida pela atividade de certas enzimas, presentes no músculo, sendo coincidente com as alterações autolíticas.

O intervalo que decorre entre o início e o desenvolvimento do rigor mortis varia de espécie para espécie sendo que sofre influência do tamanho, das condições físicas do peixe (condição nutricional e stress), da temperatura e do tipo de manuseamento aplicado durante a primeira fase (Huss, H., 1995). Este processo reveste-se de especial importância pelo papel que desempenha na frescura do pescado bem como nas suas potencialidades tecnológicas.

No pescado vivo, enquanto as células utilizam oxigénio, o seu organismo realiza concomitantemente reações de decomposição e biossíntese. Entretanto, após a morte, ou seja, em condições anaeróbias as reações de decomposição passam a prevalecer (Masayoshi, Ph., *et al.*, 1999). Segundo Sainclivier, M. (1983), após a morte, o peixe é alvo de diversas e complexas alterações que levam à deterioração do produto em diferentes estados.

Tal como ocorre com os mamíferos, o pescado sofre deterioração devido à ocorrência de reações químicas e do desenvolvimento de microrganismos.

As alterações da estrutura proteica dos produtos de pescado podem classificar-se em sensoriais, físicas e bioquímicas (Pacheco, M., 1999).

D.1 Alterações sensoriais

A nível sensorial, as alterações registadas no pescado são influenciadas pela espécie, pelo manuseamento após a captura/abate, temperatura e método de conservação aplicado (Huss, H. *et al.*, 1997; Martinsdóttir, E. *et al.*, 2009). O aspeto, cujos descritores de maior importância são a pigmentação e o brilho da pele, o cheiro, a textura e o sabor são indicados como os atributos mais importantes na avaliação visual da qualidade do pescado. Segundo Huss, H. (1995), a deterioração de pescado refrigerado pode dividir-se em quatro fases, que conduzem a alterações sucessivas da sua qualidade.

Numa primeira fase o pescado é considerado muito fresco. Relativamente ao cheiro, este é caracterizado como sendo fresco, característico da maresia. A fase dois caracteriza-se pela perda do cheiro e sabor característicos, mas ainda não são detetados cheiros desagradáveis e a textura ainda é firme e agradável. Na terceira fase, a textura poderá apresentar-se mole e aquosa ou seca e fibrosa. Esta fase caracteriza-se pela existência de alguns sinais de deterioração como resultado da produção de vários compostos voláteis, desagradáveis, dependentes da espécie (da sua composição química) e do tipo de degradação (aeróbia ou anaeróbia), destacando-se o cheiro forte a

amónia e alguns compostos sulfídricos. Em fases mais avançadas desenvolve-se cheiro a ranço, sobretudo nas espécies com elevado teor de gordura. Na fase final, o pescado é considerado degradado e pútrido. As alterações ocorridas ao longo das duas últimas fases devem-se sobretudo ao metabolismo bacteriano (Huss, H., 1995; Martinsdóttir, E. *et al.*, 2009).

D.2 Alterações físicas e bioquímicas

Após a morte ocorrem fenómenos de glicólise anaeróbia que resultam na acumulação de ácido láctico que conseqüentemente reduzem os valores de pH do músculo dos animais. Sendo que o músculo dos peixes contém um nível de glicogénio relativamente baixo, em comparação ao dos mamíferos, depois da sua morte a formação de ácido láctico diminui e o valor de pH desce pouco. Segundo Huss, H., 1995 e Howgate, P., 2009, para além do nível de glicogénio presente inicialmente no músculo, o estado nutricional, a condição física e o stress anterior à morte têm efeito nos níveis de glicogénio armazenado e, conseqüentemente, no pH final do músculo após a morte. Em regra, um peixe bem nutrido e relaxado contém mais glicogénio que um peixe exausto. Os valores de pH *post-mortem* de espécies marinhas selvagens e de aquacultura encontram-se no intervalo entre 6,1 e 6,5 (Howgate, P., 2009).

A redução do pH do músculo do peixe após a sua morte tem efeito nas suas propriedades físicas, sendo que à medida que o pH diminui, ocorre a desnaturação parcial das proteínas e estas perdem a capacidade de retenção da água, sendo a textura do músculo afetada (Haard, N., 1992; Huss, H., 1995). Desta forma, a determinação do valor de pH no músculo do peixe permite obter uma importante informação acerca da sua condição. Ao longo do tempo, o valor do pH vai aumentando gradualmente durante o período de conservação, devido à formação de compostos químicos, em particular compostos azotados, como resultado das reações autolíticas e bacterianas.

Durante a conservação de pescado vão sendo produzidos compostos voláteis, que conferem cheiro desagradável. De entre eles, os compostos azotados revestem-se de grande importância, em especial a amónia e a trimetilamina (TMA) pois conferem um cheiro amoniacal e forte a peixe, típicos de pescado deteriorado (Gram, L. *et al.*, 1996; Howgate, P., 2009; Huss, H., 1995). Estes compostos são resultantes das atividades autolíticas e bacterianas, sobretudo a TMA, que resulta da redução bacteriana do óxido de trimetilamina (OTMA), cuja concentração varia entre 1 e 5 % (em peso seco) nas espécies marinhas (Huss, H., 1995).

O OTMA ocorre naturalmente no ambiente marinho, apresenta pH neutro, não é tóxico e a sua principal função é a de regulação osmótica. Inicialmente a redução de OTMA deve-se à ação de enzimas endógenas, que cessa quando o fornecimento de oxigénio termina. No decorrer da conservação em gelo, a redução de OTMA a TMA deve-se geralmente à ação bacteriana, associada às espécies *Shewanella putrefaciens* e *Photobacterium phosphoreum* (Huss *et al.*, 1997).

O ABVT é constituído pela trimetilamina que tem a sua origem na degradação microbiológica, dimetilamina que é produzida por reações autolíticas de degradação durante o armazenamento, amónia (provém da “desaminação” dos aminoácidos e catabolitos de nucleótidos), entre outros compostos nitrogenados básicos voláteis associados à degradação do pescado (Howgate, P., 2009; Huss, H., 1995).

As aminas biogénicas são sintetizadas naturalmente nos organismos, nos quais exercem uma importante atividade biológica. A sua formação resulta normalmente da descarboxilação de aminoácidos livres, por remoção do grupo carboxil do aminoácido. Esta descarboxilação ocorre através de enzimas endógenas ou de origem bacteriana (Halász, A. *et al.*, 1994; Mendes, R., 2009).

A histamina é um exemplo de uma amina biogénica primária, não volátil, termoestável, a mais ativa e mais frequentemente responsável por intoxicações alimentares. O envenenamento por histamina também é designado por envenenamento por escombróides, devido à sua frequente associação com peixes, como o atum e a cavala, que são espécies pertencentes à família *Scombridae*. Estes apresentam elevados teores de histidina livre, mas não são a única espécie envolvida neste envenenamento, pois também podem estar envolvidas espécies não escombróides, como as pertencentes à família *Clupeidae* (Huss, H., 1997; Jay, J. *et al.*, 2005; Lacasse, D., 1995; Lawley, R., 2007).

A histamina é produzida pela descarboxilação da histidina por ação de enzimas bacterianas provenientes de microrganismos tais como *Enterobacteriaceae spp.*, *Clostridium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Morganella spp.*, *Proteus spp.*, e *Klebsiella spp.*, sendo os microrganismos mais envolvidos a *Klebsiella pneumoniae*, e a *Morganella morganii*. A formação de histamina no pescado é afetada por fatores como a contaminação pós-captura, temperaturas de conservação elevadas nas embarcações de pesca, procedimentos de refrigeração inadequados, procedimentos de congelação e descongelação inadequados e processos de conserva impróprios (Lehane, L. *et al.*, 2000; Mendes, R., 2009).

A possibilidade de utilizar a concentração destes compostos como um critério para a avaliação da qualidade de peixes ósseos e de invertebrados tem sido discutida por muitos investigadores, devido ao facto de poderem resultar da atividade de enzimas de origem bacteriana (Mendes, R., 2009). Os microrganismos com atividade descarboxilante podem fazer parte da flora inicial do produto ou podem ser introduzidos, por contaminação, durante a conservação e/ou processamento. São vários os grupos de bactérias aos quais tem sido associada atividade descarboxilante, designadamente Enterobacteriaceae, géneros *Clostridium* e *Lactobacillus* e *P. phosphoreum*, entre outros (Jorgensen, L. *et al.*, 2000; Mendes, R., 2009).

E. Microrganismos do Pescado

E.1 Influência dos fatores ambientais no desenvolvimento de microrganismos

Tendo em consideração o alto teor de humidade dos produtos da pesca, a qualidade do mesmo pode ser comprometida com relativa facilidade por ação de microrganismos, enzimas autolíticas e oxidação lipídica. Dos fatores referidos, os microrganismos constituem os principais responsáveis pela perda de qualidade dos produtos da pesca (Lacasse, D., 1995).

Segundo Masayoshi, Ph. *et al.* (1999), a temperatura ambiente é um dos fatores que mais influenciam o desenvolvimento dos microrganismos, existindo um intervalo onde determinadas espécies têm capacidade de se desenvolver. Dentro desse intervalo existe ainda uma faixa mais restrita, designada por faixa de temperatura ótima. Conforme o intervalo de temperatura em que estão inseridos, os microrganismos são classificados como psicrófilos, mesófilos e termófilos (Quadro 1.4).

Quadro 1.4. Classificação de microrganismos relativamente à temperatura (adaptado de Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999).

Tipos	Capacidade de desenvolvimento	Faixa de temperatura ótima (°C)
Psicrófilos	Podem desenvolver-se a 0°C	20 a 35
Mesófilos	Não podem desenvolver-se a 0°C e 55°C	25 a 45
Termófilos	Podem desenvolver-se a 55°C	40 a 60

Dependendo da espécie, os microrganismos diferem quanto à necessidade de oxigénio. O quadro 1.5 apresenta a classificação de alguns grupos de bactérias relativamente à necessidade de oxigénio e o quadro 1.6 exemplifica alguns géneros de bactérias de cada grupo (Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999).

Introdução

Quadro 1.5. Classificação de microrganismos em relação à necessidade de oxigênio (O₂) (adaptado de Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999).

Grupos	Capacidade de desenvolvimento
Bactéria aeróbia	Necessita de O ₂ para o seu desenvolvimento
Bactéria microaerófila	Necessita de O ₂ mas o seu desenvolvimento é favorecido sob pressão parcial baixa
Bactéria anaeróbia facultativa	Utiliza O ₂ , mas pode desenvolver-se igualmente na ausência do mesmo
Bactéria aerotolerante	Não utiliza O ₂ , mas na sua presença o desenvolvimento do microrganismo não é prejudicado
Bactéria anaeróbia	Morre na presença de O ₂

Quadro 1.6. Gêneros de bactérias em função do tipo de grupo (adaptado de Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999).

Grupos	Exemplos de gêneros de bactérias
Bactéria aeróbia	<i>Pseudomonas</i> , <i>Alteromonas</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Halobacterium</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Acetobacter</i> , etc
Bactéria microaerófila	<i>Spirillum</i> e <i>Campylobacter</i> (associadas a intoxicações alimentares)
Bactéria anaeróbia facultativa	<i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Aeromonas</i> , <i>Staphylococcus</i> , etc.
Bactéria aerotolerante	<i>Streptococcus</i>
Bactéria anaeróbia	<i>Clostridium</i> e <i>Desulfotomaculum</i>

A concentração de sais é outro fator com grande influência no desenvolvimento de microrganismos, principalmente o cloreto de sódio (NaCl). O quadro 1.7 mostra a capacidade de alguns microrganismos se desenvolverem em determinadas concentrações de sal.

Muitas bactérias anaeróbias formadoras de esporos (*Clostridium*) são sensíveis ao sal e muitas aeróbias formadoras de esporos (*Bacillus*) são tolerantes ao sal. As bactérias marinhas e *Vibrio parahamolyticus* são fracamente halófilas. Como exemplo de bactérias halófilas moderadas podemos citar *Microoccus* e algumas espécies de *Vibrio* e,

quanto à halófilas extremas, o mais expressivo é o género *Halobacterium*, encontrado em salinas (Jay, J., 2000; Lacasse, D.,1995)

Quadro 1.7. Classificação de microrganismos dependentes da concentração de sal (adaptado de Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999).

Grupos	Capacidade de desenvolvimento
Bactéria não halófila	
Bactéria sensível ao sal	Não se desenvolve em concentrações de sal > 2%
Bactéria tolerante ao sal	Pode desenvolver-se em concentrações de sal > 2% mas o seu desenvolvimento é favorecido em concentrações < 2%
Bactéria halófila	
Bactéria fracamente halófila	Concentração ótima para desenvolvimento é 2 a 5%
Bactéria halófila moderada	Concentração ótima para desenvolvimento é 2 a 5%
Bactéria halófila extrema	Concentração ótima para desenvolvimento é 2 a 5%

A concentração dos iões hidrogénio (pH) do ambiente tem grande influência no desenvolvimento dos microrganismos. Em geral, o limite de pH ácido para o desenvolvimento de bactérias é pH 4 a 5 e pH ótimo entre 7 e 8. No caso de leveduras e fungos, o limite é em torno de pH 2 com pH ótimo entre 4 a 6 (Huss, H. 1997; Jay, J., 2000; Lacasse, D.,1995).

E.2 Contaminação do pescado

No momento anterior à captura, os músculos, os órgãos e o líquido corporal de peixes vivos saudáveis são assépticos, enquanto a pele e as guelras, que estão em contato direto com água, apresentam um razoável nível de contaminação, especialmente por bactérias.

Cerca de 90% do ambiente marinho apresenta temperatura abaixo de 5°C, e conseqüentemente, a maioria das bactérias está incluída no grupo das psicrófilas. Muitas bactérias desenvolvem-se a 0°C mas de forma muito lenta (Lacasse, D.,1995; Shewan. J. 1961).

A água de alto-mar tem em média, uma concentração de 3,5% de sal, sendo que cerca de ¾ dos sais é NaCl. Conseqüentemente, as bactérias marinhas de alto-mar são bactérias halófilas, desenvolvendo-se bem meio de cultivo com 2 a 3 % de sal, entretanto nem todas as bactérias marinhas são halófilas. A microbiologia marinha sofre influência

de bactérias terrestres pois estas são transportadas pelos rios. Particularmente, a água costeira mostra uma quantidade maior de bactérias comparando-as com águas profundas e de alto-mar.

Quando o pescado é capturado e colocado a bordo, o número de bactérias do pescado aumenta devido à contaminação existente a bordo que chega a atingir 10^5 a 10^6 /cm². Após classificação e separação, se for efetuada uma boa lavagem com água do mar, as bactérias são reduzidas para 1/3 a 1/10, comparado com o momento antes da lavagem. Posteriormente, muitas outras fontes de contaminação alteram a carga microbiana original, aumentando o número de bactérias antes do pescado chegar à mesa do consumidor. Tais fontes de contaminação incluem a colocação do pescado em urnas com gelo, o uso de equipamentos e aparelhos sem a assepsia adequada, a manipulação humana e o transporte (Jay, J., 2000; Lerke, P. *et al.*, 1965; Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999; Shewan. J., 1961).

O número de bactérias viáveis, presentes nos peixes marinhos encontra-se entre os 10^2 e 10^6 UFC/cm² de pele e 10^3 a 10^7 UFC/g de guelras. Estas variações devem-se a fatores tais como a época e os métodos de captura, a área de pesca, etc. por exemplo, em determinadas épocas de pesca existe diferença devido ao aparecimento de plâncton; o número de bactérias em peixes capturados por arrasto é 10 a 100 vezes maior do que aqueles capturados com vara e espinhel; os peixes de áreas tropicais apresentam maior número de bactérias do que em áreas temperadas e frias. Relativamente ao número de bactérias intestinais, este varia de 10^3 a 10^8 UFC/ g de conteúdo e esta variação está relacionada ao volume da dieta do peixe; exemplares não alimentados apresentam um número menor de bactérias (Frazier, W. *et al.* 1988; Hobbs, G., 1983; Jackson T. *et al.*, 1997).

A composição microbiológica da pele do pescado depende do local de captura e do período de pesca, nomeadamente dos fatores ambientais. Por exemplo, em peixes capturados no Mar do Norte e na Noruega, em alto-mar, são detetados em maior número *Pseudomonas*, *Moraxella* e *Flavobacterium*, enquanto no litoral japonês, ocorre relativamente mais *Pseudomonas*, *Vibrio* e *Moraxella*, seguido de *Flavobacterium*, *Micrococcus* e *Corynebacterium*. Também foram detetados *Acinetobacter* e *Staphylococcus*.

No momento do desembarque, os peixes apresentam maior quantidade de *Pseudomonas* III/IV halófilas, sendo que nas lojas se detetam *Pseudomonas* III/IV não halófilas de origem terrestre (Hayes, S., 1985; Jackson T. *et al.*, 1997; Jay, J., 2000).

CAPÍTULO 2 – METODOLOGIA

A. Amostragem

A.1 Carapau (*Trachurus trachurus*)

Para a realização do estudo foram utilizadas cinquenta amostras de carapau (*Trachurus trachurus*) de um total de cinquenta e cinco amostras recolhidas, obtidas de forma aleatória de quatro embarcações provenientes da pesca de arrasto (cujas capturas foram realizadas no Atlântico Nordeste) que se encontravam a efetuar descarga na lota de Peniche. Este trabalho foi efetuado com base em amostragens realizadas durante cinco meses, de Outubro de 2011 a Fevereiro de 2012.

No momento da chegada da embarcação foi efetuado o contacto com o Mestre do barco, de modo a obter autorização para a recolha dos exemplares de carapau. A recolha seguiu os seguintes passos:

- I. Contacto com o Mestre da embarcação;
- II. Requisição à lota de caixas higienizadas e com gelo;
- III. Recolha do número de amostras estipulado (quadro 2.1) no momento imediato da descarga (sem ser submetida a lavagem com água do porto de pesca) – Carapau Descarga;
- IV. Acondicionamento das amostras em sacos apropriados (Nasco Whirl-Pak, Canadá) e em mala térmica com acumuladores de temperatura (Camping Gaz);
- V. Recolha do número de amostras estipulado (quadro 2.1) durante a descarga antes da lavagem com água do porto de pesca – Carapau Não Lavado; e depois de lavado com a água do porto de pesca – Carapau Lavado;
- VI. Acondicionamento, das amostras de carapau não lavado, em caixas com gelo por um período médio de uma hora (de modo a simular o período de leilão e expedição do pescado descarregado) figura 2.1 A;
- VII. Acondicionamento, das amostras de carapau lavado, em caixas com a mesma quantidade de gelo que o colocado pelos responsáveis da lota, por um período igual ao referido no ponto VI, figura 2.1 B;
- VIII. Terminado o tempo simulação do leilão e da expedição do produto, este é tal como no ponto IV acondicionado em sacos e colocado em mala térmica

e encaminhado para a Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar de Peniche (ESTM).

O período entre a recolha das amostras de carapau e o laboratório (ESTM) foi cerca de 1 hora e 30 minutos, onde as amostras sempre se mantiveram devidamente acondicionadas e mantidas em refrigeração durante o tempo de espera e o transporte.

Quadro 2.1. Informações acerca da data, número e método de conservação aplicado às amostras de carapau recolhidas aleatoriamente na lota de Peniche. Tipo de análise realizada e período em que as amostras foram sujeitas a análise.

Informações Amostras						
Data Recolha	Número de amostras recolhidas			Tipo de análise	Conservação da amostra	Período de realização das análises
	Descarga	Não Lavado	Lavado			
19-10-2011	8	5	4	Q, F e S	Congelação	19-10-2011 a 13-04-2012
20-10-2011	2	2	2	Q, F e S	Congelação	19-10-2011 a 13-04-2013
21-10-2011	2	2	2	Q, F e S	Congelação	19-10-2011 a 13-04-2014
05-10-2011	2	2	2	Q, F e S	Congelação	19-10-2011 a 13-04-2015
07-02-2012	0	1	1	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
08-02-2012	0	1	1	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
14-02-2012	0	1	1	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
15-02-2012	0	1	1	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
22-02-2012	0	1	1	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
23-02-2012	0	1	1	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
28-02-2012	0	2	2	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
29-02-2012	0	2	2	M e S	Refrigeração	08-02-2012 a 01-03-2012
Somatório	14	21	20	Q – Química; F – Física; S – Sensorial; M – Microbiológicas		
Total recolhido	55					

Após a avaliação sensorial QIM (Quality Index Method) as amostras, para análise química e física, foram filetadas e congeladas num congelador de placas (Armfield, Contact Plate Freezer FT34-MKII, Inglaterra) sendo posteriormente conservadas em congelador doméstico (JP Selecta, Tempow, Barcelona), figura 2.2. As amostras de carapau foram sendo descongeladas à medida que foram sendo realizadas as respetivas análises, quadro 2.1.

As amostras para análise microbiológica foram conservadas em refrigeração, em frigorífico doméstico (Beko, Turquia) localizado no laboratório da ESTM, quadro 2.1, tendo as análises sido realizadas num período máximo de 15 horas após a sua descarga.



Figura 2.1. (A e B) – Acondicionamento das amostras de carapau recolhidas (as caixas utilizadas são de cor azul – caixa utilizada como sendo a primeira de uma pilha de caixas que são arrastadas pela chão – contudo estas encontravam-se devidamente higienizadas e apenas por esse motivo foi aceite a sua utilização). A – Carapau não lavado; B – Carapau lavado.



Figura 2.2. Congelador de placas.

A.2 Água de Lavagem do Pescado Descarregado – Porto de pesca

O pescado descarregado na lota de Peniche é submetido, na sua maioria, a uma lavagem com água com o objetivo de remover qualquer sujidade presente, sangue, gelo, etc., e de modo a tornar o produto mais brilhante e conseqüentemente mais apelativo ao comprador. A água utilizada é proveniente do porto de pesca e as embarcações são as detentoras das mangueiras que realizam a lavagem do pescado.

A água recolhida foi, precisamente, a água utilizada para a lavagem do pescado no momento anterior à sua entrada na lota, tendo sido feita a sua recolha diretamente da mangueira da embarcação.

As amostras foram recolhidas para frascos de *Schott*, devidamente esterilizado, e acondicionadas em refrigeração (mala térmica com acumuladores de temperatura), tendo o procedimento sido adaptado da Norma ISO 19458:2006.

A água foi recolhida no mesmo momento que a amostra de carapau para análise microbiológica e conservadas em refrigeração até ao momento da sua análise, segundo

informações recomendadas pelo IRAR (2005) por um período máximo de 15h (o IRAR recomenda 12h de tempo máximo de armazenamento e define como aceitável 18h).

A.3 Água Tratada Proveniente da Lota

Na lota de Peniche existem saídas de água salgada, onde esta é submetida a tratamento de modo a torna-la própria para utilização em produtos alimentares em detrimento da água utilizada pelas embarcações, capturada diretamente do porto de pesca.

As amostras de água tratada foram recolhidas diretamente das saídas existentes na lota, através de uma mangueira para frascos de *Schott*, devidamente esterilizados, e acondicionadas em refrigeração (mala térmica com acumuladores de temperatura).

A água foi recolhida, no mesmo momento que a amostra de carapau para análise microbiológica e conservada em refrigeração até ao momento da sua análise.

B. Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Métodos Objetivos

As análises, para avaliação da qualidade e segurança do pescado fresco, através de métodos objetivos, foram realizadas em polpas homogéneas da parte muscular do carapau e isentas de pele. Horas antes da realização dos ensaios experimentais, as amostras, devidamente codificadas (figura 2.3), foram retiradas para o frigorífico de modo a descongelarem de forma segura. Utilizou-se uma picadora (Moulinex, CE) para a homogeneização do produto e foi seguido o procedimento de extração de amostra para ensaio, adequado a cada tipo de análise.



Figura 2.3. Filetes de carapau congelados e codificados.

B.1 pH

Segundo Sanchez-Cascado, S., 2005, a determinação do pH pode ser realizada diretamente com um eléctrodo de pH para sólidos numa massa homogénea de músculo

de pescado triturado ou através da diluição de uma porção de amostra em água destilada.

Primeiramente, o potenciómetro (Crison, pH-meter basic 20, Espanha), foi calibrado tendo sido seguidas as instruções de trabalho que o acompanham.

As amostras de carapau foram submetidas a descongelação, em frigorífico, horas antes da análise tendo sido o valor do pH medido com o potenciómetro à temperatura ambiente. Para isso, foram homogeneizados (1:10), numa picadora, 5g de amostra de carapau triturado (isento de cabeça, barbatanas, vísceras e espinhas) em 50 ml de água desionizada. A solução obtida foi submetida a filtração com filtro n.º 4 (Filtres Fioroni, França) de modo a obter um líquido isento de partículas em suspensão.

O eléctrodo foi mergulhado na solução obtida após filtração, deixando-se estabilizar o aparelho. A determinação do pH foi realizada em triplicado para cada amostra.

B.2 Humidade Relativa

O teor de humidade foi um dos parâmetros físicos analisados, necessários também para a determinação do teor de ABVT e N-TMA, tendo sido realizada com o auxílio de um analisador de humidade (Mettler Toledo, HB 43, Suíça), figura 2.4, de acordo com as instruções descritas pelo fabricante. Da amostra de carapau utilizada para a análise do teor de ABVT foi retirada uma pequena porção que foi submetida a secura no analisador de humidade a 210°C até atingir um valor constante. Os resultados foram expressos em percentagem de teor de humidade (Santos, J. 2008).



Figura 2.4. Analisador de humidade

B.3 Temperatura Interna

A temperatura interna da espécie estudada foi registada em dois momentos: descarga e expedição. Para a determinação da temperatura interna foi utilizado um termómetro digital com sonda, figura 2.5, próprio para alimentos (Hanna Instruments,

Mauritânia). A sonda foi inserida na cavidade bucal do peixe até meio do seu comprimento total, tendo sido registado o valor assinalado no mostrador digital.

B.4 Azoto Básico Volátil Total (ABVT)

Através da determinação do ABVT são determinadas, em simultâneo, a presença de diversas substâncias, o que confere uma maior legitimidade a este parâmetro, como índice de qualidade. No entanto, pelo facto de algumas substâncias só se formarem numa fase tardia da degradação, este é normalmente referido como sendo um valor indicativo da degradação e não de frescura.

A determinação do ABVT pode ser realizada segundo métodos mais clássicos baseados na microdifusão ou na destilação, ou através de métodos baseados na análise por injeção em fluxo (Ruiz-Capillas, C. *et al.*, 1999). Neste estudo, a determinação do teor de ABVT em carapau foi realizada através do método de *Conway*, descrito na Norma Portuguesa NP 2930 de 2009. O processo consistiu na extração das bases voláteis por meio de uma solução de ácido tricloroacético (Sharlau, Espanha), alcalinização por ação de carbonato de potássio (Fisher Scientific, Reino Unido.) para libertação das bases voláteis e sua receção numa solução de ácido bórico (Panreac, Espanha) e seguida de uma titulação com ácido clorídrico (36-37% Panreac, Espanha) a 0,02 N.

B.5 Azoto de Trimetilamina (N-TMA)

Para a determinação do azoto de TMA seguiu-se o método descrito na Norma Portuguesa NP 1841-1 de 2009, sendo o procedimento semelhante ao descrito para o ABVT, com a exceção do conteúdo da coroa circular da célula de *Conway* (figura 2.6), onde é adicionado mais 1 ml de uma solução de formaldeído (35-37%) (Fisher Scientific, Reino Unido). Este procedimento consiste na extração dos produtos azotados por meio de uma solução de ácido tricloroacético e fixação pelo aldeído fórmico das aminas primárias e secundárias. A trimetilamina libertada pela alcalinização da ação do carbonato de potássio é rececionado numa solução de ácido bórico e seguida de uma titulação com ácido clorídrico a 0,02 N.



Figura 2.5. Termómetro digital com sonda.

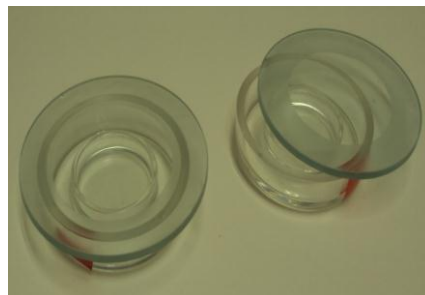


Figura 2.6. Célula de Conway utilizada na determinação de ABVT e N-TMA.

Os resultados, para ambas as análises (ABVT e N-TMA), foram tratados de acordo com a fórmula descrita nas respetivas normas, sendo ambos os teores, expressos em mg/100g de amostra:

$$\frac{21 \times (V_2 - V_0)}{(V_1 - V_0) \times V_3 \times m} (100 - Fc)$$

Onde:

V_0 – volume da solução, expresso em mililitros, de ácido clorídrico gasto no ensaio em branco;

V_1 – volume da solução, expresso em mililitros, de ácido clorídrico gasto no ensaio de controlo de difusão;

V_2 – volume de solução, expresso em mililitros, de ácido clorídrico gasto no ensaio com a toma;

V_3 – volume de solução, expresso em mililitros, do extrato da amostra utilizada na determinação;

Fc – fator de correção de volume (teor de água existente na toma para análise);

Nota: Se a amostra tiver um teor de humidade de 80%, o valor de Fc será igual a 40.

m – massa, expressa em grama, da toma para análise.

B.6 Histamina

Para a determinação do teor de histamina nas amostras de pescado, foi utilizado o protocolo experimental utilizado para as aulas do Mestrado de Biotecnologia dos Recursos Marinhos, “Determinação do teor de histamina numa amostra de pescado por HPLC”, adaptado dos protocolos descritos por John T., 2002 e Tsay, Y. *et al.*, 2005.

A primeira fase do procedimento consistiu na preparação das amostras e na preparação da reta de calibração nas concentrações de 0,01; 0,015; 0,02; 0,03; 0,06; 0,12; 0,24 e 0,50 mg/ml; na segunda fase teve lugar a separação por cromatografia

líquida de alta eficiência (HPLC) (LaChrom Elite, Portugal.), figura 2.7, recorrendo à utilização de uma coluna de fase reversa Lichrospher RP-18 (5 μm , 250 x 4,6 mm), fluxo de 1 ml/min em condições isocráticas e utilizando como fase móvel, 85% de metanol (Fisher Scientific, Reino Unido) e 15% de água (Fisher Scientific, Reino Unido). O detetor utilizado foi Diode Array Detector (DAD) a 254 nm com um volume de injeção de 20 μl . O *software* utilizado para a obtenção dos cromatogramas foi o EZChrom Elite, já instalado no equipamento.

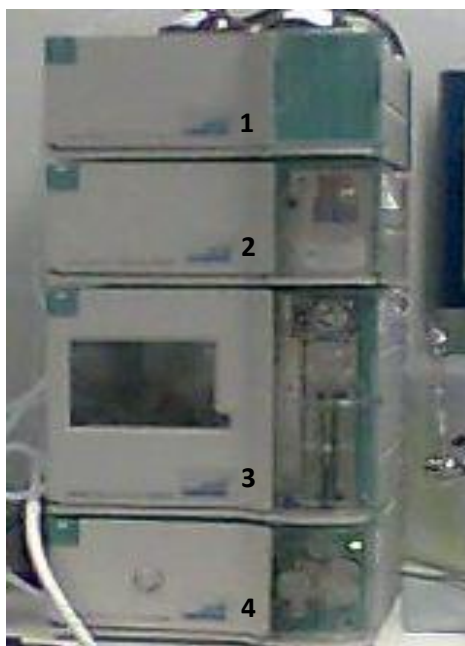


Figura 2.7. Cromatógrafo líquido de alta eficiência, constituído por: 1 – *organizer* (Merck Hitachi); 2 – detetor DAD (L-2450, Merck Hitachi); 3 – suporte amostras (L-2200, VWR Hitachi); 4 – bomba quaternária (L-2130, VWR Hitachi).

Posteriormente foi realizada uma curva de calibração áreas vs concentrações de histamina e foi determinada através de interpolação gráfica a concentração de histamina na amostra.

C. Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Método Subjetivo

C.1 QIM (Quality Index Method)

A avaliação da frescura do carapau inteiro, cerca de duas horas após a sua chegada à lota, foi realizada com o peixe cru, em tábuas de cozinha brancas (figura 2.8) tendo sido aplicado o esquema QIM, referente ao carapau, apresentado no quadro 2.2.

Os parâmetros avaliados consistiram:

- Aspeto geral – Pele e firmeza da carne;

- Olhos – Pupila e forma;
- Brânquias – Cor e cheiro;
- Abdómen – Parede abdominal.

Em cada dia de recolha foi avaliada a totalidade das amostras, sendo que cada peixe foi avaliado por três provadores.



Figura 2.8 Avaliação da frescura de Carapau através da aplicação teste QIM.

D. Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Microbiologia

D.1 Preparação das amostras

As amostras, para contagem de *E.coli* e microrganismos a 30°C (aeróbios totais) foram preparadas em condições de assepsia, segundo as Normas ISO 6887-2011, ISO 16649-2 (2001) e ISO 4833:2003.

A análise à pele do carapau, lavado e não lavado, foi realizado com o auxílio de uma zaragatoa embebida em 10 ml de triptona sal (Merck, Alemanha). Para a análise ao músculo do carapau, lavado e não lavado, as suspensões-mãe foram preparadas homogeneizando 25 g (Kern & Sohn GmbH, Alemanha) de pedaços de músculo, sem pele, com 225 ml de diluente triptona sal, num agitador “*Stomacher*” (IUL, Instruments, Espanha), durante 1 minuto. Prepararam-se as diluições decimais (1 ml da suspensão-mãe – encheu-se e esvaziou-se a pipeta três vezes – e adicionou-se a 9 ml de diluente) até à diluição 10^{-4} para a análise ao músculo e à diluição 10^{-5} para a pele – figura 2.9.

Todas as diluições decimais bem como as inoculações foram preparadas e realizadas em ambiente estéril assegurado por um bico de *bunsen* (Camping Gaz). Todas as sementeiras foram realizadas em duplicado.

Quadro 2.2. Avaliação do grau de frescura do carapau pelo método do Índice de Qualidade (Nunes, *et al.*, 2007).

Atributos de Qualidade		Descritores	Pontos de Demérito
Aspeto Geral	Pele	Iridescente, brilhante	0
		Pigmentação menos viva e brilhante	1
		Baça e ligeiramente amarelada	2
	Firmeza da carne	Muito firme, rija	0
		Firme, elástica	1
		Ligeiramente mole	2
Olhos	Pupila	Preta azulada, viva	0
		Preta enevoada	1
		Cinzenta, leitosa	2
	Forma	Convexa	0
		Achatada, plana	1
		Côncava, encovada	2
Brânquias	Cor	Vermelha púrpura	0
		Vermelha acastanhada	1
		Acastanhada	2
		Castanha descorada	3
	Cheiro	Algas, fresco	0
		Algas pouco intenso, metálico	1
		Relva ou ligeiramente azedo	2
		Azedo, rançoso	3
Abdómen	Parede abdominal	Firme, intacta	0
		Pouco firme, mas ainda intacta	1
		Mole, enrugada, roturada	2
ÍNDICE DE QUALIDADE (total de pontos de demérito)			0-16

D.2 Preparação do diluente e dos meios de cultura

O diluente e todos os meios de cultura, quadro 2.3, foram preparados de acordo com as indicações dos fabricantes e foram esterilizados em autoclave (AJC, Uniclave 88, Portugal) a 121 °C, durante 15 minutos.

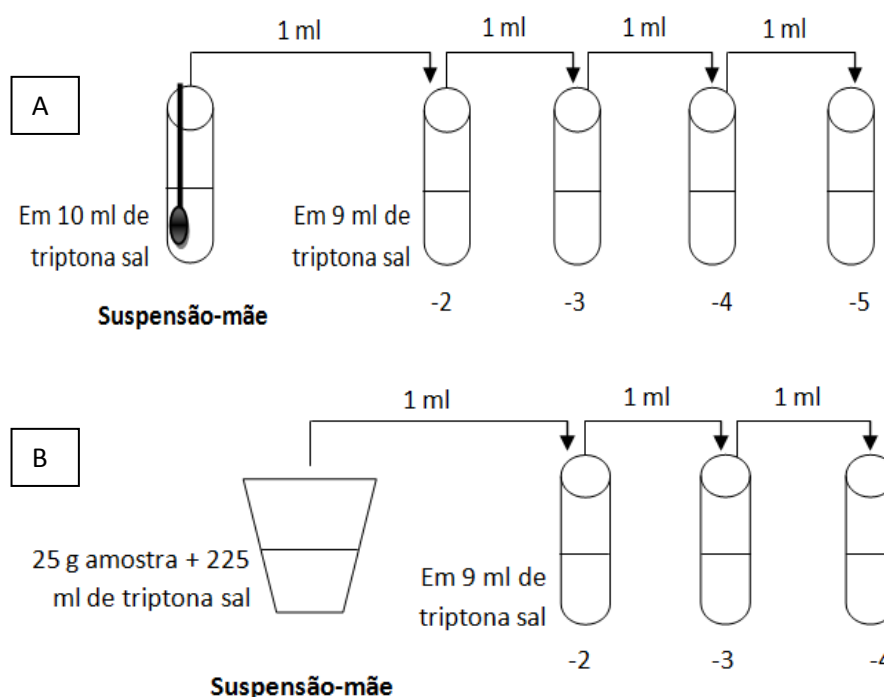


Figura 2.9. Esquema das diluições realizadas para cada amostra: A – Pele de carapau lavado e não lavado; B – Músculo de carapau lavado e não lavado.

D.3 Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C (aeróbios totais)

De acordo com as normas ISO 4833 (2003), ISO 6887 (1999 e 2003) e ISO 7218 (1996) semeou-se, por incorporação, 1ml de inóculo das diluições adequadas, dos grupos de amostras analisado, conforme o quadro 2.4, e verteu-se cerca de 12 a 15 ml de PCA (Merck, Alemanha) em placas de Petri esterilizadas (Normax, Portugal) e devidamente identificadas. Misturou-se cuidadosamente o inóculo com o meio e deixou-se solidificar à temperatura ambiente. Após o arrefecimento, incubaram-se as placas numa estufa (Binder, Portugal) à temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, durante $72\text{h} \pm 3\text{h}$, não empilhando mais de 6 placas.

Quadro 2.3. Diluente e meios de cultura, utilizados nas diferentes análises ao carapau lavado e não lavado, pele e músculo.

	Diluente	Meio cultura
Contagem de aeróbios a 30°C	Triptona sal	PCA (Plate Count Agar)
Contagem de <i>E.coli</i>	Triptona sal	TBX (Tryptone Bile X-glucuronid)

Determinou-se o número de microrganismos por contagem direta das colónias. Os resultados foram expressos em log UFC/g, relativamente ao músculo do carapau lavado e não lavado e log UFC/cm² para as análises à pele do carapau (lavado e não lavado).

Quadro 2.4. Sementeiras realizadas para cada tipo de amostra.

Não Lavado Músculo	-1	Não Lavado Pele	-2
	-2		-3
	-3		-4
	-4		-5
Lavado Músculo	-1	Lavado Pele	-2
	-2		-3
	-3		-4
	-4		-5

D 4. Contagem de *E. coli*

De acordo com as normas ISO 16649-2 (2001), ISO 6887 (1999 e 2003) e ISO 7218 (1996), semeou-se, por incorporação, 1ml de inóculo das diluições adequadas, dos grupos de amostras analisado, conforme o quadro 2.4, e verteu-se cerca de 12 a 15 ml de TBX (Merck, Alemanha) em placas de Petri esterilizadas e devidamente identificadas. Misturou-se cuidadosamente o inóculo com o meio e deixou-se solidificar à temperatura ambiente. Após o arrefecimento, incubaram-se as placas numa estufa à temperatura de 44°C, durante 18-20h, não empilhando mais de 6 placas.

Os resultados foram apresentados da mesma forma que o referido em C 3.

E. Avaliação da Qualidade da Água de Lavagem do Pescado Descarregado (Porto de Pesca) e Água Salgada Tratada

E.1 pH

A calibração do elétrodo e medição do pH das amostras foi realizada sob as mesmas condições. Assim, o potenciómetro, foi calibrado tendo sido seguidas as instruções de trabalho que o acompanham.

As amostras de água (porto de pesca e água salgada tratada) foram submetidas a análise, sem qualquer tipo de diluição, através de um elétrodo de pH à temperatura ambiente. A determinação de pH foi realizada em triplicado para cada amostra, mergulhando o elétrodo na amostra e deixando estabilizar o valor de pH.

E.2 Contagem Microbiológica – *E.coli*

Preparação das amostras

Para determinar a presença de *E.coli* em água, do porto de pesca e tratada, procedeu-se do mesmo modo em todas as amostras, tendo o procedimento sido

realizado segundo a Norma ISO 9308-1 (2000). Todas as amostras de água foram analisadas sem sofrer diluição.

Preparação do meio de cultura

O meio de cultura utilizado para a análise, segundo a norma ISO 9308-1:2000, foi Membrane Lauryl Sulfate Agar (MLSA; Oxoid, Inglaterra) foi previamente preparado segundo indicações do fabricante. Posteriormente o meio foi esterilizado em autoclave e colocado em placas de Petri (cerca de 12 a 15 mL) em câmara de segurança biológica vertical, de fluxo laminar Biohazard Braun 2.4 micro (MDH Ltd., Reino Unido)

Procedimento

Após a filtração das amostras de água através de membranas de filtração de 0,45 μ m (100mL), estas foram colocadas na superfície das placas contendo MLSA. Em seguida as placas foram incubadas a 36°C \pm 2°C durante 21h \pm 2h.

Os resultados foram expressos em UFC/100 mL.

F. Tratamento estatístico

Para o tratamento estatístico dos resultados obtidos experimentalmente, todos os dados foram testados relativamente aos pressupostos de ajustamento dos dados à distribuição normal e à homogeneidade de variâncias (Zar, 2009). Para comparação de mais de dois grupos em estudo, e sempre que não foram detetadas violações aos referidos pressupostos, utilizou-se o método paramétrico de análise de variância com um e dois fatores (ANOVA *one-way* e ANOVA *two-way*, respetivamente). Caso contrário, a análise de dados foi realizada com recurso ao método não paramétrico de *Kruskal-Wallis* (Zar,2009). Sempre que foram detetadas diferenças estatisticamente significativas, realizaram-se os testes de comparações múltiplas de *Tukey* e/ou *Bonferroni* (Zar,2009). Sempre que o objetivo teve por base a comparação de dois grupos de estudo, foi aplicado o teste *t-Student* (Zar,2009). Por último, e para testar a independência entre variáveis (nomeadamente, tipo de amostra e classificação QIM), utilizou-se o teste de independência do Qui-Quadrado. Todas as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas ao nível de 0,05 (ou seja, sempre que foi observado *p-value*<0,05) (Zar,2009). Todos os cálculos foram realizados através do *software* estatístico IBM® SPSS® Statistics, versão 19.

CAPÍTULO 3 – RESULTADOS

A. Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Métodos objetivos

A.1 pH e Humidade relativa

A determinação do potencial de hidrogénio iónico dos trinta exemplares de carapau em estudo foi realizada através da utilização, tal como referido no capítulo da metodologia, de um eléctrodo de pH, obtendo-se os resultados em unidades de pH entre uma escala de valores de 0 a 14.

Tal como referido no quadro 3.1, os valores mínimos e máximos de pH registados, num total de trinta exemplares, foram respetivamente, 6,17 e 6,89. Relativamente aos três diferentes tipos de amostras de carapau de descarga, não lavado e lavado, os valores médios de pH determinados foram, respetivamente, $6,55 \pm 0,23$, $6,63 \pm 0,15$ e $6,52 \pm 0,18$.

O teor de humidade, nas três amostras estudadas, variou entre 65,38 e 75,31%, sendo que o carapau da descarga registou uma humidade relativa de $69,66 \pm 2,51\%$, o carapau não lavado, $69,88 \pm 3,50\%$ e o carapau lavado registou um teor de humidade de $70,05 \pm 2,76\%$.

Quando comparadas, as amostras de carapau não lavado e lavado, com a amostra, designada de **controlo**, carapau descarga, verificou-se que os valores de pH revelaram um aumento, relativamente à primeira amostra e uma diminuição, relativamente à amostra de carapau lavado (figura 3.1). No entanto, quando comparadas as amostras de carapau não lavado e lavado com o controlo, os valores de pH não revelaram diferenças estatisticamente significativas (*ANOVA one-way*, $F_{(2,27)}=0,812$, $p\text{-value} \geq 0,05$).

No que diz respeito aos valores de humidade relativa, apesar de apresentarem um padrão contrário ao do pH (uma vez que os valores aumentaram, quando comparadas com a amostra controlo (figura 3.1)), os resultados também não apresentaram diferenças estatisticamente significativas (*ANOVA one-way*, $F_{(2,27)}=0,043$, $p\text{-value} \geq 0,05$), quando comparadas as amostras de carapau não lavado e lavado com o controlo

A.2 Temperatura Interna

A temperatura interna foi determinada através de um termómetro de espeto, tal como referido no capítulo da metodologia, tendo sido registada, uma temperatura média superior, no carapau não lavado 7,76°C em comparação com o carapau lavado, 6,71°C (quadro 3.1).

Quadro 3.1 – Resultados obtidos para os parâmetros, pH, humidade relativa e temperatura interna no momento da descarga do pescado em lota, nas diferentes amostras estudadas (30). n - número de exemplares por amostra; os resultados são apresentados sob a forma de média±desvio-padrão; os valores entre parêntesis representam o mínimo e o máximo, respetivamente.

Amostras	n	pH	HR%	T. Int. (°C)
Carapau Descarga (controlo)	10	6,55±0,23 (6,17-6,89)	69,66±2,51 (65,38-73,15)	-
Carapau Não Lavado	10	6,63±0,15 (6,41-6,81)	69,88±3,50 (65,48-75,31)	7,76±0,32
Carapau Lavado	10	6,52±0,18 (6,28-6,77)	70,05±2,76 (65,97-74,78)	6,71±0,31

A.3 Azoto Básico Volátil Total (ABVT) e Azoto de Trimetilamina (N-TMA)

A determinação do ABVT e da N-TMA foi realizada de acordo com o método de Conway, referido no capítulo da metodologia. Através da fórmula citada, no mesmo capítulo, obtiveram-se os valores, descritos no quadro 3.2, em miligrama por cada 100 grama de amostra. Assim, observou-se que existia um aumento gradual dos valores de ABVT e N-TMA no que se refere às amostras estudadas: o carapau descarga registou um teor médio de ABVT de 7,90±1,16 e de N-TMA de 2,67±1,08 mg/100g, o carapau não lavado registou um teor médio de ABVT 9,63±3,92 e N-TMA de 3,30±1,81 mg/100g e o carapau lavado registou 10,21±4,33 e de N-TMA de 3,70±2,23 mg/100g amostra.

Quando comparados os valores de ABVT e N-TMA da amostra controlo com as amostras de carapau, não lavado e lavado, estas revelaram um aumento em relação ao momento inicial (t=0 horas de exposição) e ao momento de expedição (t=2h de exposição), tal como demonstrado na figura 3.1.

Relativamente às três amostras, o teor mínimo e máximo obtido, para o ABVT foi, respetivamente, 3,25 e 17,59 mg/100g, tendo o menor valor sido registado para o carapau não lavado e o maior para o carapau lavado. Os valores extremos assinalados para N-TMA foram, 0,58 e 6,15 mg/100g, sendo que a amostra que registou o valor mais

baixo foi o carapau lavado e a amostra que arrolou o valor mais elevado foi o carapau não lavado.

Contudo, quando comparadas as amostras (carapau não lavado e lavado) com o controlo, para ambos os parâmetros (ABVT e N-TMA) não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas (*Kruskal-Wallis*, $\chi^2_{(2)}=2,403$, *p-value* $\geq 0,05$).

Quadro 3.2. Teor de azoto básico volátil total e de azoto de trimetilamina, obtidos na análise de três diferentes amostras de carapau (30). n - número de exemplares por amostra; os resultados são apresentados sob a forma de média \pm desvio-padrão; os valores entre parêntesis representam o mínimo e o máximo, respetivamente.

Amostras	N	ABVT (mg/100g)	N-TMA (mg/100g)
Carapau Descarga (controlo)	10	7,90 \pm 1,16 (6,34-9,56)	2,67 \pm 1,08 (1,10-4,63)
Carapau Não Lavado	10	9,63 \pm 3,92 (3,25-14,54)	3,30 \pm 1,81 (1,30-6,15)
Carapau Lavado	10	10,21 \pm 4,33 (3,71-17,59)	3,70 \pm 2,23 (0,58-5,97)

A.4 Histamina

As áreas determinadas, relativas aos picos dos cromatogramas, obtidos pela análise através de HPLC, das amostras estudadas revelaram-se muito inferiores à concentração mínima utilizada para a elaboração da reta de calibração de 0,01 mg/ml de histamina, pelo que o estudo deste parâmetro foi interrompido. Desta forma não existiram resultados relevantes para o estudo em causa.

B. Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Método subjetivo

B.1 QIM

A avaliação da frescura do carapau inteiro foi realizada através da utilização do método QIM, tendo-se recorrido a uma tabela específica para a avaliação do mesmo. O valor total máximo, de pontos de demérito, que pode ser atribuído a um peixe, é de 16 valores sendo o mínimo 0. Relativamente às análises realizadas, o valor mínimo e máximo de pontos de demérito atribuídos às amostras (num total de 30 amostras analisadas), foi de 0 e 4, respetivamente. Em termos percentuais, o valor de QIM com maior repetibilidade, foi o 2, relativo a 36,7% das amostras analisadas, logo seguido de um valor de QIM igual a 0, com 33,3%, quadro 3.3.

O quadro 3.4, apresenta a relação entre as amostras analisadas e o total de pontos de demérito atribuídos. De modo a ser possível a obtenção de dados mais homogêneos, foram consideradas apenas vinte e sete amostras, das 30 analisadas, tendo as mesmas sido agrupadas apenas em três níveis de QIM (0,1 e 2). Assim, das amostras de carapau de descarga, não lavado e lavado, a que apresentou maior número de exemplares com atribuição QIM de 2, foi a amostra de carapau lavado. Já a atribuição mais baixa, QIM=0, foi igualmente atribuída às amostras de carapau descarga e não lavado.

Adicionalmente, e pelos resultados obtidos, foi ainda possível concluir que não existe dependência estatística entre as amostras e os valores de QIM (Qui-Quadrado, $\chi^2_{(4)}=2,321$, $p\text{-value} \geq 0,05$).

Quadro 3.3. Valores de QIM (Quality Index Method), e respetiva percentagem, referente à análise da frescura das amostras de carapau (com uma dimensão total de 30 amostras analisadas).

QIM	n	%
0	10	33,3
1	6	20
2	11	36,7
3	2	6,7
4	1	3,3

Quadro 3.4. Relação entre as amostras analisadas e o total de pontos de demérito atribuídos (QIM) para um n de 27.

Amostras	QIM		
	0	1	2
Carapau Descarga (controlo)	4	3	3
Carapau Não Lavado	4	1	3
Carapau Lavado	2	2	5

C. Relação entre os métodos subjetivos e os métodos objetivos

Quando relacionados os três tipos de amostras em estudo com o valor de QIM atribuído (quadro 3.5), verificou-se que para a amostra de carapau descarga, os valores de pH relativos ao índice de qualidade 0, se revelaram mais elevados que a amostra avaliada com um QIM de 1 ($6,53 \pm 0,20$ e $6,52 \pm 0,31$, respetivamente). Relativamente ao

teor de humidade, a referida amostra, apresentou um valor mais elevado no carapau classificado com um valor de QIM=2 ($70,36 \pm 2,41\%$). Contudo, e apesar do padrão descrito nos parâmetros estudados, pH e HR, os resultados não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas quando comparadas as 3 amostras, em simultâneo com as diferentes classificações de QIM (*ANOVA two-way*, $p\text{-value} \geq 0,05$).

No estudo do parâmetro ABVT, os valores mais elevados ($13,73 \pm 0,70$ mg/100g) foram assinalados nas amostras cujo QIM conferido foi igual a 2. Adicionalmente, os resultados demonstraram a existência de diferenças estatisticamente quando comparadas as 3 amostras, em simultâneo com as diferentes classificações de QIM (*ANOVA two-way*, QIM: $F_{(2,18)}=30,95$, $p\text{-value} \leq 0,05$; interação entre QIM e Amostras: $F_{(4,18)}=11,31$, $p\text{-value} \leq 0,05$). Especificamente, foi possível observar que tais diferenças residem dentro das amostras de carapau não lavado, quando comparadas as classificações de QIM=2 com QIM=0 e QIM=1 (*Bonferroni*, $p\text{-value} \leq 0,05$), assim como nas amostras de carapau lavado, quando comparadas as classificações de QIM=2 com QIM=0 e QIM=1 e QIM=0 com QIM=1 (*Bonferroni*, $p\text{-value} \leq 0,05$). Em ambos os casos, os valores de ABVT foram em média superiores para as classificações de QIM=2, sendo que para as amostras de carapau lavado, os valores de QIM=1 foram igualmente superiores quando comparados com os de QIM=0.

O azoto de trimetilamina aumentou consoante o aumento revelado na atribuição do índice de qualidade das amostras estudadas, tendo sido menor no carapau com QIM=0, $0,74 \pm 0,23$ mg/100g e superior no carapau com QIM=2, $5,22 \pm 0,81$ mg/100g. Pelos resultados obtidos, foi possível apreender que este parâmetro apresentou diferenças estatisticamente significativas quando comparadas as 3 amostras, em simultâneo com as diferentes classificações de QIM (*ANOVA two-way*, QIM: $F_{(2,18)}=78,17$, $p\text{-value} \leq 0,05$; interação entre QIM e Amostras: $F_{(4,18)}=3,79$, $p\text{-value} \leq 0,05$). Adicionalmente foi possível observar que para as 3 amostras em estudo, quando comparados os valores de QIM, as diferenças residem nas classificações de QIM=2, quando comparadas com as classificações de QIM=0 e QIM=1 (*Bonferroni*, $p\text{-value} \leq 0,05$). Para todos os casos, os valores foram sempre em média, superiores nas classificações QIM=2.

Analisando o quadro 3.6, é possível, estatisticamente, afirmar que não existem diferenças significativas ($p\text{-value} \geq 0,05$) no que respeita à relação entre o valor de índice de qualidade atribuído e os valores obtidos na análise dos parâmetros pH e humidade relativa. Os valores mais elevados, para estes dois parâmetros, foram obtidos nos exemplares cujo QIM foi avaliado em 1 e 2 pontos de demérito. Observando o mesmo

Resultados

quadro, é possível constatar que os teores de ABVT e N-TMA se revelaram superiores somente nos exemplares estudados com QIM=2, respetivamente, $11,24\pm 2,70$ e $4,66\pm 0,84$ mg/100g. Em termos estatísticos, foi verificada a existência de uma relação significativa ($p\text{-value}\leq 0,05$) entre o valor de QIM atribuído e os teores de ABVT e N-TMA registados, nomeadamente entre os exemplares cujo QIM=0 quando comparados com os exemplares com QIM=1 e QIM=2 e quando QIM=2 é comparado com QIM=0 e QIM=1, (Bonferroni, $p\text{-value}\leq 0,05$), respetivamente. Para ambos os casos, os valores foram sempre em média, superiores nas classificações QIM=2.

Quadro 3.5. Relação entre o tipo de amostra (carapau descarga, carapau lavado, carapau não lavado) e o índice de qualidade (QIM) relativamente aos parâmetros estudados (pH, humidade relativa, teor de azoto básico volátil total e de azoto de trimetilamina). Os valores assinalados com a mesma letra apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value}\leq 0,05$). n - número de exemplares (27); os resultados são apresentados sob a forma de média±desvio-padrão.

Amostra	QIM	n	pH	HR%	ABVT (mg/100g)	N-TMA (mg/100g)
Carapau Descarga (controlo)	0	4	$6,53\pm 0,20$	$69,22\pm 2,90$	$8,47\pm 1,12$	$1,78\pm 0,49^f$
	1	3	$6,52\pm 0,31$	$69,54\pm 2,97$	$7,54\pm 1,76$	$2,46\pm 0,19^g$
	2	3	$6,60\pm 0,25$	$70,36\pm 2,41$	$7,49\pm 0,16$	$4,08\pm 0,49^{f,g}$
Carapau Não lavado	0	4	$6,51\pm 0,19$	$69,81\pm 3,70$	$5,89\pm 1,98^a$	$1,64\pm 0,30^h$
	1	1	6,81	75,31	$7,58^b$	$1,96^i$
	2	3	$6,67\pm 0,72$	$67,17\pm 2,59$	$13,73\pm 0,70^{a,b}$	$4,31\pm 0,69^{h,i}$
Carapau Lavado	0	2	$6,43\pm 21$	$70,28\pm 2,86$	$3,96\pm 0,36^{c,d}$	$0,74\pm 0,23^j$
	1	2	$6,34\pm 0,06$	$69,08\pm 3,48$	$8,29\pm 2,14^{d,e}$	$1,78\pm 0,88^k$
	2	5	$6,59\pm 0,16$	$70,33\pm 3,07$	$11,99\pm 1,43^{c,e}$	$5,22\pm 0,81^{j,k}$

D. Avaliação da Qualidade e Segurança do Pescado Fresco – Microbiologia

D.1 Contagem de E.Coli

Tal como demonstrado nos quadros 3.7 e 3.8, as contagens obtidas na análise das diferentes amostras, carapau lavado e não lavado, e das duas zonas da amostra, pele e músculo, não revelaram a presença de *E.coli*.

Quadro 3.6 – Relação entre o valor QIM atribuído aos exemplares estudados, independentemente do seu tipo (descarga, lavado e não lavado) e os parâmetros estudados (pH, humidade relativa, teor de azoto básico volátil total e de azoto de trimetilamina). Os valores assinalados com a mesma letra apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value}\leq 0,05$). n - número de exemplares (27); os resultados são apresentados sob a forma de média±desvio-padrão.

QIM	n	pH	HR%	ABVT (mg/100g)	N-TMA (mg/100g)
0	10	6,51±0,18 (6,28-6,81)	69,67±2,86 (65,38-73,21)	6,54±2,25 ^{a,b} (3,25-9,28)	1,52±0,54 ^c (0,58-2,25)
1	6	6,51±0,26 (6,17-6,81)	70,35±3,48 (66,25-75,31)	7,80±1,52 ^a (6,34-9,81)	2,15±0,54 ^d (1,16-2,63)
2	11	6,55±0,16 (6,36-6,89)	69,48±3,07 (65,48-74,78)	11,24±2,70 ^b (7,37-14,54)	4,66±0,84 ^{c,d} (3,51-5,97)

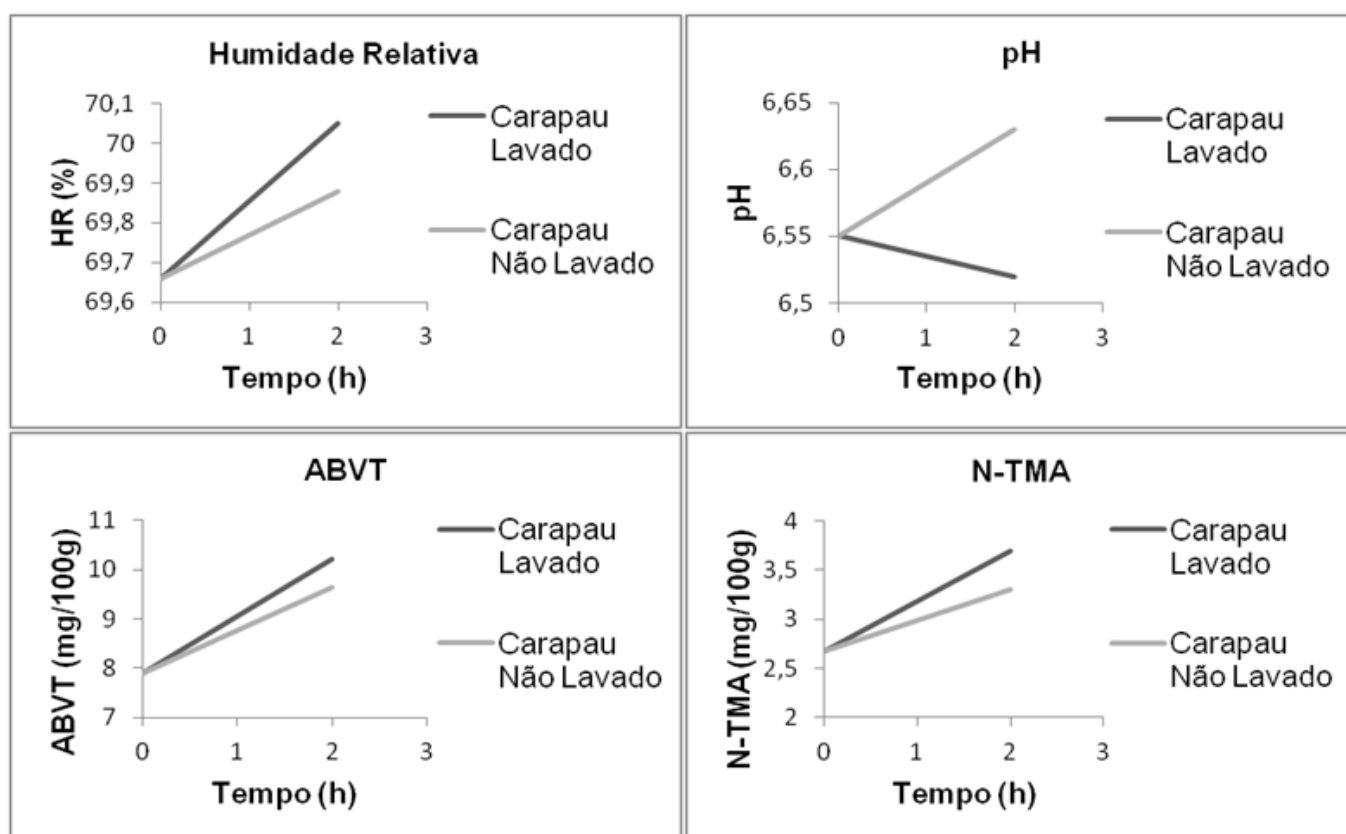


Figura 3.1 – Relação entre o momento inicial, relativo ao carapau de descarga – controlo, cujo tempo de exposição em lota foi de 0h, e as diferentes amostras estudadas após uma exposição de 2h em lota.

D.2 Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C (aeróbios totais)

Como ilustra o quadro 3.7, os valores relativos à análise microbiológica do músculo, para o carapau não lavado, revelaram contagens totais de mesófilos superiores aos do carapau lavado, $2,34 \times 10^3 \pm 3,92 \times 10^2$ e $1,43 \times 10^3 \pm 6,67 \times 10^2$ UFC/g, respetivamente (figura 3.2 e figura 3.3). O mesmo ocorreu com a contagem de totais à superfície (pele), em que o carapau não lavado revelou valores superiores ao carapau lavado, $1,58 \times 10^5 \pm 6,11 \times 10^4$ UFC/cm² e $1,20 \times 10^5 \pm 3,59 \times 10^4$, respetivamente (figura 3.4 e figura 3.5).

As amostras de carapau não lavado apresentaram valores mais elevados de microrganismos aeróbios a 30°C, na pele, em detrimento dos valores registados na mesma amostra, no músculo. No total das análises microbiológicas foram analisados vinte exemplares de carapau, sendo que cada exemplar foi analisado duas vezes, pele e músculo, representando assim a dimensão total da amostra, trinta e oito exemplares (por forma a garantir homogeneidade nos dados, foram eliminados dois valores relativos à amostra de carapau não lavado, referentes ao músculo).

Quadro3.7. Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C e de *E.coli*, em carapau lavado e não lavado em diferentes zonas da amostra (pele e músculo). Os valores assinalados com a mesma letra apresentam diferenças estatisticamente significativas (*p-value* ≤ 0,05). UFC – unidades formadoras de colónias; n - número de exemplares (28); os resultados são apresentados sob a forma de média ± desvio-padrão.

Amostras	Músculo (UFC/g)		Pele (UFC/cm ²)	
	Aeróbios 30°C	<i>E.coli</i>	Aeróbios 30°C	<i>E.coli</i>
Carapau Não Lavado	$2,34 \times 10^3 \pm 3,92 \times 10^{2ac}$ ($1,4 \times 10^3 - 2,7 \times 10^3$)	0	$1,58 \times 10^5 \pm 6,11 \times 10^{4a}$ ($4,2 \times 10^4 - 2,5 \times 10^5$)	0
Carapau Lavado	$1,43 \times 10^3 \pm 6,67 \times 10^{2bc}$ ($4,0 \times 10^2 - 2,4 \times 10^3$)	0	$1,20 \times 10^5 \pm 3,59 \times 10^{4b}$ ($5,8 \times 10^4 - 1,8 \times 10^5$)	0

Os valores máximos foram registados no carapau não lavado, na pele, $2,5 \times 10^5$ UFC/cm², tendo as contagens mais baixas sido registadas no músculo do carapau lavado $4,0 \times 10^2$.

Foram detetadas diferenças estatisticamente significativas, em ambas as amostras, carapau lavado e não lavado, entre as contagens registadas no músculo (*t-student*, $t_{16} = -3,367$, *p-value* ≤ 0,05), tendo as contagens relativas ao carapau não lavado apresentado valores superiores. Contudo, para as amostras referentes à pele, em ambos

os casos (carapau não lavado e lavado), não foram registadas diferenças estatisticamente significativas (*t-student*, $t_{18}=-1,695$, $p\text{-value} \geq 0,05$).

Quadro 3.8. Contagem de microrganismos aeróbios a 30°C e *E.coli*, em pele e músculo de amostras de carapau. Os valores assinalados com a mesma letra apresentam diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} \leq 0,05$). UFC – unidades formadoras de colónias; n - número de exemplares (38); os resultados são apresentados sob a forma de média±desvio-padrão.

Amostras	n	Aeróbios 30°C	<i>E.coli</i>
Músculo (UFC/g)	18	$1,71 \times 10^3 \pm 1,69^a$	0
Pele (UFC/cm ²)	20	$1,28 \times 10^5 \pm 1,56^a$	0

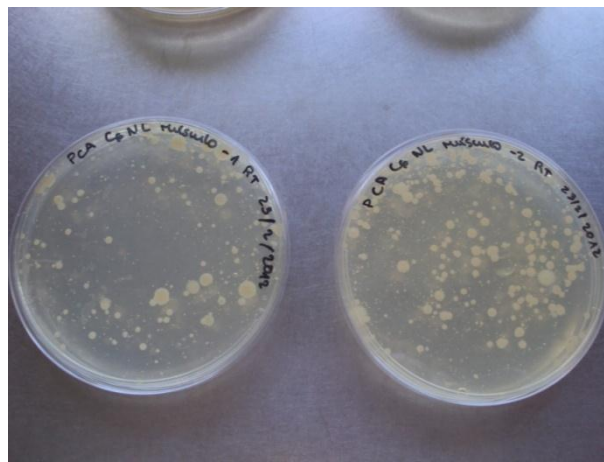


Figura 3.2. Contagem de Aeróbios a 30°C em músculo de carapau não lavado (diluição -1 e -2).

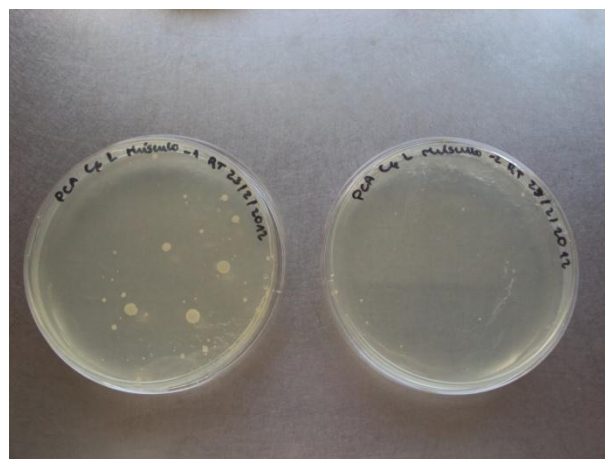


Figura 3.3. Contagem de Aeróbios a 30°C em músculo de carapau lavado (diluição -1 e -2).

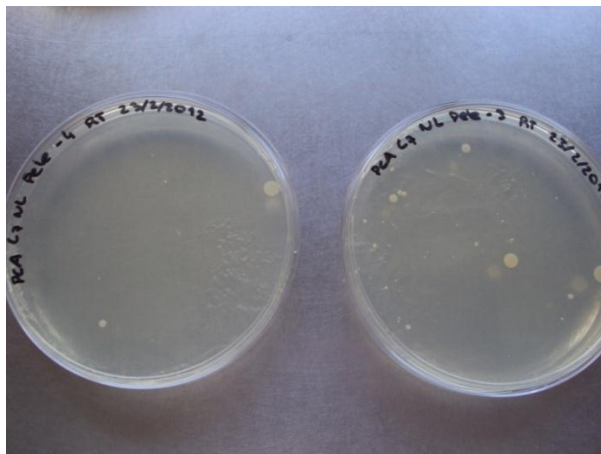


Figura 3.4. Contagem de Aeróbios a 30°C em pele de carapau não lavado (diluição -3 e -4).



Figura 3.5. Contagem de Aeróbios a 30°C em pele de carapau lavado (diluição -3 e -4).

Depois de incubadas, as placas, tal como demonstrado na figura 3.6, relativas à contagem de aeróbios a 30°C, registaram o crescimento de dois tipos de colónias. A maioria das colónias detetadas possuía uma coloração bege e o seu aspeto gelatinoso; em menor número foram detetadas colónias com coloração laranja e aspeto gelatinoso, semelhante às anteriores. A observação ao microscópio não se revelou esclarecedora. Os dois tipos de colónias obtidas, desenvolveram-se em ambos os grupos de estudo, carapau lavado e não lavado.

E. Avaliação da Qualidade da Água de Lavagem do Pescado Descarregado (Porto de Pesca) e Água Salgada Tratada

E.1 pH

O estudo do pH dos dois tipos de água, água do porto de pesca e água salgada tratada, tal como ilustra o quadro 3.9, revelou uma ligeira superioridade nos valores referentes à amostra de água salgada tratada. Estatisticamente não foram reveladas

diferenças significativas ($P \geq 0,05$). O valor mais baixo foi registado na água do porto de pesca, 6,90, e o mais elevado na água salgada tratada, 7,85.



Figura 3.6. Colónias (bege e laranja) obtidas a partir do estudo do músculo de carapau não lavado.

Quadro 3.9. Resultados de pH obtidos na análise dos diferentes tipos de água estudados, água porto de pesca e água salgada tratada. n - número de exemplares (20); os resultados são apresentados sob a forma de média±desvio-padrão; os valores entre parêntesis representam o mínimo e o máximo, respetivamente.

Amostras	n	pH
Água Porto Pesca	10	7,31±0,29 (6,90 – 7,79)
Água Salgada Tratada	10	7,55±0,21 (7,31 – 7,85)

E.2 Contagem Microbiológica – *E.coli*

As contagens obtidas na análise das diferentes águas, porto de pesca e salgada tratada, não revelaram a presença de *E.coli*.

Para ambas as análises foram considerados 10 exemplares de cada tipo de água.

CAPÍTULO 4 – DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Segundo Conde, J., 1975, Huss, H., 1995 e Howgate, P., 2009 os valores de pH do pescado considerado fresco situam-se entre 6,1 e 6,8 unidades de pH, sendo que estes valores aumentam ao longo do tempo podendo atingir os 7,2. Em concordância com os demais autores, Oechslschläger *et al.*, 1997, refere que o pH de um peixe fresco deverá sempre ser menor que 7. Segundo estudos realizados por Orban, E. *et al.*, em 2011, em pescada (*Merluccius merluccius*) os valores de pH para esta espécie encontravam-se entre os 6,79 (período de inverno) e os 6,89 (período de verão); Chomnawang, C. *et al.*, 2007 estudou a evolução do pH ao longo de 15 dias em peixe-gato, tendo percebido que o pH do pescado aumenta com a idade e o tempo de armazenamento em gelo (4°C), de 6,41 (dia 0) para 7,07 (dia 15); também em 2007, Fontes, M. *et al.*, realizou um estudo em Portugal, nomeadamente em alguns estabelecimentos comerciais da zona de Vila Real, tendo os valores de pH obtidos, para carapau (*Trachurus trachurus*), registado valores entre 6,35 (pescado cuja análise sensorial lhe atribui uma categoria superior) e os 6,8 (pescado cuja análise sensorial lhe atribui a categoria de reprovado). Tendo em conta os autores referidos, pode afirmar-se que os valores médios de pH das amostras estudadas (quadro 4.1) se encontravam dentro dos limites considerados aceitáveis para peixe fresco, nos dois tipos de amostra considerados, 6,63 para o carapau não lavado e 6,52 para o carapau lavado. O pH do músculo do peixe fornece a informação útil acerca da sua condição, ainda que estas sejam indiretas e possam apresentar variabilidade. Apesar da diferença entre os valores, esta não se revela estatisticamente significativa pelo que é possível afirmar que a lavagem do pescado não tem influência no valor de pH do pescado e conseqüentemente na sua degradação.

Relativamente à evolução da degradação do pescado, avaliado através do pH, estatisticamente, não é possível afirmar que a lavagem ou não lavagem do pescado tenha influência no valor de pH tendo este se mantido ao longo do período em lota (desde a descarga até à sua expedição).

O método selecionado para a determinação do pH apesar de rápido e simples, apresenta como principal desvantagem o facto de ser destrutivo (Sanchez-cascado, S., 2005).

A determinação da humidade relativa foi realizada essencialmente como complemento para a determinação de ABVT e N-TMA, pois este parâmetro era parte integrante da equação, comum a ambas as determinações.

Segundo Orban, E. *et al.*, 2011 e Chomnawang, C. *et al.*, 2007 os valores de HR registados para a pescada e peixe-gato, foram em média de 80,85% e 74,66%, respetivamente. Tal como referido anteriormente, Chomnawang, C. *et al.*, 2007 avaliou diferentes características da sua amostra temporalmente sendo que este se apercebeu da existência de uma diminuição do teor em água na amostra ao longo do tempo. Apesar desta observação, os valores obtidos não se revelaram estatisticamente diferentes. A Tabela da composição dos alimentos, do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge de 2006, divulga valores de teor de água para carapau de 75,6%, sendo este valor próximo dos valores médios registados para as três amostras estudadas.

Através do estudo da humidade relativa é possível perceber que as amostras de pescado lavado revelaram valores de humidade superiores podendo este facto ser atribuído ao ato de lavagem do pescado, sendo que esta água é introduzida, em parte, no pescado. Apesar da diferença registada, estatisticamente, não foi verificada a existência de diferenças, pelo que é possível afirmar que a humidade relativa não é influenciada pela lavagem e não evolui ao longo do tempo de permanência em lota (quadro 3.1 e figura 3.1).

Através da determinação da temperatura interna do pescado é possível ter a perceção das condições a que o pescado foi submetido e a influência que a água de lavagem tem no mesmo. Assim, o carapau lavado apresentou valores inferiores relativamente à amostra de carapau não lavado, apesar da água de lavagem baixar a temperatura interna do pescado, estatisticamente este facto não foi comprovado. Deste modo não é possível afirmar que a lavagem do pescado influencia a temperatura interna do mesmo.

Segundo Sánchez-Cascado, S., 2005, a utilização do teor de ABVT, N-TMA e histamina como índice de degradação tem como limitação as diferenças que se podem encontrar entre espécies, época do ano, habitat e modo de captura. No que respeita a valores de referência para o estudo (carapau lavado e não lavado) nada foi encontrado, contudo a Legislação Europeia tem definido alguns limites máximos para o azoto básico

volátil total, azoto de trimetilamina e histamina. Apesar disso apenas estão estabelecidos limites para algumas espécies de peixe. No quadro 4.1 encontram-se agrupados alguns valores de referência para ABVT, N-TMA e histamina tendo como menção alguns autores e legislação vigente.

Nos alimentos, o azoto encontra-se principalmente na forma de proteínas, as quais por ação das enzimas do próprio alimento ou de microrganismos, são hidrolisadas, originando compostos sucessivamente mais simples: proteínas, polipéptidos, péptidos e por fim aminoácidos (Huss, H., 1997).

Na decomposição anaeróbica das proteínas e de compostos resultantes da sua hidrólise, os produtos finais podem ser completamente oxidados, dando origem a compostos com aromas desagradáveis tais como o sulfureto de hidrogénio, amónia, aminas (histidina, tiramina, piperidina, putrescina e a cadaverina) e indol, sendo estes compostos característicos da decomposição do alimento. É, desta forma, o conjunto do amoníaco e das aminas voláteis que é doseado na determinação do ABVT, sendo este um índice de frescura dos alimentos (Huss, H., 1995).

Através dos dados compilados no quadro 4.1 comparativamente ao quadro 3.2, do capítulo referente aos resultados, observa-se que os valores obtidos para o teor de ABVT, para as três amostras estudadas, são inferiores ao valor proposto por Batista, I. *et al.*, 2001 para Carapau e, fazendo o paralelismo com a espécie estudada e as espécies legislada, é possível afirmar que as amostras estudadas apresentam valores igualmente inferiores aos três valores limites considerados pela legislação.

Em Portugal, foi realizado, como referido, um estudo em 2007 por Fontes, M. *et al.*, em que os autores analisaram vinte e três amostras de carapau onde, entre outras análises, os autores determinaram o seu teor de ABVT. Deste estudo foram determinados os seguintes valores de ABVT, para pescado analisado no próprio dia de aquisição: valor médio de 27,36mg/100g, máximo de 33,77mg/100g e mínimo de 11,92mg/100g.

Comparativamente com um estudo realizado por Orban, E. *et al.*, 2011, em pescada, os teores de ABVT registados demonstraram ser superiores aos valores obtidos no estudo relativo às três amostras de carapau. Os referidos autores, estudaram amostras de pescada ao longo de treze dias, conservando-a em gelo, em dois períodos do ano, verão e inverno, concluindo que os valores, estatisticamente, não apresentaram diferenças significativas. O valor máximo registado nesse estudo foi 13,75mg/100g e

mínimo de 10,44 mg/100g, relativamente ao dia zero. Após, apenas 4 dias em gelo, no período de verão, os valores aumentaram consideravelmente, atingindo um valor máximo de aproximadamente 43mg/100g. Comparativamente com o período de inverno, no final de treze dias de conservação em gelo, o teor de ABVT registado foi de 18mg/100g, sendo consideravelmente mais baixo que o quarto dia de conservação referente ao período de verão. Também Chomnawang, C. *et al.*, 2007 estudou ao longo do tempo, pescado, nomeadamente, peixe-gato com diferentes idades, ao longo de quinze dias conservado em gelo. Tal como Orban, E. *et al.*, 2011, os valores aumentaram ao longo do tempo, sendo que do dia zero ao dia quinze o teor de ABVT passou de 15,73mg/100g a aproximadamente 45mg/100g. Os autores revelam que o teor de ABVT registou um maior aumento apenas a partir do sétimo dia, tornando-se impróprio para consumo apenas ao nono dia de conservação. Hultmann, L. *et al.*, 2004, referiu que as mudanças que são verificadas nos valores de ABVT durante o tempo de armazenamento podem estar relacionadas com as mudanças de pH.

As análises realizadas no estudo das diferenças existentes entre o carapau de descarga, não lavado e lavado, foram realizados em amostras recolhidas no período de inverno, pelo que poderão ter beneficiado do fator “temperatura ambiente” na obtenção dos resultados registados.

Segundo Suzzi, G. *et al.*, 2003, a temperatura pode influenciar de diferentes formas a formação de aminas biogênicas. O autor cita, como fatores intervenientes neste processo, a curva de crescimento dos microrganismos, o metabolismo e a atividade enzimática bacteriana. Somando a isto, a temperatura também influi na atividade proteolítica e de descarboxilação bacteriana, além da inter-relação da população microbiana. As temperaturas elevadas favorecem a proteólise e a reação de descarboxilação, resultando no aumento da concentração de aminas. Deste modo, tendo sido as análises realizadas num período de temperaturas baixas, poderá estar camuflada alguma influência da mesma na deterioração do pescado em causa.

No entanto, Huss (1997) relatou que, para os sistemas enzimáticos, a temperatura pode desempenhar dois papéis, exercendo efeitos opostos na velocidade da reação enzimática. Ao mesmo tempo que, o aumento da temperatura acelera a velocidade da reação enzimática, este gera a desnaturação da enzima, diminuindo assim a reação. Assim seria essencial que num estudo futuro fossem realizadas análises às diferentes amostras no período de verão de modo a ser possível comparar esses valores com os atuais (referentes ao período de inverno).

Considerando alguns dos estudos existentes, anteriormente referidos (*Batista, I. et al., 2001*, *Hultmann, L. et al., 2004*, *Orban, E. et al., 2011* e *Chomnawang, C. et al., 2007*) e ainda a legislação em vigor, é possível afirmar que todas as amostras de carapau se encontravam seguras para consumo humano, tendo todas elas teores inferiores aos referidos. Relativamente à lavagem, através dos dados recolhidos, não foi encontrada qualquer diferença significativa entre o pescado lavado e o pescado não lavado.

Para detetar a deterioração dos produtos da pesca, a redução do óxido de trimetilamina (TMAO) a trimetilamina, tem vindo a ser considerada uma opção muito viável. O TMAO é um constituinte natural dos produtos da pesca, ao passo que nada ou apenas um pouco de trimetilamina é encontrado em peixes recém-capturados, o que se demonstrou coerente com os resultados obtidos. A presença de trimetilamina é geralmente de origem microbiana, embora alguns peixes contenham enzimas nos músculos que reduzem o TMAO. Este também pode ser reduzido a dimetilamina. Nem todas as bactérias têm a mesma capacidade de reduzir TMAO a trimetilamina, e a redução depende do pH (*Fiels, M., et al., 1968* e *Tarr, H., 1954*).

Os estudos realizados por *Orban, E. et al.*, em 2011, em pescada, durante um período de treze dias, na época de verão e inverno, revelaram valores de N-TMA estatisticamente diferentes relativamente às diferentes épocas do ano. No verão, os valores iniciais de N-TMA registados foram de 0,38 mg/100g no período e no inverno 0,08mg/100g. Ao final de oito dias de conservação em gelo, os teores de N-TMA obtidos pelos autores foram de aproximadamente 20 mg/100g, no período de verão, e cerca de 2 mg/100g no período de inverno, significativamente inferior (com catorze dias de conservação em gelo). Face a estes resultados os autores concluíram que a época do ano tem influência nos teores de N-TMA e igualmente de ABVT, tal como referido anteriormente.

Batista, I. et al., realizaram em 2001, diversos estudos em todas as lotas do país e em diferentes espécies de pescado. Entre as espécies estudadas, o carapau registou teores de N-TMA máximos de 3,73 mg/100g e mínimos de 0,46mg/100g. O nível de N-TMA encontrado no peixe fresco rejeitado por painéis sensoriais, registados no estudo realizado por *Pacheco, M., 1999*, variou entre as espécies estudadas pelo autor, entre os 10 e os 15 mg/100g em pescado armazenado aerobiamente. Em bacalhau embalado os valores de referência foram de 30 mg/100g, segundo *Dalgaard, P. et al., 1993*.

Em termos de legislação não existem valores de referência específicos contudo, Connel, J., 1975, tem sido considerado o autor, cujo teor de N-TMA, tem sido tido como referência de boa qualidade e segurança, nomeadamente, 10-15 mg/100g. Também outros autores apontam valores de referência tais como os referidos no quadro 4.1.

Segundo os estudos supracitados e os valores de referência mencionados no quadro 4.1, os teores de N-TMA obtidos neste estudo são considerados aceitáveis e em valores inferiores aos referidos. O carapau de descarga, denominado de controlo, tal como seria de esperar foi a amostra cujo teor de N-TMA foi menor, contudo estas diferenças não foram significativas. Esta amostra foi conservada de imediato em refrigeração, pelo que os crescimentos dos microrganismos que são responsáveis pela redução do TMAO a trimetilamina poderiam ter sido inibidos. Comparativamente, os teores de trimetilamina nos carapaus não lavados e lavados, também não se revelaram significativos pelo que a lavagem do pescado não constituiu uma fonte de contaminação ou aceleração do processo de crescimento e redução do TMAO a trimetilamina.

As amostras de carapau lavado em detrimento das amostras de carapau não lavado, registaram os teores de ABVT, N-TMA e humidade relativa mais elevadas contudo, os valores de pH e temperatura interna, foram mais baixos. Apesar de não terem sido registadas diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} \geq 0,05$) entre as amostras, relativamente a estes parâmetros, poderá dizer-se, de um modo não estatístico, que existiu alguma incoerência nos resultados pois segundo os autores, anteriormente referidos, quanto mais elevado o valor de pH maior é a deterioração do pescado, logo o teor de ABVT e N-TMA deveria ser superior nas amostras com pH mais alto. Desta forma seria mais coerente se o carapau lavado, visto ter teores de ABVT e N-TMA mais altos, possuísse pH mais elevado e não inferior, como foi registado. Relativamente à temperatura, esta deveria contribuir para a refrigeração do pescado e consequentemente para retardar a deterioração do mesmo. Deste modo seria expectável que o carapau lavado, cuja temperatura interna é inferior ao carapau não lavado, registasse teores de ABVT e N-TMA mais baixos.

A histamina é associada ao envenenamento por scombrídeos. A cadaverina e a putrescina são as diaminas mais importantes utilizadas como indicadores de deterioração e têm sido utilizadas tanto para peixes como para carnes e aves.

As aminas biogénicas presentes num determinado produto podem ser indicativas do seu estado de degradação, sendo por este motivo um parâmetro útil para avaliar a degradação de um alimento ao longo do tempo. Nas amostras de carapaus, os níveis

máximos admissíveis, segundo Veloso, M., 2004 e o limite médio legislado tendo em conta as características da amostragem, de histamina a níveis inferiores a 100 ppm. O Regulamento (CE) nº 1441/2007, de 5 de Dezembro de 2007 que altera o Regulamento (CE) nº 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios estabelece limites para os produtos da pesca de espécies de peixes associadas a um elevado teor de histidina. O teor médio de histamina não pode ser superior a 100 mg/kg, num total de 9 amostras obtidas de um mesmo lote, onde duas amostras (das 9) podem ter um teor superior a 200 mg/kg, contudo apesar do carapau não se encontrar contemplado nessa listagem foi possível através dos resultados obtidos observar que os peixes analisados apresentavam teores de histamina inferiores a 100 ppm, estando assim em conformidade com a legislação.

Quadro 4.1. Valores de referência para teores de ABVT, N-TMA e histamina.

Parâmetro	Referência bibliográfica	Legislação (EU) ^{CE, 2005; CE, 2008}
ABVT	- 25 mg azoto/100g tecido muscular (Batista, I. et al., 2001 [#])	- 25 mg de azoto/100 g tecido muscular * - 30 mg de azoto/100 g tecido muscular ^{*1} - 35 mg de azoto/100 g tecido muscular ^{*2}
N-TMA	- 10 – 15 mg azoto/100g tecido muscular (Connel, J., 1975) - 12-15 mg azoto/100g tecido muscular (Monotgomery et al., 1970) - 5–7 mg azoto/100g tecido muscular para o arenque (Castell, et al., 1955)	Não existe legislação específica aplicável
Histamina	<100 ppm (Veloso, M., 2004)	n=9; c=2; m=100 mg/kg; M=200 mg/kg

Nota: Valor de referência para pescado em que “m” corresponde ao valor médio, “M” ao limite máximo, “n” o número de unidades que constituem a amostra e c corresponde ao número de unidades da amostra com valores superiores a m ou compreendidos entre “m” e “M”. [#] Valor proposto para espécies da família *Carangidae*; * Valor de referência correspondente às espécies

Sebastes spp., *Helicolenus dactylopterus*, *Sebastichthys capensis*; ¹ Valor de referência correspondente às espécies que pertencem à família *Pleuronectidae* (à exceção do alabote: *Hippoglossus spp.*); ² Valor de referência correspondente às espécies que pertencem à família *Merluccidae*, espécies que pertencem à família *Gadidae*. ¹Regulamento (CE) nº 1022/2008; ² Regulamento (CE) nº 1441/2007.

Em concordância com os restantes parâmetros avaliados, é de convir que os valores obtidos, apesar de irrelevantes, estavam de acordo com o esperado. Visto que as amostras de pescado analisados se apresentavam em boa qualidade seria expectável que os níveis de histamina fossem muito pequenos e até mesmo vestigiais (tal como se registou).

Segundo Nunes, M. *et al.*, 2004, grande parte do pescado transacionado apresenta um grau de frescura correspondente à fase 2, isto é pescado cuja pontuação QIM atribuída não é superior a 4, pelo que se reveste de grande importância do ponto de vista comercial. Por conseguinte, é vantajoso dispor de um método de análise sensorial que evidencie de forma mais clara as alterações que têm lugar nesta fase. Este objetivo é conseguido com o QIM que permite obter uma linearização dos resultados da análise sensorial ao longo da armazenagem em refrigeração. Uma vez estabelecida esta evolução bem como o tempo máximo de conservação para cada espécie, é possível fazer uma previsão do tempo de conservação residual, isto é, o período em que o pescado, armazenado nas mesmas condições, ainda é aceitável. As vantagens do QIM levaram ao desenvolvimento de esquemas específicos para diferentes espécies em vários países, destacando-se o trabalho desenvolvido no âmbito dos projetos europeus QIM Eurofish e QIMCHAIN. O objetivo do primeiro é promover e implementar, a nível europeu, o uso do QIM como uma ferramenta versátil para a avaliação da qualidade do pescado quer no circuito da distribuição quer na produção. No que respeita ao QIMCHAIN, o pretendido foi: (i) introduzir o esquema nas etapas mais relevantes do circuito da pesca e, assim, facilitar as trocas comerciais e garantir a rastreabilidade da informação junto dos consumidores europeus; (ii) reforçar a utilização dos resultados da investigação nesta área pelo sector da pesca; (iii) realçar as vantagens resultantes da sua aplicação na Europa; e (iv) identificar futuras necessidades de investigação nesta área.

Estudos realizados por Inácio, P. *et al.*, 2003, em carapau (*Trachurus trachurus*), acerca do efeito da lavagem do pescado com água do mar tratada e água da torneira na qualidade do mesmo, recorrendo ao esquema QIM revelaram que a lavagem do peixe com água da torneira reduziu a qualidade do pescado entre o dia 0 e o dia 2. Este era

devido a uma perda temporária de brilho, que foi readquirido a partir do segundo dia. Após 2 dias, os três grupos (controle, água do mar e água da torneira) apresentaram valores semelhantes até ao final da experiência. Estatisticamente não existiram diferenças significativas ($p\text{-value}\geq 0,05$) entre os grupos. A rejeição foi identificada ao dia 12 onde os autores obtiveram uma pontuação média de QIM de 17 valores.

Os resultados obtidos, referidos nos quadros 3.3 e 3.4, não revelaram diferenças significativas entre os três grupos, controle, carapau lavado e carapau não lavado, tal como ocorrido com Inácio, P. *et al.*, 2003 no seu estudo. Os pontos de demérito máximos atribuídos, não se revelaram elevados, tendo apenas um exemplar obtido a classificação QIM de 4 valores. Apesar disso, um exemplar cuja atribuição QIM é de 4 valores, não é alarmante pois tal como referido anteriormente por Nunes, M. *et al.*, 2004, grande parte do pescado transacionado apresenta um grau de frescura correspondente à fase 2, sendo esta fase correspondente a uma atribuição de pontos de demérito entre 0 e 4. Apesar de não terem sido verificadas diferenças estatisticamente significativas, o carapau lavado foi o que registou maior número de exemplares com pontuação QIM de 2 valores em detrimento dos restantes grupos que apenas registaram três exemplares. Em termos visuais, os exemplares do grupo lavado, revelaram-se mais atrativos ao nível do aspeto geral, nomeadamente à pigmentação e brilho que os restantes, contudo a cor da pupila, a forma do olho, a cor das brânquias e a firmeza foram os critérios que mais contribuíram para os pontos de demérito atribuídos.

Avaliando o efeito da interação das amostras e o valor de QIM atribuído é perceptível a existência de uma interação, verificada estatisticamente ($p\text{-value}\leq 0,05$) apenas nas análises referentes aos teores de ABVT e N-TMA sendo que o primeiro foi apenas verificado nos grupos lavado e não lavado e o segundo nos três grupos estudados. Através dos dados apresentados no quadro 3.5 a existência de um padrão em que, com o aumento do valor de QIM, existe um aumento dos teores de ABVT e N-TMA, sendo que existem diferenças estatisticamente significativas entre as mesmas ($p\text{-value}\leq 0,05$). Esta interação entre a pontuação QIM atribuída e os teores de ABVT e N-TMA revelam coerência nos resultados obtidos pois, sendo estes dois teores, indicativos de deterioração no pescado (Batista, I. *et al.*, 2001, Huss, H., 1997, Orban, E. *et al.*, 2011, Pacheco, M., 1999 e Sánchez-Cascado, S., 2005), quanto mais deteriorado o pescado se apresentar pior estará a sua aparência. Desta forma os pontos de demérito atribuídos

serão mais elevados fazendo com que o pescado em estado de deterioração mais avançado apresente pontos de demérito mais altos.

Os peixes frescos, mantidos em refrigeração, são invariavelmente deteriorados por bactérias, ao passo que os peixes salgados e secos têm uma tendência maior a serem deteriorados por fungos. A microbiologia bacteriana da deterioração do peixe consiste em bastonetes Gram-negativos não esporulados do tipo *Pseudomonas* e *Acinetobacter*. Muitas das bactérias presentes no pescado têm um bom crescimento entre 0 e 1°C. Shaw, B. *et al.*, 1968 descobriram que um grande número de *Pseudomonas* spp. é capaz de causar a deterioração de peixes a -3°C, embora a uma velocidade menor.

A deterioração de peixes de água doce e de água salgada parece ocorrer essencialmente da mesma forma, tendo como principais diferenças a presença de uma flora de água salgada em peixes marinhos e as diferentes composições químicas dos constituintes de nitrogénio não proteico dos peixes. A parte mais suscetível do peixe é a região das brânquias, incluindo as próprias brânquias. Os principais sinais de deterioração organolética podem ser notados quando as brânquias começam a exalar odores desagradáveis. Se o pescado não for eviscerado de imediato, as bactérias do intestino começam instantaneamente a deslocar-se para as paredes e as cavidades intestinais. Acredita-se que este processo seja auxiliado pela ação de enzimas proteolíticas que têm a sua origem no intestino, as quais podem ser enzimas naturais inerentes ao peixe, enzimas de origem bacteriana do interior do canal intestinal ou ambas. As bactérias deteriorantes do pescado, aparentemente, têm dificuldade em crescer em camadas viscosas e em tegumentos externos. A camada é composta de mucopolissacarídeos, aminoácidos livres, óxido de trimetilamina, derivados de piperidinas e outros compostos relacionados (Jay, J., 2000).

De acordo com Shewan, J., 1961 os microrganismos de deterioração, utilizam em primeiramente os compostos mais simples e, ao longo do processo, libertam diversos outros componentes voláteis de odores desagradáveis. Lerke, P. *et al.*, 1965 em função dos estudos desenvolvidos na área, descobriram que as bactérias deteriorantes do pescado pertenciam aos géneros *Pseudomonas* e *Acinetobacter* *Moraxella*, sem presença de *Micrococcus* ou flavobactérias.

Estudos acerca da biota da pele de quatro peixes diferentes revelaram que os microrganismos mais frequentes foram: *Pseudomonas-Alteromonas*, 32 a 60%, e *Moraxella-Acinetobacter*, 18 a 37% (Hoobs, G., 1983).

Quando se utiliza meio de cultura padrão, as bactérias psicrófilas desenvolvem-se a 0°C em menos de duas semanas. Dependendo das espécies, os limites de temperatura e temperatura ótima de desenvolvimento variam, sendo o limite superior entre os 30 e os 40°C e ótima entre os 20 e os 35°C. No entanto, as bactérias têm a capacidade de se desenvolverem bem a temperaturas baixas, verificando-se que a sua velocidade de desenvolvimento sofre uma redução com a diminuição da temperatura, particularmente em torno de 0°C.

As principais espécies psicrófilas são do género *Pseudomonas I, II, III e IV* (halófilas e não halófilas), *Vibrio*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, e *Corynebacterium*. Estas bactérias, de um modo geral, morrem numa temperatura de 63°C, durante um período de exposição de 30 minutos.

A composição microbiana é formada por microrganismos adequados às condições ambientais de temperatura, quantidade de oxigénio, pressão osmótica, pH, etc., sendo a temperatura de armazenamento o fator com maior influência. Quando os peixes são conservados entre os 0 e os 5°C, a microbiologia do pescado vai sofrendo alterações graduais pois a maioria das bactérias *Pseudomonas*, *Vibrio* e *Moraxella* desenvolvem-se nesta faixa de temperatura, enquanto a maioria dos géneros *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, etc., não é capaz de se desenvolver ou a sua velocidade de desenvolvimento muito lenta. Por isso, no processo de deterioração, os grupos de *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Moraxella*, etc., constituem a maior parte, sendo os grupos de *Pseudomonas* os principais dominantes.

Quando a conservação ocorre na ausência de oxigénio, há predominância de bactérias anaeróbias facultativas (*Vibrio*, *Aeromonas*, *Photobacterium*, *Enterobacteriaceae*, etc.) e bactérias anaeróbias (*Clostridium*, etc.). O odor do pescado no estado de deterioração pode ser provocado pelos géneros *Pseudomonas* e *Vibrio*, principalmente *Pseudomonas III* e *IV* não halófilas, que produzem um forte odor a putrefação (Lacasse, D., 1995 e Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999).

A maioria das bactérias originárias do pescado, do género *Pseudomonas* são Gram negativas, não formam esporos, são aeróbias, oxidase positiva, bacilares, locomovem-se com auxílio de flagelos e quase não existem espécies que produzam

pigmentos carotenoides. Podem ser separadas nos grupos I, II, III e IV, de acordo com a forma de decompor a glucose. Os grupos I e II produzem ácidos, metabolizando aerobicamente a glucose enquanto os grupos III e IV não produzem ácidos.

Os grupos I e II contêm bactérias de origem terrestre, não halófilas e diferenciam-se pela produção de pigmentos que emitem luz. O grupo III e IV incluem halófilas e não halófilas, sendo o primeiro de origem terrestre e o segundo de origem marinha, sendo ainda incluídas neste grupo, algumas bactérias do género *Alteromonas*.

As bactérias do género *Pseudomonas* desenvolvem-se bem em temperatura em torno de 0°C. A sua velocidade de crescimento é rápida, principalmente as do grupo III e IV halófilas.

A maioria das *Pseudomonas* hidrolisa proteínas e lípidos e participam ativamente na deterioração do pescado conservado sob baixas temperaturas, em condições aeróbias. Entre elas, as bactérias do grupo III e IV não halófilas formam um forte odor desagradável, característico de deterioração. Neste grupo, a espécie *Pseudomonas putrefaciens* atua na deterioração de peixes refrigerados, existindo igualmente outras espécies responsáveis (Bernardo, F. *et al.*, 1997, Lacasse, D., 1995 e Masayoshi, Ph. *et al.*, 1999).

Um estudo, já referido anteriormente, realizado por Inácio, P. *et al.*, 2003, em carapau (*Trachurus trachurus*), acerca do efeito da lavagem do pescado com água do mar tratada e água da torneira na qualidade do mesmo, revelou que os peixes lavados mostravam contagens de mesófilos totais iniciais, à superfície, menores que o grupo controlo e o grupo submetido à lavagem com água da torneira. Contudo no final do tempo da armazenagem, o grupo pertencente aos carapaus lavados com água do mar apresentavam contagens superiores ao grupo de carapau lavado com água da torneira. Desta forma, comparando os resultados do quadro 3.7 verificou-se que a lavagem do pescado reduziu o número de microrganismos aeróbios a 30°C tanto à superfície como no músculo. Apesar das diferenças verificadas, estatisticamente ($P \geq 0,05$), estas não se revelaram significativas quanto à existência de diferenças entre o carapau lavado e não lavado, relativamente à pele. Apesar disso foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} \leq 0,05$) no que respeita à contagem de aeróbios no músculo. Foram igualmente identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} \leq 0,05$) entre as diferentes zonas da amostra revelando que a pele apresentava sempre valores superiores ao músculo (quadro 3.7 e 3.8). Sendo estas análises realizadas poucas horas após a descarga do pescado em lota, é natural que os microrganismos presentes na pele

não tenham tido tempo suficiente para realizarem o seu crescimento e proliferação até ao músculo. Tal como referido por Inácio, P. *et al.*, 2003 apenas ao sexto dia de armazenagem começou a ser registado um crescimento exponencial dos microrganismos presentes na superfície do pescado.

Relativamente aos valores obtidos, estes apresentaram-se coerentes com os valores esperados pelo que um estudo realizado por Batista, I. *et al.*, 2001, registou contagens totais de mesófilos entre $8,9 \times 10^3$ e $3,5 \times 10^7$ UFC/g, em 515 exemplares de carapau. Os autores pretendiam, entre outros estudos, verificar a existência de uma relação entre o grau de frescura atribuído a um determinado produto da pesca e a contagem total de mesófilos contudo esta não foi conseguida. Fazendo o paralelismo entre este estudo, relativamente ao local do carapau analisada, presume-se que o valor mais baixo seja relativo à análise do músculo e o mais elevado à pele. Desta forma os valores mais baixos registados pelos autores estão de acordo com os valores apresentados no quadro 3.7, para ambos os grupos, relativamente ao músculo do carapau. Quanto aos valores registados para a pele estes são mais baixos que os valores máximos registados pelos autores do estudo referido. Segundo os mesmos autores, apenas as contagens totais superiores a 10^7 são consideradas acima do valor máximo admissível para pescado fresco de acordo com a International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Segundo esta referência todos os exemplares estudados apresentaram valores admissíveis para a contagem de mesófilos totais (aeróbios a 30°C).

As contagens totais obtidas, refletiram essencialmente, a contaminação inicial do pescado, resultante fundamentalmente, da zona e do modo de captura bem como das condições de manuseamento.

A água do mar tem um sistema de tamponamento excelente devido, entre outras, à interação do dióxido de carbono com a água de modo a que o valor de pH se mantem, regra geral, sempre entre os 7,5 e 8,5. A água neutra possui um pH 7, enquanto as substâncias ácidas apresentam valores de pH menores que 7 e substâncias alcalinas possuem pH superior a 7. Se água do mar fosse influenciada instantaneamente pelas substâncias químicas que lhe são adicionadas, sempre que estas fossem ácidas ou alcalinas toda a vida marinha estaria comprometida. Contudo, devido às suas características de “solução tampão”, tal como referido, o pH é mantido estável e a vida marinha é preservada. A salinidade e o pH da água do mar são medidas relativamente

estáveis, enquanto o oxigênio, a temperatura, e os nutrientes dissolvidos variam consoante a localização (MS., 2008)

Os dois tipos de água analisados, água do porto de pesca e a água salgada tratada, apresentaram um teor ligeiramente básico, contudo não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas ($p\text{-value} \geq 0,05$) entre elas, apesar da água tratada apresentar um valor médio ligeiramente mais elevado. Os valores apresentados no quadro 3.9 revelaram, relativamente à água salgada tratada, estar dentro dos valores aceitáveis para uma água do mar, contudo os valores de pH da água do porto de pesca registaram valores ligeiramente inferiores aos referidos pelo autor. Tal poderá dever-se há presença de algumas substâncias provenientes de derrames de combustível por parte das embarcações bem como fugas de esgotos provenientes do local.

A água do porto de pesca apresentou, em detrimento da água tratada, uma coloração amarelada e com algumas partículas à superfície.

Devido à desconfiança da existência de fugas de esgoto na zona onde a água do porto de pesca é recolhida, procedeu-se à pesquisa de *E.coli*, tanto na água como no pescado, contudo esta não foi detetada. Tal como realizado por Tzikas, Z. *et al.*, 2005, dever-se-ia realizar contagens microbiológicas em diferentes épocas do ano, de modo a ser perceptível a presença ou ausência deste tipo de microrganismos.

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO E PERSPETIVAS FUTURAS

Tendo em consideração a diferentes etapas a que os produtos da pesca são submetidos até chegarem ao consumidor final, este estudo mostrou uma importância relevante no que respeita ao conhecimento da qualidade e segurança alimentar do carapau (*Trachurus trachurus*) descarregado na lota de Peniche e acerca da influência da sua manipulação durante o período que antevê a sua expedição.

É do interesse de quem vende e compra pescado, que este apresente características visuais apelativas, pelo que a sua lavagem, no momento em que este é descarregado em lota, é um fator, para muitos, indispensável. Contudo para ser possível executar esta tarefa sem comprometer, eventualmente, a qualidade e segurança dos produtos da pesca, é necessário garantir que a água de lavagem cumpra com as condições mínimas de tratamento exigidas a uma água própria para contato com alimentos. Visto esta condição ser difícil de executar e da reticência dos manipuladores de pescado com a utilização e o pagamento de água salgada tratada, este estudo permitiu demonstrar que a utilização da atual água do porto de pesca (de acordo com as condições estudadas), em detrimento, da não utilização de água (não lavagem), não tem influência na qualidade e segurança alimentar final do produto estudado.

A lavagem do pescado, estatisticamente, não contribuiu para alterar a temperatura interna do pescado.

Visando as condições estruturais da lota e o tempo em que o pescado é mantido dentro das instalações, desprovidas de sistema de climatização das áreas comuns, até à sua expedição, não foram encontradas, estatisticamente, evidências relativas à influência deste fator na degradação do pescado, pelo que é possível afirmar que as condições estruturais proporcionadas ao pescado não influenciam negativamente a sua qualidade e segurança (de acordo com o período em que o estudo foi realizado).

O método subjetivo QIM, revelou-se um bom indicador de frescura para a espécie estudada, pelo que através da avaliação da sua interação com os métodos objetivos utilizados, nomeadamente os teores de ABVT e N-TMA, permitiram obter uma relação entre a pontuação QIM atribuída e os teores referidos, sendo que quanto maior a pontuação QIM atribuída a um exemplar de carapau, mais elevado é o seu teor de ABVT e N-TMA.

Microbiologicamente verificou-se que a lavagem do pescado não tem influência, estatística ($p\text{-value}\geq 0,05$), na contagem à superfície de aeróbios totais a 30°C contrariamente ao músculo que apresentou diferenças estatísticas ($p\text{-value}\leq 0,05$), quando comparadas as diferentes amostras. Assim a lavagem do pescado apresentou como benefício a redução da carga microbiana existente no músculo, em cerca de $0,91\times 10^3$ UFC/g em relação à carga inicial. Através dos resultados obtidos, concluiu-se ainda a existência de claras diferenças entre os valores obtidos na contagem de aeróbios totais a 30°C da pele e do músculo sendo que a pele apresentou valores superiores.

A água do porto de pesca, tendo em consideração as análises realizadas, não apresentou características estatisticamente diferentes da água tratada, pelo que apenas uma análise pormenorizada permitiria caracterizar os dois tipos de água em causa. Relativamente às contagens de *E.coli*, estas não foram verificadas, tanto nas águas analisadas como nos carapaus.

Apesar dos resultados obtidos terem sido satisfatórios seria, num futuro próximo, do interesse da entidade que gere a lota de Peniche, a realização de estudos na época de verão pois a estrutura da lota é fortemente influenciada pela temperatura ambiente, pelo que os resultados obtidos foram fruto de um estudo realizado no inverno. Desta forma, seria possível determinar a qualidade e segurança do pescado em duas épocas do ano, aumentando a fiabilidade dos resultados. Seria igualmente interessante alargar este tipo de pesquisa a outras espécies de pescado de modo a obter resultados com maior expressividade no que respeita aos produtos da pesca descarregados na lota de Peniche.

Num próximo estudo, poder-se-ia para além de contemplar outras espécies, realizar estudos de prateleira, onde o pescado seria armazenado em refrigeração durante um determinado espaço temporal, sendo estudada a influência da lavagem e não lavagem do mesmo de modo a verificar se, ao longo do tempo, a água exerce algum tipo de influência na qualidade e segurança dos produtos.

De modo a perceber a existência de uma interação direta entre o método subjetivo de avaliação da qualidade do pescado, através do método QIM e os métodos objetivos de avaliação da deterioração do pescado, teores de ABVT e N-TMA seria interessante realizar recolhas e estudos em exemplares de pescado que apresentem sinais de deterioração evidentes.

Seria ainda importante realizar um estudo detalhado aos dois tipos de águas por forma a caracterizar as mesmas em diferentes períodos do ano.

CAPÍTULO VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agência Portuguesa do Ambiente, Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território (APA). 2001. *Relatório do Estado do Ambiente 1999 — Ambientes Marinho e Costeira*. Lisboa.

Bandarra, N., Nunes, M., Oliveira, L., Batista, I., Calhau, A. 2004. *Composição e valor nutricional dos produtos da pesca mais consumidos em Portugal*. Publicações Avulsas do IPIMAR. Lisboa.

Barreto, J. 2011. *A pesca do carapau*. Disponível em: www.pescamar.paginas.sapo.pt. Consultado a 14 de Dezembro de 2011.

Batista, I., Nunes, M., Martins, A., Delgado, N., Mendes, A. 2001. *Relatório final do projeto – Monitorização da qualidade do pescado fresco e refrigerado descarregado em lota*. Instituto de Investigação das Pescas e do Mar (IPIMAR). Lisboa.

Bernardo, F., Martins, H. 1997. *O Pescado na Alimentação Portuguesa*. 2.^a Edição. Instituto Nacional de Formação Turística. Lisboa.

Bremner, H. 1985. A convenient, easy-to-use system for estimating the quality of chilled seafood. *Fish Processing Bulletin*. 7: 59-70.

Bremner, H., Olley, J., Vail, A. 1987. *Seafood Quality Determination*. Elsevier. Amesterdão.

Cakli, S., Kilinc, B., Cadun, A., Dincer, T., Tolasa, S. 2006. Effects of gutting and uncutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bream *Sparus aurata* and sea bass *Dicentrarchus labrax* stored in ice. *Food Science and Nutrition*. 467:519-527.

Cardador, F. 2009. *Atlas das Águas do Conselho Consultivo Regional-Sul, projeto MEFEPO*. Disponível em: www.liv.ac.uk. Consultado a 14 de Dezembro de 2011.

Castell, C., Triggs, R. 1955. Spoilage of Haddock in the Trawler at sea: The measurement of spoilage and Standards of Quality. *Journal of the Fisheries Research Board Canada*. 12: 329-341.

Chomnawang, C., Nantachai, K., Yongsawatdigul, J., Thawornchinsombut, S., Tungkawachara, S. 2007. Chemical and biochemical changes of hybrid catfish fillet stored at 4°C and its gel properties. *Food Chemistry* 103:420–427.

Comissão Europeia (CE).1996. Regulamento do Conselho (CE) Nº 2406/96. Fixação de normas comuns de comercialização para certos produtos da pesca. *Jornal Oficial*. L 334, 23/12/1996, pp 1-15.

Comissão Europeia (CE). 2004^a. Regulamento da Comissão (CE) Nº 852/2004. Higiene dos géneros alimentícios. *Jornal Oficial*, L 139, 30/04/2004, pp 1-54.

Comissão Europeia (CE). 2004^b. Regulamento da Comissão (CE) Nº 853/2004. Regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. *Jornal Oficial*, L 256, 25/06/2004, pp 22-82.

Referências Bibliográficas

Comissão Europeia (CE). 2004^c. Regulamento da Comissão (CE) N° 854/2004. Regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano. *Jornal Oficial*, L 226, 25/06/2004, pp 83-127.

Comissão Europeia (CE). 2005. Regulamento da Comissão (CE) N° 2074/2005. Controlos oficiais aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial*, L 338, 22/12/2005, pp 27-59.

Comissão Europeia (CE). 2008. Regulamento da Comissão (CE) N° 1022/2008 que altera o Regulamento (CE) N.º 2074/2005 no que se refere aos limites de azoto básico volátil total (ABVT). *Jornal Oficial*, L 277, 18/10/2008, pp 18-20.

Comissão Europeia (CE). 2007. Regulamento da Comissão (CE) N° 1441/2007. Critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios. *Jornal Oficial*, L 322, 07/12/2007, pp 12-29.

Conde, J. 1975. *Guia del Inspector Veterinário Titular, 1-Bromatologia Sanitaria*. Pp. 190-260. Biblioteca Vetrinária Aedos. Barcelona.

Connell, J. 1975. *Control of Fish Quality*. Fishing New Books Ltd. Londres.

Dalgaard, P., Gram, L., Huss, H. 1993. Spoilage and shelf life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*. 19 :283-294.

Diário da república. 2008. Aviso nº 15094/2007. *Registo e protecção de bacalhau de cura tradicional portuguesa como especialidade tradicional garantida*. Gabinete planeamento e política. II série. 159.

Direção Geral das Pescas e Aquicultura (DGPA). 2007^a. *Plano estratégico nacional para a pesca 2007-2013*. Lisboa.

Direção Geral das Pescas e Aquicultura (DGPA). 2007^b. *Programa operacional pesca 2007-2013*.Lisboa.

Direção Geral das Pescas e Aquicultura (DGPA). 2011. *Pesca - Frota e Recursos: Artes de Pesca*. Lisboa.

Docapesca Portos e Lotas, S.A. 2012^a. *Estatísticas Mensais - Pescado Transacionado*. Disponível em: www.docapesca.pt. Consultado a 28 de Março 2012.

Docapesca Portos e Lotas, S.A. 2012^b. *Estatísticas Mensais – Artes de Pesca*. Disponível em: www.docapesca.pt. Consultado a 28 de Março 2012.

Docapesca Portos e Lotas, S.A. 2012^c. *Estatísticas Mensais – Espécies*. Disponível em: www.docapesca.pt. Consultado a 28 de Março 2012.

Fiels, M., Richmond, B., Baldwin, R. 1968. Food quality as determined by metabolic by-products of microorganisms. *Advances in Food Research*.16:161-229.

Fischer, W., Schneider, M., Bauchot, M. 1987. *Fishes FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche*. Méditerranée et Mer Noire. Roma.

Fontes, M., Esteves, A., Caldeira, F., Saraiva, C., Viera-Pinto, M., Martins, C. 2007. Estado de frescor e qualidade higiénica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootécnica*. 59:1308-1315.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2010. *Fishery and Aquaculture statistics - FAO yearbook 2008*. Roma.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2011. Species Fact Sheets *Trachurus Trachurus*. Disponível em: www.fao.org. Consultado a 11 de Outubro 2011.
- Foran, J., Carpenter, D., Hamilton, M., Knuth, B., Schwager, S. 2005. Risk-based consumption advice for farmed Atlantic and wild Pacific salmon contaminated with dioxins and dioxin-like compounds. *Environmental health perspectives*. 113: 552-556.
- Frazier, W., Westhoff, D. 1988. *Food microbiology*. 4.^a Edição . Mc Graw-Hill. Nova Iorque.
- Gonçalves, A. 2010. *Qualidade e valorização em aquacultura. Propriedades sensoriais e período de conservação útil de peixe e bivalves*. Faculdade de Farmácia. Universidade de Lisboa. Lisboa.
- Goulas, A., Chouliara, I., Nessi, E., Kontominas, M., Savva, I. 2005. Microbiological, biochemical and sensory assessment of mussels stored under modified atmosphere packaging. *Journal of Applied Microbiology*. 98:752-760.
- Gram, L., Huss, H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*. 33: 121-137.
- Haard, N. 1992. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International*. 25: 289 – 307.
- Hayes, S. 1985. Natural multiple baselines across persons: A reply to Harris and Jenson. *Behavioral Assessment*. 7: 129-132.
- Halász, A., Baráth, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W. 1994. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Food Science and Technology*. 5: 42-49.
- Hites, R., Foran, J., Carpenter, D., Hamilton, M., Knuth, B., Schwager, S. 2004. Global Assessment of Organic Contaminants. *Farmed Salmon Science*. 303: 226-229.
- Hoobs, G. 1983. *Food Microbiology: Advances and Prospects*. Academic Press. Londres.
- Howgate, P. 2009. *Traditional methods. Fishery products: quality, safety and authenticity*. Blackwell Publishing Ltd. Reino Unido.
- Hultmann, L., Rustad, T. 2004. Iced storage of Atlantic salmon (*Salmo salar*)- effects on endogenous enzymes and their impact on muscle portions and texture. *Food Chemistry*. 87:31-41.
- Huss, H. 1995. *Quality and quality changes in fresh fish*. FAO Fisheries Technical Paper – 348. Disponível em: www.fao.org. Consultado a 20 Março de 2012.
- Huss, H., Dalgaard, P., Gram, L. 1997. *Seafood from producer to consumer, integrated approach to quality*. Elsevier Science Publishers. 38:413 - 430.
- Huss, H. 1997. *Garantia da qualidade dos produtos da pesca*. FAO Documento Técnico sobre as Pescas. Nº 334. Roma.

Referências Bibliográficas

Inácio, P., Bernardo, F., Vaz-Pires, P. 2003. Effect of washing with tap and treated seawater on the quality of whole scad (*Trachurus trachurus*). *European Food Research and Technology*. 217:406-411.

Instituto Nacional de Estatística (INE). 2010. *Balança Alimentar Portuguesa 2003 – 2008*. Destaque à comunicação social de 30 de Novembro de 2010. Lisboa.

Instituto Nacional de Estatística (INE). 2012. *Boletim Mensal da Agricultura e Pescas*. Lisboa.

Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA). 2006. *Tabela da composição dos alimentos*. Lisboa, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Centro de segurança alimentar e nutrição.

International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1986. *Microorganisms in Foods. 2. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Specific Applications*. 2.^a Edição. University of Toronto Press. Nova Iorque.

Jackson T., Acuff G., Dickson J. 1997. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. American Society for Microbiology. Washington.

Jay, J. 2000. *Microbiologia de alimentos*. 6.^a Edição. Artmed Editora. Porto Alegre.

Jay, J., Loessner, M., Golden, D. 2005. *Modern Food Microbiology*. 4.^a Edição. Springer science. Nova Iorque.

Jorgensen, L., Huss, H., Dalgaard, P. 2000. The effect of biogenic amine production by single bacterial cultures and metabiosis on cold smoked salmon. *Journal of Applied Microbiology*, 89: 920-934.

John Timbrell. 2002. *Introduction to toxicology*. 3.^a Edição CRC Press. Nova Iorque.

Karlou-Riga, C., Sinis, A. 1997. Age and growth of horse mackerel, *Trachurus trachurus* in the Gulf of Saronikos. *Journal of Applied Ichthyology*. 157-171.

Lacasse, D. 1995. *Introdução à Microbiologia Alimentar*. 1.^a Edição. Coleção Ciência e Técnica do Instituto Piaget. Lisboa.

Lawley, R. 2007. *Scombrotóxico (Histamina)*. Disponível em: www.foodsafetywatch.com. Consultado a 20 de Maio de 2012.

Lehane, L. e Olley, J. 2000. Review: Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*. 58:1-37.

Lerke, P., Adams, R., Farber, L. 1965. Bacteriology of spoilage of fish muscle. *Applied Microbiology*. 13:625-630

Marine Science (MS). 2008. SeaWater Composition. Disponível em www.marinebio.net. Consultado a 25 de Julho de 2012.

Martinsdóttir, E., Schelvis, R., Hyldig, G., Sveinsdóttir, K. 2009. *Fishery products: quality, safety and authenticity*. Blackwell Publishing Ltd. Reino Unido.

Masayoshi, Ph., Everardo, D. 1999. *Manual de Pesca - Ciência e Tecnologia do Pescado – Volume 1*. Livraria Varela. São Paulo.

Mendes, R. 2009. *Biogenic amines*. Blackwell Publishing Ltd. Reino Unido.

- Meilgaard, M., Civille, G., Carr, B. 1999. *Sensory evaluation techniques*. 3.^a Edição. CRC Press. Florida.
- Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Rural e das Pescas (DGADR). 1998. Decreto-Lei n.º 375/98. Diário da República, Série I, A, n.º 272, 24/11/1998.
- Moura, O. e Cardador, F. 2006. *Pescada, lagostim, carapau e sardinha da costa continental portuguesa: Situação e propostas de gestão para 2005*. Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas. Lisboa.
- Montgomery, W., Sidhu, G., Vale, G. 1970. The Australian prawn industry. *Food Preservation Quarterly*. 30:21-27.
- Norma ISO 7218. 1996. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General rules for microbiological examinations. International Organization for Standardization, Suíça.
- Norma ISO 6887-1. 1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. International Organization for Standardization, Suíça.
- Norma ISO 9608-1.2000. Water quality detection and enumeration of *E. coli* and coliform bacteria, Part 1: Membrane filtration method. International Organization for Standardization, Suíça.
- Norma ISO 16649-2. 2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 2: Colony-count technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide. International Organization for Standardization, Suíça.
- Norma ISO 6887-3. 2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 2: General rules for the preparation of fish and fishery products. International Organization for Standardization, Suíça.
- Norma ISO 4833. 2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30 degrees C. International Organization for Standardization, Suíça.
- Norma Portuguesa NP 2930. 2009. Produtos da pesca e da aquicultura. Determinação do teor de azoto básico volátil total (ABVT). Método de Conway. 2.^a Edição. Instituto Português da qualidade. Portugal.
- Norma Portuguesa NP 1841-1. 2009. Produtos da pesca e da aquicultura. Determinação do teor de azoto de trimetilamina (N-TMA). Parte 1:Método de Conway. 3.^a Edição. Instituto Português da qualidade. Portugal.
- Nunes, M., Batista, I. 2004. Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. *Publicações Avulsas do IPIMAR*, 29, Lisboa.
- Nunes, M.L., Batista, I., Cardoso, C. 2007. Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado. *Publicações Avulsas do IPIMAR*, 15, Lisboa.
- Oechsläger, J., Sørensen, N. 1997. *The final meeting of the concerted action-evaluation of fish freshness*. Nantes Conference. França.

Referências Bibliográficas

Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Undeland, I., Mackie, I., Henehan, G., Nielsen, J., Nielsen, H. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Food Science and Technology*. 8: 258 - 265.

Orban, E., Nevigato, T., Di Lena, G., Masci, M., Casini, I., Caproni, R., Rampacci, M. 2011. Total volatile basic nitrogen and trimethylamine nitrogen levels during ice storage of European hake (*Merluccius merluccius*): A seasonal and size differentiation. *Food Chemistry*. 128:679–682.

Pacheco, M. 1999. Peixe-espada-preto : *Caracterização nutricional e conservação em atmosferas modificadas*. Instituto de ciências biomédicas Abel Salazar. Porto.

Pacheco, T., Leite, R., Almeida, A., Silva, N., Fiorini, J. 2004. Análise de coliformes e bactérias mesófilas em pescado de água doce. *Revista Higiene Alimentar*. 18:68-72.

QIM-Eurofish. 2012. *QIM Introduction*. Disponível em www.qim-eurofish.com. Consultado a 25 de Março de 2012.

Recomendação do IRAR nº 5 e 8/2005 Procedimento de amostragem de água para consumo humano em sistemas públicos de abastecimento e Procedimento recomendados e aceitáveis de tempo e temperaturas de armazenamento de amostras de água.

Ruíz-Capillas, C., Horner, W. 1999. Determination of trimethylamine nitrogen and total volatile basic nitrogen in fresh fish by flow injection analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 21:235-248.

Sainclivier, M. 1983. *L'Industrie Alimentaire Halieutique*. Bulletin Scientifique et Technique. Ecole Nationale Supérieure Agronomique et Centre de Recherche de Rennes.

Sánchez-Cascado, S. 2005. *Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del boquerón (Engraulis encrasicolus) y sus derivados*. Dissertação para obtenção grau de Doutor em Nutrición, Tecnología e Higiene de los Alimentos. Universidade de Barcelona.

Santos, J. 2008. *Filetes de Pregado (Psetta maxima) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da qualidade física, química e microbiológica*. Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto para obtenção do grau de Mestre em Controlo de Qualidade na área Científica Água e Alimentos. Porto.

Shaw, B., Shewan, J. 1968. Psychrophilic spoilage bacteria of fish. *Journal of Applied Bacteriology*. 31:89-96.

Shewan, J. 1961. *Fish as Food. Vol 1*. Academic Press. Nova Iorque.

Sikorski, Z., Kolakowska, A., Burt, J. 1990. *Seafood: resources, nutritional composition and preservation*. CRC Press. Florida.

Suzzi, G., Gardini, F. 2003. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 88:41-54.

Tarr, H. 1954. Microbiological deterioration of fish post mortem, its detection and control. *Bacteriological Reviews*. 18:1-15.

Tejada, M., 2009. *ATP-derived products and K-value determination*. Blackwell Publishing Ltd. Reino Unido.

Tsay, Y., Kung, H., Lee, T. 2005. Determination of histamine in canned mackerel implicated in a food borne poisoning. *Food control*. 16:579-585.

Tzikas, Z., Amvrosiadis, I., Soutos, N., Georgakis, Sp. 2005. Seasonal variation in the chemical composition and microbiological condition of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) muscle from the North Aegean Sea (Greece). *Food Control*. 18:251-257.

Vaz-Pires, P. 2006. *Tecnologia do Pescado*. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Porto.

Veloso, M. 2004. *Técnicas de inspeção sanitária de Pescado*. Apontamentos Inspeção Sanitária da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, 8-17.

Whitehead, P., Bauchot, M., Hureau, J., Nielsen, J., Tortonese, E. 1986. *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. Paris.

Zar, J. 2009. *Biostatistical Analysis*. 5.^a Edição. Prentice Hall.

