



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA – CAMPUS CURITIBANOS  
DISCIPLINA: ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO EM MEDICINA  
VETERINÁRIA

MARCO AURÉLIO GAMA RECH

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA SARDINHA VERDADEIRA  
(*Sardinella brasiliensis*) ESTOCADA EM TEMPERATURA AMBIENTE POR  
DIFERENTES PERÍODOS DE TEMPO**

CURITIBANOS-SC  
2019/2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA – UFSC  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA – CAMPUS CURITIBANOS  
DISCIPLINA: ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO EM MEDICINA  
VETERINÁRIA

MARCO AURÉLIO GAMA RECH

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA SARDINHA VERDADEIRA  
(*Sardinella brasiliensis*) ESTOCADA EM TEMPERATURA AMBIENTE POR  
DIFERENTES PERÍODOS DE TEMPO**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do Título de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Manoel Lemes de Campos

Supervisor: M.V. Gustavo Adolfo Marconcin Faria

Curitibanos-SC

2019/2

Rech, Marco Aurélio Gama

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA DA SARDINHA VERDADEIRA (*Sardinella brasiliensis*) ESTOCADA EM TEMPERATURA AMBIENTE POR DIFERENTES PERÍODOS DE TEMPO / Marco Aurélio Gama Rech ; orientador, Rogério Manoel Lemes Campos, 2019.

37 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Graduação em Medicina Veterinária, Curitibanos, 2019.

Inclui referências.

1. Medicina Veterinária. 2. Avaliação da qualidade físico-química do pescado. 3. Histamina. 4. BVT. 5. pH. I. Campos, Rogério Manoel Lemes . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Medicina Veterinária. III. Título.

“Nada é impossível quando se tem fé.”

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meu pais Beatriz Duve e Adriano Rafael Rech, que sempre fizeram de tudo para me apoiar nessa caminhada, sempre estiveram do meu lado nas minhas decisões e mesmo nas horas mais difíceis me deram suporte e conselhos para que eu chegasse até aqui.

## AGRADECIMENTOS

As dificuldades de morar longe, fazer novas amizades, conhecer novos horizontes e viver novas histórias pareciam querer atrapalhar meu sonho, sonho esse de ser médico veterinário, quando entrei na faculdade tudo parecia impossível. A vontade de desistir, a insegurança, tudo conspirava para eu pensar em sair do curso, mas quando olhei para cima e lembrei que eu não estava sozinho nessa jornada, tudo ficou mais fácil. Hoje só sobrou saudades das histórias, das amizades e dos momentos que vivi na minha caminhada acadêmica. No final não há sensação melhor do que a de ter feito a escolha certa, de poder ver que você nasceu para fazer aquilo que escolheu, as adversidades sempre estarão presentes, mesmo quando se faz o que ama, por isso é importante você acreditar em você mesmo, mesmo que os outros te digam o contrário.

Agradeço a Deus, por me dar sabedoria e discernimento mesmo quando tudo parecia impossível, me fez ver que eu era capaz de chegar longe, sem esquecer de onde eu vim e por qual motivo cheguei até aqui.

Aos meus pais, Beatriz Duve e Adriano Rafael Rech, pelo apoio e o amor incondicional que foram fundamentais para que eu pudesse realizar esse sonho.

Ao meu avô Joaquim Schmitt pelo apoio e por ter me ensinado desde pequeno a gostar de trabalhar com animais.

A minhas irmãs Patrícia Duve e Camila Rech pelo apoio, amor e pelo incentivo nesta caminhada.

A minha avó Bertolina Batista Schmitt por sempre me incentivar, me apoiar e pelas orações, que foram muito importantes nessa caminhada.

Ao meu avô Osvaldo Rech pelas orações e ensinamentos passados durante a vida.

A minha avó Marlene Rafael Rech por ter me apoiado e orado por mim durante essa trajetória.

Aos meus padrinhos Wilson Luiz Furlani e Adriana Furlani que sempre me apoiaram e me ajudaram nessa caminhada até aqui.

Aos meus amigos por serem minha família longe de casa e por sempre poder contar com eles para qualquer coisa.

A minha namorada Anita Brugge Martins por ser meu porto seguro, por me apoiar e me incentivar incondicionalmente nessa reta final da faculdade.

A Manuela Camile Franco pelo apoio e companhia durante esta trajetória.

A Pedro Ronsani e Eli de Liz Ronsani por serem a extensão da minha família em Curitiba, por me apoiarem e darem suporte para que eu chegasse até aqui.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Rogério Manoel Lemes de Campos pela confiança, pelos conselhos e por todo ensinamento passado a mim.

Aos meus professores que dedicaram seu tempo e sua paciência para repassar seus conhecimentos.

A todos que de alguma maneira participaram dessa trajetória e que mesmo não tendo seu nome citado tem meu agradecimento especial.

## SUMÁRIO

<b>1.INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1.OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1.1.Objetivo Geral</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1.2.Objetivos Específicos</b> .....	<b>12</b>
<b>2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1.Sardinella brasiliensis</b> .....	<b>13</b>
<b>2.2.pH</b> .....	<b>15</b>
<b>2.3.HISTAMINA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.4.BASES VOLÁTEIS TOTAIS (BVT)</b> .....	<b>18</b>
<b>3.MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1.AMOSTRAGEM</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2.ANÁLISE DE pH</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3.ANÁLISE DE HISTAMINA</b> .....	<b>20</b>
<b>3.3.1.Biofish®</b> .....	<b>22</b>
<b>3.4.ANÁLISE DE BVT</b> .....	<b>24</b>
<b>4.RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>4.1.TEMPERATURA DO PESCADO</b> .....	<b>25</b>
<b>4.2.pH</b> .....	<b>26</b>
<b>4.3.HISTAMINA</b> .....	<b>27</b>
<b>4.4.BVT</b> .....	<b>28</b>
<b>5.CONCLUSÃO</b> .....	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>31</b>



## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1</b> - Resultados das análises físico-químicas .....	25
---	----

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Área de distribuição da <i>Sardinella brasiliensis</i> (mancha escura) e área de estudo (quadrado).....	13
<b>Figura 2</b> - <i>Sardinella brasiliensis</i> .....	14
<b>Figura 3</b> - Desenho ilustrativo da sardinha-verdadeira e suas principais características .....	15
<b>Figura 4</b> - Desenho ilustrativo da sardinha-verdadeira e sua coloração .....	15
<b>Figura 5</b> - Desenho ilustrativo da sardinha-verdadeira e suas características específicas.....	15
<b>Figura 6</b> - Aferição de temperatura da sardinha .....	19
<b>Figura 7</b> - Análise de pH.....	20
<b>Figura 8</b> - Preparação da massa homogênea do músculo .....	21
<b>Figura 9</b> - Biosensor enzimático Biofish® .....	23
<b>Figura 10</b> - Análise de BVT por acidimetria utilizando destilador de nitrogênio.....	24
<b>Figura 11</b> - <i>Variação da temperatura do pescado exposto ao ambiente por diversos períodos de tempo</i> .....	26
<b>Figura 12</b> – pH do pescado exposto a temperatura ambiente em diversos períodos .....	26
<b>Figura 13</b> - Concentração de histamina no pescado exposto a temperatura ambiente em diversos períodos .....	27
<b>Figura 14</b> - Concentração de BVT em pescado exposto a temperatura ambiente em diversos períodos de tempo .....	29

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

BVT - Bases voláteis totais

GDC - Gomes Da Costa

CQ - Controle de Qualidade

GDCA - Gomes Da Costa Alimentos

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PCC - Ponto Crítico de Controle

pH - potencial Hidrogeniônico

POP - Procedimento Operacional Padrão

TMA - Trimetilamina

UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina

## RESUMO

O peixe e seus derivados representam uma fonte valiosa de nutrientes para nutrição equilibrada e boa saúde. Contudo, esses compostos nutritivos contribuem para a perecibilidade dos peixes e, durante o processo de degradação, resultam em substâncias nocivas à saúde humana, o que enfatiza a necessidade de monitoramento. As reações de deterioração do pescado resultam em autólise devido à ação de proteases próprias do músculo (catepsinas e calpaínas) e de exopeptidases de origem microbiana. Após as reações proteolíticas, a amônia é a base volátil mais representativa, sendo mensurada pela análise do nitrogênio das bases voláteis totais. Outra substância presente na carne do pescado em processo de deterioração é a histamina. O tempo é importante na rapidez com que se desencadeiam as reações autolíticas e/ou bacterianas no pescado *postmortem*. Portanto, o presente trabalho buscou observar a avaliação do tempo de exposição do pescado após corte e evisceração à temperatura ambiente na produção da linha de Sardinha 125 g.

**Palavras-chave:** Gomes da Costa, Pescado, Qualidade, Histamina, BVT, Temperatura.

## **ABSTRACT**

Fish and fish products are a valuable source of nutrients for balanced nutrition and good health. However, these nutrient compounds contribute to the perishability of fish and, during the degradation process, result in substances harmful to human health, which emphasizes the need for monitoring. Fish spoilage reactions result in autolysis due to the action of muscle-specific proteases (cathepsins and calpains) and exopeptidases of microbial origin. After proteolytic reactions, ammonia is the most representative volatile base, being measured by nitrogen analysis of total volatile bases. Another substance in deteriorating fish meat is histamine. Timing is important in how quickly autolytic and / or bacterial reactions in postmortem fish are triggered. Therefore, the present study aimed to observe the evaluation of exposure time of fish after cutting and evisceration at room temperature in the production of the 125 g Sardine line.

**Keywords:** Gomes da Costa, Fish, Quality, Histamine, BVT, Temperature.

## 1. INTRODUÇÃO

Neste trabalho abordar-se-á a eficácia das análises físico-químicas do pescado para determinação da qualidade da matéria-prima, verificando-se o motivo das falhas no processamento da indústria. A temática será abordada tendo como fundamento a aprendizagem adquirida durante o estágio curricular obrigatório realizado na empresa Gomes da Costa Alimentos (GDCA), a qual se localiza na cidade de Itajaí.

O peixe e seus derivados representam uma fonte valiosa de nutrientes para nutrição equilibrada e uma boa saúde. A fração proteica é composta por uma ampla variedade de aminoácidos essenciais que atuam na diminuição do risco de ansiedade e espasmo da artéria, além de melhorar o sistema imunológico (SARTORI; AMANCIO, 2012). A fração lipídica está especialmente relacionada aos ácidos Eicosapentaenóico (EPA) e Docosahexaenóico (DHA), que reduzem os fatores de risco à saúde, incluindo vários tipos de câncer (HOOPER et al., 2006). Contudo, esses compostos nutritivos contribuem para a perecibilidade dos peixes e, durante o processo de degradação, resultam em substâncias nocivas à saúde humana, o que enfatiza a necessidade de monitoramento (ROIHA et al., 2018).

As reações de deterioração do pescado resultam em autólise devido à ação de proteases próprias do músculo (catepsinas e calpaínas) e de exopeptidases de origem microbiana (SARTORI; AMANCIO, 2012). Após as reações proteolíticas, a amônia é a base volátil mais representativa, sendo mensurada pela análise do nitrogênio das bases voláteis totais, sendo o limite estabelecido pelo MAPA de 30mgN/100g (BRASIL, 2017).

Outra substância presente na carne do pescado em processo de deterioração é a histamina. A origem da histamina é devido a descarboxilação do aminoácido histidina, através da enzima histidina-descarboxilase, sendo que parte da histamina também provém da autólise microbiana, principalmente da família das enterobactérias (CARPINTERO et al., 2019). A histamina tem potencial para causar envenenamento por tipo alérgico, também conhecido como envenenamento escombroides, que é a causa mais comum de icitiotoxicose em todo o mundo e resulta da ingestão de pescado deteriorado (FAO, 2013).

Na rotina industrial, muitas vezes o pescado permanece em temperatura ambiente durante o processamento. O tempo é importante na rapidez com que se desencadeiam as reações autolíticas e/ou bacterianas no pescado *postmortem*. Para atenuar a deterioração do pescado pelas reações enzimáticas e ação bacteriana

temporariamente, se utiliza gelo. Porém com o gelo a temperatura diminui, mas não se mantém constante. Há flutuações e a temperatura vai se elevando conforme o gelo vai derretendo.

Esta pesquisa concentrar-se-á na avaliação do tempo de exposição do pescado após corte e evisceração à temperatura ambiente na produção da linha de Sardinha 125g.

## **1.1.OBJETIVOS**

### **1.1.1. Objetivo Geral**

Analisar a influência do binômio tempo e temperatura, durante o processamento da matéria prima, na qualidade físico-química do pescado.

### **1.1.2. Objetivos Específicos**

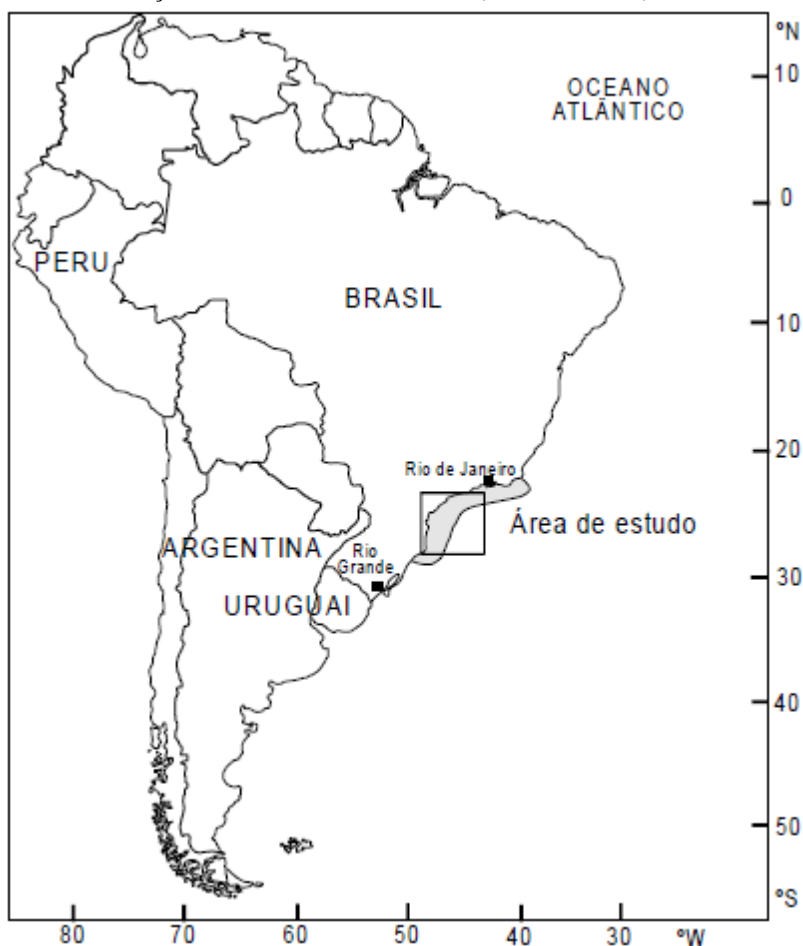
- Comparar a influência dos tempos de exposição à temperatura ambiente do pescado após corte e evisceração.
- Comparar a influência dos tempos de exposição à temperatura ambiente no pH do pescado após corte e evisceração.
- Comparar a influência dos tempos de exposição à temperatura ambiente na histamina do pescado após o corte e evisceração.
- Comparar a influência dos tempos de exposição à temperatura ambiente no BVT do pescado após corte e evisceração.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. *Sardinella brasiliensis*

A sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*, Steindachner 1879) é uma espécie pelágica de águas superficiais da plataforma continental do sudeste do Brasil. Sua ocorrência vai desde o norte do estado do Rio de Janeiro (Cabo de São Tomé, 22°S) até o sul do estado de Santa Catarina (Cabo de Santa Marta, 29°S), sendo a espécie mais importante economicamente encontrada na costa de Santa Catarina (WHITEHEAD, 1988) (Figura1). Na cidade de Itajaí, a pesca da sardinha envolve mais de 5 mil empregos diretos e indiretos, computando pescadores, armadores e indústria. A pesca industrial desta espécie é realizada por traineiras de 20 a 30 metros, que utilizam redes de cerco de 700-900 metros e altura de 50-60 metros.

**Figura 1** - Área de distribuição da *Sardinella brasiliensis* (mancha escura) e área de estudo (quadrado).



**Fonte:** Adaptado de SCHNEIDER; SCHWINGEL (1999).



Dentro da subordem Clupeoidei (Clupeoides) existem duas famílias importantes: Clupeidae e Engraulidae. A maioria dos peixes desses grupos ocorre nos mares temperados, tropicais e subtropicais. A família Clupeidae (clupeídeos) inclui os representantes mais importantes para a pesca, como espécies do gênero *Sardina* na Europa, do gênero *Sardinops* nos oceanos Pacífico e Índico, e do gênero *Sardinella* nos mares tropicais e subtropicais (CERGOLE; DIAS-NETO, 2011). Esses três gêneros são muito parecidos e, portanto, as espécies são consideradas, genericamente, como sardinhas.

Segundo Figueiredo; Sales; Rabelo (2010), a nomenclatura *Sardinella brasiliensis* (STEINDACHNER, 1979) é qualificada como *nomen protectum* (nome protegido) de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. A nomenclatura *Sardinella janeiro* (EIGENMANN, 1984), utilizada em algumas publicações, permanece como sinônimo.

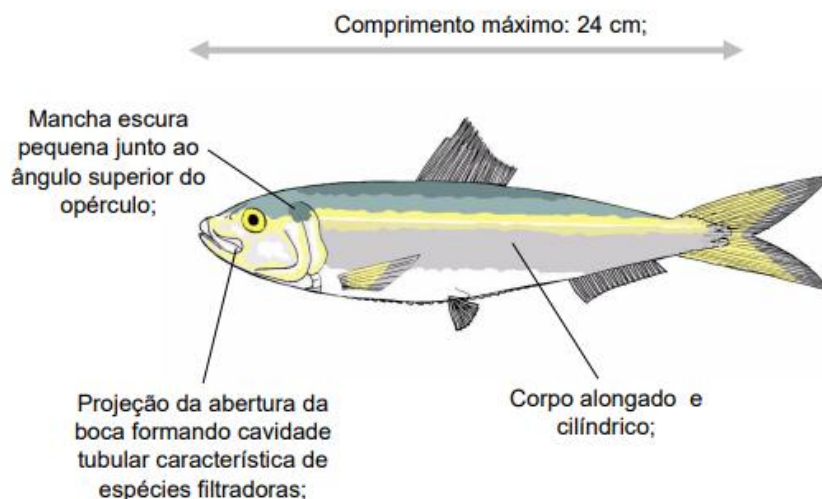
As sardinhas são peixes de pequeno porte, de corpo lateralmente comprimido e prateado, formam cardumes e habitam águas costeiras, entrando em baías e estuários. A espécie sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis*, está geograficamente isolada dos demais grupos do gênero *Sardinella* no Oceano Atlântico, e foi originalmente identificada como *S. aurita*. Na revisão das espécies do gênero no Atlântico Ocidental, realizada por Whitehead (1967, 1973, citado por: ROSSI, 1978), são propostas duas espécies: *S. aurita Valenciennes* 1847, com 95 a 124 rastros no ramo inferior do arco branquial, e *S. brasiliensis* (STEINDACHNER, 1879), com 82 a 132 rastros, sendo *S. anchovia Valenciennes*, 1847, consideradas sinônima de *S. aurita*.

**Figura 2 - *Sardinella brasiliensis***



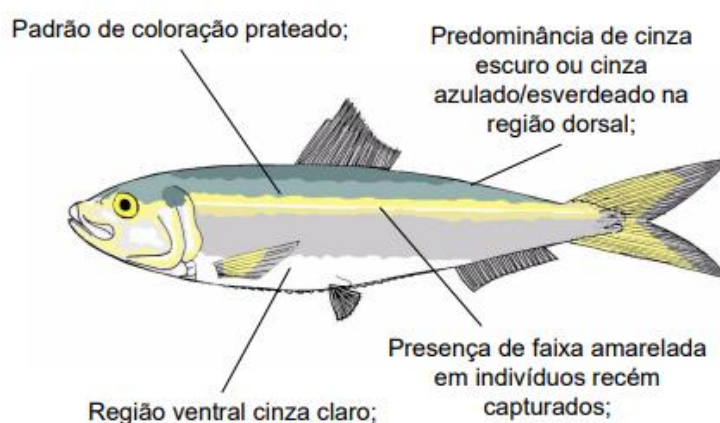
**Fonte:** Fishbase (2019).

**Figura 3** - Desenho ilustrativo da sardinha-verdadeira e suas principais características



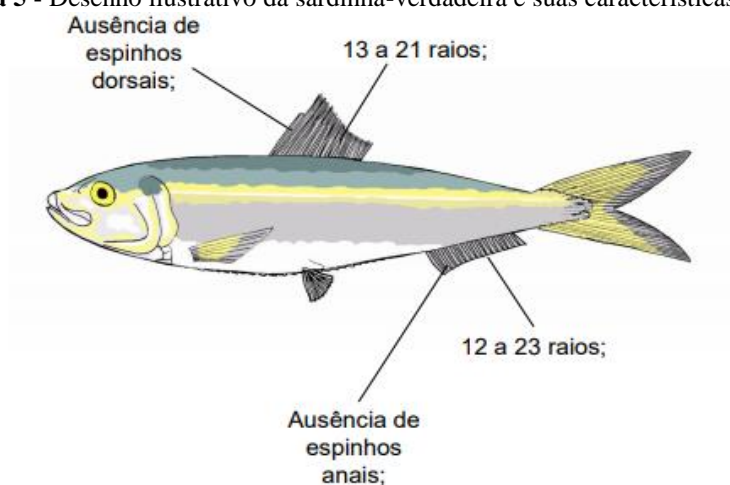
**Fonte:** GDCA (2019).

**Figura 4** - Desenho ilustrativo da sardinha-verdadeira e sua coloração.



**Fonte:** GDCA (2019).

**Figura 5** - Desenho ilustrativo da sardinha-verdadeira e suas características específicas



**Fonte:** GDCA (2019).

## 2.2.pH

O pH é o símbolo utilizado para a grandeza físico-química "potencial hidrogeniônico". Essa grandeza é um índice que indica o grau de acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer, e é uma medida utilizada para análise da deterioração do pescado durante a estocagem. (FOGAÇA, 2009).

O pescado é considerado um alimento de baixa acidez possuindo pH maior que 4,5, quando acontece a decomposição hidrolítica, oxidativa ou fermentativa do músculo do peixe ocorre alterações na concentração desses íons de hidrogênio. (GONÇALVES, 2011). Devido à pouca reserva de glicogênio o pescado tem uma maior queda de pH quando comparado a outros animais, decresce de 6,9 a 7 até 6,2 a 6,3, e em pescados escuros como o atum pode chegar a valores entre 5,5 a 5,7 (PEREDA et al., 2005). Após a resolução do rigor mortis, com a sequência de eventos o pH se eleva, proporcionando melhores condições para o desenvolvimento bacteriano (PRATA, 1999).

Conforme o Regulamento Técnico de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA o pH da carne externa do pescado deve ser inferior a 7,0 (sete inteiro) (BRASIL, 2017). Porém, este não é um método de precisão para avaliar o frescor do peixe, por ter variação de amostra para amostra. Dessa forma, é considerada uma análise complementar (SOARES; GONÇALVES, 2012).

## 2.3.HISTAMINA

A preocupação com a qualidade do pescado sempre foi um tema recorrente, visto tratar-se de um alimento de alto valor nutricional, porém com grande facilidade de deterioração e levando perigo ao homem (BALDINI, 1982). Há alguns fatores que contribuem para este fato, entre eles: condições de higiene, transporte e armazenamento, o pH próximo à neutralidade, a elevada atividade de água nos tecidos, o alto teor de nutrientes, a quantidade de lipídios insaturados, a presença de pouco tecido conjuntivo, a ação das enzimas autolíticas presentes nos tecidos e a alta atividade metabólica dos microrganismos presentes (SMALL; SOARES, 1998)

Um produto decorrente da deterioração do pescado é a histamina. Trata-se de uma diamina biogênica primária e heterocíclica, não volátil, termoestável que é formada na fase de *postmortem* do pescado. Quando as condições de manuseio e estocagem são inadequadas ocorre a descarboxilação bacteriana do aminoácido L- histidina, um aminoácido livre facilmente convertido em histamina pela enzima histidina-descarboxilase, favorecendo desta forma a multiplicação de microrganismos que favorecem sua atividade (CARMO et al., 2010).

As espécies de bactérias com atividade de histidina descarboxilase incluem bactérias entéricas como *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* e *Escherichia coli*, bem como *Clostridium*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e *Photobacterium* (LÓPEZ-SABATER et al, 1999). A composição exata das bactérias formadoras de histamina em cada peixe é única e varia de acordo com a localização geográfica, hábitos alimentares, estação, temperatura da água, qualidade da água na colheita, processos de manuseio e limpeza do local onde o peixe é vendido. Ao mesmo tempo, a eficácia da histidina descarboxilase depende da temperatura, pH e concentração de sódio (LEHANE; OLLEY, 2000). É importante notar que, uma vez que a histamina é formada, ela é altamente resistente. Portanto, cozinhar, defumar, congelar e enlatar não pode impedir as reações de intoxicação por peixes com a histamina.

Idealmente, os pescados devem ser mantidos a uma temperatura de 0 ° C ou menos, para inibir o crescimento bacteriano e a histidina descarboxilase não seja ativada. Se o pescado ficar exposto a temperaturas altas por apenas algumas horas, as bactérias podem se multiplicar. Níveis tóxicos de histamina podem se formar em 2 a 3 h em peixes armazenados a 4°C ou mais (CARMO et al., 2010). Além disso, a histidina descarboxilase pode continuar ativa mesmo quando as bactérias não são mais viáveis (HUNGERFORD, 2010).

A intoxicação por peixes com histamina, também conhecida como intoxicação por escombroides, é a causa mais comum de ictiotoxicose em todo o mundo e resulta da ingestão de peixes contaminados com histamina nas famílias *Scombridae* e *Scomberesocidae*, incluindo cavala, bonito, albacora e gaiado. Outros peixes não escombroides, como sardinha, peixe azul e raramente salmão, também podem causar a doença (FENG; TEUBER; GERSWIN, 2016).

Algumas intoxicações por peixes com histamina podem ocorrer mesmo quando os níveis de histamina nos peixes são baixos (FENG; TEUBER; GERSWIN, 2016). Uma hipótese para essa discrepância é que certas proteínas, possivelmente cadaverinas e/ou putrescinas, agem simultaneamente como potenciadores de histamina e inibem enzimas metabolizadoras de histamina (ZARE et al., 2013). Outras hipóteses incluem a existência de substâncias desconhecidas que agem como agonistas da histamina ou que uma proteína, como o ácido urocânico, causa a liberação endógena de histamina por desgranulação de mastócitos (D'ALOIA et al., 2011).

O método oficial de análise de histamina no Brasil (BRASIL, 2017) é o mesmo utilizado pela União Europeia, que preconiza que as análises sejam feitas por

cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O uso de CLAE é muito comum, porém apresenta um alto custo e maior tempo de análise (AVELAR; FRANÇA; FERRAZ, 2005). O RIISPOA estabelece um limite máximo de 100 ppm para pescados formadores de histamina (BRASIL, 2017).

#### **2.4.BASES VOLÁTEIS TOTAIS (BVT)**

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, existem várias provas físicas químicas para avaliar o frescor e a qualidade do pescado resfriado, entre elas estão à mensuração das bases voláteis totais (BVT) (BRASIL, 2017).

Bases Voláteis Totais (BVT) são um grupo de aminas biogênicas formadas em produtos alimentares não fermentados durante o armazenamento (DAVIDEK; DAVIDEK, 1995). Em alimentos, como peixe, carne e certos vegetais, eles são formados como resultado de atividades microbianas indesejáveis (JNR; KINIGOMA; SPIFF, 2006). A carne do peixe é muito suscetível à deterioração microbiana e para sua preservação necessita o tratamento por métodos conservantes. As bactérias utilizam compostos de baixo peso molecular, como nucleotídeos e aminoácidos presentes no músculo do pescado. É a decomposição dessas moléculas que é responsável pelos odores e outros efeitos de deterioração (JNR; KINIGOMA; SPIFF, 2006).

Os principais compostos voláteis identificados na deterioração dos peixes são o metanotiol, sulfureto de dimetilo, sulfureto de hidrogênio, trimetilamina (TMA), acetato de etilo, amoníaco e histamina, que são conhecidas como bases voláteis (HOWGATE, 2010). A formação da TMA é de grande interesse, uma vez que há muito tempo é usada como medida do grau de deterioração dos peixes. A TMA é produzido pela redução de óxido de trimetilamina, presente na maioria dos peixes marinhos (ZHANG; WANG; SHI, 2019). A determinação das bases voláteis totais é usada para apoiar a análise organoléptica e a aparência física para determinar se uma amostra é imprópria para consumo.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1.AMOSTRAGEM

Para este teste foram separadas um total de 9 (nove) caixas com sardinhas da linha 125g, após evisceração e corte da cabeça e cauda, em um palete, as mesmas estavam expostas a temperatura ambiente. O horário de escolha para iniciar o teste foi as 12:00h, para que abrangesse o período mais quente do dia.

A cada 30 minutos eram realizadas coletas, onde retirava-se um total de nove amostras de 500g/cada para análise físico-química (histamina, pH, BVT), sendo três amostras da caixa superior, três amostras do meio e três amostras das caixas inferiores. Também foram coletadas as temperaturas do pescado, um total de 9 (nove) temperaturas, seguindo os mesmos passos das amostras, uma temperatura por caixa.

Os resultados foram tabulados e foi realizada média aritmética de cada amostragem. Amostras de histamina <10ppm foram consideradas como 0 na média.

**Figura 6** - Aferição de temperatura da sardinha



**Fonte:** Autor (2019).



### 3.2. ANÁLISE DE pH

As amostras são identificadas de acordo com a numeração da caixa. Após a calibragem do pHmêtro insere-se o mesmo na amostra e este é deixado na carne até o valor apresentado pelo equipamento tornar-se estável. O resultado é registrado e retirado o eletrodo da amostra. Posteriormente, a extremidade do pHmêtro é limpa suavemente com água destilada.

**Figura 7 - Análise de pH**



Fonte: Autor (2019).

### 3.3. ANÁLISE DE HISTAMINA

A análise de histamina no pescado serve como critério de liberação ou retenção dos lotes para a produção, ela é feita através de um método semi-quantitativo chamado de Cromatografia de Camada Delgada (CCD). O método CCD determina o teor de histamina a partir de calorimetria, baseado na visualização de manchas presentes na placa de sílica, após a pipetagem das amostras, com o padrão de 100 ppm de histamina (SCHUTZ; CHANG; BJELDANES, 1976).

Quando as amostras apresentam presença de histamina após a revelação das placas, são submetidas a uma nova análise de histamina no equipamento de Biofish®, por ser um aparelho mais preciso e que expressa seus resultados de forma quantitativa.

O Protocolo de análise de histamina inicia-se após a preparação da massa homogênea do músculo, e a partir das amostras prontas é pesado em um tubo de ensaio

1g de amostra de cada saco plástico, completando 9 (nove) tubos com 1g/cada, após a pesagem é adicionado aos tubos 2ml de Metanol (álcool metílico). Em um Vórtex as amostras são homogeneizadas por 30 segundos para aumentar a permeabilidade do solvente na amostra e acelera a passagem das aminas biogênicas, se ali presentes, para o solvente orgânico.

**Figura 8** - Preparação da massa homogênea do músculo



**Fonte:** Autor (2019).

Para que ocorra a desnaturação de proteína e as aminas biogênicas consigam se ligar ao metanol, é necessário aquecer a amostra, dessa forma os tubos de amostras são colocados em banho-maria em um béquer contendo água fervente e após chegarem a um ponto que borbulhem, são colocadas na centrífuga por dois minutos a 3000 rpm, resultando um líquido sobrenadante límpido no tubo. A partir deste, ocorria a pipetagem de 100 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) de cada amostra, que são aplicados na placa de sílica de alumínio no local correspondente ao seu número, sendo que, em cada aplicação é feito o uso de ar quente para que a que as amostras não se espalhem pela placa.

A placas de sílica utilizadas são cortadas em um tamanho de 10 x10cm, contendo na sua parte inferior marcações numéricas de 1 a 9 com espaço de 1cm, determinando o local a ser aplicado cada amostra. Também é o local da aplicação do padrão de histamina. Já a parte superior da placa é destinada para a identificação da amostra, possuindo 2cm delimitados, o que servia para colocar informações referentes ao tipo de produto analisado, lote, fornecedor, contêiner, data de recebimento e data de análise do lote.



Após aplicações das amostras e do padrão, as placas são levadas à capela de aspiração e colocadas em cubas cromatográficas de vidro com tampa (5cm de largura x 13cm altura x 13cm de comprimento), com a parte inferior em contato com o solvente carreador, constituído de 20ml de Acetona e 1ml de Hidróxido de Amônia. Ao colocar a placa dentro da cuba a mesma deve ficar completamente vedada, para que a fase móvel (Acetona e Hidróxido de Amônio) consiga carrear as aminas biogênicas pela placa apresentando-se visivelmente por manchas roxas. A determinação do tipo de amina é realizada pelo local de aparecimento da mancha, quando é histamina a mancha aparece paralela à linha do padrão, no caso de haver outras aminas, estas aparecem em diferentes níveis da placa.

A retirada da placa ocorre quando a solução atinge os 2cm demarcados na parte superior da sílica, em seguida as placas são colocadas na estufa por um período de aproximadamente 50 minutos a uma temperatura de 50°C. Para a revelação da placa, é borrifando uma solução de Ninidrina 0,5% em Metanol, secando-a com um secador de ar quente até o aparecimento das manchas arroxeadas resultantes da reação da Ninidrina e das aminas presentes. Sendo que o padrão da histamina é de 100ppm e a leitura da análise é feita por presença ou ausência de histamina. As amostras positivas são direcionadas para a análise no Biofish®.

### **3.3.1. Biofish®**

Para detecção e quantificação exata da histamina é utilizado um biosensor enzimático, o Biofish®, um equipamento desenvolvido pela empresa espanhola Biolan (Figura 9). As análises são realizadas a partir de kits (Biotest) fornecidos pela marca e que podem ser usados para analisar 100 amostras. O aparelho possui uma enzima que reage e ativa a histamina da amostra, demonstrando seus resultados através de um eletrodo expressos em partes por milhão (ppm) de histamina.

**Figura 9** - Biosensor enzimático Biofish®



**Fonte:** Autor (2019).

Para a análise, inicialmente é pesado 10g da amostra em um frasco de 100ml com tampa de rosca, em seguida são adicionados 90ml de água destilada e então o frasco é agitado até sua completa homogeneização. Após esse processo a mesma permanece em repouso até formar uma camada sobrenadante.

Para utilizar o equipamento, primeiramente é colocado o eletrodo Biofish® e o Biotest Biofish® nos locais indicados do aparelho e então a calibração e reativação do mesmo é realizada, utilizando padrão de calibração e reativo de medida. A calibração precisa atingir resultados de precisão superior a 0,9990, não chegando nesse valor a calibração é novamente realizada.

Assim que o aparelho se encontra calibrado é feito a adição do líquido sobrenadante das amostras, junto com o reativo de medida, assim o aparelho realizava a análise. O valor é expresso em tela e armazenado no aparelho, conforme indicação dada pelo fabricante.

### 3.4. ANÁLISE DE BVT

Antes de iniciar o ensaio, são previamente preparados 25ml de Ácido Bórico ( $H_3BO_3$ ) 4% com indicador misto em Erlenmeyers de 250ml, sendo a solução inicial de coloração rosa. Em seguida são adicionados ao tubo Kjeldahl 2g de óxido de magnésio (MgO) e 20ml de água destilada. A solução é levada ao Vortex para homogeneização e em seguida acoplada no destilador de nitrogênio para que se iniciasse o processo de destilação.

A destilação por arraste de vapor é realizada por um período de 30 minutos ou até que sejam coletados 150ml, em cada um dos 9 (nove) erlenmeyers, que, por viragem do indicador passam a assumir uma colocação esverdeada, por reação do nitrogênio liberado por destilação em contato com o  $H_3BO_3$  e o indicador misto.

**Figura 10** - Análise de BVT por acidimetria utilizando destilador de nitrogênio



Fonte: Autor (2019).

Finalmente, o líquido recolhido no erlenmeyer contendo ácido bórico e indicador, é titulado com o uso da bureta de 25ml com HCl 0,1%, até o ponto de viragem do indicador, de verde passe para rosa novamente. Anota-se então o volume gasto ao lado do valor da pesagem feita no início da análise. Sendo que o resultado final é expresso em mg de N-BVT.100g-1.

Segundo a portaria Nº 185 do MAPA, as amostras se encontram dentro no padrão, quando apresentam valores inferiores a 30mg de Nitrogênio/100g de carne (BRASIL, 2017).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 pode-se observar o resultado das análises físico-químicas da sardinha-verdadeira exposta a diferentes temperaturas. Levando em consideração que os resultados da histamina no Biofish® devem ser divididos pelo número de amostras positivas.

<b>Tabela 1 - Resultados das análises físico-químicas</b>					
<b>TEMPO</b>	<b>Temperatura do Pescado (°C)</b>	<b>pH</b>	<b>Amostras positivas para histamina</b>	<b>Histamina Biofish® (ppm)</b>	<b>BVT (mg/100g)</b>
T0	11,1	5,9	3	25,0 - (8,3)*	21,9
T1	7,0	6,2	0	0,0	19,4
T2	7,5	6,0	4	53,8 - (13,45)*	20,8
T3	8,4	6,0	1	<10,00	25,1
T4	9,5	6,0	1	28,0	21,6
T5	11,7	6,1	2	140 - (70,0)*	23,7
T6	14,1	5,9	1	115,0	21,8
T7	16,2	5,9	1	119,0	25,1

\*O valor em ppm dividido pelo número de amostras positivas para histamina

Fonte: Autor (2019).

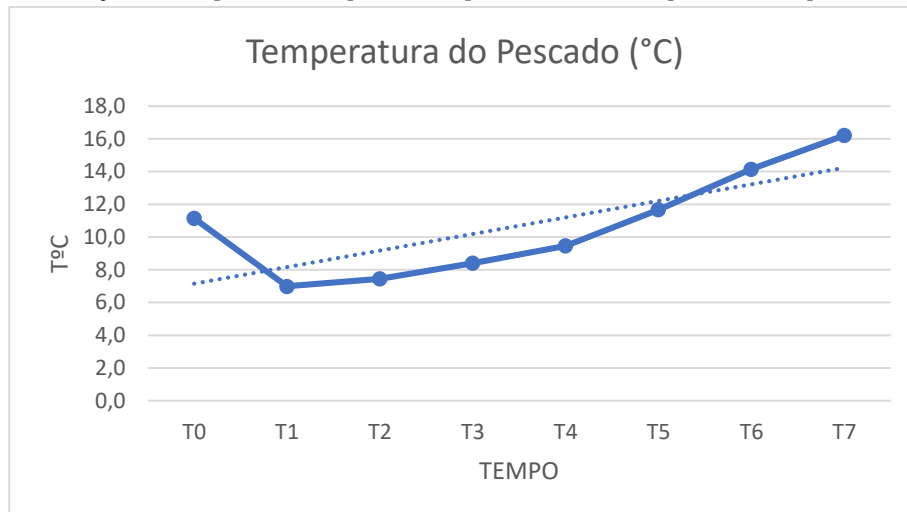
##### 4.1. TEMPERATURA DO PESCADO

O controle de temperatura durante as etapas de produção e distribuição dos alimentos ao consumo é um dos fatores mais importantes na garantia da qualidade dos produtos processados (BRAMORSKI et al., 2005).

Como pode-se constatar na Figura 11, a temperatura do pescado analisado inicialmente decaiu, porém, ao passo que o gelo ia derretendo a temperatura foi se elevando. Pode ser observado também que a tendência (linha tracejada, Figura 11) da temperatura seria de aumentar conforme com o tempo de exposição à temperatura ambiente. O gelo é utilizado para atenuar a deterioração do pescado pelas reações enzimáticas e ação bacteriana temporariamente, preservando as suas características organolépticas e nutricionais (PIMENTEL; PANETTA, 2003). Porém com o gelo a temperatura diminui, mas não se mantém constante (ROIHA et al., 2018). O gelo utilizado para conservação de alimentos pode ser um importante veículo de contaminação microbiana para o pescado (GIAMPIETRO; AZEVEDO, 2009).

Segundo Scherer et al. (2004), o uso do gelo clorado é efetivo na redução da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos na carne, ampliando em aproximadamente três dias a vida de prateleira de pescados armazenados inteiros sob refrigeração. Mas nem sempre o gelo utilizado na conservação de alimentos apresenta qualidade satisfatória (Modificado de GIAMPIETRO; AZEVEDO, 2009).

**Figura 11** – Variação da temperatura do pescado exposto ao ambiente por diversos períodos de tempo



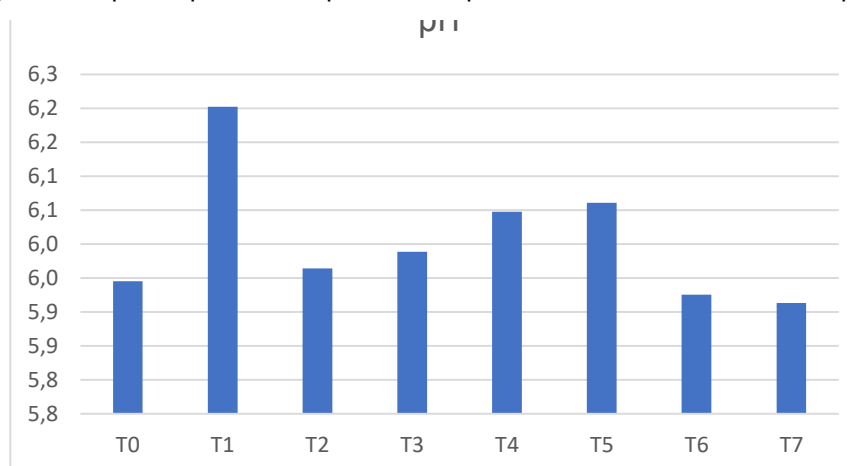
**Fonte:** Autor (2019).

#### 4.2.pH

Entre os produtos de origem animal, o pescado é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração devido ao pH próximo da neutralidade. O pH da carne de pescado não alcança os valores baixos como as carnes de outras espécies animais, situando-se entre 6,2 e 6,4 (PRATA, 1999).

Como podemos observar na figura 12, o pH do pescado variou bastante tendendo a diminuir à medida que a temperatura foi aumentando. Segundo Araújo; Soares; Góis, (2010) esse fato pode ser explicado pelo aumento da atividade láctica dos músculos.

**Figura 12** – pH do pescado exposto a temperatura ambiente em diversos períodos



**Fonte:** Autor (2019).

O pH das amostras ficou dentro do estabelecido como limite pelo MAPA, que é 7,0 (BRASIL, 2017). O pH não é um índice seguro para avaliar o estado de frescor do peixe, e por isso seu uso geralmente é restrito por variar de amostra para amostra (OGAWA; MAIA, 1999),

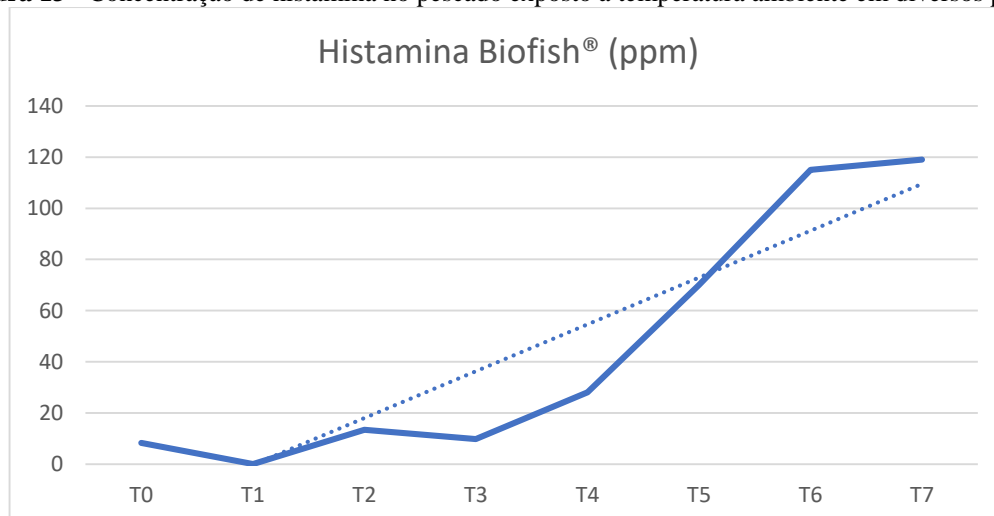
A concentração dos íons de hidrogênio comumente é alterada quando há um processo de decomposição de um produto alimentício, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação (ZENEBO; PASCUET, 2005). Contudo, mesmo que a medição do pH seja uma das análises que podem avaliar o grau de conservação do pescado, não é um fator isolado a ser considerado quanto à qualidade do pescado (TAVARES, 2005).

### 4.3.HISTAMINA

Quando as condições de manuseio e estocagem são inadequadas ocorre a descarboxilação bacteriana do aminoácido L- histidina, um aminoácido livre facilmente convertido em histamina pela enzima histidina-descarboxilase, favorecendo desta forma a multiplicação de microrganismos que favorecem sua atividade (CARMO et al., 2010). Na Tabela 1 é possível observar a quantidade de amostras que foram positivas para a formação de histamina, estas foram analisadas no Biofish® para análise quantitativa. Nas amostras T6 e T7 foram observadas quantidades de histamina maior que o permitido pela legislação brasileira, que é 100ppm.

Foi verificado que de acordo com o aumento da temperatura, as amostras indicaram uma tendência (linha pontilhada) de aumento da concentração de histamina (Figura 13).

**Figura 13** - Concentração de histamina no pescado exposto a temperatura ambiente em diversos períodos



Fonte: Autor (2019).

O início da produção de histamina é decorrente do binômio tempo-temperatura do pescado, formada a partir de temperaturas superiores a 4,4°C (RODRIGUES, 2007).

Segundo Taylor (1986), a manipulação do pescado fora das condições ideais de refrigeração permite que bactérias contaminantes consigam se multiplicar e promover a formação da histamina, pois em seu crescimento algumas delas produzem a enzima histidina-descarboxilase.

Muitos estudos relatam os efeitos das temperaturas de armazenamento na formação de histamina em peixes, seus resultados têm sido muitas vezes ambíguos (GUILLÉN-VELASCO et al., 2004; SILVA et al., 1998). Isto pode ser explicado pelas diferenças na composição e no nível de flora bacteriana nos peixes. As espécies e cepas bacterianas produtoras de histamina variam consideravelmente em quantidades de formação de histamina, de modo que o tipo de bactéria deteriorada presente depende do ambiente aquático.

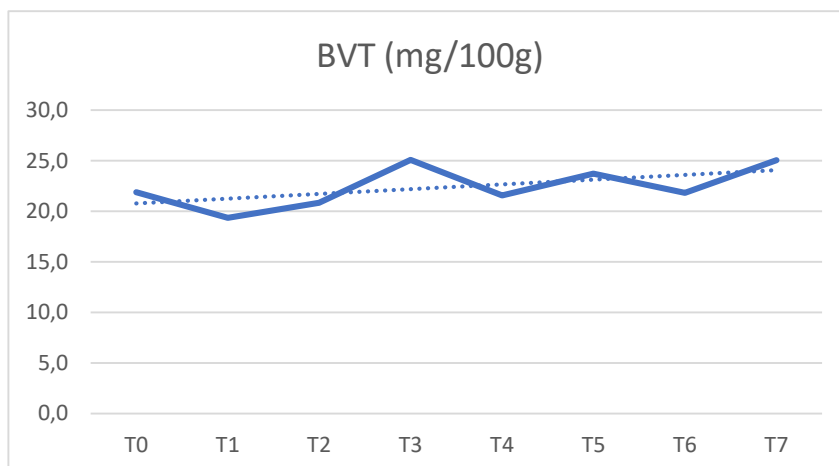
Em um estudo de Guizani et al., (2005) foi observado que a formação de histamina obteve um aumento gradual ao longo do período de armazenamento de acordo com o aumento da temperatura. Corroborando assim, com o presente estudo.

#### **4.4.BVT**

O BVT, composto principalmente de amônia e aminas primárias, secundárias e terciárias, é amplamente utilizado como indicador de deterioração da carne. Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, existem várias provas físico-químicas para avaliar o frescor e a qualidade do pescado resfriado, entre elas está a mensuração das bases voláteis totais (BVT) (BRASIL, 2017). Alterações no BVT da sardinha verdadeira armazenada em diferentes períodos de tempo em temperatura ambiente são apresentadas na Tabela 1. De acordo com os dados coletados, o aumento das taxas de BVT foi diretamente proporcional ao do tempo de exposição do pescado armazenado em temperatura ambiente, por diversos períodos de tempo (linha pontilhada), conforme visto na Figura 14.

O presente estudo está de acordo com o encontrado por Zhang et al. (2011), em que o BVT teve um aumento conforme o tempo de armazenamento, em que taxa crescente de amostra armazenada à temperatura de 15 °C foi a maior. Todas as amostras deste estudo se encontraram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, quando apresentam valores inferiores a 30mg de Nitrogênio/100g de carne (BRASIL, 2017).

**Figura 14** - Concentração de BVT em pescado exposto a temperatura ambiente em diversos períodos de tempo



**Fonte:** Autor (2019).

Conforme citado por Lima (2014), Ogawa; Maia, (1999) buscando especificar melhor o padrão de BVT oficialmente adotado, classificam a qualidade dos peixes da seguinte forma: peixes com excelente estado de frescor, o teor de BVT atinge 5 a 10mg N- BVT/100g de carne; peixes com frescor razoável podem atingir até 15 a 25mg N- BVT/100g de carne. No início da putrefação, este teor pode ir até 30 a 40mg N- BVT/100g de carne e quando bastante deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50mg N- BVT/100g. Mostrando assim que a medida que a temperatura sobe a qualidade do pescado diminui.

A análise de Nitrogênios das Bases Voláteis Totais (N-BVT) é um parâmetro bastante utilizado na verificação da qualidade no pescado, pois apresenta procedimento analítico simples e de baixo custo (CICERO; FURLAN; NEIVA, 2014).



## 5. CONCLUSÃO

O tempo de exposição a temperatura ambiente teve grande influência na análise físico-química do pescado, sendo esse o fator principal de alterações na mesma. Portanto podemos concluir que os resultados obtidos nas análises de temperatura e tempo de exposição se mostraram importantes na influência da qualidade do pescado.

Apesar de não se manter constante, o pH é uma grandeza que deve ser levado em consideração na análise físico-química do pescado. Através dos resultados obtidos, conclui-se que apesar de influenciar diretamente na qualidade do pescado, não podemos avaliar o binômio temperatura-pH isolados, pois o mesmo não consegue nos mostrar por si as alterações físico-químicas no pescado.

Com o presente estudo podemos concluir que à medida que temperatura do pescado sobe, há uma tendência de elevar os níveis de histamina. A temperatura ideal de armazenagem do mesmo deve ser inferior a 4°, visto que temperaturas amenas diminuem a atividade microbiana, conseqüentemente retardam o processo de formação de histamina. Pode se dizer que o BVT seguiu o mesmo padrão de resposta da histamina, variando de acordo com o aumento da temperatura. Assim pode-se concluir que BVT e histamina estão diretamente ligadas às alterações físico-químicas do pescado. À medida que a temperatura vai subindo, a concentração microbiana se eleva, fazendo com que aumente a quantidade de amins biogênicas, elevando os níveis de BVT do pescado.

Concluiu-se que a estabilidade da qualidade da carne de sardinha-verdadeira pode ser alcançada durante o armazenamento a baixas temperaturas, a julgar pelas alterações nas análises físico-químicas abordadas no presente estudo, quanto menor a temperatura, maior a qualidade da carne. Os indicadores de frescor são consistentemente correlacionados ao tempo e temperatura de armazenagem.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, D. A. F. V.; SOARES, K. M. P.; GÓIS, V. A. (2010). **Características gerais, processos de deterioração e conservação do pescado**. Pubvet, 4.

AVELAR, E. C.; FRANÇA, A. S.; FERRAZ, V. P. **Desenvolvimento e otimização de metodologia de cromatografia gasosa para identificação e quantificação de aminas bioativas em alimentos**. In: VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. UNICAMP. 2005.

BALDINI, V. L. S. **Aminas biogênicas e a deterioração do pescado**. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, v.19, p.389- 402, 1982.

BRASIL, (2017). **Decreto 9.013, de 29 de março de 2017**. 1–108. Retrieved from <https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=NzU2NQ%2C%2C>

CARMO, F. B. T.; MÁRSICO, E. T.; CLEMENTE, S. C. S.; CARMO, R. P.; FREITAS, M. Q. **Histamina em conservas de sardinha**. *Revista Ciência Animal Brasileira*, v.11, n.1, p.174-180, 2010.

CARPINTERO, M.; IÑIGO N., S.; MOURELO R., M. M.; FERNÁNDEZ V., M. L. **Predicción de la formación de histamina en pescados refrigerados ricos en histidina**. *Revista Madrileña de Salud Pública*, v. 1, n. 5, p. 1-7, 12 sep. 2019.

CERGOLE, M. C.; DIAS-NETO, J. **Plano de gestão para o uso sustentável da sardinha-verdadeira *Sardinella brasiliensis* no Brasil**. Brasília: Ibama, 2011.

CICERO, L.; FURLAN, E.; NEIVA, C., (2014). **Métodos de quantificação de nitrogênio das bases voláteis totais N-BVT em pescado por microdifusão**.

D'ALOIA, A.; VIZZARDI, E.; DELLA PINA, P.; BUGATTI, S.; DEL MAGRORICCARDO, F.; CURNI, R. **A scombroid poisoning causing a life-threatening acute pulmonary edema and coronary syndrome in a young healthy patient**. *Cardiovascular toxicology*, v. 11, n. 3, p. 280-283, 2011.

DAVIDEK, T.; DAVIDEK, J. **Biogenic amines in natural toxic compounds of foods**. 1995.

FAO. **Perfiles de Pesca y Acuicultura por Países. Ecuador (2011)**. Hojas de datos de perfiles de los países. Roma: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO (Actualizado 1 January 2011; citado 24 Septiembre 2013). Disponible en: <http://www.fao.org/fishery/facp/ECU/es>.

FENG, C.; TEUBER, S.; GERSHWIN, M. E., **Histamine (scombroid) fish poisoning: a comprehensive review**. *Clinical reviews in allergy & immunology*, v. 50, n. 1, p. 64-69, 2016.

FIGUEIREDO, J. L.; SALLES; A. C. R.; RABELO, L. B. ***Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879) (Teleostei: Clupeidae), nome válido aplicado à sardinha verdadeira no Sudeste do Brasil**. *Papéis avulsos de Zoologia, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo*, v. 50, nº 18, p. 281-283, 2010.

FOGAÇA, F. S.; LEGAT, A. P.; PEREIRA, A. M. L.; LEGAT, J. F. A. Documentos 189: **Métodos para Análise de Pescados**. Teresina, PI: Embrapa Meio-norte, 2009. 38p.

GONÇALVES, E.; **TECNOLOGIA DO PESCADO**. Ciência, tecnologia, inovação e legislação. 2011.

GUILLÉN-VELASCO, S.; PONCE-ALQUICIRA, E.; FARRÉS-GONZÁLEZ, A. S.; GUERRERO-LEGARRETA, I. **Histamine production by two Enterobacteriaceae strains isolated from tuna (*Thunnus thynnus*) and jack mackerel (*Trachurus murphyi*)**. International Journal of Food Properties, v. 7, n. 1, p. 91-103, 2004.

GUIZANI, N.; AL-BUSAIDY, M. A.; AL-BELUSHI, I. M.; MOTHERSHAW, A.; RAHMAN, M. S. (2005). **Efeito da temperatura de armazenamento na produção de histamina e no frescor do atum albacora (*Thunnus albacares*)**. *Food Research International*, 38 (2), 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.09.011>.

HERNÁNDEZ-HERRERO, M. M., ROIG-SAGUÉS, A. X., LÓPEZ-SABATER, E. I., RODRÍGUEZ-JEREZ, J. J. E MORA-VENTURA, M. T. (1999). **Nitrogênio básico volátil total e outras características físico-químicas e microbiológicas relacionadas ao amadurecimento de anchovas salgadas**. Journal of Food Science, 64: 344-347. doi: 10.1111 / j.1365-2621.1999.tb15897.x

HOPPER, J. L.; SOUTHEY, M. C.; DITE, G. S.; JOLLEY, D. J.; GILES, G. G.; MCCREDIE, M. R. E.; EASTON, D. F. E.; VENTER, D. V. **Population-based estimate of the average age-specific cumulative risk of breast cancer for a defined set of protein-truncating mutations in BRCA1 and BRCA2**. Australian Breast Cancer Family Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, v. 8, n. 9, pp. 741-7, Sep 1999.

HOWGATE, P. **A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 1. Determination**. Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry, v. 9, n. 1, 2010.

HUNGERFORD, J. M. **Scombroid poisoning: a review**. Toxicon, v. 56, n. 2, p. 231-243, 2010.

JNR, M. H.; KINIGOMA, B. S.; SPIFF, A. I. **Evaluation of the levels of total volatile bases and trimethyleamine formed in fish stored at low tempéture**. Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia, v. 20, n. 1, p. 155-159, 2006.

LEHANE, L.; OLLEY, J. **Histamine fish poisoning revisited**. International journal of food microbiology, v. 58, n. 1-2, p. 1-37, 2000.

LIMA, I. M. A. F. (2014). **ATIVIDADE JANGADEIRA: ERGONOMIA E QUALIDADE DO PESCADO DE PONTA NEGRA, NATAL-RN**. Por. Universidade Federal do Rio Grande do Norte Centro de Tecnologia Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Produção INEUDA, 2014 (June), 1–2. <https://doi.org/10.1038/132817a0>.

LÓPEZ-SABATER, E. I.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J.; HERNÁNDEZ-HERRERO, M.; MORA-VENTURA M. T. **Incidence of histamine-forming bacteria and histamine content in scombroid fish species from retail markets in the Barcelona area.** International journal of food microbiology, v. 28, n. 3, p. 411-418, 1996.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado.** São Paulo: Varela, v. 1, p. 430, 1999.

PEREDA, J. A. O. **Tecnologia de alimentos: alimentos de Origem Animal.** Vol.2. Editora Artmed. São Paulo. 2005. 279p

PRATA, L. F. **Higiene e Inspeção de Carnes, Pescado e Derivados.** São Paulo: UNESP, 1999. 217p.

RODRIGUES, K. B. **Histamina x Pescado: revisão bibliográfica. 2007.** 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Centro Universitário Vila Velha, Vila Velha, 2007.

ROIHA, I.; JÓNSSON, A.; BACKI, C.; LUNESTAD, B.; KARLSDOTTIR, M. (2018). **A comparative study of quality and safety of Atlantic cod ( Gadus morhua ) fillets during cold storage, as affected by different thawing methods of pre-rigor frozen headed and gutted fish: Quality and safety of chilled cod fillets as affected by thawing methods.** Journal of the Science of Food and Agriculture. 98. 400-409. 10.1002/jsfa.8649.

SCHUTZ, D. E.; CHANG, G. W.; BJELDANES, O. F. **Rapid thin layer chromatographic method for the detection of histamine in fish products.** Journal of AOAC, v. 59, p. 1224-1225, 1976.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. **Qualidade e segurança do pescado.** São Paulo: Rev Inst Adolfo Lutz, 2012. 10 p. 10 f. (71(1)).

SOUZA, M. M. M.; FURTUNATO, D. M. N.; CARDOSO, R. C. V.; ARGÔLO, S. V.; SILVA, I. R. C.; SANTOS, L. F. P. **Avaliação do frescor do pescado congelado comercializado no mercado municipal de São Francisco do Conde-Ba.** Boletim do Instituto de Pesca, v. 39, n. 4, p. 359-368, 2018.

TAVARES, M.; MORENO, R. B. Pescado e derivados. In: Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4ª. Ed. Brasília: Anvisa; 2005. cap. 18, p. 633-43.

TAYLOR, S. L. **Histamine poisoning associated with fish, cheese and other foods.** Geneva: World Health Organization; 1986. 47 p.

ZARE, D.; MUHAMMAD, K. ; BEJO, M. H.; GHAZALI, H. M. **Changes in urocanic acid, histamine, putrescine and cadaverine levels in Indian mackerel (Rastrelliger kanagurta) during storage at different tempétures.** Food chemistry, v. 139, n. 1-4, p. 320-325, 2013.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** In: Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 2005.

ZHANG, J.; WANG, X.; SHI, W. **Odor characteristics of white croaker and small yellow croaker fish during refrigerated storage.** Journal of Food Biochemistry, p. e12852, 2019.