

Qualidade do pirarucu (*Arapaima gigas* Shing, 1822) salgado seco comercializado em mercados varejistas

Microbiologic and physical-chemical qualities of salted and dried pirarucu (*Arapaima gigas* Shing, 1822) sold in retail markets

RIALA6/1499

Emilia do Socorro Conceição de Lima NUNES^{1*}, Robson Maia FRANCO², Eliane Teixeira MÁRSICO², Monique da Silva NEVES¹

¹Endereço para correspondência: ¹Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense. Rua Vital Brazil Filho, 64. CEP: 24.230-204, Niterói, RJ, Brasil. E-mail: emilia@ufpa.br

²Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil
Recebido: 25.11.2011 – Aceito para publicação: 19.07.2012

RESUMO

Foram avaliados os parâmetros de qualidades microbiológicas e físico-químicas em 40 amostras de pirarucu salgado-seco comercializados na cidade de Belém, durante 12 meses. Os valores médios de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, atividade de água (Aa), cloretos, bases voláteis totais, ranço oxidativo e aminas biogênicas foram, respectivamente, 46,99% ($\pm 3,71$); 18,82% ($\pm 1,91$); 7,31% ($\pm 4,98$); 29,49% ($\pm 4,96$); 0,73 ($\pm 0,04$); 14,60% ($\pm 1,94$); 21,44 mgN/100g ($\pm 9,76$); 0,35 mg.kg⁻¹ ($\pm 0,12$); e não detectado. Os valores de umidade estavam acima do limite padrão em 75% das amostras. Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para Aa e cloretos foi observada entre o período do defeso (D) e não defeso (ND). Os resultados microbiológicos foram em média de 5,01 logUFC/g de mesófilos; 5,76 logUFC/g de halofílicos; 4,99 logUFC/g de fungos; 1,87 logUFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP); 0,27 logUFC/g de *Enterobacteriaceae* viáveis; 2,50 logNMP/g de *Enterococcus* spp.; 2,82 logNMP/g de coliformes totais (CT); e 2,15 logNMP/g de coliformes a 45 °C (CTer). SCP e CT apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no D e ND, e CTer nas amostras dos supermercados e das feiras livres. O pirarucu salgado-seco apresentou condições higiênico-sanitárias insatisfatórias e de consequente risco à saúde do consumidor.

Palavras chaves. peixe salgado seco, qualidade microbiológica, qualidade físico-química.

ABSTRACT

Forty samples of salted and dried pirarucu, sold in Belém city, were tested for evaluating the physical-chemical and microbiology qualities. The mean value of moisture, ash, lipid, protein, water activity (Wa), salt content, Total Volatile Basic Nitrogen (TVBN), Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) and biogenic amines was 46.99% (± 3.71), 18.82% (± 1.91), 7.31% (± 4.98), 29.49% (± 4.96), 0.73 (± 0.04), 14.60% (± 1.94), 21.44 mgN/100 g (± 9.76), 0.35 mg.kg⁻¹ (± 0.12) and none detected, respectively. The values of moisture were above the maximum limit permitted by legislation in 75% of samples. A significant difference ($p < 0.05$) in Wa and salt content was observed between “closed” and “no-closed” fishing period. The mean microbiologic counts were of 5.01 logCFU/g of mesophilic bacteria, 5.67 logCFU/g of moderate halophiles, 4.99 logCFU/g of yeast and mold, 1.87 logCFU/g of positive-coagulase *Staphylococcus* (PCS), 0.27 logCFU/g of enterobacteria, 2.50 logMPN/g of *Enterococcus* spp., 2.82 logMPN/g of total coliform (TC), and 2.15 logMPN/g of 45°C coliform (FC). PCS and TC showed significant differences ($p < 0,05$) in “closed” and “no-closed” fishing period, and the FC counting in samples from supermarkets and marketplaces. The salted and dried pirarucu sold in Belém city showed unsatisfactory hygienic-sanitary quality, and characteristics of a potential risk to public health.

Keywords. salted and dried fish, microbiology quality, physical-chemical quality.

INTRODUÇÃO

O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um peixe amazônico carnívoro de grande porte, sendo considerado o maior peixe de escamas do planeta¹. É um peixe que apresenta um rendimento médio de carne de 57%². Tradicionalmente, é comercializado na forma salgada e seca, com a denominação de “bacalhau brasileiro”, e apresenta grande importância econômica na Região Norte do Brasil³.

A pesca predatória do pirarucu tem reduzido os estoques naturais. Devido a essa sobrepesca, desde 2004 a pesca está proibida na Bacia Hidrográfica do Rio Amazonas. No Estado do Pará, o período do defeso começa em primeiro de dezembro, estendendo-se até 31 de maio. Após esse período, a captura, a comercialização e o transporte devem atender às medidas de tamanho mínimo, como 1,50, 1,20 e 1,10 metros de comprimento total, respectivamente, para o peixe inteiro, para manta inteira e para manta seca⁴.

Em ensaios experimentais, é comum elaborar filé de pirarucusalgado-seco, utilizando a salga seca ou a salga mista, com adição de sal em torno de 30%, e secagens artificiais em estufas, com temperaturas e tempos padronizados (40 °C/36 horas ou 105 °C/30 minutos), até atingir um teor de umidade em torno de 40%. Essas condições controladas de processamento geram produtos com qualidade suficiente para armazenamento em temperatura ambiente^{5,6}.

Entretanto, a salga do pirarucu ainda é realizada de modo artesanal, com as seguintes etapas: corte longitudinal da carne, formando grandes “mantas” (de três a quatro centímetros de espessura), adição do sal (de forma desuniforme) e secagem natural ao sol. Esse processamento acarreta excessiva manipulação, com elevado potencial de contaminação cruzada, podendo dar origem a produtos tecnologicamente desuniformes e com baixa qualidade³.

Em Belém, a comercialização do pirarucu salgado-seco é realizada ao longo de todo o ano, em grandes redes de supermercado e feiras livres, comumente sem embalagem, exposto a altas temperaturas e umidade típicas daquela região, e em condições higiênico-sanitárias precárias, embora apresente alto valor comercial. Esse produto apresenta aspecto, cor e textura culturalmente comparados aos do bacalhau, o que o caracteriza popularmente como o “bacalhau da Amazônia”. É consumido cozido após a dessalga e muito utilizado na culinária local.

A demanda por esse peixe salgado em todo o Brasil, e até no mercado exterior, vem aumentando e tem incentivado a oficialização de fábricas de salga que processem esse peixe de forma padronizada e com qualidade atestada⁷.

Pouco se sabe sobre os parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade do pirarucu salgado-seco e a extensão de tais reações. Estudos isolados pesquisaram a microbiota prevista em lei e alguns requisitos físico-químicos^{5,6,8,9}.

Em pescado salgado, embora o sal previna o crescimento microbiano, inúmeros micro-organismos podem não ser inibidos na sua presença, podendo causar deterioração, perda de qualidade e risco à saúde coletiva^{10,11}.

Objetivou-se, no presente estudo, avaliar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade do pirarucu salgado-seco comercializado em grandes redes de supermercados e em feiras livres da cidade de Belém, estabelecer a composição centesimal do produto e comparar a qualidade durante os períodos do defeso e o liberado para comercialização.

MATERIAL E MÉTODOS

Quarenta amostras de pirarucu salgado-seco (500 gramas cada) foram obtidas em 13 supermercados e 27 feiras livres na cidade de Belém, no período de março de 2009 a setembro de 2010, em seis coletas bimestrais, abrangendo o período do defeso (17 amostras) e o período liberado para comercialização (23 amostras). As amostras obtidas nas feiras estavam expostas à venda sem embalagem, sobre bancadas de madeira e em temperatura ambiente, enquanto aquelas oriundas de supermercados estavam, em sua maioria, embaladas em filme plástico, em superfície de fácil higienização (granito, aço inoxidável) e em temperatura climatizada. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos esterilizados, identificadas, embaladas em caixas de papelão e transportadas, por via aérea, no mesmo dia da coleta, para os laboratórios onde foram realizadas as análises, em Niterói (RJ).

Os procedimentos analíticos físico-químicos foram realizados, em duplicata, e analisados de acordo com os métodos analíticos oficiais descritos pelo Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA¹². Foi determinado o teor de umidade e voláteis a 105 °C, proteína pelo método de micro Kjeldahl, lipídio pelo método de Soxhlet, resíduo mineral fixo em mufla a 550 °C, bases voláteis totais pelo método de microdifusão (método de Conway) em amostras previamente dessalgadas¹³, cloretos pelo método argentométrico (MÖHR), Atividade de Água (Aa) no aparelho “Pawkit” (Decagon Devices, Inc., USA), aminas biogênicas (histamina, cadaverina e putrescina) pelo método de Cromatografia em Camada

Delgada (CCD)¹⁴ com padrões de 2%, 3,5%, 5%, 7,5% e 10% de cada amina pesquisada e ranço oxidativo, que consistiu na determinação do número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)¹⁵.

As análises microbiológicas foram realizadas, em duplicata, de acordo com a Instrução Normativa nº 62, que estabelece os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água¹⁶. A enumeração de Coliformes Totais (CTo), Coliformes Termotolerantes (CTer) e de *Enterococcus* spp. foi realizada pela técnica de miniaturização^{17,18}. Uma sub-amostra de 25 g foi homogeneizada em 225 mL de água peptonada a 0,1% (SSP), para obtenção das diluições 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³, e realizaram-se as contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (em ágar padrão para contagem), de bolores e leveduras (em ágar batata dextrose, acidificado com ácido tartárico a 10% até pH 3,5), de *Enterobacteriaceae* viáveis (em ágar vermelho violeta bile glicose), de *Staphylococcus* coagulase positiva (em ágar Baird Parker), todos incubados à 37 °C/48 horas, exceto fungos, cuja incubação foi à 30 °C por 7 dias. Para *Enterobacteriaceae* viáveis, as Unidades Formadoras de Colônias (UFC) típicas formadas foram confirmadas pelo teste de oxidase (oxidase negativa) e, para *Staphylococcus* coagulase positiva, foram confeccionados das UFC típicas esfregaço pelo método de coloração de Gram, para confirmar as características morfotintoriais das mesmas (cocos Gram positivos) e os testes de coagulase e catalase. Para a contagem dos microrganismos halofílicos, a homogeneização foi realizada com outra sub-amostra de 25 g de pirarucu em 225 mL de solução fosfatada salina a 3% de NaCl, obtendo-se quatro diluições (10⁻¹ a 10⁻⁴). Foi utilizado o ágar tripticase de soja com 3% de NaCl, e incubou-se a 37 °C por 5 a 12 dias em estufa DBO (demanda biológica de oxigênio).

O Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais (CTo) e Coliformes Termotolerantes (CTer) foi obtido a partir das três diluições em água peptonada a 0,1% (SSP), de onde 100 µL foram utilizados para determinar o NMP por meio da técnica de miniaturização¹⁷, em “eppendorfs”, com 1.000 µL de caldo Fluorocult®, incubados a 37 °C/48 horas. Foram considerados positivos para CTo aqueles “eppendorfs” cuja virada de cor do meio apresentaram-se azuis, e positivos para CTer, os “eppendorfs” com coloração azul que apresentaram fluorescência sob luz ultravioleta a 366 nm. As séries de “eppendorfs” positivas foram calculadas por meio da tabela do NMP (Tabela de McCrady). E, ao considerar-se a técnica miniaturizada, o resultado final para obtenção

do NMP/g, foi multiplicado por 10 e pelo fator de diluição intermediária e, em seguida, dividido por 100. Para o NMP de *Enterococcus* spp., utilizou-se a mesma técnica de miniaturização com 1.000 µL de Chromocult® Enterococci Broth¹⁸, incubados à 46 °C por 48 horas. Foram considerados positivos aqueles tubos cuja virada de cor do meio ficou azul e, no caso do esfregaço pelo método de Gram, quando constatada a presença de cocos Gram positivos. Todos os resultados foram transformados em logUFC/g e logNMP/g com o auxílio de uma planilha eletrônica do programa Excel.

Análise de variância (ANOVA) e teste de média (Newman-Keuls) foram realizados para determinar as diferenças entre as amostras oriundas de supermercados e feiras livres, e entre as amostras do defeso e não defeso (5% de significância). Realizou-se estatística descritiva de todos os parâmetros estudados. Análise de Regressão Linear Simples e Múltipla foi realizada para determinar a correlação entre as variáveis. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa BioEstat 2.0¹⁹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição centesimal do pirarucu salgado-seco apresentou médias percentuais (desvio padrão) de umidade, cinzas, lipídios e proteínas, respectivamente, de 46,99% (±3,71%), 18,82% (±1,91%), 7,31% (±4,98%) e 29,49% (±4,96%). Não foi observada diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as amostras coletadas nas feiras e nos supermercados, e entre aquelas obtidas no período do defeso e no não defeso.

Resultados próximos aos obtidos nesse estudo foram descritos em amostras de pirarucu salgado-seco comercializados em Belém, com valores de 45,29% de umidade, 16,39% de cinzas, 7,39% de lipídios e 29,71% de proteínas⁸. Entretanto, valores distintos para o mesmo produto de 52,99%, 2,24%, 12,9% e 21,15%, respectivamente, para umidade, cinzas, lipídios e proteínas⁹ também são relatados pela literatura. Divergência de resultados, principalmente no que diz respeito ao teor de umidade e cinzas, pode estar associada ao processo artesanal de salga realizado no pirarucu comercializado em Belém, o que gerou produtos com padrões tecnológicos e físico-químicos de qualidade inferior.

Em bacalhau salgado e seco, na cidade do Rio de Janeiro, foi observado 47,21% de umidade e 23,26% de cinzas²⁰. Em Santa Catarina, foi determinado, respectivamente, em cação e em abrótea salgados,

Tabela 1. Média, desvio padrão, valores mínimos e máximos das análises físico-químicas em amostras de pirarucu salgado seco de Supermercados (S) e Feiras (F)

Local coleta	n	Atividade de água	Cloretos (%)	BVT (mgN/100g)	TBARS (mg.kg ⁻¹)	AB (mg/100g)		
						H	P	C
S	13	0,71 ± 0,03 ^a (0,68 - 0,74) ^b	14,88 ± 2,05 (10,95 - 19,16)	18,60 ± 7,34 (5,67 - 29,61)	0,32 ± 0,08 (0,18 - 0,51)	nd	nd	nd
F	27	0,74 ± 0,05 (0,67 - 0,88)	14,46 ± 1,91 (11,49 - 18,83)	22,80 ± 10,59 (6,93 - 49,14)	0,37 ± 0,13 (0,20 - 0,65)	nd	nd	nd

n = número de amostras; BVT = Bases Voláteis Totais; TBARS = ranço oxidativo; AB = Aminoácidos Biogênicos; H = Histamina; P = Putrescina; C = Cadaverina; nd = não detectado; média ± desvio padrão^a; (valor mínimo - máximo)^b

Média e desvio-padrão na mesma coluna com letras maiúsculas diferentes são estatisticamente diferentes (p < 0,05).

Tabela 2. Média, desvio padrão, valores mínimos e máximos das análises físico-químicas em amostras de pirarucu salgado seco no período do Defeso (D) e Não-Defeso (ND)

Período de coleta	n	Atividade de água	Cloretos (%)	BVT (mgN/100g)	TBARS (mg.kg ⁻¹)	AB (mg/100g)		
						H	P	C
D	17	0,75 ± 0,04 ^{aA} (0,72 - 0,88) ^b	13,73 ± 1,66 ^A (10,95 - 16,72)	23,50 ± 9,80 (11,97 - 42,21)	0,37 ± 0,15 (0,18 - 0,65)	nd	nd	nd
ND	23	0,68 ± 0,01 ^B (0,67 - 0,69)	15,24 ± 1,92 ^B (11,51 - 19,16)	19,92 ± 9,67 (5,67 - 49,14)	0,34 ± 0,09 (0,20 - 0,55)	nd	nd	nd

n = número de amostras; BVT = Bases Voláteis Totais; TBARS = ranço oxidativo; AB = Aminoácidos Biogênicos; H = Histamina; P = Putrescina; C = Cadaverina; nd = não detectado; média ± desvio padrão^a; (valor mínimo - máximo)^b

Média e desvio-padrão na mesma coluna com letras maiúsculas diferentes são estatisticamente diferentes (p < 0,05).

51,98% e 48,03% de umidade, 0,48% e 2,03% de lipídios, 23,20% e 23,17% de proteína²¹. Sobre esses dados, é importante ressaltar que, entre distintas espécies de peixes, pode haver diferenças fisiológicas na composição centesimal – entretanto, os parâmetros umidade, cinzas e cloretos devem obedecer um padrão de qualidade para caracterizar o produto como salgado-seco, fato relacionado com o processamento tecnológico de salga²².

Utilizando amostras de pirarucus provenientes de piscicultura⁶ e capturados na natureza⁵, foi realizada a salga em condições laboratoriais, obtendo-se, respectivamente, teores de 39,05% de umidade, de 26,33% de cinzas e 40% de umidade, resultados distintos dos observados nesse estudo. Esses dados reiteram que um processo tecnológico padronizado e controlado resulta em parâmetros analíticos mais uniformes.

Para produtos salgados, é estabelecido oficialmente no Brasil um teor de umidade de até 45% para peixes magros e 40% para os gordos, teor de cloretos mínimo de 10%²³ e teor de cinzas de até 25%²⁴. Os dados desta pesquisa atenderam ao regulamento quanto ao teor de cinzas e cloretos (Tabelas 1 e 2), apesar do processo de salga artesanal. Porém, 75% (30/40) das amostras estavam acima do padrão preconizado para umidade para peixes magros, sendo 27,50% (11/40) oriundas de supermercados e 47,50% (19/40) de feiras, ressaltando-se ainda que 10

amostras (25%) estavam com valores iguais ou superiores a 50% de umidade, das quais oito obtidas de feiras livres.

A umidade relativa do ar na cidade de Belém, no período de obtenção das amostras, oscilou entre 60% a 84%²⁵, fato que pode ter propiciado o aumento da umidade do pirarucu salgado, pois alimentos conservados em ambiente com umidade relativa superior à Atividade de água (Aa) tenderão a absorver umidade do ambiente²⁶. Desse modo, constatou-se, durante o período de obtenção das amostras, que, em 100% das feiras e alguns supermercados, esse produto estava sendo comercializado em temperatura ambiente, sem nenhum tipo de embalagem, exposto a alta umidade relativa do ar da região, que aumentou durante o período chuvoso (defeso).

Os resultados referentes às análises físico-químicas, em pirarucu salgado-seco, provenientes de supermercado e feiras livres e obtidos durante o período do defeso e do não defeso, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. Os níveis médios de Atividade de água (Aa), cloretos, Bases Voláteis Totais (N-BVT), ranço oxidativo (TBARS) e Aminoácidos Biogênicos (AB), em 40 amostras analisadas, foram, respectivamente, de 0,73 ± 0,04, 14,60 ± 1,95%, 21,44 ± 9,76 mgN/100 g e 0,35 ± 0,12 mg.kg⁻¹, e não foi observado descarboxilação de aminoácidos com consequente produção de aminoácidos biogênicos. Em todos os parâmetros avaliados, não houve diferença estatística significativa (p <

0,05) entre os locais de obtenção das amostras (Tabela 1). Entretanto, houve diferença estatística significativa para o teor de Aa ($p < 0,01$) e cloretos ($p < 0,05$), entre as amostras coletadas no defeso e no não defeso (Tabela 2). Nesse período do ano (não defeso), os peixes comercializados possivelmente estavam recém-salgados, o que justificou uma menor Aa (0,68) e um maior teor de cloretos (15,24%).

Em pirarucu salgado e seco, processado em laboratório, foi encontrado 0,65 de Aa e 28,62% de cloretos⁶, e, em carpa salgada, os autores descreveram um teor de 24,63% de cloretos¹⁰, resultados estes que diferem dos apresentados neste estudo. Entretanto, em bacalhau salgado e seco, do mercado varejista da cidade do Rio de Janeiro, foi verificado Aa semelhante aos valores obtidos neste estudo (0,73), apesar do maior teor de cloretos (19,43%)²⁰. Essas diferenças podem ser atribuídas à variedade de concentração de sal utilizada em cada processamento e aos diferentes períodos de estocagem dos produtos.

Quanto ao conteúdo de N-BVT, o valor médio observado foi de $21,44 \pm 9,76$ mgN/100 g (5,67 a 49,14 mgN/100 g). Como não é previsto pela legislação em vigor um limite máximo para peixes de água doce, esse valor foi comparado com os demais resultados analíticos e com os descritos na literatura. Entretanto, três amostras obtidas em feiras e a maioria das amostras no defeso apresentaram valores de N-BVT expressivamente altos, com valores iguais ou superiores a 40 mgN/100 g.

Embora não tenha sido possível obter informações sobre a qualidade inicial do pirarucu fresco e a tecnologia do processamento de salga seja desconhecida, acredita-se que esses fatores, aliados a elevadas temperaturas de estocagens e ambientes de comercialização sem condições de higiene, podem ter contribuído para os altos valores de N-BVT encontrados em algumas amostras, pois a deterioração microbiana do pescado salgado aumenta gradualmente com o tempo de estocagem, mesmo com o efeito preservativo do sal, justificado pela ação enzimática e bacteriana²⁷.

Dados sobre o estudo de N-BVT em pirarucu salgado-seco são limitados. Entretanto, já foram citados níveis de N-BVT em pirarucu inteiro estocado em gelo, com valores de 6,65 mgN/100 g no dia zero e 18,76 mgN/100 g aos 36 dias de refrigeração; em filés de pirarucu (porção ventral) estocados a -18°C , com níveis de N-BVT de 6,81 mgN/100 g no dia zero e 26,34 mgN/100 g aos 150 dias de congelamento; e em filés de pirarucu defumados a quente e conservados a -18°C foi verificado 32,89 mgN/100g e 43,56 mgN/100g de N-BVT, respectivamente, nos dias zero e 150 de estocagem⁶. Em outros tipos de peixes salgados, como

a cavala, foi encontrado teor médio de 10,93 mgN/100g e 40,42 mgN/100g de N-BVT, respectivamente, no dia zero e 30 dias da estocagem, em condições de processamento controladas²⁸; em carpa salgada, obtida em mercado varejista na Turquia, foi observado 55,40 mgN/100 g¹⁰; em bacalhau salgado-seco, observou-se, em 20 amostras obtidas no mercado varejista da cidade do Rio de Janeiro, teor médio de 3,17 mgN/100 g de N-BVT²⁰, caracterizando estabilidade da molécula aminoacídica; em cação e abrótea salgados e secos em condições laboratoriais, foi descrito valores de N-BVT, respectivamente, de 29,35 mgN/100 g e 33,20 mgN/100 g, para o cação, e 9,48 mgN/100 g e 17,38 mgN/100 g, para a abrótea na matéria-prima *in natura* e aos oito dias após a salga²¹. Podemos inferir que as diferenças podem ser fundamentadas na não padronização do processo de salga, na qualidade inicial da matéria-prima, condições fisiológicas das espécies e até nas condições de armazenamento.

Não foram encontrados na literatura dados sobre pesquisa de ranço oxidativo em pirarucu salgado-seco. Entretanto, os valores de TBARS encontrados neste estudo ($\sigma = 0,35$ mg.kg⁻¹) foram maiores que aqueles detectados em pirarucu congelado a -18°C aos 150 dias de estocagem (0,13 mg.kg⁻¹) e próximos aos dados obtidos em pirarucu salgado e defumado a quente (0,29 mg.kg⁻¹ aos 150 dias de estocagem a -18°C)⁶; e menores que aqueles verificados em anchova salgada (11,45 mg.kg⁻¹)²⁷ e em cavala salgada (1,44 mg.kg⁻¹)²⁸, respectivamente, aos 30 dias e nove semanas de estocagem. Estudo realizado em bacalhau salgado-seco obtido no mercado varejista do Rio de Janeiro evidenciou que 28,6% das amostras apresentaram ranço oxidativo²⁰. Pode-se inferir que o aumento da oxidação lipídica em produtos salgados e defumados pode ser atribuído à presença do sal ou por diferentes perfis de ácidos graxos em cada espécie de peixe estudada. Portanto, o pirarucu salgado-seco comercializado em Belém apresentou perda de qualidade devido à presença de rancificação.

Pesquisadores apontam que teores acima de 1-2 mg de malonaldeído por quilograma de peixe já alteram atributos como textura e odor indicativos de deterioração²⁹. Entretanto, apesar do pirarucu salgado e seco comercializado em Belém apresentar valores de TBARS menores que 0,65 mg.kg⁻¹, 22,5% (9/40) das amostras apresentavam odor característico de rancificação, fato esse observado durante o preparo das amostras para as análises. Um fator importante a ser considerado é a possível complexação do malonaldeído com os produtos da decomposição proteica resultando na formação

de compostos terciários e na diminuição de TBARS em amostras de peixe salgado e estocado por longos períodos^{27,28,30}, podendo ser uma possível justificativa para os baixos índices de TBARS encontrados nas condições deste estudo em amostras de pirarucu salgado-seco.

Quanto à presença de aminas biogênicas (histamina, putrescina e cadaverina), as mesmas não foram detectadas nas amostras estudadas (Tabelas 1 e 2). Não existem relatos na literatura sobre a presença de aminas biogênicas (AB) em pirarucu *in natura* ou salgado. Talvez, pelo fato de ser uma espécie dulcícola, com prováveis baixos níveis de histidina, a histamina não tenha sido estudada. Entretanto, estudo com as demais aminas poderiam caracterizar o estado de conservação das amostras em função da descarboxilação de outros aminoácidos por enzimas descarboxilases bacterianas.

Com relação à legislação, no Brasil somente a pesquisa de histamina está prevista em peixes marinhos *in natura* no músculo das espécies pertencentes às famílias *Scombridae*, *Scombresocidae*, *Clupeidae*, *Coryphaenidae* e *Pomatomidae*³¹ até o nível máximo de 100 ppm (10 mg.100 g⁻¹). Apesar de não estar prevista oficialmente para caracterizar o estado de conservação de peixes dulcícolas *in natura* ou salgado e seco, a pesquisa foi realizada em pirarucu salgado e seco, previamente dessalgado, pois a presença de AB reflete perda de qualidade devido à degradação de aminoácidos, e estudos realizados em

produtos salgados correlacionaram AB com a presença de bactérias que descarboxilam aminoácidos, mesmo em alta concentração de sal^{32,33}. Desse modo, algumas pesquisas relacionaram bactérias formadoras de histamina, como *Enterobacter cloacae* em cavala salgada³², *Enterobacter aerogenes* e *Citrobacter* sp. em “milkfish” salgado³³ e *Enterococcus* spp. em anchovas salgadas e fermentadas³⁴. É provável que esses dados justifiquem a não detecção de AB em pirarucu salgado-seco, visto que o desenvolvimento de *Enterococcus* spp. e *Enterobacteriaceae* viáveis nesse produto foi insignificante (Tabela 3). Também a fase de secagem do pirarucu pode ter reduzido o desenvolvimento de bactérias formadoras de aminas, devido à diminuição da Aa, pois a Aa de 0,93 já é limitante para o crescimento de todos os microrganismos Gram-negativos, enquanto os cocos ainda podem crescer em torno de 0,85 de Aa¹¹.

Quanto aos resultados relativos aos parâmetros microbiológicos, os dados obtidos estão apresentados na Tabela 3. As contagens de mesófilos, halofílicos, fungos, *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP), *Enterobacteriaceae* viáveis (EV), *Enterococcus* spp., coliformes totais (CT) e coliformes a 45°C (CTer), nas 40 amostras estudadas, foram, em média, de 5,01 logUFC/g, 5,67 logUFC/g, 4,99 logUFC/g, 1,87 logUFC/g, 0,27 logUFC/g, 2,50 logNMP/g, 2,82 logNMP/g e 2,15 logNMP/g, respectivamente. Não houve diferença significativa (p < 0,05) entre as amostras obtidas nos

Tabela 3. Média, desvio-padrão, valores mínimos e máximos das análises microbiológicas realizadas em amostras de pirarucu salgado seco

Análises	Local da coleta		Período da coleta	
	Supermercado	Feira	Defeso	Não-defeso
Mesófilos (logUFC/g)	4,73 ± 0,91 ^a (2,77 - 6,23) ^b	5,14 ± 1,02 (3,17 - 6,75)	4,83 ± 1,11 (2,77 - 6,46)	5,14 ± 0,91 (3,41 - 6,75)
Halofílicos (logUFC/g)	5,75 ± 0,86 (4,08 - 6,96)	5,63 ± 1,31 (3,00 - 8,75)	5,58 ± 1,20 (4,08 - 8,75)	5,74 ± 1,17 (3,00 - 7,75)
Fungos (logUFC/g)	5,34 ± 0,89 (4,05 - 7,08)	4,87 ± 1,02 (2,60 - 6,60)	4,88 ± 0,81 (3,41 - 6,00)	5,12 ± 1,12 (2,60 - 7,08)
SCP (logUFC/g)	1,81 ± 2,54 (0,00 - 6,69)	1,90 ± 2,48 (0,00 - 7,05)	0,87 ± 1,69^A (0,00 - 5,18)	2,61 ± 2,71^B (0,00 - 7,05)
EV (logUFC/g)	0,82 ± 1,56 (0,00 - 3,76)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,46 ± 1,23 (0,00 - 3,76)
<i>Enterococcus</i> spp. (logNMP/g)	1,96 ± 1,82 (0,00 - 4,04)	2,76 ± 1,32 (0,00 - 4,04)	2,74 ± 1,26 (0,00 - 4,04)	2,33 ± 1,70 (0,00 - 4,04)
Coliformes Totais (logNMP/g)	2,82 ± 0,73 (1,48 - 3,66)	2,82 ± 0,78 (1,48 - 4,04)	3,18 ± 0,63^A (1,60 - 4,04)	2,56 ± 0,75^B (1,48 - 4,04)
Coliformes a 45 °C (logNMP/g)	1,68 ± 0,80^A (0,00 - 2,36)	2,38 ± 1,11^B (0,00 - 4,04)	2,33 ± 1,14 (0,00 - 4,04)	2,02 ± 1,01 (0,00 - 4,04)

Média e desvio-padrão na mesma linha com letras maiúsculas diferentes são estatisticamente diferentes (p<0,05).

média±desvio padrão^a (valor mínimo–máximo)^b

SCP = *Staphylococcus* coagulase positiva; EV = *Enterobacteriaceae* viáveis

supermercados e nas feiras livres, e entre o período do defeso e não defeso para as contagens de mesófilos, halofílicos, fungos, EV e *Enterococcus* spp. Entretanto, houve diferença significativa ($p < 0,05$) para SCP e CT entre as amostras obtidas no defeso e não defeso, e para CTer entre as amostras obtidas nos supermercados e nas feiras livres.

Em pescado salgado-seco, os padrões microbiológicos regulamentados fazem referência somente a CTer, SCP e *Salmonella* spp.³⁵. Entretanto, as contagens microbianas vêm sendo utilizadas para avaliar a qualidade de alimentos, devido às dificuldades encontradas na detecção de micro-organismos patogênicos. Sendo assim, foi procedido contagem de mesófilos em pirarucu salgado-seco, e observou-se que os resultados encontrados foram superiores àqueles obtidos por Guimarães et al.⁸ e por Mouchrek Filho et al.³⁶, respectivamente de 4,41 e $< 1,00$ logUFC/g, no mesmo alimento. Entretanto, contagens próximas às observadas no presente estudo foram descritas em outras espécies de peixe salgado, como em cação e abrótea, com valores de 5,59 e 5,60 logUFC/g de mesófilos, respectivamente²¹ e em peixe trilha salgado e embalado a vácuo a 4 °C, com 5,70 logUFC/g de mesófilos³⁰. Esse grupo de micro-organismos é comumente utilizado como indicativo de qualidade sanitária. Isso foi constatado nas amostras de pirarucu salgado-seco, caracterizando-o como insalubre, visto que as bactérias patogênicas de origem alimentar crescem em temperatura de 37 °C, fato este confirmado em outras pesquisas com peixes salgados (bacalhau, “milkfish” e cavala) que descreveram a presença de *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*^{32,33,37}.

Quanto às contagens de bactérias halofílicas, os resultados encontrados nesse estudo corroboraram com os achados de Lourenço et al.⁵ e Salgado e Ramos⁹, respectivamente de 5,92 e 5,48 logUFC/g, em pirarucu salgado-seco comercializado em Belém. Essa contagem microbiana está, provavelmente, relacionada com as condições higiênicas do alimento, com a qualidade do sal utilizada durante o processo da salga, bem como alterações sensoriais na cor e no odor do pescado. Dessa forma, na presente pesquisa foi detectada alteração de cor, denominada “vermelhão”, e odor rançoso em 25% (10/40) das amostras pesquisadas, sendo nove delas oriundas de feiras livres. Essas alterações sensoriais também foram observadas em outros estudos realizados em pirarucu salgado-seco na cidade de Belém^{5,38,39}.

Com relação à pesquisa de fungos, todas as amostras apresentaram crescimento, com valores que

variaram de 2,60 a 7,08 logUFC/g. Não existem relatos na literatura desses micro-organismos em pirarucu salgado-seco. Entretanto, em outros tipos de peixes salgados estudados, as contagens de fungos foram inferiores àqueles encontradas na presente pesquisa, como em carpa salgada (3,02 logUFC/g de leveduras e 3,24 logUFC/g de bolores)¹⁰ e em cação e abrótea (2,41 logUFC/g em ambos)²¹. Sabe-se que os fungos são responsáveis pela deterioração de alimentos desidratados quando armazenados em condições inadequadas, e a presença desse micro-organismo em alimentos pode tornar-se um perigo à saúde coletiva devido à produção de micotoxinas.

A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) em pirarucu salgado-seco no período do não defeso foi significativamente maior ($p < 0,01$) que a contagem obtida no defeso. Esse período da comercialização (não defeso) coincide com o período seco da região, com menores índices pluviométricos e, conseqüentemente, menor umidade relativa do ar. Possivelmente, uma manipulação inadequada favoreceu a contaminação cruzada por esse agente, que, no período do não defeso, encontrou no pirarucu condições intrínsecas favoráveis para sua multiplicação. Franco e Landgraf²⁶ descrevem que os estafilococos constituem o principal grupo microbiano que habita a pele humana, podendo-se inferir que esses agentes possam ter sido transferidos para as amostras por meio do manipulador durante o preparo e comercialização, sendo considerado um perigo potencial a saúde coletiva, em função da possibilidade de produção da enterotoxina estafilocócica.

As contagens de *Enterobacteriaceae* viáveis (EV) e *Enterococcus* spp. foram realizadas nesse estudo, visto que esses agentes são indicadores de contaminação fecal e possuem importância no controle de qualidade de alimentos. Desse modo, constatou-se um crescimento de EV quase nulo (0,27 logUFC/g), resultado que corrobora com os encontrados em anchovas salgadas ($< 0,40$ logUFC/g no final da produção)²⁷. Entretanto, a média de 2,50 logNMP/g de *Enterococcus* spp. constatada na presente pesquisa foi maior que aquela observada em anchovas salgadas ($< 0,40$ logUFC/g)²⁷ e menor que os resultados verificados em carpa salgada (3,38 logUFC/g)¹⁰. Os *Enterococcus* spp. são bactérias que resistem às condições ambientais adversas e sobrevivem em alimentos dessecados e curados²⁶. Portanto, são necessários mais estudos desse micro-organismo em peixes salgados³⁴, dentre eles o pirarucu salgado-seco.

A média de CT no período de defeso foi significativamente maior ($p < 0,01$) que os resultados observados nas amostras obtidas no período de liberação da pesca. A média dos coliformes a 45 °C (CTer) das amostras coletadas nas feiras foi significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparada às obtidas em supermercados, ultrapassando o limite regulamentado para esse tipo de alimento, que é de 2,00 logNMP/g³⁵. O defeso é o período do ano onde a pesca do pirarucu está proibida e a comercialização do pirarucu salgado-seco somente é permitida desde que seus estoques sejam comunicados ao órgão de fiscalização. Sendo assim, durante todo o defeso, esses estoques ficam expostos por um período mais prolongado em condições ambientais adversas, como alta temperatura e elevada umidade relativa do ar. As feiras foram os locais de comercialização do pirarucu salgado-seco, cujas condições de higiene e qualidade encontravam-se deficientes e precárias. Logo, é possível sugerir que, no período do defeso e nas feiras, ocorreram recontaminações e manipulações excessivas desse peixe após a salga. Esses achados diferem daqueles encontrados em outros estudos com pirarucu salgado-seco, que apontaram ausência^{8,9} ou valores mínimos (0,75, <0,48 e 0,60 logNMP/g)^{5,36,39} de coliformes fecais, fato que pode se justificar em função do delineamento experimental do presente estudo ter sido mais abrangente, referente à quantidade de amostras analisadas, número diversificado de estabelecimentos comerciais visitados e obtenção das amostras por um período de um ano. Outros experimentos com peixe salgado pontuaram a presença desses agentes, como em carpa (3,20 logUFC/g de coliformes)¹⁰, em cavala (<0,48 a 1,78 logNMP/g de CT e <0,48 logNMP/g de *Escherichia coli*)³², em peixe trilha e embalado a vácuo a 4 °C (4,24 logUFC/g de coliformes)³⁰ e em “milkfish” (entre <0,48 a 3,81 logNMP/g de CT e <0,48 a 3,34 logNMP/g de *E. coli*)³³. Portanto, é possível afirmar que, apesar do efeito bactericida do sal, o pescado salgado pode apresentar uma considerável contaminação por coliformes, decorrente da manipulação inadequada, processamento sem higiene e condições ambientais de comercialização insatisfatórias, o que pode indicar a eventual presença de enteropatógenos²⁶.

Os resultados físico-químicos e microbiológicos foram correlacionados e estão demonstrados nas Tabelas 4 e 5. As correlações que apresentaram significância estatística na regressão linear simples foram entre CT, CTer e cloretos, e *Enterococcus* spp. e Aa. Os coliformes foram os únicos micro-organismos que tiveram o seu desenvolvimento inibido pela ação do sal, com

significância estatística ($p < 0,05$), sendo que 22,06% e 11,49%, respectivamente, do crescimento dos CT e de CTer foram explicados pela diminuição do teor de cloretos. Esses resultados estão concordantes com aqueles encontrados em “milkfish” salgado, que descrevem as maiores contagens de CT e *E. coli* nas amostras que apresentaram os menores teores de cloretos³³. Os *Enterococcus* spp. foram os micro-organismos analisados que tiveram o seu crescimento influenciado pela Aa, estatisticamente significativa ($p < 0,05$), onde 30,67% do seu crescimento foi explicado pelo aumento da Aa. A alta Aa também influenciou o aumento do crescimento de *Enterococcus* spp. em anchovas salgadas²⁷.

Tabela 4. Regressão Linear Simples, p e R² entre Coliformes Totais (CT) e coliformes à 45 °C (CTer) com cloretos (Cl), e entre *Enterococcus* spp. (Ent) com Atividade de Água (Aa)

Fatores associados	Modelos de Equação
CT com Cl	$(Y_{CT}) = 5,4922 - 0,1829x_{Cl}$ ($p = 0,0026$; $R^2 = 22,06\%$)
CTer com Cl	$(Y_{CTer}) = 4,8590 - 0,1859x_{Cl}$ ($p = 0,0305$; $R^2 = 11,49\%$)
Ent com Aa	$(Y_{Ent}) = - 13,1238 + 20,6079x_{Aa}$ ($p = 0,0051$; $R^2 = 30,67\%$)

p = nível de significância ($p < 0,05$); R² = Coeficiente de Determinação CT, CTer. e Ent. em logNMP/g

Tabela 5. Regressão Linear Múltipla, p, R e R² de Ranço Oxidativo (TBARS), Bases Voláteis Totais (BVT) com diferentes microrganismos estudados

Fatores associados	Modelos de equação
TBARS	$(Y_{TBARS}) = 1,48 - 0,12x_1 + 0,35x_2$ ($p = 0,0128$; $R = 0,58$; $R^2 = 0,34$)
BVT	$(Y_{BVT}) = - 2,61 + 0,02x_1 + 0,48x_2 + 0,66x_3$ ($p = 0,0000$; $R = 0,79$; $R^2 = 0,62$)

p = nível de significância ($p < 0,05$); R = Coeficiente de Correlação Múltipla; R² = Coeficiente de Determinação; x₁ = Mesófilos em logUFC/g; x₂ = Coliformes Totais em logNMP/g; x₃ = Coliformes a 45 °C em logNMP/g

As correlações que apresentaram significância estatística na regressão linear múltipla foram entre TBARS, N-BVT e alguns micro-organismos estudados. Dessa forma, 34% da produção de TBARS em pirarucu salgado-seco pode ser explicada por, pelo menos, um desses micro-organismos encontrados: mesófilos e CT, com significância estatística ($p < 0,05$), sendo que os CT ($p = 0,0075$) foram os micro-organismos que mais explicaram a produção do ranço oxidativo em pirarucu salgado-seco. Esses dados corroboram com os descritos para peixe-trilha salgado, onde foi verificado aos 11 dias de estocagem, uma maior concentração de TBARS e a mais alta contagem de coliformes³⁰.

Pelo menos um desses micro-organismos estudados influenciou a produção de N-BVT ($p < 0,05$): mesófilos, CT e CTer, sendo que os CTer ($p = 0,0001$) seguidos dos CT ($p = 0,0003$) foram os micro-organismos que mais explicaram a produção de N-BVT em pirarucu salgado-seco, resultados esses que confirmam aqueles encontrados em peixe trilha salgado, com altos níveis de N-BVT e contagens altas de mesófilos e coliformes, aos 11 dias de estocagem³⁰, e em carpa salgada, ao verificarem-se contagens significativas de mesófilos e coliformes e um nível médio de N-BVT de 55,40 mgN/100 g¹⁰.

As contagens microbianas encontradas no pirarucu salgado-seco comercializado na cidade de Belém refletem um produto elaborado e comercializado em condições de higiene e sanidade insatisfatórias. Em média, a baixa Aa (0,73) e uma moderada concentração salina (14,60%) não foram suficientes para inibir o desenvolvimento de bactérias mesofílicas, moderadamente halofílicas, fungos, SCP e coliformes, apesar de as EV e os *Enterococcus* spp. não encontrarem condições favoráveis para o seu crescimento. Nas amostras coletadas nas feiras, ocorreram as contagens máximas de mesófilos (6,75 logUFC/g), de halofílicos (8,75 logUFC/g), de SCP (7,05 logUFC/g), de *Enterococcus* spp. (4,04 logUFC/g), e de CT (4,04 logUFC/g) e os produtos mais deteriorados (altos índices de N-BVT e TBARS), que confirmou as péssimas condições higiênico-sanitárias desse local de comercialização do pirarucu salgado-seco. Entretanto, a contagem máxima de fungos (5,34 logUFC/g) foi verificada nas amostras dos supermercados, o que possivelmente pode estar associada a uma contaminação ambiental e à menor Aa encontrada nesse local de varejo.

CONCLUSÃO

É necessária uma padronização do processo de salga e um melhor controle de qualidade do pirarucu salgado-seco para possibilitar a elaboração de produtos com teor de umidade uniforme e dentro do limite preconizado para produto salgado-seco.

Considera-se de fundamental importância um maior rigor nas etapas seguintes à salga do pirarucu, como manipulação, armazenamento e exposição, em especial naquelas amostras comercializadas no período do defeso e nas feiras livres.

Ao considerarem-se os microrganismos viáveis observados em pirarucu salgado-seco e as alterações

físico-químicas encontradas, é possível afirmar que esse produto está sendo produzido em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, que sua forma de conservação é precária, caracterizando perda de qualidade e risco à saúde do consumidor.

Logo, há necessidade de um maior controle e fiscalização pelos órgãos competentes, principalmente nas feiras livres e durante o período do defeso, pois os resultados indicaram manipulação excessiva e sem higiene e recontaminações pós-salga.

REFERÊNCIAS

1. Ono EA, Halverson MR, Kubitza F. Pirarucu. O gigante esquecido. *Rev Panoram Aquicult*. 2004;14(81):14-25.
2. Imbiriba EP. Potencial de criação de pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro. *Acta Amazon*. 2001;31(2):299-316.
3. Lourenço LFH, Amanajás CC, Sousa A, Vieira LL. Pirarucu salgado consumido em Belém tem baixa qualidade. *J Beira Rio*. Belém (PA): UFPA, 16 de junho de 2002.
4. Brasil. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Instrução Normativa nº 34, de 18 de junho de 2004. Aprova as normas gerais para o exercício da pesca do pirarucu (*Arapaima gigas*) na Bacia Hidrográfica do Rio Amazonas e proíbe anualmente a captura, a comercialização e o transporte do pirarucu. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 22 jun 2004, Seção 1, p. 74.
5. Lourenço LFH, Sousa CL, Silva IQ. Análises microbiológicas da carne de pirarucu (*Arapaima gigas*) seco/salgado comercializado em feiras e supermercados de Belém e elaboração de produto similar em laboratório visando estabelecer a vida de prateleira. *Rev Hig Alim*. 2008;22:15-23.
6. Oliveira PR. Qualidade do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) procedente de piscicultura, estocado em gelo, congelado e de seus produtos derivados [tese de doutorado]. Manaus (AM): Universidade Federal do Amazonas; 2007.
7. Panorama da Aquicultura. Pirarucu cultivado. Carne surpreende chefs da alta gastronomia. *Rev Panoram Aquicult*. 2010; 111 [acesso 2011 abr 25]. Disponível em: [http://www.panoramadaaquicultura.com.br].
8. Guimarães MCF, Oliveira MLS, Ferreira FAM, Pereira Filho LAR. Caracterização química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*) salgado comercializado na cidade de Belém. VII Encontro de Profissionais de Química da Amazônia; junho de 1991; Belém: Resumo do encontro. p. 144-53.
9. Salgado HLC, Ramos RGS. Qualidade físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*), seco e salgado, comercializado no município de Belém [monografia de especialização]. Belém (PA): Universidade Estadual do Pará; 2005.
10. Patir B, Inanli AG, Oksuztepe G, Ilhak OI. Microbiological and chemical qualities of salted Grey Mullet (*Chalcalburnus tarichii* PALLAS, 1811). *Int J Sci Technol*. 2006;1(2):91-8.
11. Rodrigues MJ, Ho P, López-Caballero ME, Vaz-Pires P, Nunes ML. Characterization and identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials. *Food Microbiol*. 2003;20:471-81.

12. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). Portaria nº 1, de 7 de outubro de 1981. Aprova os métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II – Métodos Físico-Químicos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 13 out 1981, Seção 1, p. 19381.
13. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Comercialização de Pescado Salgado e Pescado Salgado-seco: Cartilha Orientativa. Brasília: ANVISA/ABRAS. 2007. [Acesso 2010 jan 08]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/informes/cartilha_bacalhau.pdf].
14. Schutz DE, Chang GW, Bjeldanes LF. Rapid thin layer chromatographic method for the determination of histamine in fish products. *J Assoc Off Agric Chem Int*. 1976;59(6):1224-5.
15. Tarladgis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan L Jr. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc*. 1960;37:44-8.
16. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Aprova os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água, Brasília, 2003. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 18 set 2003, Seção 1, p. 14.
17. Franco, RM, Mantilla SPS. *Escherichia coli* em cortes de carne bovina (acém): avaliação de metodologia e sensibilidade de antimicrobianos aos sorovares predominantes. In: 14º Seminário de Iniciação Científica; novembro de 2004; Niterói-Rio de Janeiro. (em CD).
18. Franco RM, Leite AMO. Enumeração e identificação de *Enterococcus* spp. e cepas de *Escherichia coli* patogênico em coxas de frango e estudo de atividade antimicrobiana das cepas isoladas. In: 15º Seminário de Iniciação; novembro de 2005, Niterói-Rio de Janeiro. (em CD).
19. Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL, Santos AS. BioEstat 2.0: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq; 2000.
20. Mársico ET, Silva C, Barreira VB, Mantilla SPS, Moraes IA. Parâmetros físico-químicos de qualidade de peixe salgado-seco (bacalhau) comercializado em mercados varejistas. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2009;68(3):406-10.
21. Beirão LH, Teixeira E, Nort E, Boing SMC. Salga de cação (*Squatina argentina*) e abrótea (*Urophycis brasiliensis*). *Bol CEPPA*. 1996;14(1):25-32.
22. Brás A, Costa R. Influence of brine salting prior to pickle salting in the manufacturing of various salted-dried fish species. *J Food Eng*. 2010;100:490-5.
23. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 52, de 29 de dezembro de 2000. Submete a consulta pública o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Salgado e Peixe Salgado-seco. Brasília, 2000. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 4 jan 2001, Seção 1, p. 65.
24. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Decreto nº 3.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nº 1.255, de 25 de junho de 1962, nº 1.236, de 2 de setembro 1994, nº 1.812, de 8 de fevereiro de 1996, e nº 2.244, de 4 de junho de 1997. Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), Brasília, DF, 1997. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 5 jun 1997, Seção 1.
25. Climatempo. Previsão do tempo na cidade de Belém, Pará. [Acesso 2010 maio 15]. Disponível em: [http://www.climatempo.com.br/previsao-do-tempo/cidade/232/belem_para].
26. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia de Alimentos. São Paulo (SP): Atheneu; 2008.
27. Hernández-Herrero MM, Roig-Sagués AX, López-Sabater EL, Rodríguez-Jerez JJ, Mora-Ventura MT. Total volatile basic nitrogen and other physico-chemical and microbiological characteristics as related to ripening of salted anchovies. *J Food Sci*. 1999;64(2):343-7.
28. Goulas AE, Kontominas MG. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chem*. 2005;93:511-20.
29. Connell JJ. Methods of assessing and selecting for quality. In: Control of Fish Quality. 2. ed. Oxford: Fishing News Books; 1990.
30. Gümüş B, İkiz R, Ünlüsayın M, Gülyavuz H. Quality changes of salted red mullet (*Mullus barbatus* L., 1758) during vacuum packaged stored at +4 °C. *EU J Fish Aquatic Sci*, 2008;2:101-4.
31. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado). Brasília, 1997. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 19 maio 1997, Seção 1, nº 93, p. 102.823.
32. Tsai Y, Lin C, Chang S, Chen H, Kung H, Wei C, et al. Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan. *Food Microbiol*. 2005;22:461-7.
33. Hsu H, Chuang T, Lin H, Huang Y, Lin C, Kung H, et al. Histamine content and histamine-forming bacteria in dried milkfish (*Chanos chanos*) products. *Food Chem*. 2009;114:933-8.
34. Pombo CR, Mársico ET, Franco RM, Guimarães CFM, Cruz AMP, Pardi HS. Salted and fermented fish processes evaluation. *Food Sci Technol*. 2009; 44(11):2100-5.
35. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília, 2001. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 12 set. 2001, Seção 1, p. 60.
36. Mouchrek Filho VE, Chaar JS, Nascimento AR, Mouchrek Filho JE, Costa IS, Martins AGLA, et al. Avaliação Microbiológica do Pirarucu (*Arapaima gigas*) seco e salgado, comercializado nas feiras livres da cidade de Manaus – Amazonas. *Cad Pesq UFMA*. 2002;13(1):14-21.
37. Almeida Filho ES, Sigarini CO, Valente AM, Andrade PF, Oliveira LAT, Franco RM, et al. Presença de microrganismos indicadores de condições higiênicas, e de patógenos em bacalhau saithe (*Pollacius virens*) salgado-seco, comercializado no município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Cienc Vet*. 2004;11(3):171-3.
38. Freitas Filho EL, Freitas JA. Ocorrência de vermelhão em produtos salgados. *Rev Hig Alim*. 2002;16(94):50-4.
39. Noronha SLB, Vieira CMA, Freitas JA. Qualidade microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*) salgado distribuído ao consumo em Belém, Pará. *Rev Ciênc Agrár*. 2000;34:139-42.