

SARDINHAS EM ÓLEO COMESTÍVEL. I. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS OFICIAIS RELACIONADOS COM O EXAME MICROBIOLÓGICO E ESTUDO DA COMPATIBILIDADE PRODUTO-EMBALAGEM EM RELAÇÃO A COMPOSTOS MIGRADOS *

Liliana Brancacio BACETTI**
Mario TAVARES**
Neus Sadocco PASCUET**
Paulo TIGLEA**
Dilma Scala GELLI**
Cassia Maria LOBANCO**
Cleso de MORAIS***

RIALA6/760

BACETTI, L.B.; TAVARES, M.; PASCUET, N.S.; TIGLEA, P.; GELLI, D.S. LOBANCO, C.M. & MORAIS, C. - Sardinhas em óleo comestível. I. Avaliação dos parâmetros físico-químicos oficiais relacionados com o exame microbiológico e estudo da compatibilidade produto-embalagem em relação a compostos migrados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 44-50, 1994.

RESUMO: Neste trabalho são relatados os resultados de determinações físico-químicas e microbiológicas, segundo a legislação brasileira, durante um ano, em amostras de sardinha (*Sardina pilchardus*) enlatadas em óleo de soja, especialmente elaboradas. Foi avaliada a compatibilidade do produto com a embalagem (folha cromada revestida com verniz epoxi-fenólico) quanto aos compostos migrados. A embalagem mostrou-se adequada para este tipo de produto. Os níveis de ferro e cromo encontrados sugerem que estes metais, presentes no alimento, não provêm da embalagem. A análise microbiológica do produto apresentou resultados de acordo com a legislação vigente. O teor de bases voláteis totais (BVT), a partir do primeiro dia após o processamento, foi superior ao limite máximo permitido (0,030 g/100g). A reação de Éber para gás sulfídrico (H₂S) mostrou-se inconclusiva, não demonstrando correlação com os níveis de BVT e/ou exame microbiológico. Tais resultados sugerem revisão do limite estabelecido para BVT, bem como o estudo de outros parâmetros de avaliação da qualidade de pescado, pois o teor de BVT e/ou a reação de H₂S, isoladamente, não asseguram a avaliação eficiente deste tipo de produto.

DESCRITORES: Sardinha (*Sardina pilchardus*) enlatada, legislação, análises físico-químicas e microbiológicas, embalagem, ferro e cromo.

INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento de grande valor nutritivo, constituindo uma das mais importantes fontes protéicas de alto valor biológico, lipídios, vitaminas e sais

minerais^{16,24,29}; entretanto, sua conservação apresenta muitos problemas, uma vez que a decomposição ocorre rapidamente em decorrência dos métodos de captura, que provocam morte lenta, consideráveis danos mecânicos e também levando-se em conta os

* Realizado nas Seções de Óleos e Gorduras; Equipamentos Especializados; Plásticos, Vernizes e Outros Materiais de Embalagem e Microbiologia Alimentar, do Instituto Adolfo Lutz., apresentado no Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 8º Porto Alegre/RS, 1993.

** Do Instituto Adolfo Lutz

*** Do Instituto de Tecnologia de Alimentos

inúmeros microrganismos presentes nas águas, bem como a microbiota natural do pescado, localizada principalmente nos intestinos, guelras e limo superficial, fatores que aceleram o início da deterioração²⁴.

Após a morte do pescado, toma lugar um fenômeno denominado "rigor mortis", verificado por intermédio de alterações no músculo. A velocidade com que estas transformações ocorrem depende da espécie, dos métodos de captura, temperatura de armazenagem, carga bacteriana inicial, tempo decorrido após sua morte e condições sanitárias de manuseio^{13,16,22,24,29,37}.

Enquanto fresco e ainda no "rigor mortis", não se processam mudanças deteriorativas que possam ser medidas e a atividade microbiana é limitada devido ao acúmulo de ácido láctico. Somente após o término desta fase é que começam a ter lugar os efeitos autolíticos e a ação bacteriana, pois no músculo do pescado ainda vivo, os microrganismos não estão presentes devido às defesas naturais, impedindo sua penetração neste^{16,24}.

Estão presentes, naturalmente, na pele e tecido muscular do pescado, enzimas que atuam sobre o organismo deste²⁵, tornando disponíveis substâncias nutritivas para bactérias, propiciando seu desenvolvimento e reprodução^{18,29}. Entre estas enzimas merecem destaque as catepsinas e peptidases. Dos produtos de origem animal, o pescado é um dos mais suscetíveis ao processo deteriorativo, em virtude, principalmente, do pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos e alto teor de nutrientes²⁴.

As alterações químicas, enzimáticas e/ou bacterianas que ocorrem no músculo do pescado, durante o processo de deterioração, acarretam a produção de ácidos voláteis como o gás sulfídrico, e compostos nitrogenados, tais como: amônia (NH₃), trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA), que apresentam odores fortes e desagradáveis^{3,14,15}.

A produção de TMA está associada a um precursor, o óxido de trimetilamina (TMAO), o qual não se encontra em todas as espécies e sua quantidade, dentro da mesma espécie, apresenta variações^{11,12,15,23,27}.

As bases voláteis, representadas nas espécies marinhas principalmente por NH₃ e TMA, apresentam teores extremamente variáveis, em função das condições ambientais e de captura^{12,15}.

A formação da TMA, pela redução do TMAO, da NH₃, resultante de várias fontes, da hipoxantina (hx), decorrente da degradação de nucleotídeos, da histamina, a partir da histidina^{5,32} e o desenvolvimento de rancidez oxidativa nos lipídios presentes no músculo do pescado, são transformações que contribuem para a decomposição do pescado.

O frescor é um atributo muito importante para os peixes, considerado como matéria-prima e significa a extensão da deterioração sofrida pelo pescado ainda cru. A avaliação deste frescor pode ser feita por métodos subjetivos (odor, cor, sabor, aparência, textura)²⁸ e através de análises objetivas, empregadas na determinação ou identificação de substâncias formadas no decorrer da deterioração.

Os teores de BVT, TMA, hx, NH₃ e outros tem sido utilizados para a avaliação da qualidade do pescado^{4,5,14,19,30,34}; entretanto, os resultados obtidos tem sido conflitantes, não fornecendo informações conclusivas sobre o frescor deste produto.

Para a conservação de pescados, uma série de processos são utilizados, tais como: congelamento, enlatamento, salga e defumação^{33,35}. Entre os mais comuns e de aplicação geral, estão o congelamento e o enlatamento^{17,38,40}.

O processo de enlatamento proporciona um produto capaz de ser armazenado por grandes períodos, conservando-se sem o emprego de qualquer outro método auxiliar, e pode ser aplicado a um grande número de espécies¹⁷.

A sardinha, no Brasil, é o peixe mais utilizado como matéria-prima para o enlatamento, apresentando grande penetração, especialmente nas classes de renda mais baixa, com preços inferiores aos de outras espécies¹³.

A produção de conservas de sardinha é um importante segmento da indústria nacional de alimentos processados, sendo que este produto, dentre as conservas de pescado, contribui com 92% do total produzido. Apesar da importância desta atividade econômica, a tecnologia empregada é rudimentar, principalmente na etapa de esterilização, com definição inadequada do binômio temperatura x tempo de esterilização^{8,13,39}.

As embalagens metálicas são consideradas adequadas para o acondicionamento de conservas alimentícias, pois asseguram a hermeticidade, a não penetração de oxigênio e microrganismos, evitam a fotodegradação, além de possuírem características mecânicas que garantem a integridade física do alimento²¹. Podem ser utilizados dois tipos de folha metálica para o acondicionamento de pescado: estanhada (folha-de-flandres) ou cromada, protegida com revestimentos orgânicos adequados.

Os principais problemas advindos da interação entre o pescado em conserva e a embalagem metálica utilizada são assim caracterizados: corrosão do metal pelo produto de alta acidez (no caso de pescado marinado) e corrosão localizada em áreas onde há contato direto entre a embalagem e o

músculo do pescado, comum nas conservas de sardinha em óleo comestível.

No caso das folhas cromadas, existe a preocupação com a migração de cromo para o alimento, que deve ser controlada.

O verniz sanitário utilizado para a proteção da folha metálica, servindo como barreira contra a corrosão, também pode ceder elementos de sua formulação para o alimento, principalmente no caso de processo de cura inadequada, possibilitando a migração de solventes residuais para o produto.

Devido aos problemas de conservação do pescado anteriormente citados e da importância da produção e consumo de sardinhas enlatadas, este trabalho objetivou verificar a adequação da embalagem metálica utilizada no enlatamento deste produto, uma avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos atualmente estabelecidos pela legislação brasileira, bem como a correlação destes para este tipo de alimento, posto que alguns destes parâmetros tem gerado dúvidas, principalmente em se tratando da reação de Éber para gás sulfídrico e teor de BVT^{6,25,26,31,32,36}.

O laboratório de controle de alimentos do Departamento de Vigilância e Controle Sanitário da Secretaria Municipal de Abastecimento, efetuou análises em amostras de pescado enlatado e constatou que, em 75% delas, a reação de H₂S foi positiva e o produto apresentava caracteres organoléuticos adequados. A explicação foi encontrada pelos autores em experimentos relacionando o calor com o aparecimento de H₂S, evidenciando que nem sempre este aparecimento se deve à ação microbiana e sim aos efeitos do calor.

Em vista disto, os autores questionaram a aplicação desta prova como método para a avaliação da qualidade de pescado enlatado, uma vez que estes são submetidos a um tratamento térmico (esterilização).

A legislação brasileira estabelece para conservas de pescado: ausência de gás sulfídrico, teor máximo de BVT de 0,030 g/100g, acidez (em ácido oléico) máxima de 2%, observação de alterações na embalagem, bem como modificações de natureza física, química, organoléptica e microbiológica do produto.^{8,9,31}

No caso das embalagens para este tipo de produto, a legislação preconiza também testes de migração total (no máximo 8,0 mg/dm² ou 50 mg/kg), ausência de arsênio, chumbo e cádmio, além da verificação das características físicas da embalagem após os testes e organolépticas dos solventes simulantes empregados nos testes⁷.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Para a elaboração das amostras de sardinha em óleo de soja, empregou-se, como matéria-prima, sardinhas (*Sardina pilchardus*) de um mesmo lote, adquiridas junto à indústria de conservas de pescado de Santos - SP, capturadas em águas do mar do Saara, congeladas à bordo em blocos de 10 kg e acondicionadas em caixas de papelão de 30 kg.

Estes blocos foram descongelados em câmara a 0°C, por 12 horas e, logo após, as sardinhas foram submetidas ao processo de enlatamento e esterilização, no qual foram utilizados óleo de soja e sal não iodado, adquiridos no mercado. As embalagens utilizadas para o acondicionamento foram latas retangulares (capacidade de 130 g-peso líquido), de folha cromada, revestidas internamente com uma camada de verniz epoxi-fenólico possuindo tampas com a mesma especificação.

As amostras foram estocadas por 360 dias, à temperatura ambiente.

Métodos

1. Análise físico-química do alimento

Os teores de BVT foram determinados na matéria-prima e periodicamente após o processamento, durante o período de um ano. Simultaneamente, foi efetuada a reação de Éber, para gás sulfídrico no pescado e determinadas a acidez, em ácido oléico, e a rancidez no óleo de cobertura. Todas as determinações foram efetuadas de acordo com as "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"²⁰.

Os níveis de cromo e ferro nas sardinhas processadas foram determinados de acordo com o seguinte procedimento:

Foram pesados, com exatidão, cerca de 10 g de amostra drenada e homogeneizada, em erlenmeyers de 125 ml, em triplicata. A cada recipiente, foram adicionados 10 ml de HNO₃ isento de metais. Após a reação inicial, os frascos foram colocados em chapa elétrica com aquecimento moderado, até a secagem. A temperatura foi então elevada progressivamente até a carbonização da amostra. As amostras foram então resfriadas e adicionadas de mais 10 ml de HNO₃, iniciando-se novo aquecimento moderado até a secura, seguido de elevação gradual da temperatura. O tratamento foi repetido até a obtenção de resíduos branco-amarelados. Estes resíduos foram dissolvidos em solução de HNO₃ a 5% e transferidos para balões volumétricos de 25 ml, completando-se o volume com a própria solução. Os teores de cromo e ferro foram determinados por espectro-

fotometria de absorção atômica com chama, em aparelho Perkin-Elmer modelo 1100 B, usando-se como padrões soluções de 0,2; 0,5; 1,0 e 2,0 mg/mL de cada elemento, preparadas a partir de soluções-estoque de 1000 microgramas/mL. As condições de leitura para o cromo foram as sugeridas por Agget e O'Brien¹.

2. Análise microbiológica do alimento

Foram realizadas as contagens de bactérias aeróbias e anaeróbias mesófilas e termófilas na matéria-prima e após o processamento, semanalmente até o quadragésimo dia. Posteriormente as contagens foram espaçadas para seis meses e um ano, a contar da data do enlatamento, utilizando metodologia constante no Compêndio APHA².

3. Análise das embalagens

As embalagens metálicas utilizadas para o acondicionamento do pescado foram analisadas, através de provas de cessão, para a verificação da migração global, de acordo com a legislação específica, Resolução 45/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA)⁷, a fim de avaliar a compatibilidade produto/embalagem.

De acordo com a classificação dos alimentos e solventes simulantes contida na Resolução 35/76 da CNNPA¹⁰, as sardinhas são consideradas como alimentos do tipo III, e para os testes de simulação foram utilizados os solventes: água destilada, óleo de soja e n-heptano.

Para reproduzir a vida-de-prateleira da sardinha enlatada, os testes foram efetuados num período de 10 dias à temperatura de 40°C, no caso de água e óleo de soja, e durante 30 minutos à temperatura de 20°C, quando se utilizou n-heptano.

Como parâmetros, foram considerados: resíduo, arsênio e metais pesados (em chumbo), após prova de cessão, variação nos caracteres organoléuticos dos solventes, índice de iodo e espectro na região do ultravioleta e visível do óleo de soja. Tais determinações foram efetuadas segundo as "Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz"²⁰.

As determinações de ferro e cromo após as provas de cessão foram efetuadas, nos solventes simulantes, por espectrofotometria de absorção atômica, nas mesmas condições analíticas utilizadas para as amostras de pescado descritas anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das determinações de bases voláteis totais (BVT), reações de Éber para gás sulfídrico,

TABELA 1

Determinações de bases voláteis totais (BVT), reações de Éber para gás sulfídrico, acidez, em ácido oléico e reação de Kreis, durante o período de um ano, em conservas de sardinha*

Dia	Fórmula (mg)			
	Bases voláteis totais (g/100g)	Reação de Éber para H ₂ S	Acidez, em ácido oléico no óleo de cobertura (%)	Reação de Kreis
01	0,047	negativo	0,20	neg.
02	0,043	negativo	0,20	neg.
04	0,040	positivo	0,21	neg.
07	0,040	positivo	0,28	neg.
09	0,037	positivo	0,35	neg.
11	0,039	positivo	0,42	neg.
30	0,052	leve/positivo	0,42	neg.
60	0,042	leve/positivo	0,56	neg.
90	0,052	negativo	0,71	neg.
120	0,049	positivo	0,85	neg.
150	0,046	leve/positivo	1,27	neg.
180	0,047	positivo	1,27	neg.
210	0,047	leve/positivo	1,41	neg.
240	0,048	leve/positivo	0,85	neg.
270	0,061	leve/positivo	0,85	neg.
300	0,049	leve/positivo	0,85	neg.
330	0,053	positivo	1,27	neg.
360	0,048	leve/positivo	1,27	neg.

* Análises efetuadas em duplicata.

acidez em ácido oléico e reação de Kreis estão apresentados na tabela 1.

No decorrer do período estudado, os teores de BVT encontrados foram superiores ao limite máximo estabelecido pela legislação para pescado (0,030 g/100g)⁶. No primeiro dia após o processamento foi encontrado um teor de 0,047 g/100g e nas determinações seguintes os valores oscilaram entre 0,037 e 0,061 g/100g, sem tendência evidente de aumento ou diminuição.

Na matéria-prima, os valores encontrados foram, respectivamente, para sardinhas inteiras e amostras evisceradas e descabeçadas, de 0,020 e 0,030 g/100g.

Os resultados das reações de Éber para gás sulfídrico apresentaram-se ora positivos ora negativos, não indicando correlação com os teores de BVT encontrados nem com a análise microbiológica, a qual, no período estudado, não revelou crescimento microbiano.

A determinação da acidez em ácido oléico, no óleo de cobertura, apesar de apresentar oscilações durante o período de estudo, em nenhum momento ultrapassou o limite máximo estabelecido, que é de 2%.

TABELA 2

Resultados obtidos nas provas de cessão realizadas nas embalagens metálicas, antes do acondicionamento*

Tipo de solvente	Resíduo (mg/Kg)	Arsênio, em As (mg/kg)	Metais pesados, em Pb (mg/kg)	Cromo, em Cr (mg/kg)	Ferro, em Fe (mg/kg)
Água destilada	13,2	<0,2	<2,0	0,07	0,0
n-Heptano	48,6	<0,2	<2,0	0,07	0,5

* Análises efetuadas em triplicata.

A reação de Kreis (ranço) no óleo de cobertura mostrou-se negativa no referido período, revelando ausência de alterações organoléticas neste nível.

Os resultados dos testes de migração das embalagens estão apresentados na tabela 2, e satisfazem a legislação vigente.

A análise espectrofotométrica na região do visível e ultravioleta do óleo que ficou em contato com a embalagem não revelou mudança significativa quando comparada ao óleo em contato com o vidro, utilizado como referência, nas mesmas condições. O índice de iodo deste foi de 131,08 e não variou quando comparado ao óleo de referência, não evidenciando, portanto, migração de componentes do verniz para o óleo. As embalagens não conferiram odores ou sabores estranhos nem apresentaram alterações físicas após os testes.

Os resíduos obtidos após evaporação dos solventes água e n-heptano, utilizados nas provas de cessão, não revelaram níveis significativos de cromo e ferro. Os resultados destes metais nas provas com óleo de soja não foram considerados pois apresentaram-se discrepantes. Estas determinações, apesar de não constarem na legislação, foram efetuadas como parâmetro de comparação para a avaliação dos níveis destes metais no produto enlatado.

Os níveis de ferro e cromo nas sardinhas enlatadas foram avaliados ao longo de um ano e encontram-se reunidos na tabela 3. Os resultados referentes à amostra 6 são atípicos e não devem ser considerados (os dados analíticos não indicaram contaminação e a aparência das latas que continham esta amostra não indicou degradação das mesmas). Os resultados não revelam tendência definida de crescimento dos níveis desses metais ao longo do tempo.

TABELA 3

Níveis de cromo e ferro nas sardinhas enlatadas

Amostra número	Cr (mg/kg)	Desvio padrão	Fe (mg/kg)	Desvio padrão
1	0,45	0,09	38,4	1,3
2	0,42	0,02	40,1	2,1
3	0,51	0,01	58,6	2,4
4	0,52	0,05	53,9	11,9
5	0,52	0,04	48,5	5,4
6	1,13	0,17	208,2	13,9
7	0,56	0,03	26,0	1,8

* Análises efetuadas em triplicata.

CONCLUSÃO

A embalagem estudada, de acordo com os testes aplicados, demonstrou sua adequação ao produto.

Os níveis de cromo e ferro obtidos na análise das embalagens demonstraram que estes elementos não contaminam o produto.

Os resultados obtidos neste trabalho reforçam dados obtidos por outros autores e comprovam a limitação do uso da reação de Éber para gás sulfídrico.

Os valores de BVT apresentaram-se, desde o início do estudo, superiores ao limite máximo estabelecido pela legislação, entretanto, os exames microbiológicos e organoléticos não demonstraram alterações. Portanto, no caso de sardinhas enlatadas, este parâmetro não fornece, isoladamente, conclusão sobre a qualidade do produto.

Sugere-se estudos adicionais, inclusive em diferentes espécies de pescado, para a reavaliação do limite máximo estabelecido para BVT, bem como estudo de outros parâmetros de qualidade de pescado (TMA, histamina, hipoxantina etc), para sua possível inclusão na legislação brasileira.

RIALA6/760

BACETTI, L.B. et alii - Sardines in edible oil I. Evaluation of official physical-chemical parameters related with the microbiological examination and study of product-packaging compatibility in relation to migrated compounds. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 54(1): 44-50, 1994.

ABSTRACT: Results of physical-chemical and microbiological analysis (according to the Brazilian legislation) of canned sardines (*Sardina pilchardus*) in soybean oil were reported in this study. The compatibility between the packaging (chromated plate coated with epoxy-phenolic varnish) and product in relation to migrated compounds was evaluated. Iron and chromium levels that were found indicated that these elements present in the fish didn't proceed from metallic packaging. Total volatile bases (TVB) were higher than the limit permitted (0,030 g/100g) and Eber reaction for hydrogen sulfide (H₂S) was inconclusive. These results didn't demonstrate any relation with microbiological analysis whose results were in agreement with the legislation. The Éber reaction and TVB values were not conclusive about the quality of this kind of product. Given the results we will suggest a review of TVB values established by legislation and the necessity of new studies in different fish species about other quality indicator parameters that have been referred to in literature.

DESCRIPTORS: Canned sardine (*Sardina pilchardus*), legislation, physical-chemical and microbiological analysis, packaging, iron and chromium.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGGET, J & O'BRIEN, G. - Formation of chromium atoms in air-acetylene flames. Part. I. *Analyst*, v. 106, n. 1261, p.497-513.
2. APHA - Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Marvin L. Speck, ed. 1984.
3. ARDITO, E.F.G. & SOLER, R.M. - A embalagem do pescado para o mercado interno e externo. In: Seminário sobre a industrialização de conservas de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados* p. 265-88.
4. BERAQUET, N.J. et al. - Métodos químicos na avaliação da qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca e processada termicamente. *Col. Inst. Tecnol. Alim.*, v. 15, p. 141-70, 1985.
5. BERAQUET, N.J. - Observações sobre padrões de qualidade da sardinha em conserva. *Bol. Inst. Tecnol. Alim.*, v.41, p.43-68, 1975.
6. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de Origem Animal (aprovada pelo Decreto nº 30691, de 29/03/19251255, de 25/06/1962). Brasília, Min. da Agric. 1980, p. 78-85.
7. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Resolução nº 45/77, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 01/02/1978. Seção I, pt. I, p. 1781-95. Aprova as listas de polímeros, resinas e respectivos aditivos e regulamenta seu emprego na elaboração ou revestimento de embalagens...
8. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Portaria nº 01, de 28 de janeiro de 1987, da Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 12/02/1987. Seção I, p. 2197. Aprova os padrões microbiológicos para os produtos expostos à venda ou de alguma forma destinados ao consumo.
9. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Resolução nº 20/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. *Diário Oficial*, Brasília, 25/10/1976. Seção I, pt. I, p. 14181. Fixa para os alimentos infantis, como tais considerados os alimentos para lactantes, pré-escolares e escolares (até 14 anos), os limites de tolerância para contaminantes microbianos constantes dos anexos à presente Resolução.
10. BRASIL, Leis, Decretos, etc. - Resolução nº 35/76, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos do Ministério da Saúde. *Diário Oficial*, Brasília, 04/03/1977. Seção I, pt. I, p. 2526-8. Dispõe sobre o critério de avaliação da compatibilidade de artigos destinados a entrar em contato direto com os alimentos.
11. BULLARD, F.A. & COLLINS, J. - An improved method to analyse trimethylamine in fish and the interference of ammonia and dimethylamine. *Fishery Bull.*, v. 78, n.2, p.465-73, 1980.
12. FARBER, L. - Freshness tests. In: BORGSTRON, G., *Fish as food*. New York, Academic Press, 1965. v. 4, pt 2, p.65-126.
13. FERREIRA, V. L. P. - Controle de qualidade na indústria de conservas de pescado. In: Seminário sobre a industrialização de conservas de pescado, Campinas, 1980. vol II. Seção 4. p. 1-16.
14. FERREIRA, V. L. P. & BERAQUET, N. J. - Controle

- de qualidade na indústria de pescado em conserva. *Bol. Inst. Tecnol. Alim.*, v. 18, n. 1, p.67-84, 1981.
15. FONTELES FILHO, A.A. & VIEIRA, R.H.S.F. - *Ciência e tecnologia de organismos aquáticos*. St. Johns's, New Foundland, MUN printing, 1989, 4 v.
16. GARCIA, S. et al. - As reações de Éber na carne de frango tratada pelo frio. *Higiene Alimentar*, v. 7, n. 26, p. 36, 1993.
17. GEROMEL, E. J. & FORSTER, R. J. - *Princípios fundamentais em tecnologia de pescados*. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria e Comércio, s.d., p. 55-62 (Série Tecnologia Agroindustrial, 11).
18. GEROMEL, E. J. & FORSTER, R. J. - *Princípios fundamentais em tecnologia de pescados*. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria e Comércio, s.d., p. 11-31 (Série Tecnologia Agroindustrial, 11).
19. HUGHES, R. B. & JONES, N. R. - Measurement of hypoxanthine concentration in canned herring as an index of raw material, with a comment on flavour relations. *J. Sci Food Agric.*, v. 17, p.434-36, 1986.
20. INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo. - *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, 3ª ed.; São Paulo, 1985, v. 1, p. 245-66 e 274-7.
21. INTERAÇÃO de embalagens metálicas com produtos alimentícios. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1989, 91 p.
22. KAI, M. & MORAIS, C. - Vias de deterioração do pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na Indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 13-16.
23. LEITÃO, M.F.F. - Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. In: Seminário sobre controle de qualidade na Indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 40-58.
24. LEITÃO, M.F.F. - Deterioração microbiana do pescado e sua importância em Saúde Pública. *Higiene Alimentar*, v.3 (3/4) p. 143-151, 1984.
25. LEITÃO, M.F.F. et al. - Transformações microbiológicas, químicas e organolépticas e sardinhas sobre refrigeração. *Col. do Inst. Tecnol. Alim.*, v. 7, p. 117-137, 1976.
26. MANO, S.B. et al. - Avaliação comparativa de Métodos físico-químicos utilizados no exame de carne de aves (*Gallus domesticus*) resfriadas. *Higiene Alimentar*, v. 7, n. 25, p. 23-25, 1993.
27. MENDES, M.H.M. & LAJOLO, F.M. - Evolução das bases voláteis totais e da trimetilamina em pescados e o seu uso como indicador de qualidade. *Rev. Farm. Bioq. USP*, v. 13, n. 2, p. 303-22, 1975.
28. NORT, E. - Importância do controle físico na qualidade do pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 135-44.
29. PRADO FILHO, L. G. - *Conservação de pescado*. In: CAMARÃO, R. et al. *Tecnologia dos produtos agropecuários - alimentos*. São Paulo, Nobel, 1984, cap. 10, p. 165-89.
30. RUITER, A. & WESEMAN, J. M. - The automated determination of volatile bases (trimethylamine, dimethylamine and ammonia) in fish and shrimp. *J. Food Technol.*, v. 11, p. 59-68, 1976.
31. SÃO PAULO, Leis, Decretos, etc. - Decreto nº 12.486 de 20/10/1978. *Diário Oficial*, São Paulo, 21/10/1978. p. 1 (NTA 10). Aprova as normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.
32. SILVA JUNIOR, E.A. & PANETTA, J. C. - Deterioração das carnes; eficiência e limitação das provas de gás sulfídrico e amônia. *Higiene Alimentar*, v. 6, n. 21, p. 23-5, 1983.
33. SILVEIRA, N.V.V. et al - Sardinhas inteiras, salgadas e prensadas; condições higiênico-sanitárias, estado de conservação e valor nutritivo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 46 (1/2), p. 111-16, 1986.
34. SORENSEN, N.K. - Physical and instrumental methods for assessing seafood quality. In: HUSS, H.H. et al., eds. *Quality Assurance in the Fish Industry*, s.l. Elsevier Sci. Publ., 1992.
35. SHAM-SHAD, S.I. et al - Shelf life of shrimp (*Penaeus merguensis*) stored at different temperatures. *J. of Food Sci*, v. 55, n. 5, p. 1201-05, 1990.
36. SUTHERLAND NETTO, V.M.C. & PRADO, I. A. T. - *Avaliação crítica da prova de gás sulfídrico (H2S) em pescados enlatados*. In: VI Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, Curitiba, 1990. *Resumo dos Trabalhos*. p. 47.
37. TAVARES, M. et al. - Métodos sensoriais, físicos e químicos para análise de pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, Santos, 1988. *Trabalhos apresentados*. p. 117-34.
38. UNIFEM. *Processamento de peixe*. New York, UNIFEM, 1989. 94p. Manual de tecnologia do ciclo alimentar, 4.
39. VITALI, A.A. et al. - Otimização do processo de esterilização de sardinha em óleo comestível enlatada. *Bol. Inst. tecnol. Alim.*, v. 23, n. 1, p. 127-140, 1986.
40. WATANABE, K. - Sardinha congelada: alterações durante o armazenamento a - 18°C. *Inst. Ocean.*, v. 3, p. 1-12, 1965.

Recebido para publicação: 04.11.93