
Curso de Medicina Veterinária

QUALIDADE DO PESCADO OZONIZADO DURANTE O ARMAZENAMENTO

QUALITY OF OZONIZED FISH DURING STORAGE

Hilano Braga Teixeira¹, João Lúcio Braz¹, Hanna Alves²

1 Alunos do Curso de Medicina Veterinária

2 Professora do Curso de Medicina Veterinária

RESUMO

O pescado é rico em proteínas e possui todos os aminoácidos essenciais ao crescimento e à manutenção do organismo humano, aliado à presença de elementos minerais necessários às inúmeras funções orgânicas. Tem-se evidenciado que a contaminação e a deterioração do pescado ocorrem mais facilmente em virtude de sua composição química específica, com isso, a ozonização surge como uma técnica de desinfecção para retardar a decomposição, melhorar a segurança alimentar dos produtos e aumentar a vida útil do produto. Objetivou-se com este estudo demonstrar a aplicação do ozônio no processo de armazenamento da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) como alternativa viável de sanitização do pescado, elucidando sua qualidade. O estudo realizado comparou 4 diferentes tratamentos, sendo 3 tempos de imersão do pescado em água ozonizada e 1 testemunha. As análises qualitativas e microbiológicas observadas foram: contagem de aeróbios mesófilos, bolores e leveduras, pH e acidez. É possível concluir, a partir dos resultados obtidos, que a exposição à água ozonizada reduziu a contagem de mesófilos aeróbios e possível redução, através de análise visual, de bolores e leveduras. Não houve alteração significativa na qualidade do produto durante o processo de ozonização.

Palavras-Chave: Ozonização; Pescado Armazenado; Qualidade.

ABSTRACT

Fish is rich in proteins and has all the amino acids essential to the growth and maintenance of the human organism, together with the presence of mineral elements necessary to the numerous organic functions. It has been shown that contamination and spoilage of fish occur more easily because of their specific chemical composition, with which ozonation emerges as a disinfection technique to retard decomposition, improve food safety of products and increase the life of Usefulness of the product. The objective of this study was to demonstrate the application of ozone in the storage process of Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) as a viable alternative for fish sanitization, elucidating its quality. The study carried out compared four different treatments, three fish immersion times in ozonated water and one control. The qualitative and microbiological analyzes were: counting of mesophilic aerobes, molds and yeasts, pH and acidity. It is possible to conclude from the results that the exposure to ozonated water reduced the count of aerobic mesophiles and possible reduction by visual analysis of molds and yeasts. There was no significant change in product quality during the ozonation process.

Keywords: Ozonation; Fish Storage; Quality

Contato: hbt_medvet@hotmail.com; joalucio braz@gmail.com; hanna.alves@unidesc.edu.br

INTRODUÇÃO

Todo produto retirado do meio aquático e que direta ou indiretamente, tem valor alimentar e possa ser utilizado como alimento para o homem é chamado de pescado. De forma geral, o termo pescado envolve peixes, crustáceos, moluscos, rãs, anfíbios, quelônios, cefalópodes, mamíferos de água doce ou salgada. Dentre estes, os que compreendem o grupo que apresenta grande valor alimentar e econômico são os peixes, moluscos e crustáceos (BRASIL, 1997; BARROS, 2003).

O pescado é rico em proteínas e possui todos os aminoácidos essenciais ao crescimento e à manutenção do organismo humano, aliado à presença de elementos minerais necessários às inúmeras funções orgânicas (LIRA et al. 2001).

A diversificada oferta de produtos de origem marinha vem impulsionando o consumo de pescados, e com isso o consumidor torna-se cada vez mais exigente no que concerne a qualidade de alimentos frescos e naturais. Devido à ocorrência de doenças transmitidas por produtos pesqueiros, faz-se necessário a implementação de regras para segurança alimentar, a fim de garantir um alimento inócuo e incapaz de disseminar agentes patogênicos para o homem.

O risco microbiológico é um dos itens mais avaliados pela indústria de processamento do pescado visando à segurança alimentar. Entre os principais patógenos associados ao pescado que emergiram nos últimos vinte anos, citam-se: *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*, *Norwalk-likevirus*, *Rotavirus*, *Cryptosporidium parvum* e *Giardia lamblia* (GONÇALVES, 2009).

Logo, o cumprimento da legislação e a fiscalização de órgãos de vigilância sanitária são de suma importância, no sentido de evitar que este tipo de alimento constitua-se um veículo de doenças para o consumidor.

Em razão a isso, a legislação em vigor limita a presença de organismos patogênicos no pescado, entre os quais aqueles causadores de infecção alimentar (ANVISA, 2001; BARROS, 2003).

Por possuir alto potencial de deterioração, principalmente por apresentar pH próximo a neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, alto teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos microrganismos, acentuado teor de fosfolípidios e rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e nas vísceras do peixe (BRESSAN E PEREZ, 2000); os benefícios nutricionais da carne de pescado só podem ser

aproveitados quando os fatores segurança e qualidade forem garantidos (SOARES E GONÇALVES, 2012).

As vias mais importantes de penetração de bactérias no músculo de pescado são as brânquias, pele, epitélio e cavidade abdominal (BARROS, 2003). A microbiota bacteriana de deterioração do pescado consiste de bastonetes gram-negativos não esporulados, onde os principais microrganismos associados à deterioração do mesmo são os pertencentes aos gêneros: *Pseudomonas*, *Acetivobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium* (VIEIRA e SAKER-SAMPAIO, 2003). As alterações que afetam a condição de comestibilidade e que mais caracterizam a deterioração do pescado são as relacionadas com o odor e o sabor, determinando um alimento impróprio para o consumo (ORDÓÑEZ, 2005).

Portanto, é de suma importância o emprego de novas tecnologias de processamento que possam agir na contenção dos mecanismos de deterioração e aumentar o tempo de vida útil de prateleira da carne de pescado (SOARES E GONÇALVES, 2012). Os procedimentos empregados logo após a captura interferem na conservação e podem melhorar a capacidade de manutenção da estabilidade do pescado (CARDOSO ET AL. 2003).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é considerada uma das espécies mais promissoras para a piscicultura, devido a sua alta taxa de crescimento, pela rusticidade, além de boa aceitação pelo consumidor por possuir carne com boas características organolépticas e filé sem espinhos intramusculares em “Y” (HILDSORF, 1995).

Trata-se de uma espécie onívora que aceita com facilidade vários tipos de alimento, dócil ao manejo em todas as fases de cultivo, boa rusticidade, prolífica e de fácil domínio da reprodução precoce, com alta qualidade de carne-filé (TAVARES-DIAS et al. 2000b).

Contudo, tem-se evidenciado que a contaminação e deterioração do pescado, ocorrem mais facilmente que nas carnes de aves e mamíferos em virtude de sua composição química específica (CARVALHO FILHO, 2009).

O ozônio tem sido utilizado na indústria de processamento de alimentos como ozônio gasoso e dissolvido em água, como água ozonizada. Ambos têm sido utilizados como bactericida em uma vasta gama de produtos alimentares, incluindo carne, aves, ovos, frutas e vegetais crus, frutos e sumos de frutos, bem como o saneamento de superfícies de contato com o produto (CHAWLA, 2006; GONÇALVES & KECHINSKI, 2011).

O ozônio tem sido estudado para estender a vida útil de prateleira de muitos alimentos perecíveis retardando a decomposição causada por microrganismos (SILVA, LUVIELMO, GEYER & PRÁ, 2011).

No Brasil, não há uma legislação específica para o seu uso em alimentos e sua aplicação com essa finalidade ainda é limitada, apesar de a ozonização estar entre as mais recentes tecnologias sanitizantes que não geram resíduos e ser uma técnica segura e microbicida.

O ozônio é o segundo mais poderoso agente oxidante perdendo apenas para o flúor (LAPOLLI et al., 2003; RUSSEL; HUGO; AVLIFFE, 1999). Deste modo, o alto poder de oxidação do ozônio lhe imprime elevada capacidade de desinfecção e esterilização permitindo que a ação sanitizante ocorra em menor tempo de contato e concentração (SILVA ET AL., 2011).

O ozônio pode ser produzido por três diferentes técnicas: exposição do O₂ à luz ultravioleta, eletrólise do ácido perclórico e descarga eletroquímica. Dentre esses processos o que utiliza descarga elétrica (também conhecido por efeito corona) é o mais utilizado pela maioria dos ozonizadores comerciais, principalmente pelo fato de se obter maior taxa de conversão do oxigênio em ozônio com menor custo (KIM ET AL., 1999; ALMEIDA et al., 2004).

O ozônio (O₃) é uma forma triatômica do oxigênio, sendo um gás extremamente instável. O gás ozônio possui um odor repugnante e é facilmente detectável pelos sentidos olfativos humanos em baixos níveis de 0,01ppm para 0,02 ppm (GRAHAM, 2000; DEW, 2005). Uma exposição de uma hora a concentrações de 2, 4, 15 e 95 mg/L pode causar efeitos sintomáticos, irritantes, tóxicos e letais, respectivamente (SILVA et al., 2011).

O uso seguro do ozônio é de fundamental importância para aplicação e operação na indústria alimentícia. Como o ozônio acima de certas concentrações se torna um gás tóxico, limites máximos de exposição devem ser estabelecidos. Em baixas concentrações o ozônio não provoca sinais de toxicidade, mas em altas concentrações pode ser fatal aos humanos, portanto, o cuidado operacional e ocupacional deve ser sempre obedecido (FREITAS-SILVA et al. 2013).

A ozonização já está sendo utilizada na indústria de pescado, e tem sido promissora, apesar de uma maneira predominantemente experimental e pouco documentado. O ozônio pode ser dissolvido em água e utilizado para desinfecção de alimentos e superfícies. Tem sido eficaz contra microrganismos como bactérias gram-

negativas e gram-positivas, bolores, leveduras, vírus, protozoários, inclusive formas esporuladas e cistos de protozoários, que são mais resistentes (ALEXANDRE et al. 2011; SILVA et al., 2011).

As propriedades bactericidas do ozônio têm sido demonstradas no caso de *Listeria* Gram-positivos (*Listeria*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) e os microrganismos gram-negativos (por *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*), em ambos esporos e células vegetativas, mostra-se ainda eficaz para microrganismos dos alimentos (*P. aeruginosa* e *Z. bailii*), contaminantes fecais (*E. coli* e *E. faecalis*) e patógenos causadores de intoxicação alimentar, como *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. typhimurium* (WYSOK et al., 2006).

No processamento do pescado tem sido evidenciada a eficiência do ozônio na redução da carga microbiana e no aumento de vida de prateleira (LÔBO, 2013); também foi evidenciado que a água ozonizada aplicada em camarão descascado resultou numa redução bacteriana maior do que o tratamento por pulverização (CHAWLA, 2006). Nos peixes, crustáceos e moluscos frescos, o ozônio também suprime odor característica que pode, por vezes, ser desagradável (GONÇALVES & PAIVA, 2004).

A ozonização surge como uma técnica de desinfecção para retardar a decomposição, melhorar a segurança alimentar dos produtos e aumentar a vida de prateleira do pescado.

A aplicação de ozônio é uma tecnologia importante na área de processamento do peixe e pode ser alternativa viável como agente sanitizante deste produto. Em vista do exposto, objetiva-se com este trabalho elucidar a importância da aplicação do gás ozônio na carne de pescado, visando sua qualidade durante o armazenamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, FAV, na Universidade de Brasília – UnB.

Obtenção do gás ozônio

O gás ozônio foi obtido por meio de um gerador de ozônio (Modelo O&L 5.0 RM) baseado no método de Descarga por Barreira Dielétrica (DBD). Este tipo de descarga é produzido ao aplicar uma alta tensão entre dois eletrodos paralelos, tendo entre eles um dielétrico (vidro) e um espaço livre por onde flui o ar seco. Neste espaço livre, é produzida uma descarga em forma de filamentos, em que são gerados elétrons com energia suficiente para produzir a quebra das moléculas de oxigênio, formando o ozônio (O_3). No processo de geração do ozônio, foi utilizado como insumo oxigênio (O_2) com grau de pureza de aproximadamente 90%, isento de umidade, obtido de concentrador de oxigênio acoplado ao gerador de ozônio.

A concentração de gás ozônio utilizada para realização do trabalho foi de 21 mg de O_3/L . Para obter essa concentração de 21 mg de O_3/L o aparelho foi deixado com o Dosador na marca 7 e a vazão do gás em 1 L/min. Para determinar a concentração de ozônio residual em meio aquoso utilizou-se o equipamento Vacu-Vials DPDK7423; após o tratamento mediu-se novamente a concentração de ozônio residual na água.

Ozonização das Amostras

Utilizaram-se peixes da espécie tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), adquirido diretamente da Fazenda Mesquita, situada na região da cidade Ocidental. O armazenamento das amostras foi em caixa térmica com gelo, encaminhado no dia seguinte para o Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas na Universidade de Brasília – UnB.

O estudo realizado comparou 4 (quatro) diferentes tratamentos, sendo 3 tempos de imersão do pescado em água ozonizada e 1 testemunha. No sistema utilizado, após sua produção, o ozônio foi borbulhado em 3 litros de água por 10 minutos para cada tratamento. Nos três tratamentos as condições de ozonização foram as mesmas, mas

variou-se o tempo de imersão do pescado em água ozonizada, essa variação foi em 5, 10 e 15 minutos, denominados como:

- **T1** (Tratamento 1 – tempo de imersão do pescado em água ozonizada por 5 min);
- **T2** (Tratamento 2 – tempo de imersão do pescado em água ozonizada por 10 min);
- **T3** (Tratamento 3 – tempo de imersão do pescado em água ozonizada por 15 min);
- **Test** (Testemunhas – nenhum tratamento).

Foram três repetições para cada tratamento (R1, R2 e R3), cada repetição foi um peixe inteiro com o peso entre 100 e 200 g, escolhidos ao acaso. Após a lavagem dos peixes, os mesmos foram devidamente pesados e embalados, sendo então identificados e estocados sob condições controladas de refrigeração com a média de temperatura de 5°C. As análises foram realizadas no dia 0, 4, 8 e 14 de armazenamento, para estudo da vida de prateleira do pescado, qualidade físico-química; e qualidade microbiológica.

Análises Qualitativas e Microbiológicas

As análises microbiológicas foram avaliadas segundo a metodologia oficial do Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2003).

Inicialmente 25 g do pescado de cada repetição foram diluídos em 225 mL de água peptonada a 0,1% (p/v) devidamente esterilizada, a fim de obter diluições seriadas para a realização destas análises. A homogeneização foi realizada manualmente sendo esta a diluição 10^{-1} e a partir desta diluição foram feitas as diluições 10^{-2} e 10^{-3} por meio de solução salina, para a inoculação nos diferentes meios de cultura, para a contagem de bolores e leveduras e aeróbios e mesófilos, conforme protocolo descrito pela Instrução Normativa número 62, do Ministério da Agricultura.

Para contagem de bolores e leveduras foi utilizado o método de plaqueamento direto, em superfície das diluições 10^{-2} e 10^{-3} . Em meio asséptico, alíquotas de 1 mL do inóculo inicial das diferentes diluições foram colocadas em placas petri, acrescidas de 0,2 mg mL⁻¹ de ácido tartárico. Em seguida, colocou-se aproximadamente 10 mL do Ágar Batata Dextrose (BDA), previamente fundido e mantido a 45 °C. As placas foram cuidadosamente homogeneizadas e incubadas a 25 °C por um período de 4 a 5 dias. Então, foram quantificadas as colônias presentes na placa. Os resultados foram expressos pelo número de Unidades Formadoras de Colônia por grama de produto (UFC g⁻¹) e posteriormente em log UFC g⁻¹ (BRASIL, 2003).

Foi empregada a metodologia da Contagem Total de Mesófilos Aeróbios. Para isso, foram utilizadas alíquotas de 1 mL do inóculo inicial das diluições a 10^{-3} em placas petri,

sendo adicionado aproximadamente 10 mL de meio Plate Count Agar. Após a solidificação, as placas invertidas foram colocadas a 35 °C, por 48 h. A quantificação foi inicialmente expressa em Unidades Formadoras de Colônia por grama de produto (UFC g⁻¹) e posteriormente em log UFC g⁻¹, segundo a IN 62 – 2003 (BRASIL, 2003).

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. As análises físico-químicas compreenderam determinação do pH e acidez da carne do pescado.

O pH foi determinado com o potenciômetro Digimed Mod. DM21. Utilizou-se aproximadamente 10 gramas de amostra triturada e homogeneizada em 100 mL de água destilada.

A análise de acidez titulável foi determinada conforme a normas descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (BRASIL, 2008). Utilizou-se aproximadamente 10 gramas de amostra triturada e homogeneizada em 100 mL de água destilada, usando como indicador 2 a 4 gotas de fenolftaleína e como titulador a solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N, até atingir uma coloração rósea. O cálculo para determinar a acidez em solução molar é dado

por: $\frac{V \times f \times 100}{P \times c}$, onde:

V = n° de mL da amostra de NaOH gasto na titulação;

f = fator de correção da solução NaOH 0,1 N;

P = n° de gramas da amostra usado na titulação;

c = correção 10 para solução de NaOH 0,1 N.

Delineamento Experimental

O experimento foi realizado no Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial 4x4, sendo 4 tratamentos e 4 períodos de armazenamento (0, 4, 8 e 12). Com relação aos dados referentes às variáveis qualitativas, inicialmente realizou-se análise de variância a 5% de probabilidade e, posteriormente, teste de média (Teste de Tukey), quando detectada diferença significativa. Utilizou-se o programa ASSISTAT para análise de variância e teste de média e o programa SigmaPlot v.10 (2001) para a obtenção das equações e plotagem do gráfico de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Legislação Brasileira não prevê limites para a contagem de placas de bactérias aeróbias mesófilas em pescado. Sendo assim, os valores encontrados não podem ser comparados a um padrão. Valores de microrganismos mesófilos superiores a 10^6 UFC/g de carne de peixe são considerados críticos com relação ao grau de frescor (AGNESE et al, 2001). Segundo LIRA et al (2001) observam que alguns pescados que apresentaram um número maior que 10^6 UFC/g não estavam com seus caracteres alterados, enquanto que outros com número inferior, na análise sensorial, eram desclassificados (TEODORO et. al., 2007).

De acordo com os resultados referentes à contagem de Mesófilos Aeróbios verificou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) em decorrência da interação Tratamento e Período de Armazenamento para a variável contagem de Mesófilos Aeróbios (log UFC/g), como mostra a Figura 1. O Tratamento 3 (imersão de 15 min em água ozonizada), apresentou os menores valores na contagem de Mesófilos aeróbios em todo o processo, havendo uma redução significativa ($p < 0,05$), como é indicado nas equações de regressão ajustadas na Tabela 1. Os outros tratamentos também foram significativos ($p < 0,05$) na redução de Mesófilos aeróbios.

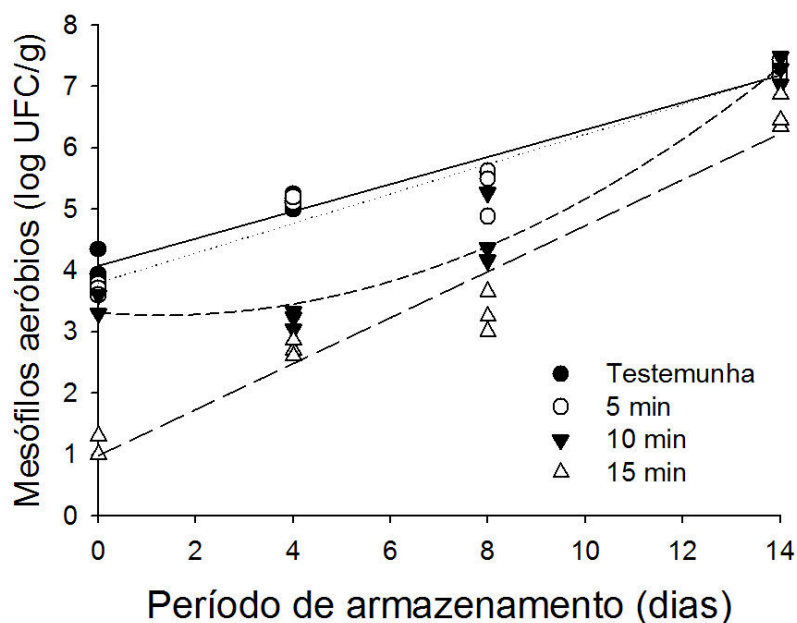


Figura 1. Contagem de Mesófilos aeróbios (log UFC/g) em carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em três diferentes tempos de imersão em água ozonizada e Armazenados a 5 °C.

Verificou-se, no início do armazenamento, que a contagem de mesófilos aeróbios na carne de Tilápia do Nilo em todos os tratamentos diferiu significativamente ($p < 0,05$) da contagem obtida no tratamento controle (sem imersão em água ozonizada). Obteve-se reduções equivalentes a 0,27 ciclos log para imersão de 5 min, 0,77 ciclos log para imersão de 10 min, e, por último e com maior redução, 3,09 ciclos log para imersão de 15 min. O Tratamento 3 (imersão por 15 min em água ozonizada) obteve a maior redução dos três tratamentos, 2,39 e 2,32 maior na redução de ciclos log do que nos Tratamentos 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 – Equações de Regressão Ajustadas e respectivos coeficientes de determinação referentes à contagem de mesófilos aeróbios em carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), imersos em água ozonizada em diferentes tempos e armazenadas a 5 °C.

Tratamento	Equação de Regressão Ajustada	R ²
Testemunha	$\hat{y} = 4,0710 + 0,2220 * X$	0,99
Imersão de 5 min	$\hat{y} = 3,7985 + 0,2419 * X$	0,96
Imersão de 10 min	$\hat{y} = 3,3103 - 0,0662 * X + 0,0252 * X^2$	0,98
Imersão de 15 min	$\hat{y} = 0,9793 + 0,3748 * X$	0,97

**Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

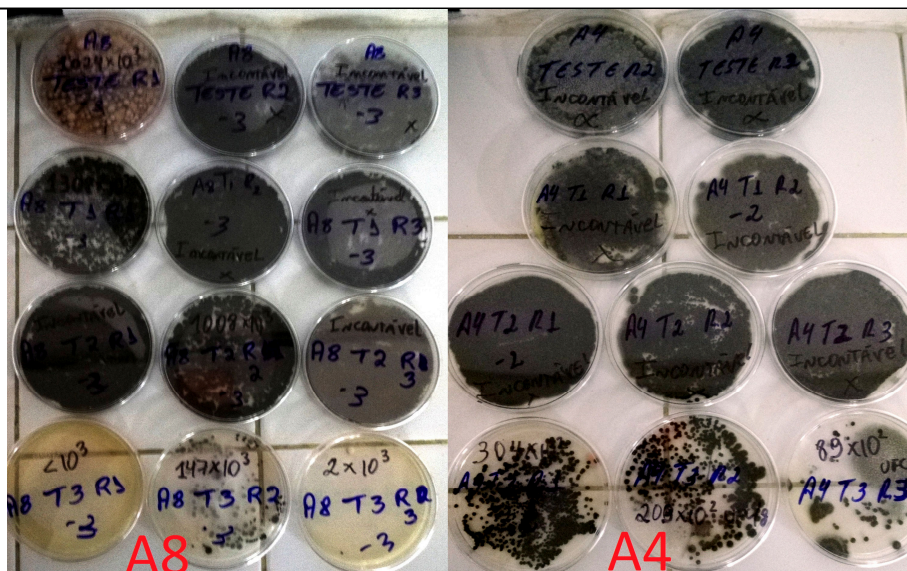
Não foi possível avaliar a contagem e fazer análises estatísticas de bolores e leveduras devido a alta incidência de colônias na Testemunha, Tratamento 1 e Tratamento 2; apesar disso a incidência de colônias foi visivelmente menor na Testemunha 3. Mesmo a partir do 8º dia de armazenamento adotando-se diluições maiores (de 10^{-2} aumentou-se para 10^{-3}) não foi possível realizar as devidas contagens para possíveis análises estatísticas, por isso adotamos apenas as comparações visíveis da formação das colônias nas placas, as que deram formação de colônias possíveis de serem contadas foram transformados em log e as que não foram possíveis de se realizar uma contagem foram identificadas como Incontáveis, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 – Valores médios referentes à contagem de bolores e leveduras (log UFC g⁻¹), em carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), imersos em água ozonizada em diferentes tempos e armazenadas a 5 °C.

Tratamento	Período de Armazenamento (dias)			
	0	4	8	14
Testemunha	Incontável	Incontável	Incontável	Incontável
Tratamento 1	Incontável	Incontável	Incontável	Incontável
Tratamento 2	6,27	Incontável	8,74	Incontável
Tratamento 3	2,56	5,30	4,33	7,22

Fica perceptível quando comparamos visualmente o crescimento das colônias de bolores e leveduras nas placas de BDA. O Tratamento 3 foi capaz de reduzir, comparação visual, o crescimento desses microrganismos. Pode-se notar na Figura 2 essa comparação entre os tratamentos.

Figura 2. Placas de Ágar Batata Dextrose (BDA) para contagem de Bolores e Leveduras – Comparação visual das amostras do 8º e 4º dia de Armazenamento da carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), imersos em água ozonizada em diferentes tempos e armazenadas a 5 °C.



As outras amostras dos dias 0 e 14 de armazenamento seguiram o mesmo padrão de formação de colônias. Alta contagem ou incontáveis nos tratamentos 0, 1 e 2, porém uma diminuição visualmente significativa no Tratamento 3.

Para o resultado de bolores e leveduras o ideal seria realizar a repetição do experimento e adotar diluições maiores (10^{-4} ou 10^{-5}) para ser possível realizar a contagem da formação das colônias e posteriormente aplicação dos testes estatísticos.

Com relação à variável pH houve diferença significativa ($p < 0,01$) somente no Fator 1 (Tratamento), porém não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) no Fator 2 (Tempo de Armazenamento) como mostram os dados da Tabela 1. Percebe-se que no Tratamento 3 os valores médios de pH foram mais elevados que os outros tratamentos e a testemunha, diferindo estatisticamente nas colunas (Tratamentos), mas sem variação estatística nas linhas (Tempo de Armazenamento). Além disso, é importante notar que a ozonização tendeu a realizar um aumento no pH das amostras, isso foi perceptível em todos os Tratamentos (1, 2 e 3), mas mais acentuado no Tratamento 3, pois houve um tempo de contato maior com a água ozonizada.

Tabela 3 – Valores médios referentes à variável pH em carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), imersos em água ozonizada em diferentes tempos e armazenadas a 5 °C.

Tratamento	Período de Armazenamento (dias)			
	0	4	8	14
Testemunha	6.2333 cA	6.6000 bA	6.6000 bA	6.6000 bA
Tratamento 1	6.7333 bA	6.8333 abA	6.8667 abA	6.8333 abA
Tratamento 2	6.8333 bA	6.9000 abA	7.0000 aA	6.9333 abA
Tratamento 3	7.5000 aA	7.0333 aB	6.9333 abB	7.0667 aB

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Tukey a 5% de probabilidade.

Oehlenschläger e Sørensen (1997) afirmam que o pH de um peixe fresco é menor que 7, entretanto, a estudo do pH parece ser o método não muito eficiente para diferenciar as várias categorias de frescor do pescado (FONTES et al., 2007). Segundo Conde (1975), o pH do pescado fresco varia entre 6,6 e 6,8. Lessiet al., (2005) descreveram uma queda inicial nos valores de pH pós morte do matrinxã, seguido de um aumento após seis dias de conservação em gelo.

Scherer et al., (2005) relatam um aumento significativo do pH nos peixes abatidos por eletricidade a partir do segundo dia de armazenamento em gelo. O aumento do valor de pH está provavelmente relacionado com o acúmulo de substâncias básicas, tais como amoníaco e trimetilamina produzido pelo desenvolvimento de microrganismos nos peixes (HUSS, 1988). O que pode ter ocorrido neste experimento foi o gás ozônio ter reagido com substâncias presentes na água com um elevado pH, sabe-se que uma água com pH elevado, superior a 8,0, é capaz de degradar metade do ozônio de entrada e formar radicais hidroxilas (OH), substância que é capaz de atacar composto orgânicos. Devido a isso os Tratamentos com água ozonizada apresentaram pH superiores ao que é apontado como um limite legal para consumo de peixe fresco no Brasil, pH de 6,8 (Brasil, 2000). Nota-se que o pH médio das Testemunhas foi inferior a este valor, enquanto os valores médios de pH de todos os tratamentos com o pescado ozonizado foram superiores.

Embora os valores de pH não tenham permanecidos dentro dos limites preconizados pela legislação, estes não foram capazes de indicar adequadamente a qualidade da Tilápia do Nilo após 14 dias de armazenamento em câmara fria a 5 °C, devido aos resultados microbiológicos encontrados – por isso a hipótese de que esse elevado pH não ocorreu devido a ação de microrganismos (que o ozônio ajudou a controlar, no caso de mesófilos aeróbios), mas a de compostos formados pela ozonização na água. Outros pesquisadores também têm observado que o valor de pH é inadequado para avaliar o frescor de algumas espécies (ABABOUCHE et al., 1996; KYRANA e LOUGOVOIS, 2002).

No que tange à variável Acidez Titulável não houve variação significativa em decorrência da interação tratamento e período de exposição ($p > 0,05$). Encontra-se na Tabela 4 os valores médios de acidez titulável, não foi aplicado o teste de comparação de médias, pois o F só foi significativo para o tratamento ($p < 0,01$), enquanto que para o tempo de armazenamento não houve significância ($p \geq 0,05$).

Tabela 4 – Valores médios de acidez total titulável (mL de NaOH/100 g de amostra) em carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), imersos em água ozonizada em diferentes tempos e armazenadas a 5 °C.

Tratamento	Período de Armazenamento (dias)			
	0	4	8	14
Testemunha	3,81	3,90	4,15	3,15
Tratamento 1	4,49	3,17	3,25	3,06
Tratamento 2	2,59	1,77	2,45	2,48
Tratamento 3	2,18	2,04	2,65	1,75

Não foi aplicado o teste de comparação de médias porque o F de interação não foi significativo.

CONCLUSÕES

Concluiu-se, a partir dos resultados obtidos, que: a exposição à água ozonizada, nas condições adotadas, possibilita redução na contagem de mesófilos aeróbios. Não foi possível realizar análise estatística dos dados referentes à bolores e leveduras, mas através de análise visual foi possível concluir que o tratamento 3 (imersão por 15 min em água ozonizada) foi capaz de reduzir a formação de colônias nas placas de BDA. É possível concluir, a partir dos resultados obtidos, que a ozonização pode ser considerada uma importante alternativa para a manutenção da qualidade de carne de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e da redução de microrganismos deteriorantes. São necessárias novas avaliações, estudos mais aprofundados quanto ao pH e acidez, além de outros parâmetros qualitativos; e, outras combinações de concentração do gás na água e período de exposição à água ozonizada em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de tal forma a comprovar a viabilidade técnica da ozonização nesse tipo de produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABABOUC, L.H.; SOUIBRI, L.; RHALIBY, K.; OUAHDI, O.; BATTAL., M.; BUSTA, M.M. Quality changes in sardines (*Sardinapilchardus*) stored in ice and ambient temperature. **Food Microb., Sidcup**, v. 13, p. 123-132, 1996.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução Nº12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[www.Anvisa.gov.br / legis/resol/12_01_rde.htm](http://www.Anvisa.gov.br/legis/resol/12_01_rde.htm)>. Acesso em: 22 setembro de 2016.

AGNESE, A. P.; DE OLIVEIRA, V. M.; SILVA, P. P. O.; OLIVEIRA, G. A. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica - RJ. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, no. 88. p. 67-70, 2001.

ALEXANDRE, E. M. C., SANTOS-PEDRO, D. M., BRANDÃO, T. R. S. & SILVA, C. L. M. Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 1, p. 277-282, 2011.

ALMEIDA, E.; ASSALIN, M. R.; ROSA, M. A.; DURÁN, N. **Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio**. Química Nova, v. 27, n. 5, São Paulo, set/out. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422004000500023> Acesso em: 31 ago 2016.

ÁVILA-DA-SILVA, A. O.; CARNEIRO, M. H.; MENDONÇA, J. T.; SERVO, G. J. de M.; BASTOS, G. C. C.; OKUBO-DA-SILVA, S.; BATISTA, P. A. **Produção pesqueira marinha do Estado de São Paulo**. Série Relatórios Técnicos, São Paulo, n. 20: 140, 2005.

BARROS, C. G. Perda da Qualidade do Pescado, Deteriora e Putrefação. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Brasília, v.2, n.30, p.59-66, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Laboratório Nacional de Referência Animal. Metodologia analítica oficial para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. v. 2. **Brasília: Ministério da Agricultura**, 1981.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. **Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura.**

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - R.I.I.S.P.O.A. Brasília, 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº.3, de 07 de janeiro de 2000. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. S.D.A./M.A.A. **Diário Oficial da União, Brasília**, p.14-16, 24 de janeiro de 2000, Seção I.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº368 de 10 de setembro de 1997. Aprova Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico – Sanitária e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos Elaboradores / Industrializadores de alimentos. Brasília (DF), 1997 a.

BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, Lei 1283, de 18/12/1950, Decreto 30.691, de 20/03/1952.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. Tecnologia de Carnes e Pescados – Lavras: UFLA/FAEPE. 2000. 225p. (Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” Especialização a Distância. Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).

CARVALHO FILHO, D. U. **Avaliação da qualidade de fishburger de tilápia (*Oreochromis*) em diferentes concentrações de farinha de trigo.** 25f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2009.

CHAWLA, A. S. **Application of ozonated water technology for improving quality and safety of peeled shrimp meat.** 100 f. Dissertação (Mestrado) - India: Gujarat Agricultural University, Louisiana State University, 2006.

COELHO, C. C. DE S.; FREITAS-SILVA, O.; CAMPOS, R. DA S.; BEZERRA, V. S.; CABRAL, L. M. C. **Ozonização como tecnologia pós-colheita na conservação de frutas e hortaliças: Uma revisão.** Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662015000400369> Acesso em: 7 set 2016.

DEW, T. S. **Ozone degradation of off-flavors in catfish**. 2005. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - University of Louisiana, 2005.

FARIAS, M. DO C. A. **Avaliação das condições higiênico-sanitárias do pescado beneficiado em indústrias paraenses e aspectos relativos à exposição para consumo em Belém-Pará**. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2006. Disponível em: <http://repositorio.ufpa.br/jspui/bitstream/2011/5209/1/Dissertacao_AvaliacaoCondicoesHigienico.pdf> Acesso em: 28 ago 2016.

FONTES, M.C.; ESTEVES, A.; CALDEIRA, F.; SARAIVA, C.; VIEIRA-PINTO, M.; MARTINS, C.; Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal., **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1308-1315, 2007.

FREITAS-SILVA, O.; MORALES-VALLE, H.; VENÂNCIO, A. Potential of aqueous ozone to control aflatoxinogenic fungi in brazil nuts. *ISRN Biotechnology*, v.2013, p.1-6, 2013a.

FREITAS-SILVA, O.; SOUZA, A. M.; OLIVEIRA, E. M. M. **Potencial da ozonização no controle de fitopatógenos em pós-colheita**. In: Luz, W. C. da. (org.). Revisão anual de patologia de plantas. 1.ed. Passo Fundo: Gráfica e Editora Padre Berthier dos Missionários da Sagrada Família, v.21, p.96-130. 2013b.

GASPAR, J.; VIEIRA, R.; TAPIA, M. Aspectos Sanitários do pescado de origem de água doce e marinha, comercializado na feira de Gentilândia, Fortaleza, Ceará. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo. v.11, p.20-287, ago.1997.

GONÇALVES, A. L. M. DE M.; DIAS, I. C. L.; NASCIMENTO, D. L. DO; SILVA, M I. S. **Perfil higiênico-sanitário dos consumidores e estabelecimentos de comercialização de pescado nos municípios de Paço do Lumiar e São José de Ribamar, MA**. *Acta Tecnológica*, 2012. Disponível em: <<http://portaldeperiodicos.ifma.edu.br/portaldeperiodicos/index.php/actatecnologica/article/viewFile/74/92>> Acesso em: 28 ago 2016.

GONÇALVES, A. A. & KECHINSKI, C. P. **Ozone Technology in the Food Industry**. In: SIEGLER, B. C. *Food Engineering*. New York. Ed: Nova Science Pub, 2011, cap. 2, p.85-146.

GONÇALVES, A. A. Análise de risco no setor pesqueiro – parte II: a pesca. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 23, n. 174/175, p. 99-104, 2009.

Gonçalves, A.A. & Paiva, F.G. (2004). **El ozono como agente antiséptico em la industria pesquera**. *Infopesca Internacional*, 31(1):345-367.

GRAHAM, D. M. **Ozone as an antimicrobial agent for the treatment, storage and processing of foods in gas and aqueous phases.** Direct Food Additive Petition, The Electric Power Research Institute (EPRI), Palo Alto, CA, 380f, 2000.

HILDSORF, A. W. S. Genética e cultivo de tilápias vermelhas, uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.22, p.73-87, 1995.

HUSS, H.H. El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. In: FAO. Manual de Capacitación Preparado por el Programa de Capacitación FAO/DANIDA en Tecnología Pesquera y Control de Calidad. Roma: **FAO, 1988. V. 29.**

KIM, J. G.; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. **Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review.** Journal of Food Protection, Des Moines, v. 62. n.9, p. 1071-1087, 1999.

KYRANA, V. R.; LOUGOVOIS, V. P. Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European seabass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.319-328, 2002.

LAPOLLI, F. R.; SANTOS, L. F.; HÁSSEMER, M. E. N.; AISSE, M. M.; PIVELI, R. P. Desinfecção de efluentes sanitários por meio da ozonização. In: GONÇALVES, R. F. (Coord.). *Desinfecção de efluentes sanitários, remoção de organismos patogênicos e substâncias nocivas: aplicação para fins produtivos como agricultura, aquicultura e hidropônica.* Vitória: PROSAB, 2003. p. 169-208.

LESSI, E., BATISTA, G.M., KODAIRA, M., FALCÃO, P.T., Alterações bioquímicas post-mortem de matrinxã *bryconcephalus* (günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24(4), p. 573-581, 2005.

LIRA, G. M., PEREIRA, W. D., ATHAYDE A. H. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió - Al. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 84, p. 67-74, 2001.

LIRA, G. M.; PEREIRA, W. D.; ATHAYDE, A. H. et al. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió – AL. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n.84, p.67-72, 2001.

Lôbo, A. S. M. T. (2013). *Água Ozonizada (O3) no controle de Salmonella entérica Typhimurium em carne Resfriada de Jacaré do Pantanal (Cayman crocodilos yacare).* [Dissertação de Mestrado]. Cuiabá (MT): Universidade Federal de Mato Grosso.

OEHLENSCHLÄGER, J.; SÖRENSEN, N.K. **Criteria of fish freshness and quality aspects**. In: THE FINAL MEETING OF THE CONCERTED ACTION – EVALUATION OF FISH FRESHNESS – 1997.

ORDÓÑEZ, A. O. **Tecnologia de Alimentos**. São Paulo:2005, ed. Artmed, v.2, cap.12, p.299-228.

RUSSEL, A. D.; HUGO, W. B.; AVLIFFE, G. A. J. *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization*. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 1999. 826 p.

SANTOS, S. S. DOS. **Diagnóstico da cadeia produtiva de ostras em dois municípios da Região do Baixo Sul da Bahia**. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2013. Disponível em: <<https://www1.ufrb.edu.br/pgcienciaanimal/documentos/category/14-2013?download=418:sandra-soares-dos-santos>> Acesso em: 29 ago 2016.

SCHERER, R.; SCHOOR, A. Effect of slaughter method on postmortem changes of grass carp (*Ctenopoma haryngodonidella*) stored in ice. **Journal Food Science**, v. 70, p. C348-354, 2005.

SILVA, A. M. DE M. **Efeito antimicrobiano do ozônio no processamento da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, (LINNAEUS, 1758)**. Mossoró, 2015. 74 p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2015.

SILVA, A. M. DE M.; GONÇALVES, A. A. **Potencialidade do uso de água ozonizada no processamento de peixes**. *Acta of Fisheries and Aquatic Resources*.

SILVA, S. B. DA; LUVIELMO, M. DE M.; GEYER, M. C.; PRÁ, I. **Potencialidades do uso de ozônio no processamento de alimentos**. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 32, n. 2, p. 659 – 682, abr/jun. 2011. Disponível em: <www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/download/8909/8426> Acesso em: 30 ago 2016.

SOARES, K. M. DE P. **Método do índice de qualidade (MIQ) na estimativa da vida útil da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), nas formas inteira, eviscerada e em filé, armazenada em gelo**. Mossoró, 2012. 109 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2012.

SOARES, K. M. DE P.; GONÇALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 1, 2012. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552012000100001&lng=es&nrm=iso> Acesso em: 29 ago 2016.

SOUZA M. L. R. & MARANHÃO T. C. F. 2001. **Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), em função do peso corporal.** Acta Scient. 23:897-901.

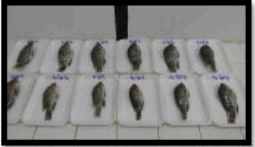











TAVARES-DIAS M., SCHALCH S. H. C., MARTINS M. L. & MORAES F.R. 2000b. **Características hematológicas de *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) cultivadas intensivamente em "pesque-pague" do município de Franca.** São Paulo, Brasil. Ars Vet. 16:76-82.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia Aliment.**, Campinas, 27(1): 158-161, jan-mar. 2007.

VIEIRA, R. H. S. F.; SAKER-SAMPAIO, S. **O emprego do gelo nos barcos de pesca.** In: Vieira RHSF, editor. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado. São Paulo: Varela; 2003. p. 37-43.

WYSOK, B.. URADZIŃSKI, J. & GOMÓ KA-PAWLICHA, M. Ozone as an alternative disinfectant – **Ver. Pol. J. Fd. Nutri. Sci.**, 15/56 (1): 3-8. 2006.

ANEXO 1: Aparência do peixe inteiro, nos 4 tratamentos, durante o período de armazenamento (0 a 14 dias).

DIA	IMERSÃO			
	TESTE	5'	10'	15'
A0				
A4				
A8				
A14	