UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

TANYLA CYBELLY LIRA SANTOS

**A TECNOLOGIA DO OZÔNIO ASSOCIADA À EMBALAGEM EM ATMOSFERA
MODIFICADA COMO ALTERNATIVA AO USO DO CLORO NO AUMENTO DA
VIDA DE PRATELEIRA DO CAMARÃO BRANCO (*Litopenaeus vannamei*) INTEIRO
RESFRIADO.**

MOSSORÓ

2017

TANYLA CYBELLY LIRA SANTOS

**A TECNOLOGIA DO OZÔNIO ASSOCIADA À EMBALAGEM EM ATMOSFERA
MODIFICADA COMO ALTERNATIVA AO USO DO CLORO NO AUMENTO DA
VIDA DE PRATELEIRA DO CAMARÃO BRANCO (*Litopenaeus vannamei*) INTEIRO
RESFRIADO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Tecnologia do Pescado

Orientador: Prof.Dr. Alex Augusto Gonçalves

MOSSORÓ

2017

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

S237t Santos, Tanyla Cybelly Lira.

A tecnologia do ozônio associada à embalagem em atmosfera modificada como alternativa ao uso do cloro no aumento da vida de prateleira do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) inteiro resfriado.
/ Tanyla Cybelly Lira Santos. - 2017.
70 f. : il.

Orientador: Alex Augusto Gonçalves.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em , 2017.

1. Crustáceo. 2. Qualidade. 3. Segurança alimentar. 4. Tecnologia de barreiras. I. Gonçalves, Alex Augusto, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

TANYLA CYBELLY LIRA SANTOS

**TECNOLOGIA DO OZÔNIO ASSOCIADA À EMBALAGEM EM ATMOSFERA
MODIFICADA VISANDO O AUMENTO DA VIDA DE PRATELEIRA DO
CAMARÃO BRANCO (*Litopenaeus vannamei*) INTEIRO RESFRIADO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Tecnologia do Pescado

Defendida em: 22 / 02 / 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alex Augusto Gonçalves (UFERSA)
Presidente (Orientador)

Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva (UFERSA)
Membro Examinador

Profª. Dra. Raquel Lima Salgado (UFERSA)
Membro Examinador

*Aos meus pais, Antônia Jácome e Noé Paiva,
meus irmãos Margnos, Aurineide, Saint Clair e Lira
meu marido, Alisson Ramon,
por todo carinho, amor e atenção.*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, por me fortalecer e orientar em todas as etapas dessa jornada, não me deixando desistir.

Aos meus pais, Antônia e Noé, pelo constante cuidado e esforço de me fazer chegar até aqui. Aos meus irmãos que tanto amo, Margnos, Aurineide, Saint-Clair e Lira Neto, por cuidarem tão bem de mim, me apoiando e me incentivando em todas as etapas da minha vida.

Ao meu marido, Alisson Ramon, por todo amor e companheirismo, sempre me motivando a conquistar os meus objetivos e me incentivando a ir mais além. Obrigada por acreditar no meu potencial e por estar sempre ao meu lado, torcendo por mim.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alex Augusto Gonçalves, grande fonte de conhecimento. Obrigada pela orientação nesta caminhada, pela oportunidade e confiança depositada, que foram fundamentais em todos os momentos, para chegarmos até aqui.

Agradeço a Banca Examinadora, por aceitar o convite em somar com esse trabalho com valiosas sugestões.

Às minhas amigas Frida Michelle, Luana Miranda e Izadora Fernandes, que estiveram presentes em todos os momentos da minha vida, obrigada pelo apoio, carinho e amizade.

À Lyzandra Lemos, que tive a oportunidade de conhecer melhor durante esses dois últimos anos. Obrigada por dividir comigo as angústias e alegrias.

Aos colegas que fazem e fizeram parte do Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado (LAPESC) que contribuíram para a realização desse trabalho e tive a oportunidade de conhecê-los melhor: Lucas, Josué, Julianna, Vanessa, Micaela e Thyciana. Obrigada a todos!

Ao pessoal do Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), Carol, Jean e, em especial, a Rociene pelo auxílio nas análises microbiológicas, durante finais de semana e feriados. Muito obrigada!

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro como agente financiador da bolsa do mestrado.

Finalmente, a todos que ajudaram direta ou indiretamente nesse trabalho, meu muito obrigada!

“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu. É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu (...)”

Ana Vilela

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o uso combinado da tecnologia de ozônio com a embalagem em atmosfera modificada, como uma alternativa para garantir a segurança microbiológica, a qualidade e o aumento da vida de prateleira do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) inteiro resfriado. Amostras de camarões foram imersas em água ozonizada (1ppm, 10 min.), em água hiperclorada (5ppm, 10 min.), e como controle utilizou-se camarão sem nenhum tratamento. Após imersão, as amostras foram drenadas, e embaladas em ar atmosférico (Controle) e em atmosfera modificada (100% CO₂). Todas as amostras foram armazenadas sobre refrigeração (4±1°C) durante 12 dias. A cada três dias as amostras de camarão foram retiradas para análises microbiológica (*Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, contagem total de mesófilos e psicotróficos), sensorial (Método do Índice de Qualidade - MIQ) e físico-química (pH, nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT), nitrogênio de trimetilamina (N-TMA) e o teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)). Os resultados foram avaliados estatisticamente através de Análise de Variância Univariada (ANOVA). O teste Tukey foi utilizado para examinar as diferenças estatísticas individuais entre tratamentos, ao nível de significância de 0,05. Regressões lineares foram feitas para prever a vida de prateleira. O pré-tratamento das amostras de camarão com água ozonizada, seguido da embalagem em atmosfera modificada (100% CO₂) e armazenamento na temperatura de refrigeração (4°C), demonstrou eficácia no aumento da vida de prateleira (24 dias), quando comparado com o controle (9 dias) e pré-tratamento com água clorada (11 dias). Durante esse período, as características sensoriais do grupo pré-tratado com ozônio mantiveram aceitáveis, o índice de melanose manteve-se baixo, a contagem total de bactérias mesófilas e psicotróficas mantiveram-se baixas, o pH, N-BVT, N-TMA e TBARS mantiveram-se baixos e constantes, quando comparado aos demais tratamentos. Assim, pode-se concluir baseado nesses resultados, que o efeito combinado do ozônio e atmosfera modificada garantiu a qualidade físico-química e microbiológica e estendeu a vida de prateleira do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado na temperatura de 4°C.

Palavras-chave: Crustáceo; Qualidade; Segurança alimentar; Tecnologia de barreiras.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the combined use of ozone technology with modified atmosphere packaging as an alternative to ensure the microbiological safety, quality and shelf life of whole chilled Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Shrimp samples were immersed in ozonated water (1 ppm, 10 min) in chlorinated water (5ppm, 10 min), and as control group, shrimp with no treatment was used. After immersion, shrimp samples were drained, and packed in atmospheric air (Control) and modified atmosphere (100% CO₂). All samples were stored under refrigeration (4±1°C) for 12 days. Shrimp samples were with drawn every 3 days for microbiological (*Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, total mesophilic and psychrotrophic counts), sensory (Quality index method - MIQ) and physicochemical (pH, total volatile bases nitrogen (TVB-N), Trimethylamine nitrogen (TMA-N) and the measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)) analyzes. The results were statistically evaluated using Univariate Variance Analysis (ANOVA). The Tukey test was used to examine the individual statistical differences between treatments, at a significance level of 0.05. Linear regressions were made to predict the shrimp shelf life. The pre-treatment of the shrimp samples with ozonated water, followed by packaging in modified atmosphere (100% CO₂) and storing at refrigeration temperature (4°C), demonstrated efficacy in increasing the estimated shelf life (24 days), when compared to control group (9 days) and pre-treatment with chlorinated water (11 days). During this period, the sensorial characteristics of pre-treated group with ozone remained acceptable, the melanosis index remained low, the total count of mesophilic and psychrotrophic bacteria remained low, pH, N-BVT, N-TMA and TBARS remained low and constant, when compared to the other treatments. Thus, it can be concluded from these results that the combined effect of ozone and modified atmosphere ensured the physic-chemical and microbiological quality and extended the shelf life of white shrimp (*L. vannamei*) stored at 4 ° C.

Keywords: Crustacean; Quality; Safety food; Barrier technology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. O camarão branco do Pacífico, <i>Litopenaeus vannamei</i>	16
Figura 2. As manchas pretas que indicam a melanose.	18
Figura 3. Fluxograma do planejamento experimental.....	28
Figura 4. Curva de calibração do Índice de Qualidade (IQ) para o camarão branco do Pacífico (<i>L. vannamei</i>) inteiro estocado em gelo por 12 dias: (A) Grupo Controle Ar Atmosférico; (B) Grupo Controle Atmosfera Modificada; (C) Grupo Cloro Ar Atmosférico; (D) Grupo Ozônio Ar Atmosférico; (E) Grupo Cloro Atmosfera Modificada; e (F) Grupo Ozônio Atmosfera Modificada.....	35
Figura 5. Índice de Melanose (IM) do camarão branco do Pacífico (<i>L. vannamei</i>) inteiro, estocado em gelo por 12 dias.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mistura de gases para pescado embalados em atmosfera modificada.	26
Tabela 2. Esquema do MIQ desenvolvido para esta pesquisa.....	29
Tabela 3. Método do Índice de Qualidade: regressão linear e vida de prateleira do camarão branco (<i>L. vannamei</i>) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).	36
Tabela 4. Contagem total de bactérias mesófilas em log ₁₀ (UFC/g) da carne do camarão branco (<i>L. vannamei</i>) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).	38
Tabela 5. Contagem total de bactérias psicotróficas (UFC/g) da carne do camarão branco (<i>L. vannamei</i>) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).	40
Tabela 6. pH da carne do camarão branco (<i>L. vannamei</i>) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).	42
Tabela 7. N-BVT da carne do camarão branco (<i>L. vannamei</i>) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).	43
Tabela 8. N-TMA da carne do camarão branco (<i>L. vannamei</i>) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).	45
Tabela 9. TBARS da carne do camarão branco (<i>L. vannamei</i>) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina trifosfato
CODEX	<i>Codex Alimentarius</i>
EAM	Embalagem em Atmosfera Modificada
g	Gramas
ICMSF	<i>International Commission on Microbiological Specifications for Foods</i>
IM	Índice de Melanose
IQ	Índice de Qualidade
LAPESC	Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado
MA	Malonaldeído
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
min	Minutos
MIQ	Método de Índice de Qualidade
mL	Mililitro
N-BVT	Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT)
ppm	Partes por mil
PPOs	Polifenoloxidasas
TBARS	Teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico
TMA	Trimetilamina
USFDA	<i>United States Food and Drug Administration</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 OBJETIVO GERAL	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. REVISÃO DE LITERATURA	16
3.1 O CAMARÃO	16
3.2 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS NO POST-MORTEM.....	16
3.2.1 Perda da qualidade	16
3.2.2 Melanose	17
3.3 A TECNOLOGIA DE BARREIRAS NA CONSERVAÇÃO DO PESCADO	19
3.3.1 O cloro como agente saneante	20
3.3.2 A tecnologia do ozônio	21
3.3.3 Embalagem em atmosfera modificada (EAM)	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 MATÉRIA-PRIMA.....	27
4.2 DA ÁGUA OZONIZADA E ÁGUA CLORADA.....	27
4.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	28
4.4 MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE (MIQ)	28
4.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	30
4.5.1 Mesófilas e psicrotróficas	30
4.5.2 <i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva	31
4.5.3 <i>Salmonella</i> spp.	31
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	32
4.6.1 Potencial hidrogeniônico (pH)	32
4.6.2 Nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT) e nitrogênio de trimetilamina (N-TMA) . 32	
4.6.3 Teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)	33
4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	33
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1 ESQUEMA DO MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE (MIQ)	34
5.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	38
5.4 RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	41
6. CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXO A – IMAGENS DOS CAMARÕES AO LONGO DO ESTUDO DE VIDA DE PRATELEIRA UTILIZANDO O MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE	61
ANEXO B – RESULTADOS DO ÍNDICE DE QUALIDADE POR AVALIADOR	65

1. INTRODUÇÃO

Em 2014, a produção brasileira de camarão cultivado foi de 90.000 t, das quais 99,7% foram destinadas ao mercado interno, sendo exportado apenas 277 t, o que elevou a participação do camarão cultivado no mercado brasileiro de 22,0% (20.000 t), em 2003, para 99,7% (89.723 t) em 2014 (FAO, 2014). Segundo dados da Associação Brasileira de Criadores de Camarão (ABCC) no período de Janeiro a Outubro de 2016, o desempenho das exportações de camarão cultivado foi de 538 toneladas, sendo 408 toneladas oriundas do estado do Rio Grande do Norte e 130 toneladas do Ceará (ABCC, 2016)

A Região Nordeste vem assumindo uma importância social crescente no Brasil, com o cultivo do camarão, respondendo por 99% da produção nacional desse setor, que já conta com 2.400 produtores, sendo, portanto, o maior polo produtor de camarões no Brasil. Dentre os estados desta região, o Rio Grande do Norte e o Ceará se destacam e, entre os anos de 2008 a 2016, ambos contribuíram para que o camarão representasse naquele período cerca de 80% do total produzido na aquicultura marinha em todo o país (ABCC, 2016).

Considerando que o camarão é bastante apreciado pelos consumidores devido as suas características sensoriais, e em função de alguns aspectos de sua composição, como elevada umidade (entre 70% a 85%), é altamente perecível tendo uma vida de prateleira curta. Esses fatores, aliados a uma precária estrutura de comercialização, geralmente acaba resultando e perda de seu valor comercial (TSIRONI et al., 2009; FARIA et al., 2011).

A qualidade, vida de prateleira e segurança dos alimentos são determinados principalmente pelo início da deterioração e o crescimento de microrganismos patogênicos. A viabilidade do desenvolvimento de alimentos seguros é baseada na compreensão adequada do comportamento microrganismos, além dos fatores intrínsecos (pH, atividade de água, etc.) e extrínsecos (temperatura, ambiente, etc.) que são essenciais para avaliar e conduzir a vida de prateleira (McMEEKIN et al., 1993). Tendo em consideração estas características, e para evitar a deterioração indesejável, novos processos e técnicas de embalagem de alimentos vem crescendo na indústria do pescado.

A embalagem em atmosfera modificada (EAM) consiste na substituição do ar, no interior da embalagem, por uma mistura de gases como oxigênio (O₂), dióxido de carbono (CO₂) e nitrogênio (N₂) ao redor do produto. O aumento do prazo comercial deste método de conservação de alimentos deve-se ao efeito inibitório do CO₂ sobre os diferentes tipos

microbianos e à redução ou remoção do O₂ do interior da embalagem (MANTILLA et al., 2010).

Outros métodos também têm sido utilizados na redução da carga microbiana do pescado, como por exemplo, a tecnologia do ozônio, e que pode ser utilizada associada à outro método ou não (OLIVEIRA et al., 2008).

O gás ozônio é um dos mais potentes oxidantes que se conhece para utilização como bactericida, apresentando inúmeras vantagens, entre elas destaca-se a eficiência como desinfetante, além de ser um poderoso germicida que atua na destruição da classe dos fungos e bactérias, impossibilitando a proliferação desses organismos. O gás ozônio também possui a vantagem de reagir com a matéria orgânica, sem formação de qualquer subproduto tóxico, uma vez que o produto final é o oxigênio (GONÇALVES, 2016), o que permite a ingestão de alimentos tratados com ozônio, sem nenhum risco (CHIATTONE et al., 2008).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso combinado da tecnologia de ozônio com a tecnologia da embalagem em atmosfera modificada (100% CO₂), como alternativa ao uso do cloro para garantir a qualidade microbiológica, físico-química e sensorial, bem como o aumento da vida de prateleira do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) inteiro armazenado na temperatura de refrigeração (4°C) durante 12 dias.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a qualidade sensorial de amostras de camarão branco (*L. vannamei*) pré-tratadas com água ozonizada e água clorada (padrão) e armazenadas em atmosfera modificada (100% CO₂) na temperatura de refrigeração (4°C) durante 12 dias.
- Avaliar o índice de melanose de amostras de camarão branco (*L. vannamei*) pré-tratadas com água ozonizada e água clorada (padrão) e armazenadas em atmosfera modificada (100% CO₂) na temperatura de refrigeração (4°C) durante 12 dias.
- Avaliar a qualidade físico-química e microbiológica de amostras de camarão branco (*L. vannamei*) pré-tratadas com água ozonizada e água clorada (padrão) e armazenadas em atmosfera modificada (100% CO₂) na temperatura de refrigeração (4°C) durante 12 dias.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O CAMARÃO

O camarão pertencente a ordem Decapoda, pode ser marinho ou de água doce e obtido através da pesca extrativa (captura) ou de cultivo (carcinicultura). Na década de 90 houve cultivos testes com uma espécie de camarão exótico, o *Litopenaeus vannamei*, com o domínio do ciclo de vida, larvicultura e manejo reprodutivos desta espécie, a atividade observou um aumento significativo na produção (QUEIROZ et al., 2013).

O *Litopenaeus vannamei*, conhecido como “Camarão Branco do Pacífico” (Figura 1), demonstrou alta adaptabilidade às condições climáticas brasileiras, devido à rusticidade, rapidez no crescimento, ampla faixa de tolerância à salinidade e grande aceitação no mercado, transformando-se praticamente na única espécie cultivada comercialmente no país (NIRMAL; BENJAKUL, 2009).

Figura 1. O camarão branco do Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Fonte: Autor).

3.2 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS NO POST-MORTEM

3.2.1 Perda da qualidade

Segundo Vieira (2011) camarões são os animais aquáticos mais propensos a sofrerem alterações oxidativas, hidrolíticas e/ou microbiológicas graças à sua elevada atividade de água, composição química (gordura insaturada) e potencial hidrogeniônico (pH) próximo à

neutralidade. Possuem, também, maior nível de aminoácidos livres do que os peixes e contêm enzimas que hidrolizam as proteínas rapidamente, o que os torna alvos fáceis para o ataque de microbiota deteriorante. As enzimas proteolíticas presentes no suco gástrico e nos tecidos do camarão provocam a decomposição, propiciando a disseminação de microrganismos endógenos (BRANDÃO, 2007). Além da microbiota normal, os microrganismos contaminantes podem ser incorporados durante a captura e, principalmente, na sua manipulação (JAY, 2005; LIN; LIN, 2005; SOARES; GONÇALVES, 2012).

A deterioração do pescado se processa de acordo com as sucessões das etapas de *rigor mortis*, autólise e deterioração microbiana, sendo que a autólise acontece pela ação das enzimas endógenas, enquanto que a deterioração propriamente dita é resultante da ação de bactérias (OCAÑO-HIGUEIRA et al., 2009). Na medida em que essas etapas avançam vão se formando compostos indesejáveis para qualidade do pescado e conseqüentemente acontece à diminuição da vida de prateleira. Essa perda na qualidade deve-se a degradação do Trifosfato de Adenosina (ATP) e proteínas, queda do pH, oxidação lipídica, produção de composto nitrogenados voláteis e trimetilamina (TAVARES; GONÇALVES, 2011).

No processo de deterioração do camarão, surge o aparecimento gradual das seguintes características: maus odores (amoniacal, sulfídrico), alterações no sabor, perda do aspecto branco-perolado da carne, perda da elasticidade dos músculos da cauda, coloração amarela forte ou castanho amarelada ao extremo, falta de elasticidade na articulação normal dos distintos segmentos quitinosos, carne seca ou de extrema brancura, aparição de manchas negras sobre os somitos e na carne adjacente. A putrefação dos crustáceos é muito mais intensa do que a de peixes ou moluscos, daí a necessidade do uso de baixas temperaturas e tecnologias, o mais breve possível, como método de conservação (PEDRAJA, 1970; MADRID, 1998).

3.2.2 Melanose

Dentre os problemas de qualidade encontrados nos crustáceos, está a melanogênese, que se refere à formação da melanose, mancha preta ou *black spot* (Figura 2), é um dos resultados do processo de deterioração dos crustáceos, que consiste no escurecimento enzimático, principalmente, do cefalotórax e da carapaça desses animais (OGAWA et al., 1984). Ocasionalada devido a reações bioquímicas catalisadas por enzimas chamadas polifenoloxidasas (PPOs), a melanose nada mais é que o acúmulo de melanina – formada a

partir de compostos previamente incolores – sob o exoesqueleto do crustáceo (PARDIO; WALISZEWSKI; ZUÑIGA, 2011; GONÇALVES; OLIVEIRA, 2016).

Figura 2. As manchas pretas que indicam a melanose (GONÇALVES; OLIVEIRA, 2016).

A melanose em crustáceos é causada pela oxidação enzimática de compostos incolores chamados fenóis em quinonas, que sofrem polimerização não enzimática e dá origem aos pigmentos negros denominados melanina. A enzima-chave no processo de formação da melanose é a fenoloxidase (PO), também conhecida como polifenoloxidase, tirosinase, catecoloxidase, *o*-difenoloxidase ou monofenoloxidase, dependendo do tipo de fenol que utilizam como substrato (BENJAKUL et al., 2006; GONÇALVES; OLIVEIRA, 2016).

Essa coloração começa a aparecer dentro de horas após a despesca, ao entrarem em contato com o oxigênio atmosférico, caso os crustáceos não sejam refrigerados imediatamente, porém oscilações de temperaturas, bem como a interrupção da cadeia do frio também facilitam o processo de deterioração microbiológica e enzimática, uma vez que, até camarões congelados, após sofrerem descongelamento, também podem apresentar melanose (GOKOGLU; YERLIKAYA, 2008; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2008; GONÇALVES; OLIVEIRA, 2016).

Os produtos das reações que dão origem à melanose não são prejudiciais à saúde humana e não indicam, necessariamente, deterioração microbiana (NIRMAL; BENJAKUL, 2009; PHONPALA et al., 2009), entretanto, ocasiona danos aos atributos sensoriais, diminuindo a qualidade, vida de prateleira e, conseqüentemente ocasionando perdas monetárias para empresas que trabalham com pescado (MONTERO et al., 2004; GÓMEZ-GUILLÉN et al., 2005).

Com a finalidade de evitar perdas e ampliar a vida de prateleira dos crustáceos, é comum na indústria e entre produtores de camarão o uso de diversas tecnologias, como por exemplo, a embalagem em atmosfera modificada. Oliveira et al (2013) utilizou o Método de Índice de Qualidade (MIQ) para mensurar a vida de prateleira do camarão bem como o grau de melanose em *Litopenaeus vannamei* submetidos ao tratamento antimelanósico e embalados em atmosfera modificada e ar. Observou-se uma maior presença de melanose no grupo controle. Uma vez que, eliminando um ou mais componentes essenciais durante a cascata de reações destes animais, como o oxigênio, irá inibir ou prevenir o processo da melanose e, consequentemente, a qualidade deste produto (SIVERTSVIK et al., 2002).

3.3 A TECNOLOGIA DE BARREIRAS NA CONSERVAÇÃO DO PESCADO

A utilização isolada de alguns métodos de conservação, algumas vezes não é suficiente para deter o crescimento microbiano e as alterações que estes poderão provocar nos alimentos e na saúde daqueles que o consumirem. Nesses casos há necessidade da utilização de mais de um processo de conservação, em que os métodos irão atuar em complementação a ação do outro. Tecnologia de barreiras, métodos combinados e preservação combinada estão entre algumas das denominações deste conceito. Alimentos baseados em métodos de preservação combinados (teoria das barreiras) são prioritários em países industrializados bem como nos em desenvolvimento. Com a combinação de fatores ou barreiras busca-se interferir de forma cooperativa com os mecanismos homeostáticos (passivos ou ativos), dos microorganismos, somando fatores que atuam aditiva ou sinergicamente. A atuação sinérgica desses fatores melhora a estabilidade (aumento da vida útil) e, consequentemente a qualidade do alimento, tornando-o inócuo à saúde do consumidor (OLIVEIRA; GONÇALVES, 2011).

Os fatores combinados para garantir um produto seguro podem ser físicos, químicos, microbiológicos ou mistos (LEISTNER; GORRIS, 1995), sendo os mais importantes a temperatura, a atividade da água (a_w), a acidez (pH), o potencial redox (Eh), a presença de microrganismos competitivos – como a presença de bactérias do ácido lático – e o uso de conservantes, como nitritos e sulfitos (YUAN, 2003). No que diz respeito ao aumento de vida útil de camarão, além da refrigeração e embalagem em atmosfera modificada, podem ainda incluir outras barreiras ao crescimento dos microrganismos, que podem ser inerentes à matéria-prima ou introduzidas durante o processamento, como por exemplo, o uso da tecnologia do ozônio (ZEUTHEN, 2002).

3.3.1 O cloro como agente saneante

As principais características de um bom saneante são: não ser corrosivo aos materiais encontrados nas indústrias; não ser tóxico e irritante para os manipuladores; ser de fácil enxágue; ser econômico; ter uma ação rápida e ser suficientemente estável para o armazenamento. Como não existem sanificantes que possuam todas essas características, bem como, que atendam a todas as necessidades em um único produto, faz-se necessário uma avaliação rigorosa das propriedades dos mesmos, suas vantagens e desvantagens de utilização antes da escolha final. A atividade germicida dos sanificantes utilizados nas indústrias de alimentos depende de algumas condições como: limpeza prévia do local; monitoração das variáveis físico-química dos sanificantes; tempo de contato com a superfície; tipo de superfície; espécie e concentração dos microrganismos a destruir (ANDRADE; MACEDO, 1996). O cloro, sob a forma de hipoclorito de sódio, tem sido o composto químico muito utilizado para garantir a qualidade microbiológica da água e dos alimentos. Comparativamente com outros desinfetantes, ele é de baixo custo e de fácil acesso, estando amplamente disponível no comércio (ANDRADE; MACEDO, 1996).

No entanto, a experiência com resistência à antibióticos e biocidas indica que não há agente químico antimicrobiano que não possa, eventualmente, selecionar ou induzir resistência nos microrganismos. Especificamente frente ao cloro, existem evidências de que vários microrganismos apresentam diferentes graus de resistência a esse antimicrobiano (DYCHDALA, 1991). O uso de cloro ao longo da história da indústria provou ser ineficaz no controle do crescimento bacteriano, resultando em uma vida útil menor, e, inadvertidamente, impondo um produto químico potencialmente nocivo sobre o público consumidor (BROOKS; PIERCE, 1990).

De acordo com Prince (2010), as concentrações elevadas de cloro podem afetar a qualidade sensorial do produto. Nesse sentido, a agência Canadense de Inspeção de Alimentos estabelece o limite de até 10ppm para soluções que entram em contato direto com o pescado. A cloração produz nuvens de cloro e derivados de hidrocarbonetos nocivos (THMs) durante o tratamento, que são mutagênicos, tóxicos e carcinogênicos em água, em alimentos ou em superfícies de contato (SILVA et al., 2011). O *Codex Alimentarius* (2000), também permite o limite máximo de até 10ppm de cloro residual livre, já o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) recomenda que as indústrias utilizem 5ppm de cloro na água usada para lavagem de pescado.

3.3.2 A tecnologia do ozônio

O *Codex Alimentarius* define o ozônio como agente antimicrobiano e desinfetante para utilização em gêneros alimentícios, tanto na água, destinada ao consumo direto (como no gelo) ou substâncias para consumo indireto (como a água utilizada para a conservação de peixe, produtos agrícolas e outros alimentos perecíveis) (GONÇALVES, 2016).

O ozônio é considerado um dos oxidantes mais poderosos que se conhece, possuindo uma grande capacidade de desinfecção e esterilização, comparando com o cloro, e apresenta um menor tempo para realizar a desinfecção (GONÇALVES; KECHINSKI, 2011, GONÇALVES, 2016). A primeira propriedade permite que o ozônio possa oxidar uma série de compostos inorgânicos e orgânicos. Ao ser comparado a outros agentes oxidantes, o ozônio se destaca pelo elevado potencial de oxidação (2,07 mV). Dentre as substâncias químicas ordinárias, somente o flúor (3,06 mV) possui um potencial de redução maior que o ozônio (SILVA; GONÇALVES, 2016). O mecanismo de destruição dos microrganismos é o que basicamente diferencia o ozônio de outros agentes. O cloro, especificamente, atua por difusão através da parede celular, agindo sobre enzimas, proteínas, DNA e RNA. O ozônio, por apresentar uma capacidade de oxidação superior, age diretamente na parede da célula, causando sua ruptura e morte em menor tempo de contato, inviabilizando a recuperação dos microrganismos após o ataque (CHIATTONE et al., 2008).

O ozônio é encontrado em forma natural na atmosfera, ou pode ser produzida por equipamentos (KIM, 2012). A técnica mais importante comercialmente é por descarga elétrica, conhecida como efeito corona, pois gera uma quantidade maior de ozônio com menor custo (SILVA et al., 2011). Nesse método, o ozônio é gerado pela passagem de ar ou oxigênio puro entre os dois eletrodos, um de alta tensão e outro de baixa tensão, submetidos a uma elevada diferença de potencial elétrico de, aproximadamente, 10.000 V. Quando os elétrons possuem energia suficiente para dissociar a molécula de oxigênio, começam a ocorrer colisões, que causam a dissociação do oxigênio e a consequente formação do ozônio. Nesse método, a produção de ozônio varia dependendo da diferença de potencial, da frequência da corrente elétrica, da constante dielétrica e do espaço de separação entre os eletrodos (GONÇALVES; KECHINSKI, 2011; SILVA et al., 2011; GONÇALVES, 2016).

Segundo Brooks e Pierce (1990), a tecnologia do ozônio tem várias vantagens significativas sobre suas alternativas químicas: pode ser gerado no local; são um dos desinfetantes mais ativos (agentes oxidantes prontamente disponíveis) disponíveis comercialmente para o tratamento de soluções aquosas e misturas gasosas contaminadas com

poluentes e/ou microrganismos oxidáveis; embora apenas parcialmente solúvel em água, seja suficientemente solúvel e estável de modo que as suas propriedades de oxidação e/ou desinfecção possam ser utilizadas com vantagem; à medida que o ozônio realiza o seu trabalho de oxidação/desinfecção, ou quando se decompõe automaticamente, o produto final estável do próprio ozônio é oxigênio e reagem com uma grande variedade de compostos orgânicos, os subprodutos orgânicos oxidados da ozonização é o oxigênio, o ozônio é seguro de manusear porque não pode ser armazenado e, portanto, deve ser gerado e usado no local (GONÇALVES, 2016).

O ozônio também apresenta outras desvantagens: alto custo de capital comparado com outras técnicas de oxidação/desinfecção, a geração de ozônio atualmente mais econômica é em quantidades comercialmente significativas (por descarga corona) é um processo eletricamente ineficiente devido ao fato de que mais de 75% da energia elétrica enviada a um gerador de descarga em coroa é convertida em calor e luz. Portanto, o principal custo operacional da produção de ozônio ainda é a energia elétrica. No entanto, faltam estudos em plantas industriais sobre o custo-benefício no processo de ozonização. Mesmo dado este fato, o ozônio pode ser e é muitas vezes mais custo-efetivo do que as técnicas de tratamento alternativo; enquanto o ozônio é um potente oxidante e pode reduzir os níveis de bactérias em cultura pura, é mais difícil o seu uso em operações de processamento de alimentos onde existem bactérias dentro de material orgânico; uma vez que o ozônio é o agente oxidante mais potente disponível, é também potencialmente o mais perigoso dos oxidantes (GONÇALVES, 2016).

O uso de ozônio no processamento de alimentos vem sendo aplicado na indústria de alimentos, como resultado da aprovação pela *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos (USFDA) como agente antimicrobiano em alimentos e a multifuncionalidade das aplicações do ozônio torna-o um agente promissor (GONÇALVES; KECHINSKI, 2010, GONÇALVES, 2016). Esse agente oxidante é bastante utilizada na indústria de processamento de alimentos na forma gasosa ou dissolvida em água, e têm sido utilizado como um bactericida em uma vasta gama de produtos alimentares (CHAWLA, 2006; SILVA; GONÇALVES, 2014). Essa tecnologia é usada para estender a vida de prateleira de alimentos perecíveis retardando a decomposição causada por microrganismos (SILVA et al., 2011). Com ampla utilização na aquicultura para atingir desinfecção de água e melhoria de qualidade. Tem como vantagens, uma rápida velocidade de reação e o oxigênio como o produto final da sua reação (SUMMERFELT; HOCHHEIMER, 1997).

Dados da literatura relatam a redução da carga microbiana do músculo do peixe após o tratamento com água ozonizada (SILVA; GONÇALVES, 2016). Bono e Badalucco (2012) estudaram a eficiência da água ozonizada (0,3 ppm) combinada com a atmosfera modificada no processamento do salmonete listrado (*Mullus surmuletus*). O uso combinado da água ozonizada com atmosfera modificada atrasou o crescimento bacteriano no músculo do peixe, apresentando baixos níveis de contagem total de mesófilos quando comparada com as amostras controle. Portanto, o tratamento água ozonizada associada à embalagem com atmosfera modificada prorroga o prazo de validade do pescado mantendo a segurança e a qualidade do alimento.

3.3.3 Embalagem em atmosfera modificada (EAM)

A embalagem em atmosfera modificada consiste em substituir a atmosfera que rodeia o produto no momento da embalagem por outra (um gás ou mistura conhecida de gases), especialmente preparada para cada tipo de alimento, permitindo controlar melhor, as reações químicas, enzimáticas e microbiológicas, evitando ou minimizando as principais degradações produzidas durante o período de armazenamento (MANTILLA et al., 2010; MASNIYOM, 2011). Os objetivos da EAM são prevenir (ou pelo menos retardar) qualquer alteração indesejável nas características sensoriais, nutritivas e microbiológicas nos alimentos e estender o prazo comercial de produtos alimentícios. EAM atinge seus objetivos baseados em três princípios: redução de alterações fisiológicas, químicas, bioquímicas e físicas indesejáveis nos alimentos; controle do crescimento microbiano e prevenção da contaminação do produto (FARIA et al., 2011; GONÇALVES, 2012).

A modificação da atmosfera no interior da embalagem pode ser conseguida mediante mecanismos ativos ou passivos. A modificação ativa envolve duas técnicas diferentes: gás *flushing* e vácuo compensado. Na técnica do *gás flushing* ou de nivelamento do gás, o gás é introduzido continuamente na embalagem diluindo o ar presente, sendo, no fim, a embalagem selada. Na técnica do vácuo compensado ocorre a passagem do produto por uma bandeja e remoção do ar. O vácuo é rompido pela mistura de gases apropriada e a embalagem é selada com calor (SMITH et al., 1990; BLAKISTONE, 1999).

O sucesso da utilização da EAM está intimamente relacionado à qualidade dos materiais utilizados no envase do produto (CANN, 2001). Estes têm como finalidade manter a atmosfera interna isolada do ambiente externo. Usados para proteger os produtos contra os

efeitos deterioradores, conter o produto, comunicar ao consumidor como uma ferramenta de marketing, e fornecer aos consumidores com facilidade de uso e conveniência. Entre os filmes comumente empregados para a EAM incluem-se: policloreto de vinila, polipropileno, poliestireno, nylon e o polietileno (JAN et al., 2014).

Na EAM são utilizados três tipos de gases: o oxigênio (O_2), o dióxido de carbono (CO_2) e o nitrogênio (N_2). Utilizados isoladamente ou em combinação, estes gases são vulgarmente utilizados estender a vida útil dos alimentos com segurança em suas propriedades sensoriais. A escolha da mistura destes gases é influenciada pela microbiota e sensibilidade do alimento ao O_2 e ao CO_2 , bem como pela estabilidade da cor desejada (ZHANG et al., 2008; MANTILLA et al., 2010; MASNIYOM, 2011; FARIA et al., 2011; GONÇALVES, 2012).

O O_2 é o responsável pela coloração vermelho-brilhante da carne fresca, por se ligar à hemoglobina formando o complexo oximioglobina, sendo utilizado em embalagens com o intuito de melhorar a aparência dos produtos cárneos (PHILLIPS, 1996). A presença do O_2 em grandes proporções induz ao aparecimento do ranço, devendo ser evitado, principalmente em peixes gordos, por favorecer o processo de rancificação oxidativa, gerando sabor e odor desagradáveis, levando a uma redução no prazo de vida comercial desses produtos (STAMMEN et al., 1990; MASNIYOM, 2011; FARIA et al., 2011).

O CO_2 é considerado por Sivertsvik et al. (2002) o gás mais importante da EAM de pescado, e é o principal gás utilizado nas embalagens com atmosfera modificada de produtos de pescado, devido às suas propriedades bacteriostáticas e fungistáticas. Ele inibe o crescimento de microrganismos associados à deterioração, sendo essa inibição proporcional a sua concentração na atmosfera. Stammen et al. (1990) afirmam que elevadas concentrações de CO_2 em EAM têm demonstrado boa inibição da microbiota normal de decomposição do pescado, duplicando ou triplicando o seu prazo de vida comercial. Entretanto o CO_2 não retarda o crescimento de todos os microrganismos, e seu efeito inibidor aumenta com a diminuição da temperatura, em decorrência do aumento da sua solubilidade (PARRY, 1993; SIVERTSVIK et al., 2002; FLOROS e MATSOS, 2005).

O N_2 é um gás insípido, incolor, inodoro e insolúvel em água e gordura, sendo utilizado, principalmente, para substituir o O_2 , retardando a oxidação e prevenindo o aparecimento do ranço, além de não ser absorvido pelo alimento, portanto, neutraliza a prostração da embalagem como resultado do CO_2 dissolvido. Indiretamente também pode influenciar na preservação de produtos perecíveis, por dificultar o desenvolvimento dos

microrganismos aeróbios responsáveis pela decomposição (CHURCH, 1994; MASNIYOM, 2011; SIVERTSVIK et al., 2002).

As principais vantagens do uso da atmosfera modificada é o aumento da vida útil do produto; a possibilidade da diminuição, total ou parcial, de aditivos químicos, sendo um método de preservação ideal para vários alimentos, aumentando a proteção sem afetar as características de frescor; aumento da margem de lucros dos pontos de venda de produtos frescos e refrigerados (FLOROS; MATSOS, 2005). A EAM vem demonstrando, de acordo com recentes estudos (Tabela 1), ser uma técnica muito eficiente para aumentar a vida útil de do pescado. Além disso, a sua combinação com outras tecnologias e processos pode potencializar ainda mais a atividade antimicrobiana, fornecendo uma maior extensão e segurança destas amostras analisadas (SIVERTSVIK et al., 2002; CAMPUS et al., 2011; PROVINCIAL et al., 2013).

Tabela 1. Uso de EAM visando aumento de vida de prateleira do pescado.

Espécie	Mistura de Gás	Proporção Gás:Peixe	Outra tecnologia	Temperatura armazenamento (°C)	Parâmetros físico-químicos	Parâmetros microbiológicos	Vida Útil (dias)	Referência
Salmonete (<i>Mullus surmuletus</i>)	50%CO ₂ + 50%N ₂	2:1	Ozônio	1	pH, N-BVT, TMA e Índice de Peróxido	Contagem total de bactérias	18	Bono e Badaluco (2012)
Lagosta (<i>Nephrops norvegicus</i>)	10%O ₂ +80% CO ₂ +10%N ₂	3:1	-	1	-	Contagem total de bactérias	13	Gornik et al. (2013)
Cavala (<i>Scomberomorus commerson</i>)	70%CO ₂ + 30%N ₂	2:1	Acetato de sódio	0±2	TMA	Contagem de bactérias aeróbias, Pseudomonas, Bactéria do Ácido Lático	28	Yesudhasan et al. (2014)
Merluza (<i>Merluccius hubbsi</i>)	55%CO ₂ + 45%N ₂	2:1	Quitosana + Nisina + Lactato de Sódio	4	pH, N-BVT e TMA	Bactéria do Ácido Lático, Proteolíticas, Mesófilos e <i>L. inócua</i>	30	Schelegueda et al. (2016)
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	80%CO ₂ + 20%N ₂	2:1	Radiação UV-C	4	pH, TMA, N-BVT, Oxidação lipídica, amônia aminasbiogêni cas	Mesófilas, Psicrófilas e Contagem de <i>Enterobacteriaceae</i>	22	Rodrigues et al. (2016)
Camarão branco do Pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	40% de CO ₂ + 10% de O ₂ + 50% de N ₂	3:1	Água electrolizada	-18	N-BVT, TMA, TBARS, textura, cor e análise de aroma	Contagem total de bactérias e <i>S. aureus</i>	100	Zhang et al. (2015)
Camarão vermelho (<i>Aristaeomorpha foliacea</i>)	50% N ₂ + 50% CO ₂	2:1	Congelamento	-18	pH, N-BVT, TMA e aminoácido livre	-	365	Bono et al. (2016)
	100% N ₂	1:1					365	

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA-PRIMA

As amostras de camarões (*Litopenaeus vannamei*) foram obtidas de fazendas de carcinicultura localizada nas proximidades da cidade de Mossoró (RN), previamente abatidas por choque térmico em água e gelo, imediatamente acondicionados em caixas isotérmicas com gelo em escamas, na proporção de 1:1, e transportadas ao Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado (LAPESC/UFERSA), onde foram mantidos em gelo até o início dos experimentos, tempo que não ultrapassou 1 hora.

4.2 DA ÁGUA OZONIZADA E ÁGUA CLORADA

A obtenção de água ozonizada foi realizada no Laboratório de Tecnologia e Controle de Qualidade do Pescado – LAPESC, através de um gerador de ozônio (O3R Philozon) por descarga elétrica (por efeito corona) em oxigênio purificado, utilizando um secador de ar e concentrador de oxigênio (mínimo de 90% de O₂) projetado para sistemas geradores de ozônio em planta industrial. O ozonizador foi configurado para produção de ozônio faixa desejada (Set Point: ORP 940|960 mV; Valor medido: 955 mV), mantendo a concentração de ozônio residual em 1ppm, em água na temperatura de 15°C. O sistema permaneceu em recirculação para garantir a manutenção da concentração de ozônio durante o experimento. A concentração de ozônio residual (mgO₃/L) presente na água foi mensurada pelo método índigo colorimétrico oficial (APHA, 1995).

A obtenção da água clorada foi realizada no LAPESC. Onde a concentração de água clorada na concentração de 5ppm foi obtida pela diluição do hipoclorito de sódio em água destilada (0,5 ml de hipoclorito de sódio por 10 litros de água), segundo as orientações de SEAP (2007).

4.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento experimental foi seguido conforme fluxograma apresentado na Figura 3. Os camarões mantidos em gelo foram divididos em três tratamentos: 1) Não lavado (grupo controle); 2) Lavado com água clorada (5ppm/10min); e 3) Lavado com água ozonizada (1ppm/10min) em temperatura de 15°C. Após 10 minutos de lavagem por imersão, os camarões foram drenados e embalados em duas condições de atmosferas: no ar atmosférico e com 100% CO₂. Todas as amostras foram armazenadas sobre refrigeração (4±1°C) durante 12 dias para a realização das análises microbiológicas, físico-químicas e sensorial.

Figura 3. Fluxograma do planejamento experimental

4.4 MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE (MIQ)

O Método do Índice de Qualidade é um sistema de controle de qualidade do frescor do pescado e baseia-se na avaliação objetiva dos principais atributos sensoriais de cada espécie avaliada, através de um sistema de pontos de demérito. Embora o MIQ seja uma ferramenta importante para prever o fim da validade comercial ou o tempo de rejeição, ele deve ser estimado com o apoio de outros métodos de avaliação, como as análises microbiológicas e físico-químicas (MARTINS DÓTTIR et al., 2003; HYLDIG et al., 2011, SANT'ANA et al., 2011).

Seis avaliadores previamente treinados conduziram o experimento, de acordo com o esquema MIQ desenvolvido por Oliveira (2013) apresentado na Tabela 1. Os parâmetros de qualidade observados nas amostras foram: aroma, presença de melanose, textura, aderência da cabeça, aderência da carapaça e aparência geral. As análises sensoriais ocorriam após ser realizada a amostragem para os testes microbiológicos. A análise sensorial acontecia no mesmo horário nas datas predeterminadas, em ambiente adequado no interior do laboratório, e aos panelistas não era permitido discutir as amostras entre si. O Índice de Qualidade (IQ) representou a soma de todos os pontos de demérito de determinada amostra, variou entre 0 e 36. O Índice de Melanose (IM) foi avaliado considerando o escore recebido pela amostra nessa categoria, e variou entre 0 e 10 pontos deméritos.

Tabela 2. Esquema do MIQ desenvolvido para esta pesquisa

Parâmetro de qualidade	Descrição	Escore
Aroma	Fresco, suave de algas marinhas	[0]
	Fraco, lembrando o mar (maresia)	[2]
	Amoniacal fraco	[4]
	Amoniacal forte, pútrido	[6]
Melanose	Ausente	[0]
	Pouca, pequenos pontos pretos isolados, presentes em até 50% dos camarões da amostra	[2]
	Moderada, pequenos pontos pretos isolados, presentes em mais de 50% dos camarões da amostra	[4]
	Moderada, manchas pretas presentes em até 50% dos camarões da amostra	[6]
	Muita, manchas pretas presentes em mais de 50% dos camarões da amostra	[8]
	Muita, manchas pretas presentes em 100% dos camarões da amostra	[10]
Textura	Normal	[0]
	Amolecida	[2]
Aderência da carapaça	Fortemente aderida	[0]
	Aderência média	[2]
	Aderência fraca	[4]
Aderência da cabeça ao corpo	Fortemente aderida	[0]
	Aderência média	[2]
	Aderência fraca	[4]
Aparência geral	Excelente	[0]
	Ótima	[2]
	Boa	[4]
	Ruim	[6]
	Péssima	[8]
	Inaceitável	[10]
Índice de Qualidade (IQ)		0-36

Fonte: Oliveira (2013).

4.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Para avaliar a eficiência antimicrobiana do cloro comparado com o ozônio, a análise microbiológica foi realizada antes e depois do pré-tratamento, e ao longo do armazenamento sob atmosfera modificada (tempos de armazenamento: 0, 3, 6, 9 e 12).

As amostras foram retiradas assepticamente, acondicionadas em caixa isotérmica, e transportadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA/UFERSA) onde foram submetidas às análises microbiológicas, de acordo com a metodologia descrita na Instrução Normativa N°62 (BRASIL, 2003). Foram realizadas análises exigidas pela legislação vigente (BRASIL, 2001) para pescado fresco (*Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*) além da contagem total de mesófilos e contagem total de psicotróficas.

4.5.1 Mesófilas e psicotróficas

Foram realizadas três diluições decimais que serviram tanto para a contagem de mesófilas quanto de psicotróficas e de *S. aureus*. De cada amostra foram pesados 25 g de músculo de camarão (descabeçado e descascado) e adicionados a 225 mL de água peptonada tamponada, em seguida essa mistura foi homogeneizada em *stomacher* durante 60 segundos. A partir dessa primeira diluição chamada “diluição 10-1 ou D1”, foi retirado 1mL para ser posto em tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada tamponada, sendo essa a “diluição 10-2 ou D2”. Desta segunda diluição, mais 1mL foi retirado e colocado em outro tubo de ensaio também contendo 9 mL de água peptonada tamponada, esta era “diluição 10-3 ou D3” (BRASIL, 2003). Para realizar a contagem de bactérias mesófilas das amostras cultivou-se 1mL de cada uma das suas três diluições em placas de Petri contendo PCA fundido. Depois da homogeneização esperava-se o ágar endurecer, para em seguida, incubar as placas, invertidas, em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 horas. As bactérias psicotróficas também eram cultivadas em placas de Petri contendo PCA, no entanto, estas eram incubadas, invertidas, em refrigerador a $7 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 7 dias. Após o devido período (48 horas para mesófilas e 7 dias para psicotróficas) eram contadas todas as UFC (Unidade Formadora de Colônias), nas placas que continham entre 25 e 250 colônias (BRASIL, 2003).

4.5.2 *Staphylococcus aureus* coagulase positiva

No teste para *S. aureus*, as diluições foram realizadas conforme o item anterior. As placas de Petri contendo ágar Baird-Parker (B-P) enriquecido com emulsão de gema de ovo foram preparadas com antecedência e mantidas em ambiente estéril para que o ágar endurecesse. No momento da realização da análise, 0,1 mL de cada diluição era espalhado na superfície do ágar endurecido, com o auxílio da alça de Drigalski, para que as colônias crescessem sobre o meio de cultura, facilitando seu isolamento (BRASIL, 2003). As placas foram incubadas, invertidas, em estufa bacteriológica, durante 48 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Depois disso, a contagem das colônias nas placas que contenham entre 20 e 200 UFC foi feita. A partir das placas contadas, foram selecionadas colônias típicas (negras com halo claro) e atípicas (acinzentadas sem halo), que por sua vez, eram semeadas, separadamente, em tubos de ensaio contendo 3mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion), para serem incubadas novamente em estufa bacteriológica durante 24 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ (BRASIL, 2003). Finalmente, 0,3 mL de cada tubo contendo caldo BHI foram transferidos para tubos contendo 0,3 mL de plasma de coelho, que eram incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 6 horas para verificar se havia presença de estafilococos coagulase positiva, de acordo com a reação de coagulação que ocorria dentro do tubo (BRASIL, 2003).

4.5.3 *Salmonella* spp.

A presença de *Salmonella* spp. foi avaliada através de uma série de quatro passos estabelecidos pela Instrução Normativa nº62 (BRASIL, 2003). O primeiro é o pré-enriquecimento, que consistiu em adicionar 25 g de amostra a 225 mL de água peptonada, homogeneizar essa mistura em stomacher por 60 segundos e incubá-la em estufa bacteriológica durante 20 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. O segundo passo chama-se enriquecimento seletivo, onde 0,1; 1,0 e 1,0mL da amostra pré-enriquecida foram adicionados a tubos de ensaio contendo 10 mL dos caldos Rappaport-Vassiliadis, Selenito-Cistina e Tetracionato, respectivamente. Esses tubos foram incubados em banho-maria a $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$ durante 24 horas. O terceiro passo é o isolamento, nessa etapa foram repicadas colônias a partir de cada um dos caldos de enriquecimento seletivo e as mesmas foram semeadas fazendo estrias em placas de Petri com ágar EMB (*Eosine Methylene Blue*) e em placas com ágar SS (*Salmonella Shigella*), posteriormente elas eram incubadas, invertidas, em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. O último passo é a identificação bioquímica, que era primeiramente realizado

isolando as culturas típicas de *Salmonella* spp. dos meios EMB e SS, e inoculando-as em outros dois meios: o ágar TSI (*Triple Sugar Iron*) e o ágar LIA (*Lysine Iron Agar*). Os tubos de ensaio com esses meios foram incubados em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, em seguida as mudanças ocorridas na coloração dos meios eram observadas individualmente, aqueles que apresentarem alterações consistentes com a presença de *Salmonella* spp. (TSI com fundo amarelado e bisel avermelhado; LIA inalterado) foram considerados positivos e repicados para tubos de ensaio contendo o ágar ureia, e mais uma vez incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 horas. Finalmente, se a coloração amarela do ágar ureia permanecesse inalterada, significava que as colônias eram urease negativa, ou seja, eram colônias de bactérias *Salmonella* spp., caso contrário, elas adquiriam coloração rosada, sendo consideradas urease positivas, portanto negativas para *Salmonella* spp.

4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As amostras foram preparadas (trituras para obter uma amostra homogênea) para serem utilizadas nas seguintes análises: pH, nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT), o nitrogênio de trimetilamina (N-TMA) e o teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS). Todas as análises foram conduzidas em triplicata, e realizadas nos tempos: 0, 3, 6,9 e 12 dias.

4.6.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi aferido com o pHmetro (IAL, 2008). As amostras (10g) foram homogeneizadas com 50 mL de água destilada, em temperatura ambiente, e o pH foi determinado pelo o aparelho previamente calibrado. A análise foi realizada em triplicata.

4.6. Nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT) e nitrogênio de trimetilamina (N-TMA)

Para determinação do N-BVT e da N-TMA foi utilizado o protocolo do LANARA (BRASIL, 1981). Inicialmente, 50 g de músculo de cada amostra foram pesados em balança analítica e, após serem adicionados 150 mL de ácido tricloroacético 10%, foram triturados dentro de beakers com auxílio de pistilos. Após ser homogeneizada, a mistura foi filtrada (papel filtro quantitativo 110 mm) em balões volumétricos de base chata para a

obtenção de extrato límpido. Desse extrato foram retirados 5mL e transferidos para tubo digestor, que por sua vez foi acoplado ao aparelho destilador de nitrogênio Tecnal® Modelo TE-0363, e pouco antes de iniciar a destilação recebeu 5 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2 M. A destilação era então promovida e o destilado era coletado em erlenmeyer contendo 5 mL de ácido clorídrico 0,01N e três gotas do indicador ácido rosólico, até que se chegasse ao volume de 50 mL de uma solução límpida, totalmente transparente. Depois das etapas acima citadas, o destilado transparente foi submetido à titulação do excesso de ácido com NaOH 0,01N até que uma coloração rósea pálida fosse alcançada. Essa primeira titulação refere-se ao valor de N-BVT, para calcular a TMA foram adicionados 5mL de formaldeído 16%, de forma que a solução voltasse a ficar transparente e uma segunda titulação com NaOH 0,01N foi realizada até que o líquido ficasse novamente rosado.

4.6.3 Teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS)

O TBARS foi determinado, através do método descrito por Tarladgis et al. (1960), afim de avaliar o desencadeamento do processo de oxidação lipídica após o tratamento com água ozonizada e clorada. A reação foi medida espectrofotometricamente em comprimentos de onda de 538nm. As amostras foram analisadas em triplicata. Os resultados do índice de TBARS foram expressos em mg/kg.

4.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A distribuição dos dados foi testada com o teste de normalidade Shapiro-Wilk antes de eles serem submetidos á *One-way* ANOVA. Posteriormente, o teste de Tukey foi utilizado para comparar médias e determinar diferenças significativas com $p=0,05$. Os dados foram tabulados em MS Excel, os testes estatísticos realizados no programa STATISTICA (StatSoft), e os gráficos foram feitos no *software* SigmaPlot for Windows V. 13 (Systat Software, Inc.). Os dados obtidos na avaliação sensorial foram submetidos à análise de regressão linear simples. A equação da regressão linear simples e o coeficiente de correlação (r_2) entre o IQ e o tempo de armazenamento em gelo, foram calculados utilizando o *software* SigmaPlot for Windows V. 13 (Systat Software, Inc.).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESQUEMA DO MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE(MIQ)

Os valores de IQ referentes aos atributos de qualidade aumentaram com o tempo de estocagem (Figura 4) em todos os tratamentos. Observa-se que as amostras Controle AR e Cloro AR (Figura 4A e C) perderam qualidade mais rapidamente que as amostras Controle ATM, Cloro ATM, Ozônio AR e Ozônio ATM (Figura 4B, D, E, F).

Sveinsdóttir et al. (2003) verificaram em seus estudos de MIQ com pescado que os escores se tornaram menos inconstantes à medida que o tempo de estocagem aumentava porque as mudanças se tornam mais evidentes com o tempo de armazenamento. Entretanto, apesar das pontuações do presente estudo seguirem a mesma tendência de concordância com os referidos autores para o primeiro e último dia de estocagem, houve uma variação maior nas amostras de Controle (AR e ATM) e Cloro (AR e ATM), principalmente a partir do 6º dia de armazenamento, podendo ser considerado como o período intermediário entre o aceitável e o inaceitável sensorialmente, enquanto que as amostras tratadas com Ozônio só apresentaram mudanças a partir do 9º dia de estocagem, sendo mais expressiva no tempo 12. As amostras Controle e Cloro no tempo 12 já apresentavam um aumento no IQ, uma vez que, neste dia de avaliação, observou-se uma grande quantidade de muco viscoso, cheiro amoniacal forte e textura mole dos camarões analisados.

No início da estocagem, o odor foi descrito pelos julgadores como fresco e/ou suave de algas marinhas, passando a fraco (maresia) e nos estágios finais foi descrito como amoniacal fraco e posteriormente amoniacal forte ou pútrido, principalmente nas amostras sem tratamento com ozônio e que não foram embalados em atmosfera modificada, apenas no ar atmosférico. Alterações semelhantes foram verificadas por Yamagata e Law (1995) para *Penaeus merguensis* estocados em gelo, onde mantiveram o odor característico de algas marinhas por dois dias, com o desenvolvimento de fraco odor amoniacal no quarto dia de estocagem e após seis dias, odor de ureia foi detectado

Figura 4. Curva de calibração do Índice de Qualidade (IQ) para o camarão branco do Pacífico (*L. vannamei*) inteiro estocado em gelo por 12 dias: (A) Grupo Controle Ar Atmosférico; (B) Grupo Controle Atmosfera Modificada; (C) Grupo Cloro Ar Atmosférico; (D) Grupo Ozônio Ar Atmosférico; (E) Grupo Cloro Atmosfera Modificada; e (F) Grupo Ozônio Atmosfera Modificada.

Resultados semelhantes podem ser observados em pesquisas com pescado, tais como Oliveira et al. (2005), Ozogul et al. (2009), Nirmal e Benjakul (2011), Oliveira (2013). De acordo com Guzmán (1994), o meio mais alcalino favorece a atividade das desaminases, o pH do camarão com o tempo de estocagem tende para a alcalinidade, gerando condições favoráveis para a elevação do teor de amônia.

Segundo Oliveira et al. (2009) o índice máximo para que o camarão seja ainda considerado sensorialmente aceitável é 65% do IQ Máximo (36 pontos). Dessa forma, escores acima de 23,4 pontos não são mais considerados aceitáveis. Com base nos escores recebidos, nas alterações sensoriais ocorridas em função do tempo, e através da equação de regressão linear obtida foi possível prever a vida de prateleira das amostras (Tabela 3).

Tabela 3. Estimativa da vida de prateleira através de regressão linear considerando IQ mais aceitável do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).

	Modelo de regressão linear	r ²	Vida de prateleira (dias)
Controle AR	$y = 3,222 x - 1,002$	0,9594	7,57
Controle ATM	$y = 2,733 x - 2,202$	0,9495	9,37
Cloro AR	$y = 3,003 x - 3,668$	0,9399	9,01
Cloro ATM	$y = 2,433 x - 4,466$	0,8550	11,45
Ozônio AR	$y = 1,700 x - 1,468$	0,9105	14,63
Ozônio ATM	$y = 1,056 x - 2,134$	0,7934	24,18

y = IQ máximo aceitável (65% do total dos pontos de deméritos, i.e., 23,4); x = dias refrigerado; r² = coeficiente de regressão; AR = embalado sob ar atmosférico; ATM = embalado sob 100% CO₂; Cloro = amostras lavadas previamente com água clorada (5ppm); Ozônio = amostras lavadas previamente com água ozonizada (1ppm).

As amostras sem nenhum tratamento e embalados no ar (Controle AR) apresentou 7,57 dias, amostras pré tratadas com cloro e embaladas em atmosfera modificada (Cloro ATM), obtiveram 11,45 dias, enquanto as amostras pré tratadas com ozônio e embaladas com atmosfera modificada apresentaram 24,18 dias com características sensoriais consideradas aceitáveis, provavelmente devido a inibição do crescimento bacteriano e de reações oxidativa indesejadas em decorrência ao efeito combinado do ozônio e da embalagem.

Oliveira (2013) em seu estudo observaram que os camarões (*L. vannamei*) embalados atmosfera modificada (30%N₂:70%CO₂:10%O₂) e pré-tratadas com solução de acerola apresentou 12,3 dias de vida de prateleira. Nirmal e Benjakul (2011) observaram que no 10º dia de armazenamento a 4°C, tanto as amostras controle quanto as que utilizaram apenas atmosfera modificada (50%CO₂:5%O₂:45%N₂) obtiveram escores considerados inaceitáveis. Em contrapartida, corroborando com esse estudo, Lu (2009) observou que os grupos embalados em atmosfera modificada sob diferentes concentrações (40%CO₂:30%O₂:30%N₂ e

100%CO₂) pré-tratadas com ozônio apresentou uma boa aceitabilidade até o 21º dia de armazenamento.

Tipicamente, a melanose inicia-se pela cabeça e o desenvolvimento das manchas negras para o restante do corpo ocorre de forma lenta. A melanose apresentou escores crescentes ao longo do período de armazenamento (Figura 5) em todos os grupos com os índices de melanose (IM) médios mais elevados no grupo Controle AR e Cloro AR, sendo já esperado, uma vez que, a melanose é um processo oxidativo.

Figura 5. Índice de Melanose (IM) do camarão branco do Pacífico (*L. vannamei*) inteiro, estocado em gelo por 12 dias.

No tempo Zero, nenhuma amostra de camarão apresentava melanose. A partir do 3º dia de estocagem, começaram a surgir pontos de melanose nos camarões dos grupos Controle (AR e ATM), Cloro (AR e ATM) e Ozônio (AR), sendo mais expressivo no Controle AR. No Tempo 6 houve um crescimento gradual de melanose em quase todos os grupos, porém no Grupo Controle AR, esse crescimento foi bastante expressivo, e no grupo Ozônio ATM, apareceram apenas pequenas manchas pretas. No Tempo 9, o grupo Controle AR já apresentava melanose em praticamente todos os camarões da embalagem, enquanto que no Ozônio ATM, poucos eram os camarões que apresentavam melanose. No tempo 12, os grupos Controle AR e Cloro AR apresentavam muita melanose em todos os camarões embalados, sendo o grupo Ozônio ATM, o que obteve menor índice de melanose em suas amostras.

Haugaard et al. (2001) relataram que a maioria dos alimentos necessitam de uma refrigeração e embalagem adequada para controlar as interações entre o produto e o meio. Observou-se no presente estudo que o aparecimento da melanose se deu de uma forma menos intensa nos camarões pré-tratados com ozônio, e principalmente, naqueles embalados em atmosfera modificada a 4°C.

Bono e Badalucco (2012), Nirmal e Benjakul., (2011), Gonçalves, López-Caballero e Nunes (2003), observaram retardo na melanose em camarões embalados em atmosfera modificada, bem como Oliveira (2013) com uso combinado de antimelanósico com acerola e metabissulfito de sódio embalados em atmosfera modificada. Corroborando com esse estudo, Lu et al. (2009) apresentou um aumento na vida útil no camarão chinês *Fenneropenaeus chinensis*, quando pré-tratados com água ozonizada, embalados em atmosfera modificada e estocados em refrigeração por 21 dias.

5.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

Os resultados da contagem total de bactérias mesófilas (Tabela 4). A legislação brasileira não indica limites para contagem de mesófilos e psicrotróficos para o pescado fresco, mas de acordo com a legislação *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986) o limite recomendado para pescado é de 6 log UFC/g, uma vez que, valores superiores ao estabelecido, são considerados críticos com relação ao grau de qualidade do pescado. Esse limite também é estabelecido nos estudos de Agnese et al. (2001). Nas análises do produto elaborado, os valores encontrados para estes grupos todas as amostras foram inferiores a 6 logUFC/g.

Tabela 4. Contagem total de bactérias mesófilas em (logUFC/g) da carne do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).

Análise	CONTROLE		CLORO		OZÔNIO	
	AR	ATM	AR	ATM	AR	ATM
0	2,97	2,97	2,40	2,40	1,40	1,40
3	4,10	3,96	3,81	3,23	3,23	1,40
6	4,67	4,04	4,73	3,40	3,40	3,00
9	5,16	4,11	4,81	4,41	4,41	3,14
12	5,36	5,14	4,93	4,91	4,91	3,41

AR = embalado sob ar atmosférico; ATM = embalado sob 100% CO₂; Cloro = amostras lavadas previamente com água clorada (5ppm); Ozônio = amostras lavadas previamente com água ozonizada (1ppm). Limite estabelecido: 6log.UFC/g (ICMSF, 1986).

Embora nenhum grupo tenha excedido o limite estabelecido nesse estudo, o grupo Controle apresentou valores mais altos quando comparado aos outros grupos em todos os tempos. No tempo 0, as amostras com Ozônio apresentaram valores $< 1,40 \log \text{ UFC/g}$. No tempo 3, houve um grande crescimento no grupo Controle AR, e um crescimento gradual nos demais grupos, enquanto que o grupo Ozônio ATM, se manteve constante com valores $< 1,40 \log \text{ UFC/g}$. No tempo 6 houve um crescimento das bactérias mesófilas em todos os grupos. Com os demais dias de armazenamento, o crescimento mais expressivo de bactérias mesófilas foi no grupo Controle (AR e ATM) e o menos expressivo foi o grupo Ozônio ATM, que obteve valores mais constantes.

O crescimento bacteriano na embalagem em ar atmosférico sem pré-tratamento e pré-tratado com Cloro é reflexo da inadequação do ar como forma de preservação de alimentos, conforme constatado por Lopes (2004), Socool et al., (2005), Poli et al. (2006), Oliveira (2013) que, ao estudarem as alterações sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas em pescado embalado em atmosfera modificada e em ar, encontraram altos níveis de desenvolvimento bacteriano já nos primeiros dias de estocagem em ar atmosférico. Isso, provavelmente deveu-se à eficácia do processo de EAM em reduzir a multiplicação bacteriana (MANO et al., 2000). Neste estudo os camarões embalados com 100% de CO_2 mostraram-se eficaz na inibição do crescimento de bactérias, corroborando com outros estudos (LAYRISSE; MATCHES, 1984; MATCHES; LAYRISSE, 1985; LU, 2009).

Também é possível observar que a maior eficiência de redução bacteriana foi observada durante os três primeiros dias de armazenamento do grupo Ozônio ATM, onde não houve formação de crescimento de bactérias mesófilas nos 3 primeiros dias, o efeito benéfico foi, provavelmente, devido à redução ou prevenção do crescimento de bactérias deterioradas devido o efeito combinado do ozônio e embalagem em atmosfera modificada, que corroboram com os estudos de Campos et al. (2005); Crowe et al.(2012), Zhang et al, (2015), que relatam a redução da carga microbiana na musculatura do pescado após o tratamento com água ozonizada. Indicando assim a eficácia do ozônio na prevenção do crescimento de microrganismos.

Bono e Badalucco (2012) avaliaram a eficiência da água ozonizada (0,3 ppm) combinada com a atmosfera modificada no processamento do salmão listrado (*Mullus surmuletus*). O uso combinado da água ozonizada com atmosfera modificada reduziu o crescimento bacteriano no músculo do peixe, apresentando baixos níveis de contagem total de mesofilos ($2,5 \log \text{ UFC/g}$) quando comparada com as amostras controle ($3,7 \log \text{ UFC/g}$). Observando assim que o tratamento água ozonizada associada à embalagem com atmosfera

modificada prorroga o prazo de validade do pescado mantendo a segurança e a qualidade do alimento.

Os resultados da contagem total de bactérias psicrotróficas estão apresentados na Tabela 5. Apesar dos valores crescentes ao longo do período de armazenamento em todos os grupos, nenhum tratamento excedeu o valor estabelecido pela ICMSF (1986), de 6 log UFC/g, bem como observado por Agnese et al. (2001).

Tabela 5. Contagem total de bactérias psicrotróficas (logUFC/g) da carne do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).

Análise	CONTROLE		CLORO		OZÔNIO	
	AR	ATM	AR	ATM	AR	ATM
0	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40
3	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40	1,40
6	2,85	2,57	2,49	2,33	1,40	1,40
9	4,40	4,06	4,19	4,07	3,63	3,41
12	5,40	5,30	5,37	5,18	4,74	4,69

AR = embalado sob ar atmosférico; ATM = embalado sob 100% CO₂; Cloro = amostras lavadas previamente com água clorada (5ppm); Ozônio = amostras lavadas previamente com água ozonizada (1ppm). Limite estabelecido 6log.UFC/g (ICMSF, 1986).

Observa-se que não houve crescimento nos tempos 0 e 3, em diferentes embalagens e tratamentos de lavagem (Cloro e Ozônio), demonstrando que não havia contaminação inicial. O grupo Ozônio só apresentou um maior crescimento de bactérias psicrotróficas a partir do tempo 9, fato esse devido ao período de adaptação (fase lag) pelo qual esses microrganismos passaram quando foram expostos a baixas temperaturas, corroborando com Boziaris et al. (2011) e Oliveira (2013).

O grupo Cloro apresentou crescimento bacteriano semelhante ao grupo Controle, mostrando uma ineficácia como agente saneante. O grupo Controle AR apresentou os maiores valores de crescimento em todos os tempos de armazenamento, e o grupo Ozônio apresentou os menores valores quando comparados aos outros grupos, sendo o grupo com efeito combinado da atmosfera modificada, apresentando menor crescimento bacteriano. No estudo de Oliveira (2013) os grupos embalados em ar atmosférico obtiveram maior crescimento de bactérias psicrotróficas quando comparadas com embalagens em atmosfera modificada.

Kim et al. (2000) avaliaram a eficiência do ozônio sobre filés de peixes e verificou-se que o tratamento com ozônio supriu o número inicial de aeróbios psicrotróficos, aumentando o tempo de vida de prateleira de 1,5 a 3 dias. Outros autores, como Blogoslawski e Stewart (2011), Campos et al. (2006), Crowe et al. (2012), Gelman, Sachs, Khanin, Drabkin &

Glatman (2005), Pastoriza et al. (2008), também relatam a redução da contaminação por bactérias em produtos de pesca tratados com ozônio. Assim, comparando nossos resultados com os dados encontrados na literatura, observa-se que o tratamento combinado de água ozonizada e embalagem em atmosfera modificada foi satisfatório no menor crescimento da carga microbiana.

Durante todo o experimento a pesquisa por *Staphylococcus aureus* coagulase positivo e *Salmonella sp*, obtiveram resultados negativos em todas as amostras, atendendo, portanto, aos padrões microbiológicos que determina a ANVISA (BRASIL, 2001). Os resultados ocorreram, supostamente, pelo fato das amostras serem recém-abatidas e havendo o mínimo de manipulação durante o processamento e seguindo as normas BPF/BPH, podendo explicar a ausência dos microrganismos nas amostras. Considerando que a presença de *Salmonella spp.* e *Staphylococcus aureus* estão relacionados à falta de higiene dos estabelecimentos e manipuladores, os resultados indicaram ausência em todas as amostras durante os dias de experimento, o que demonstraram cuidado higiênico-sanitário durante a manipulação dos camarões. Resultados semelhantes ao desse estudo foram encontrados por Oliveira (2013), em amostras de camarão branco (*L. vannamei*) embalados em atmosfera modificada; Silva e Gonçalves (2016) em amostras de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*) pré-tratados com ozônio. O perfil microbiano negativo na matéria-prima mostrou que os procedimentos de higiene ao longo do experimento foram satisfatórios, o que pode contribuir para o aumento da vida útil.

5.4 RESULTADOS DAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os valores de pH estão descritos na Tabela 6. Os valores de pH variaram de 6,45 a 7,73. A análise demonstrou que todos os grupos começaram o experimento com mensurações entre 6,45 e 6,53, onde não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. É sabido que após a morte do pescado, pela formação anaeróbia de ácido lático, o pH diminui. Durante as modificações post-mortem posteriores, o pH se mantém constante ou aumenta ligeiramente devido à formação de compostos básicos e aminas voláteis por ação de enzimas tissulares e degradação por microrganismos (LIMA DOS SANTOS et al., 1981; HUSS, 1995; KIRSCHNIK; VIEGAS, 2004).

Tabela 6. pH da carne do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).

Tempo (dias)	CONTROLE		CLORO		OZÔNIO	
	AR	ATM	AR	ATM	AR	ATM
0	6,45±0,03 ^a	6,45±0,03 ^a	6,53±0,03 ^a	6,53±0,03 ^a	6,51±0,08 ^a	6,51±0,08 ^a
3	7,22±0,03 ^a	7,17±0,10 ^a	7,15±0,04 ^{ab}	6,85±0,10 ^c	6,95±0,22 ^{bc}	6,79±0,13 ^c
6	7,39±0,10 ^a	7,26±0,06 ^{ab}	7,17±0,02 ^b	7,06±0,07 ^{bc}	7,08±0,06 ^{bc}	6,93±0,11 ^c
9	7,55±0,05 ^a	7,36±0,06 ^{ab}	7,53±0,06 ^a	7,48±0,05 ^{ab}	7,29±0,04 ^b	7,07±0,06 ^c
12	7,73±0,09 ^a	7,51±0,05 ^{bc}	7,56±0,10 ^{ab}	7,33±0,04 ^{cd}	7,30±0,21 ^{de}	7,12±0,02 ^e

AR = embalado sob ar atmosférico; ATM = embalado sob 100% CO₂; Cloro = amostras lavadas previamente com água clorada (5ppm); Ozônio = amostras lavadas previamente com água ozonizada (1ppm). Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05),

De acordo com o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 2017), o pH foi fixado de acordo com os seguintes valores: pH < 7,0 nos peixes, pH < 7,85 nos crustáceos, e pH < 6,85 nos moluscos (podendo esses valores alterados e definidos em normas complementares, quando houver evidências científicas de que o valor natural diferem dos fixados). No terceiro dia houve aumento significativo nas amostras Controle e Cloro AR, os valores se elevaram para 7,15 e 7,22, excedendo o limite estabelecido. Este aumento de pH pode acontecer devido à formação de compostos básicos como amônia e TMA, por atividade bacteriana ou de enzimas endógenas, uma vez que, os crustáceos possuem, naturalmente, altos índices de nitrogênio não-proteico (HUSS, 1995; LÓPEZ-CABALLERO et al., 2007). O aumento de pH no músculo do pescado pode ser devido ao acúmulo de produtos de natureza básica, como trimetilamina (TMA), demetilamina (DMA), amônia, indol, escatol e algumas bases orgânicas, como putrescina e cadaverina, produzidas pela hidrólise bacteriana de compostos nitrogenados (SIKORSKI et al., 1994; PEDROSA-MENABRITO; REGENSTEIN, 1988).

No 6º dia de armazenamento, o grupo Ozônio ATM diferiu entre os outros grupos analisados (p<0,05), apresentando valores menores, porém, excedeu o limite estabelecido para “camarão fresco”, em contrapartida, quando correlacionados com as análises microbiológicas e sensoriais, observa-se que este camarão apresentava boa qualidade. As outras amostras, principalmente no grupo Controle AR e Cloro AR, já apresentavam valores elevados, considerados, excedendo o limite e concordando com a análise microbiológica e sensorial, em que, conforme o tempo de armazenamento, a qualidade destes grupos diminuía. Camarões embalados em atmosfera modificada apresentaram melhores valores de pH relacionados aos embalados em Ar atmosférico. Resultados semelhantes a este estudo foram observados por

Gonçalves; López-Caballero; Nunes, (2003); Nirmal e Benjakul, (2009) e Oliveira (2013) em camarões embalados em diferentes condições de atmosfera modificada.

No 12º dia de armazenamento, camarões pré-tratados com Ozônio e embalados em atmosfera modificada apresentaram valores de 7,12, significativamente menores, relacionados aos outros grupos ($p > 0,05$). Apesar de ter ultrapassado o limite estabelecido, o efeito do ozônio foi eficaz em apresentar os menores valores comparados aos demais grupos. Oliveira (2005), Pastoriza et al. (2008), Rong et al, (2010), Campos et al. (2005), Bono e Badalucco (2002), Oliveira (2013) ao estudarem a eficácia do ozônio em pescado, verificaram que o pH das amostras não foi alterado. Neste sentido, a medida do pH não deve ser utilizada individualmente como índice de frescor, uma vez que, pode induzir a falsa avaliação, seus valores devem acompanhar, paralelamente, análises químicas, microbiológicas e sensoriais.

Os resultados de N-BVT estão apresentados na Tabela 7. O limite estabelecido pela legislação nacional vigente para N-BVT é de 30mgN/100g de pescado (BRASIL, 1980; Brasil, 2017), que também é o valor estabelecido pela legislação internacional pela Diretiva 95/149/EC da Comissão Européia.

Tabela 7. N-BVT (mg/100g) da carne do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).

Tempo (dias)	CONTROLE		CLORO		OZÔNIO	
	AR	ATM	AR	ATM	AR	ATM
0	8,16±0,98 ^a	8,16±0,98 ^a	6,00±0,37 ^{ab}	6,00±0,37 ^{ab}	4,07±0,37 ^c	4,07±0,37 ^c
3	10,30±0,64 ^a	7,30±0,98 ^{bc}	8,80±0,98 ^{ab}	7,51±1,62 ^{bc}	6,23±0,37 ^{cd}	4,51±1,12 ^d
6	19,11±1,34 ^a	10,52±0,37 ^{bc}	11,16±0,74 ^b	8,16±0,37 ^{cd}	7,08±1,70 ^{de}	5,58±0,37 ^e
9	25,76±1,29 ^a	17,17±0,98 ^b	17,82±0,98 ^b	15,89±0,74 ^b	9,87±0,37 ^c	7,51±0,98 ^c
12	30,70±0,74 ^a	23,61±0,98 ^c	27,26±1,62 ^b	21,68±2,07 ^c	16,96±0,74 ^d	12,24±0,64 ^e

N-BVT = Nitrogênio das bases voláteis totais; AR = embalado sob ar atmosférico; ATM = embalado sob 100% CO₂; Cloro = amostras lavadas previamente com água clorada (5ppm); Ozônio = amostras lavadas previamente com água ozonizada (1ppm). Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

Os níveis de N-BVT aumentaram com o tempo de armazenamento. No tempo 0 os níveis variaram de 8,16 a 4,07 mg/100g. A partir do 3º dia de estocagem houve um aumento em quase todos os grupos, apenas o Ozônio ATM obteve um aumento menos expressivo, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos. Este aumento intensificado de níveis de N-BVT coincide com o aumento de pH. Quanto mais alcalino for o meio, mais favorece a atividade das desaminases.

Pode-se observar que a partir do 6º dia de estocagem os níveis de N-BVT das amostras sem tratamento e embaladas em ar atmosférico (Controle AR) são significativamente mais

expressivas (19,11mg N-BVT/100g) quando comparadas aos grupos que passaram por um pré-tratamento de Cloro e Ozônio embalados em atmosfera modificada, de 8,16 mg N-BVT/100g e 5,58 mg N-BVT/100g, respectivamente. Somente o grupo Controle AR excedeu o limite estabelecido pela legislação no 12º de armazenamento (30,70 mg N-BVT/100g) e nesse mesmo tempo, o grupo Cloro AR apresentou níveis próximos ao limite estabelecido (27,61 mg N-BVT/100g).

A grande elevação dos valores de N-BVT observada na estocagem em aerobiose pode ser explicada pela ação bacteriana na conversão do óxido de trimetilamina (OTMA), abundante em grande parte do pescado de origem marinha, em trimetilamina (TMA), um dos principais substratos para a produção de bases voláteis tendo, portanto, uma correlação direta com o BVT. Este resultado é reflexo do aumento na degradação proteica e consequente incremento na produção de bases voláteis. Deste modo, os grupos embalados em 100%CO₂ apresentaram melhores resultados comparados aos grupos embalados em ar atmosférico. Corroborando com Teodoro et al. (2007), Oliveira (2013) que sob o ponto de vista microbiológico e também com os resultados de N-BVT, as embalagens enriquecidas com CO₂ demonstraram ser o melhor método de conservação, em comparação com as demais estudadas. Bono e Badalucco (2012) encontraram valores de 33,5 a 42,0 mg/100g em camarão armazenado em atmosfera modificada. Para tanto, as amostras que foram pré-tratadas com ozônio e, logo após, embaladas em atmosfera modificada, apresentaram menores níveis de N-BVT, concordando com as análises microbiológicas e sensoriais, realizadas nesse estudo. Corroborando com o estudo de Lu (2009) onde camarões chineses (*F. chinensis*) submetidos a mensuração de N-BVT e tratados com água ozonizada demoraram 13 dias para ultrapassar o limite de 30 mg N-BVT/100g (LU, 2009).

Os valores de TMA estão descritos na Tabela 8. O limite estabelecido para níveis de TMA em pescado fresco é de 4mg N-TMA/100g de amostra (BRASIL, 2008). A TMA apresentou valores constantes em todos os grupos nos dias 0 e 3. A partir do 6º dia de armazenamento, o grupo Controle AR apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) com níveis de 3,22 mg N-TMA/100g, e menores médias nos grupos embalados em ATM, sendo o Ozônio ATM com os menores valores de TMA ($p > 0,05$). No tempo 12 o grupo Controle AR excedeu o limite estabelecido (4,25 mg N-TMA/100g), bem como o Cloro AR (4,06 mg N-TMA/100g). Concordando com as demais análises desse estudo, os grupos embalados em atmosfera modificada apresentaram melhores valores. Estes resultados coincidem com os apresentados por Hansen et al. (2007), Hovda et al. (2007) e Özogul et al. (2004), onde pescado embalados em atmosfera modificada levou a uma menor produção de TMA que no pescado embalado em ar

atmosférico. O grupo combinado de Ozônio e ATM apresentaram níveis ainda menores de TMA, diferindo entre os outros tratamentos ($p < 0,05$). Semelhante ao presente resultado, no estudo de Bono e Badalucco (2012) os níveis de TMA excederam o limite estabelecido no dia 6, dia 12 e dia 15, para o pescado mantido em controle, ATM e efeito combinado do Ozônio e ATM, respectivamente.

Tabela 8. N-TMA (mg/100g) da carne do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).

Tempo (dias)	CONTROLE		CLORO		OZÔNIO	
	AR	ATM	AR	ATM	AR	ATM
0	1,16±0,19 ^a	1,16±0,19 ^a	1,09±0,11 ^a	1,09±0,11 ^a	0,64±0,11 ^a	0,64±0,11 ^a
3	1,61±0,11 ^a	1,48±0,22 ^{ab}	1,55±0,33 ^{ab}	1,16±0,33 ^{ab}	1,03±0,30 ^{ab}	0,97±0,00 ^b
6	3,22±0,30 ^a	1,87±0,11 ^{bc}	2,13±0,33 ^b	1,29±0,11 ^{cd}	1,16±0,19 ^d	1,09±0,11 ^d
9	3,48±0,39 ^a	3,54±0,22 ^a	3,61±0,11 ^a	2,06±0,22 ^b	1,93±0,33 ^b	1,48±0,11 ^b
12	4,25±0,39 ^a	3,41±0,30 ^b	4,06±0,33 ^a	3,09±0,51 ^{bc}	2,64±0,22 ^c	1,87±0,11 ^d

N-TMA = Nitrogênio de trimetilamina; AR = embalado sob ar atmosférico; ATM = embalado sob 100% CO₂; Cloro = amostras lavadas previamente com água clorada (5ppm); Ozônio = amostras lavadas previamente com água ozonizada (1ppm). Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$).

As variações dos valores de TBARS estão descritos na Tabela 9. Os valores de TBARS não apresentaram grande variação em relação aos grupos analisados durante os 12 dias de armazenamento. No tempo 0 nenhum todos os tratamentos foram estatisticamente iguais ($p < 0,05$). Os valores de TBARS foram diminuindo com os dias de estocagem, sendo que a maior valor foi de 0,42 mg de MA/kg no grupo Cloro AR, no 9º dia de armazenamento, diferindo dos demais tratamentos ($p < 0,05$). E entre os dias 6 e 12 no grupo Ozônio AR e ATM obteve valores de 0,22 mg de MA/kg, demonstrando a manutenção na qualidade química das amostras, com inibição da oxidação lipídica. O produto pode ser considerado em bom estado, apresentando valores abaixo de 3,0 mg de malonaldeído/kg de amostra, sendo os limites de oxidação lipídica para o consumo de 7-8 mg de MA/kg no alimento (CADUN et al., 2008). Benjakul et al (2010) encontraram valores de até 1,48 mg de MA/100g da amostra do camarão *Litopenaeus vannamei* no 4º dia de armazenamento sob refrigeração. O aumento do oxigênio em contato com as membranas celulares aumenta o efeito da oxidação lipídica (BENJAKUL, 2008).

Tabela 9. TBARS (mg MA/kg) da carne do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado por 12 dias sob refrigeração (4°C).

Tempo (dias)	CONTROLE		CLORO		OZÔNIO	
	AR	ATM	AR	ATM	AR	ATM
0	0,30±0,02 ^a	0,30±0,02 ^a	0,32±0,03 ^a	0,32±0,03 ^a	0,30±0,01 ^a	0,30±0,01 ^a
3	0,32±0,04 ^a	0,31±0,01 ^a	0,32±0,04 ^a	0,32±0,05 ^a	0,31±0,05 ^a	0,27±0,01 ^a
6	0,33±0,07 ^b	0,34±0,08 ^b	0,23±0,01 ^a	0,25±0,07 ^a	0,22±0,01 ^a	0,22±0,01 ^a
9	0,21±0,02 ^a	0,23±0,01 ^a	0,42±0,02 ^b	0,23±0,02 ^a	0,22±0,03 ^a	0,22±0,01 ^a
12	0,23±0,2 ^{ab}	0,21±0,01 ^b	0,21±0,02 ^b	0,29±0,02 ^b	0,22±0,02 ^{ab}	0,22±0,01 ^{ab}

TBARS = teste das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico; AR = embalado sob ar atmosférico; ATM = embalado sob 100% CO₂; Cloro = amostras lavadas previamente com água clorada (5ppm); Ozônio = amostras lavadas previamente com água ozonizada (1ppm). Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si (p<0,05).

Silva e Gonçalves (2016) em seu estudo observaram a variação dos valores de TBARS do filé de tilápia do Nilo durante as imersões em água ozonizada, onde verificou-se que houve diferença significativa (p<0,05) para o TBARS quando comparado ao tratamento controle. No tratamento com concentração de ozônio a 0,5 ppm houve aumento significativo nos valores de TBARS a partir dos 15 minutos de imersão. Nos tratamentos com concentrações de 1,0 e 1,5 ppm houve aumento significativo a partir dos 5 minutos de imersão. Demonstrando que a concentração e o tempo influenciaram nos resultados de TBARS, diante disto, nota-se que a oxidação causada pelo ozônio é diretamente proporcional à sua concentração e o tempo de contato com as amostras, portanto, ao potencializar-se o efeito antimicrobiano do ozônio, reações de oxidação da cadeia lipídica podem ser desencadeadas atingindo níveis inadequados de peróxidos para os padrões de qualidade estabelecidos pela literatura disponível. Louppis et al. (2011), Tomita et al., (2010), Kim et al. (2000), Crowe et al. (2012), estudando o uso do ozônio em pescado observaram os valores de TBARS aumentaram quando submetidos aos tratamentos com ozônio. Esses resultados podem ser explicados pela decomposição do ozônio em oxigênio o que favorece a oxidação dos lipídios em alimentos com predominância de lipídios insaturados, com formação de peróxidos e produtos oriundos de sua decomposição.

6. CONCLUSÕES

O efeito combinado do ozônio e atmosfera modificada (100% CO₂) promoveu melhor desempenho quando comparado ao tratamento tradicional (cloro) estendendo a vida de prateleira do camarão branco (*L. vannamei*) armazenado a 4°C.

Esse melhor desempenho foi comprovado pelos resultados sensoriais (MIQ e Índice de Melanose), microbiológicos e físico-químicos para o grupo Ozônio-ATM, sugerindo que o pré-tratamento de ozônio, quando comparado com o cloro (tradicional na indústria) pode ser uma alternativa para a garantia da qualidade do camarão durante o processamento e no armazenamento posterior.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DE CAMARÃO (ABCC). Revista da ABCC. Ano XVIII nº 1, Junho de 2016. Disponível em: <http://abccam.com.br/>. Acesso em: 16 Jan 2017.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF). **Standard methods for examination of water and wastewater**. 4500-O3 – Ozone (Residual), p. 144 –146.19th Ed., Washington DC, 1995.
- ANDRADE, N. J. Higiene na indústria de alimentos: avaliação e controle da adesão e formação de biofilmes bacterianos. São Paulo: **Varela**, 412p, 2008.
- ANDRADE, N. J.; MACÊDO, J. A. B. Higienização na indústria de alimentos. São Paulo: **Livraria Varela**; 182p, 1996.
- AGNESE, A.P.; 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**, v.15, n.88, p.67-70, 2001.
- BENJAKUL, S.; NIRMAL, N. P. Effect of catechin and ferulic acid on melanosis and quality of Pacific white shrimp subjected to freeze–thawing prior refrigerated storage. **Food Control**, Vurrey, v. 21, n. 9, p.1263-1271, 2010.
- BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; KIJROONGROJANA, K.; SRIKET, P. Effect of heating on physical properties and microstructure of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and white shrimp (*Penaeus vannamei*) meats. **International Journal of Food Science and Technology**, Malden, v. 43, n. 6, p. 1066-1072, 2008.
- BENJAKUL,S.; VISESSANGUAN, W.; TANAKA, M. Properties of phenoloxidase isolated from the cephalothorax of kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). **Journal of Food Biochemistry**, v. 29, p. 470-485, 2005.
- BLAKISTONE, B. A. Principles and applications of modified atmosphere packaging of Foods. New York: **Chapman & Hall**, 1999.

BLOGOSLAWSKI, W. J.; STEWART, M. E. Some ozone applications in seafood. **Ozone Sci. Eng.** 2011.33368–373. 10.1080/01919512.2011.602006.

BONO, G., OKPALA, C.; GIUSEPPINA, R.A.; ALBERIO, B.; CONCETTA, M.; MESSINA, C, ANDREA SANTULLI C, GIACALONE, G.; GIOVANNI, S. Toward shrimp consumption without chemicals: Combined effects of freezing and modified atmosphere packaging (MAP) on some quality characteristics of Giant Red Shrimp (*Aristaeo morphafoliacea*) during storage. **Food Chemistry**, v. 197, p. 581–588, 2016.

BONO, G.; BADALUCCO, C. Combining ozone and modified atmosphere packaging (MAP) to maximize shelf life and quality of striped red mullet (*Mullus surmuletus*). **LWT - Food Science and Technology**, v.47, p. 500-504, 2012.

BOZIARIS, I. S.; KORDILA, A.; NEOFITOU, C. Microbial spoilage analysis and its effect on chemical changes and shelf-life of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) stored in air at various temperatures. **International Journal of Science and Agriculture**, v. 46, p. 887-895, 2011.

BRANDÃO, W.N. Beneficiamento de camarões marinhos. **Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA**, 25p, 2007.

BROOKS, G. M.; PIERCE, S. W. Ozone applications for commercial catfish processing. Paper presented at 15th Annual Tropical and Subtropical Fisheries Technological Conference of the Americas, December 2-5, Orlando, Florida, 1990.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Decreto n° 9.013, de 29 de março de 2017, aprova o novo **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA**. Brasília, DF: Diário Oficial da União, Seção 1, No. 62, p. 3-27, 30 de março de 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003**. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, 26 de agosto de 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). Métodos analíticos oficiais para controle de

produtos de origem animal e seus ingredientes. II. **Métodos Físico-Químicos**. Brasília, Brasil, 1981.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução: RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001**. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 de jan. 2001.

CADUN, A.; KISLA, D.; CAKLI, S. Marination of deep-water pink shrimp with rosemary extract and the determination of its shelf-life. **Food Chemistry**, v. 109, p. 81–87, 2008.

CAMPOS, C. A.; RODRIGUEZ, O.; LOSADA, V.; AUBOURG, S. P.; BARROS-VELAZQUEZ, J. Effect of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). **International Journal of Food Microbiology**, v. 103, p. 121-130, 2005.

CAMPUS, M.; BONAGLINI, E.; CAPPUCCINELLI, R.; PORCU, M. C.; TONELLI, R.; ROGGIO, T. Effect of modified atmosphere packaging on Quality Index method (QIM) scores of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata L.*) at low and abused temperatures. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 3, 2011.

CANN, D. C. Packing fish in a modified atmosphere - Torry Research Station Note no 88. Aberdeen: Ministry of Agriculture, fisheries and food - **Torry Research Station**, 2001.

CHIATTONE, P. V.; TORRES, L.M.; ZAMBIAZI, R.C. Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 3, p. 341-349, 2008.

CODEX COMMITTEE ON FISH AND FISHERY PRODUCTS. Discussion paper on the use of chlorinated water. Presented at the 24th session of the CCFFP. June, 2000, paper CX/FFP 00/13, 2000.

CROWE, K.M.; SKONBERG, D.; BUSHWAY, A.; BAXTER, S. Application of ozone sprays as a strategy to improve the microbial safety and quality of salmon fillets. **Food Control**, v.25, n. 2, p. 464-468, 2012.

DYCHDALA, G. R. Chlorine and chlorine compounds. In: Block, S.S. Disinfection, sterilization and preservation. 4. ed. Philadelphia, London: **Lea & Fabiguer**; p.131-151, 1991.

European Commission Decision 95/149/Ec of 8 March 1995 fixing the total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used. **Official Journal**, L097, p. 84e 87, 1995.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical Yearbook. World Food and Agriculture**. Roma: FAO; 2014.

FARIA, J. A. F.; CRUZ, A. G. & GONÇALVES, A. A. Embalagem Ativa e com Atmosfera Modificada (Capítulo 2.2.1 – p. 209-216). In: Gonçalves, A. A. (Ed.). *Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação*. São Paulo, SP: **Atheneu**, 608 p., 2011.

FLOROS, J. D.; MATSOS, K. I. Introduction on modified atmosphere packaging. In: HAN, J. H. **Innovations in Food Packaging**. 2005.

GELMAN, A., SACHS, O.; KHANIN, Y., DRABKIN, V.; GLATMAN, L. Effect of ozone pretreatment on fish storage life at low temperatures. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 4, p. 778-784, 2005.

GOKOGLU, N., & YERLIKAYA, P. Inhibition effects of grape seed extracts on melanosis formation in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **International Journal of Food Science & Technology**, 43(6), 1004 e 1008, 2008.

GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C. MATÍNEZ-ÁLVAREZ, Ó.; LLAMAS, A.; MONTERO, P. Melanosis inhibition and SO₂ residual levels in shrimps (*Parapenaeus longirostris*) after different sulfite-based treatments. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 7, p. 1143-1148, 2005.

GONÇALVES, A. A. Ozone as a safe and environmentally friendly tool for the seafood industry. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 25, n.2, p. 210-229, 2016.

GONÇALVES, A. A.; OLIVEIRA, A.R.M. Melanosis in crustaceans: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 791-799, 2016.

GONÇALVES, A. A. Packaging for chilled and frozen seafood (PART SIX: SEAFOOD QUALITY, Chapter 31, p. 479-509). In: **Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality**, edited by Nolle, Leo et al., 2nd Ed., Iwoa (USA): John Wiley & Sons, Inc., 562 p., 2012.

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

GONÇALVES, A. C.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; NUNES, M. L. Quality Changes of Deepwater Pink Shrimp (*Parapenaeus longirostris*) Packed in Modified Atmosphere. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 8, p. 2586–2590, 2003.

GORNIK, S. G.; ALBALAT, A.; THEETHAKAEW, C.; NEIL, D. M. Shelf life extension of whole Norway lobster *Nephrops norvegicus* using modified atmosphere packaging. **International Journal of Food Microbiology**. v. 167 p. 369–377, 2013.

GUZMÁN, E. S. C. Bioquímica de Pescados e Derivados. Jaboticabal: **FUNEP**, 409p.,1994.

HANSEN, A.A.; MØRKØRE, T.; RUDI, K.,; OLSEN, E.; EIE, T. Quality Changes during Refrigerated Storage of MA-Packaged Pre-rigor Fillets of Farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) Using Traditional MAP, CO₂ Emitter, and Vacuum. **Journal of Food Science: Food Microbiology and Safety**, v. 72, n. 9, p. 423 – 430, 2007.

HAUGAARD, V. K.; MORTENSEN, G. Biobased food packaging. In: MATTSON, B.; SONNENSON, U. (Eds.). **Environmentally Friendly Food Processing**. Cambridge: Wood head publishing, cap. 11, p 170-193, 2003.

HOVDA, M. B.; SIVERTSVIK, M.; LUNESTAD, B. T.; LORENTZEN, G.; ROSNES, J. T. Characterization of the dominant bacterial population in modified atmosphere packaged farmed halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) based on 16S rDNA-DGGE. **Food Microbiology**, v. 24, n. 4, p. 362-371, 2007.

HUSS, H. H. Quality and quality changes in fresh fish. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations, **Fisheries Technical Paper**, n.348. 195p.,1995.

HYLDIG, G.; GREEN-PETERSON, D.M.B. Quality Index Methods. In: NOLLET, L. M. L. (Org.). **Hand book of Meat, Poultry & Seafood Quality**. Oxford: Black well Publishing, p. 529–549, 2007.

ICMSF, International Commission On Microbiological Specifications For Foods. 2. Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. 2.ed. London: Blackwell Scientific Publications, 131p., 1986.

JAN, J. H.; ZHANG, Y.; BUFFO, R. Surface chemistry of food, packaging and biopolymer materials. In J. H. Han (Ed.), **Innovations in food packaging**. Amsterdam: Elsevier Academic Press, p. 45 – 49, 2014.

JAY, J. M. Frutos do Mar. In: JAY, J.M. Editor. **Revista Microbiologia de Alimentos**, 6. ed. Porto Alegre: Artmed, p.119-28, 2005.

KIM, J. G. Environmental Friendly Sanitation to Improve Quality and Microbial Safety of Fresh-Cut Vegetables. *Biotechnology – Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life*, Prof. Reda Sammour (Ed), Chap 11, p. 173-196, 2012.

KIM, T. J.; SILVA, J. L.; CHAMUL, R. S.; T. C. Influence of ozone, hydrogen peroxide, or salt on the microbial profile, TBARS and color of channel catfish fillets. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1210-1213, 2000.

KIRSCHNIK, P. G.; VIEGAS, E. M. M. Alterações na qualidade do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* durante estocagem em gelo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.23, v.3, p.407-412, 2004.

LEISTNER, L.; GORRIS, L. G. M. Food preservation by hurdle technology. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 6, n. 2, p. 41-46, 1995.

LIMA DOS SANTOS, C. A. M.; JAMES, D.; TEUTSCHER, F. Guidelines for chilled fish storage experiments. Rome: **FAO Fisheries Technical Papers**, n.210. 22p. 1981.

LIN, C.; LIN, C. Enhancement of the storage quality of frozen bonito fillets by glazing with tea extracts. **Food Control**. v. 16, n. 2, p. 169-175, 2005.

LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; SÁNCHEZ-FERNÁNDEZ, J. A.; MORAL, A. Growth and metabolic activity of *Shewanella putrefaciens* maintained under different CO₂ and O₂ concentrations. **International Journal of Food Microbiology**, v. 64, p.277 – 287, 2001.

LOPES, M. M; MÁRSICO, E. T.; SOBREIRO, L. G.; SILVA, L. P.; CONTE-JÚNIOR, C. C.; PARDI, H. S.; MANO, S. B. Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). **Revista Portuguesa da Carne**, v. 99, n. 552, p. 207-210, 2004.

LOUPPIS, A. P.; KATIKOU, P.; GEORGANTELIS, D.; BADEKA, A. V.; KONTOMINAS, M. G. Effect of ozonation and γ -irradiation on post-harvest decontamination of mussels (*Mytillus gallo provincialis*) containing diarrhetic shellfish toxins. **Food Additives and Contaminants**, v. 28, n. 12, p. 1735-1744, 2011.

LU, S. Effects of bactericides and modified atmosphere packaging on shelf-life of Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 286–291, 2009.

MADRID, R. M. M. Características intrínsecas e tratamento pós-colheita. In: VALENTI, W. C. (Ed.). **Carcinocultura de água doce: tecnologia para a produção de camarões**. Brasília: Instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis, cap. 14, p. 279-307, 1998.

MANO, S.B.; ORDOÑEZ, J. A.; GARCIA DE FERNANDO, G..Growth/survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres. **Food Microbiology**, v.17, n.6, p.657-669, 2000.

MANTILLA, S. P. S.; SANTOS, É.B.; VITAL, H. de C.; MANO, S.B.; FRANCO, R.M. Atmosfera modificada e irradiação: métodos combinados de conservação e inocuidade alimentar. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 15, p. 1–23, 2010.

MARTINDÓTTIR, E.; LUTEN, J.B.; SCHELVIS-SMIT, A.A.M.; HYLDIG, G. Developmentsof QIM – pastand future. In: LUTEN, J. B.; OEHLENSCHLÄGER, J.; OLAFSDÓTTIR, G. (Org.). **Quality of Fish from Catch to Consumer**. Holanda: Wageningen Academic Publishers, p. 265–272. 2003.

MARTÍNEZ-ALVAREZ, Ó.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. DEL C.; MONTERO, P. Presence of hemocyanin with diphenoloxidase activity in deep water pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) post mortem. **Food Chemistry**, v. 107, n. 4, p. 1450 e 1460, 2008.

MASNIYOM, P. Deterioration and shelf-life extension of fish and fishery products by modified atmosphere packaging. Songklanakarin. **J. Sci. Technol.**, v. 33, n. 2, p. 181–192, 2011.

MATCHES, J. R. Effects of temperature on the decomposition of Pacific coast shrimp (*Pandalus jordani*). **Journal of Food Science**, v. 47, p.1044–1047, 1982.

MATCHES J. R.; LAYRISSE, M. E. Controlled atmosphere storage of spotted shrimp (*Pandalus platyceros*). **Journal of Food Protection**, v. 48, p. 709–711, 1985.

McMEEKIN, T.; OLLEY, J.; ROSS, T.; RATKOWSKY, D. Basic concepts and methods. In Predictive microbiology: theory and application. **Research Studies Press Ltd**, Taunton, UK, p. 11–84, 1993.

MONTERO, P.; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, O.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. del C. Effectiveness of onboard application of 4-hexylresorcinol in inhibiting melanosis in shrimp (*Parapenaeus longirostris*). **Journal of Food Science**, v. 69, n. 8, p. 643-647, 2004.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Melanosis and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) treated with catechin during iced storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 9, p. 3578-3586, 2009.

NIRMAL, N. P.; BENJAKUL, S. Use of tea extracts for inhibition of polyphenoloxidase and retardation of quality loss of Pacific white shrimp during iced storage. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 924-932, 2011.

NUNES, A.M.N. Qualidade dos pescados. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.8, n.32, p.5-9, 1994.

OCAÑO-HIGUERA, V. M.; MARQUEZ-RÍOS, E.; CAZINALES-DÁVILA, M.; CASTILLO-YÁÑEZ, F. G.; PACHECO-AGUILAR, R.; LUGO-SÁNCHEZ, M. E.; GARCÍA-OROZCO, K. D.; GRACIANO-VERDUGO, A. Z. Post-mortem changes in cazon fish muscle stored on ice. **Food Chemistry**, v. 116, n. 4, p.933-938, 2009.

OGAWA, M.; PERDIÇÃO, N. B.; SANTIAGO, M. E.; KOZIMA, T.T. On physiological aspects of black spot appearance in shrimp. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 50, p. 1763-1769, 1984.

OLIVEIRA, A.R.M. Efeito antimelanósico da acerola e metabissulfito de associado à embalagem em atmosfera modificada sobre a qualidade do camarão branco (*Litopenaeus vannamei*). **Dissertação**. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró-RN, 102p, 2013.

OLIVEIRA, H. A. C.; GONÇALVES, A. A. Tecnologia de Obstáculos em Produtos Pesqueiros. In: Gonçalves, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Atheneu, p. 500-514, 2011.

OLIVEIRA, N.M.S.; OLIVEIRA, W.R.; NASCIMENTO, L.C.; SILVA, J.M.S.F.; VICENTE, E.; FIORINI, J.E.; BRESSAN, M.C. Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos à sanitização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p.83-89, 2008.

OLIVEIRA, V. M. Estudo da qualidade do camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), inteiro e descabeçado estocado em gelo. **Universidade Federal Fluminense**, Niterói, 91p., 2005.

ÖZOGUL, F., POLAT, A., ÖZOGUL, Y. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). **Food Chemistry**, v. 85, p.49 – 57, 2004.

PARDIO, V. T.; WALISZEWSKI, K. N.; ZUÑIGA, P. Biochemical, microbiological and sensory changes in shrimp (*Panaeus aztecus*) dipped in different solutions using fave-centred central composite design. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 305-314, 2011.

PARRY, R. T. Envasado de los alimentos en atmósfera modificada. Madrid: **A Madrid Vicente**, 541p, 1993.

PASTORIZA, L.; BERNÁRDEZ, M.; SAMPEDRO, G.; CABO, M.L.; HERRERA, J.J.R. The use of water and ice with bactericide to prevent on board and onshore spoilage of refrigerated megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis*). **Food Chemistry**, v. 110, n. 1, p. 31-38, 2008.

PEDRAJA, R. R. Change of composition of shrimp and other marine animals during processing. **Food Technology**, Chicago, v. 24, p. 1355–1360, 1970.

PEDROSA-MENABRITO, A.; REGENSTEIN, J.M. Shelf-life extension of fresh fish – A review. Spoilage of fish. **Journal of Food Quality**, v.2, n.2, p.117-127, 1988.

PHONPALA, Y.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; EUN, J.B. Sulfur-containing compounds heated under alkaline condition: antibrowning, antioxidative activities, and their

effect on quality of shrimp during iced storage. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 6, p. 240-247, 2009.

POLI, B.M.; MESSINI, A.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; VIGIANI, V.; GIORGI, G.; VICENZINI, M. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air or prepared from whole fish stored in ice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 444-454, 2006.

PRINCE, C. Communique on use of chlorine in fish processing. Canadian Food Inspection Agency Animal Products Directorate Fish, **Seafood and Production**, 2000.

PROVINCIAL, L.; GUILLÉN, E.; ALONSO, V.; GIL, M.; RONCALÉS, P.; BELTRÁN, J. A. Survival of *Vibrio parahaemolyticus* and *Aeromonas hydrophila* in sea bream (*Sparus aurata*) fillets packaged under enriched CO₂ modified atmospheres. **International Journal of Food Microbiology**, v. 166, p. 141-147, 2013.

QUEIROZ, L.; ROSSI, S.; MEIRELES, J.; COELHO, C. Shrimp aquaculture in the federal state of Ceará, 1970- 2012: Trends after mangrove forest privatization in Brazil. **Ocean&Coastal Management**, Florida, v. 73, p.54-62, 2013.

RODRIGUES, B. L.; ALVARES, T. S.; SAMPAIO, G. S. L.; CABRAL, C. C.; ARAUJO, J. V. A.; FRANCO, R. M.; MANO, S. B.; CONTE JUNIOR, C. A. Influence of vacuum and modified atmosphere packaging in combination with UV-C radiation on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. **Food Control**, v. 60, p. 596 - 605, 2016.

RONG, C.; BANG-ZHONG, Y.; QI, L.; LAN-LAN, Z. Combined effect of ozonated water and chitosan on the shelf-life of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). **Innov. Fd. Sci. and Emerg. Tech**, v.11, n.1, p. 108–112, 2010.

SANT'ANA, L. S.; FREITAS, M. Q. de. Aspectos sensoriais do pescado. In: GONÇALVES, A. A. (Ed.). **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, p. 21–32, 2011.

SCHELEGUEDA, L. I.; DELCARLO, S. B.; GLIEMMO, M. F.; CAMPOS, C. A. Effect of antimicrobial mixtures and modified atmosphere packaging on the quality of Argentine hake

(*Merluccius hubbsi*) burgers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 68, p. 258 - 264, 2016.

SECRETARIA DE ESTADO DA ADMINISTRAÇÃO E DA PREVIDÊNCIA – SEAP.
Cartilha do pescado. Brasília: Abras, 2007.

SIKORSKI, Z.E.; KOLAKOWSKA, A.; BURT, J.R. Cambios bioquimicos y microbianos subsiguientes a la captura. In: SIKORSKI, Z.E.(Ed.). **Tecnologia de los productos del mar: recursos, composition y conservation**. Zaragoza: Acribia, cap.4, p.73-101, 1994.

SILVA, A. M. M.; GONÇALVES, A. A. Potencialidade do uso de água ozonizada no processamento de peixes. **Actapesca**, v. 2, p. 1-14, 2014.

SILVA, A.M.M.; GONÇALVES, A.A.Effect of aqueous ozone on microbial and physicochemical quality of Nile tilapia processing. **Journal of Food Processing and Preservation**, *in press*.2016.

SILVA, S.B., LUVIELMO, M.M., GEYER, M.C. & PRÁ, I. Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 659-682, 2011.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W.; ROSNES, T.A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 107–127, 2002.

SMITH, J. P. et al. Developments in food packaging technology. Part II: storage aspects. **Trends in Food Science e Technology**, v. 1, p. 111-118, 1990.

SOARES, K. M. P., GONÇALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**. v. 71, n. 1, p. 1-10, 2012.

SOCOL, M.C.H. et al. Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of tilapia fillets. **Brasilian Journal of Food Technology**, v.8, n.1, p.7-15, 2005.

STAMMEN, K. et al. Modified atmosphere packaging of seafood. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.29, n.5, p.301-331, 1990.

SUMMERFELT, S.T., HOCHHEIMER, J.N., Review of ozone processes and applications as an oxidizing agent in aquaculture. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 59, p. 94-105, 1997.

SVEINSDOTTIR, K.; HYLDIG, G.; MARTINSDÓTIR, E. Quality Index Method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic salmon (*Salmos alar*). **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 237-245, 2003.

TARLADGIS, B.G.; WATTS, B.M.; YOUNATHAN, M.T.A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of American Oil Chemist's Society**, v. 37, p. 44-48, 1960.

TAVARES, M., GONÇALVES, A. A. Aspectos Físico-químicos do Pescado. In: Gonçalves, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. São Paulo: Atheneu, p. 500-514, 2011.

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*). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 1, p. 158-161, 2007.

TOMITA, R. Y.; FURLAN, E. F.; NEIVA, C. R. P.; NETO, M. J. L.; MACHADO, T. H. Utilização do ozônio como agente sanitizante no processamento do pescado. In: 16ª Reunión de la Red Panamericana de Inspección, Control de Calidad y Tecnología de productos Pesqueros - **IV Simpósio de Controle de Qualidade do pescado (SIMCOPE)**, Parte III - Los procesos y productos pesqueros innovadores en la Región. Santos, 20 a 24 de setiembre de 2010, p. 1-14

TSIRONI, T.; DERMESONLOUOGLU, E.; GIANNAKOUROU, M.; TAOUKIS, P. Shelf life modelling of frozen shrimp at variable temperature conditions. **LWT - Food Science and Technology**. v. 42, p. 664–671, 2009.

VIEIRA, R. H. S. dos F. Microbiologia do pescado. In: GONÇALVES, A. A. (Ed.). **Tecnologia do Pescado - Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 33–42, 2011.

YAMAGATA, M., & LOW, L. K. Banana shrimp, *Penaeus merguensis*, quality changes during iced and frozen storage. **Journal of Food Science**, v. 60, p. 721–726, 1995.

YESUDHASON, P., GOPAL, T.K.S., RAVISHANKAR, C.N., LALITHA, K.V., KUMAR, A. Effect of potassium sorbate and modified atmosphere packaging on the shelf-life extension of seer fish (*Scomberomorus commerson*) steaks during iced storage. **J. Food Biochem**, v. 34, n. 2, 2010.

YUAN, J. T. C. Modified Atmosphere Packaging for Shelf-Life Extension. In: NOVAK, J. S.; SAPERS, G. M.; JUNEJA, V. K. (Eds.). **Microbial Safety of Minimally Foods**. Boca Raton: CRC Press, cap. 10, p. 205-220, 2003.

ZEUTHEN, P. Safety criteria for minimally processed foods. In: OHLSSON, T.; BENGTTSSON, N. (Eds.). **Minimal Processing Technologies in the Food Industry**. Cambridge: Wood head publishing, cap. 8, p. 196- 219, 2002.

ANEXO A – IMAGENS DOS CAMARÕES AO LONGO DO ESTUDO DE VIDA DE PRATELEIRA UTILIZANDO O MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE

TEMPO 0

TEMPO 3 DIAS

TEMPO 6 DIAS

TEMPO 9 DIAS

TEMPO 12 DIAS

CONTROLE - AR

CONTROLE - ATM

CLORO - AR

CLORO - ATM

OZÔNIO - AR

OZÔNIO - ATM