

Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopeneaeus kroyeri*

*Optimization and standardization of the methodology for determining the total base volatile nitrogen (TVB-N) in shrimps *Xyphopeneaeus kroyeri**

Autores | Authors

✉ Luciana Kimie SAVAY DA SILVA

Universidade de São Paulo (USP)
Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz" (ESALQ)
Departamento de Agroindústria,
Alimentos e Nutrição
Laboratório de Tecnologia do Pescado.
Av. Pádua Dias, 11
Caixa Postal: 09
CEP: 13418-900,
Piracicaba/SP - Brasil
e-mail: kimie@esalq.usp.br

Rafael RIGGO

Universidade Estadual Paulista
"Julio de Mesquita Filho" (UNESP)
Departamento de Melhoramento e
Nutrição Animal
e-mail: rafaelrigo12@hotmail.com

Priscila Eloi MARTINS Juliana Antunes GALVÃO Marília OETTERER

Universidade de São Paulo (USP)
Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz" (ESALQ)
Departamento de Agroindústria,
Alimentos e Nutrição
e-mail: priscila_elo@yahoo.com.br
jagalvao@esalq.usp.br
moettere@esalq.usp.br

Resumo

O estado de frescor do pescado armazenado é avaliado por uma série de parâmetros físicos, bioquímicos, microbiológicos e sensoriais, cujos valores no tempo da análise são comparados com os respectivos valores que as suas matérias-primas apresentavam no tempo referente à recém captura (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). A análise de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT) é um método relativamente simples e comumente usado para avaliar a qualidade de frescor em pescado, pois permite quantificar uma ampla gama de metabólitos da atividade endógena e exógena (AMANAJÁS, 1985). Esta pesquisa teve como objetivo otimizar e padronizar o uso de uma metodologia para determinação de BNVT em pescado. A matéria-prima utilizada foram camarões (*Xyphopeneaeus kroyeri*), com um grau de deterioração já avançado. Para a determinação, foi utilizada a metodologia oficial para determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais da instrução normativa número 20, de 21 de julho de 1999, Anexo – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura, de duas formas distintas: uma recolhendo o destilado por 30 min (metodologia original); e outra, recolhendo o destilado até 100 mL. Os resultados foram analisados usando-se Limite de Confiabilidade de 95%, através do programa Microsoft Office Excel, 2003. As médias dos resultados das análises de BNVT avaliadas neste estudo não apresentaram diferença estatística entre elas (5%), embora Aitken (1988) *apud* Botta (1994) afirme que diferentes métodos são usados para determinar o BNVT, sendo que cada metodologia, provavelmente, apresenta suas próprias particularidades quanto à detecção da deterioração, e, conseqüentemente, apresentem diferentes resultados para a mesma amostra. As amostras das quais foram recolhidos 100 mL do destilado tiveram uma menor variação do Limite de Confiabilidade, em relação às amostras de 30 min. Ao se utilizar a metodologia que recupera apenas 100 mL do destilado, é notável a economia de tempo, eletricidade e água, sem prejuízo na qualidade e confiabilidade dos resultados, contribuindo para otimizar e padronizar a rotina de análise do laboratório.

Palavras-chave: Camarão; Controle de qualidade; Bases nitrogenadas voláteis totais; Metodologia; Padronização; Otimização de recursos.

■ Summary

Freshness state of the fished stored is assessed by a series of physical, biochemical, microbiological and sensorial parameters, whose values at the time of the analysis are compared with values that their raw materials presented at the time referring to recent capture (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). Analysis of Total Base Volatile Nitrogen (TVB-N) is a relatively simple method commonly used to assess quality of freshness in fish, once it allows to quantify a wide range of metabolic of endogenous and exogenous activities (AMANAJÁS, 1985). This study aimed to optimize and standardize the use of a methodology to determine TVB-N in fished. Shrimp (*Xyphopenaeus kroyeri*) wa the raw material with advanced stage of deterioration. To carry out the study, we used the official methodology for determining the total base volatile nitrogen of normative inquiry number 20, 21 July 1999, Annex – Physico-chemical analytical methods for control of meat products and their ingredients – salt and brine, in two different ways: one, collecting the distillate for 30 min (original methodology), and another, collecting the distillate up to 100 mL. Results were analyzed by using the 95% Confidence Limits through the use of Microsoft Office Excel, 2003. The averages of analytical results of TVB-N evaluated in this study showed no statistical difference (5%), although, Aitken (1988) *apud* Botta (1994) states that different methods are used to determine BNVT, being that each methodology, probably, presents its own peculiarities regarding detection of deterioration, and thus show different results for the same sample. Samples from which it was collected 100 mL of distillate had a minor variation in Confidence Limits, compared to those of distillate collected in 30 min. When we use the methodology that collects only 100 mL of distillate, it shows remarkable time, electricity and water savings, without affecting the quality and reliability of results, helping to optimize and standardize routine analysis of the laboratory.

Key words: *Shrimp; Quality control; Total base volatile nitrogen; Methodology; Standardization; Optimization of resources.*

Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*

SAVAY DA SILVA, L. K. et al.

1 Introdução

A palavra qualidade é amplamente usada e com muitos significados. Na indústria pesqueira o termo “qualidade do pescado” relaciona-se muitas vezes com espécies com tamanho de mercado e alto valor comercial. Um pescado considerado de qualidade inferior por um processador pode ser muito pequeno ou estar em más condições para certos processos, o que resultará em baixos rendimentos e benefícios. Muitas vezes, contudo, a qualidade é sinônima de aparência e frescor, e se refere ao grau de deterioração existente no pescado. Por último, para as autoridades governamentais, que estão principalmente interessadas em possíveis perigos para a saúde, boa qualidade significa ausência de agentes nocivos tais como parasitas, compostos químicos e organismos patogênicos (HUSS, 1988). Para Contreras-Guzmán (1988), qualidade como um todo envolve a soma dos atributos físicos, sensoriais, químicos e microbiológicos dos alimentos e no pescado a qualidade está estreitamente ligada com o estado de frescor.

A qualificação do frescor envolve considerações relacionadas com o tempo e qualidade. A esta última contribuem muitos fatores, sendo, portanto, difícil encontrar um só ensaio que determine estes aspectos (MORGA, 1975).

O frescor do pescado pode ser avaliado por métodos sensoriais, microbiológicos ou físico-químicos, no entanto, devido à subjetividade dos métodos sensoriais e à demora e custo elevado para execução de testes microbiológicos, métodos químicos que quantifiquem os produtos derivados da atividade enzimática endógena e bacteriana têm sido desenvolvidos nesta avaliação. Muitos índices químicos para controle de qualidade de peixes, moluscos e crustáceos estão baseados nas alterações quantitativas ou qualitativas de compostos da fração nitrogenada não proteica do músculo. Esta fração engloba substâncias de baixo peso molecular de diversas origens. A atividade enzimática pode causar uma alteração na concentração destes compostos ou originar outros diferentes. A detecção de alterações progressivas destas substâncias no músculo do pescado durante o armazenamento é o primeiro requisito para considerar tais substâncias como potenciais índices de frescor (LAPA-GUIMARÃES, 2005).

A perda de qualidade inicial do pescado é causada principalmente por mudanças autolíticas e não relacionadas com atividade microbiológica (GRAM e HUSS, 1996). De fato, Ehira e Uchiyama (1987) relatam que os fenômenos que se desencadeiam no músculo do pescado após a captura podem ser divididos em duas etapas, denominadas frescor bioquímico e frescor microbiológico. Segundo Contreras (2002), os compostos formados na primeira etapa, entre a captura e o fim do *rigor-mortis*, são de origem autolítica e sua produção não pode ser evitada,

mas apenas regulada; enquanto que os compostos da segunda etapa, que compreende as mudanças de qualidade no pós-rigor, são produtos de atividade microbiana cuja formação pode ser controlada até certo limite pelo emprego de processos tecnológicos.

As mudanças que ocorrem no pescado, após sua morte, são difíceis de ser distinguidas se procedem de atividades microbianas ou enzimáticas. A espécie do pescado e o manuseio que este recebe antes da morte influem bastante nos processos deteriorativos. Saliente-se que a classe e quantidade de substâncias extrativas nitrogenadas disponíveis nos músculos na forma de aminoácidos livres, peptídeos simples como anserina e glutatona, óxido de trimetilamina, creatina e taurina exercem importante papel no aparecimento de outros produtos de degradação, uma vez que a presença destas substâncias extrativas constitui o ponto fundamental da partida para a atividade dos microrganismos (OGAWA et al., 1999).

Existe um grande número de métodos para avaliar os aspectos de qualidade do pescado. Alguns deles têm se mostrado inadequados para tal propósito, e outros têm sido utilizados em situações muito específicas ou para um número limitado de espécies de pescado ou seus produtos (HUSS, 1988).

Os métodos químicos para acompanhamento do frescor baseiam-se na determinação de diversos compostos gerados pelas mudanças dos compostos musculares originais causados por enzimas endógenas ou exógenas, estas últimas produzidas pela proliferação dos microrganismos (CONTRERAS-GUZMÁN, 1988).

Os testes químicos usados com maior frequência são: determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT), incluindo a amônia; determinação de Trimetilamina (TMA); determinação de dimetilamina (DMA); determinação de histamina e outras aminas pesadas; determinação de nitrogênio não proteico (NNP); determinação de aminoácidos livres (AAL); determinação de sulfeto de hidrogênio (H₂S); determinação de produtos de degradação dos nucleotídeos especialmente de inosina e hipoxantina (CONTRERAS-GUZMÁN, 1988; OGAWA et al., 1999).

O teor de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (amônia, trimetilamina e dimetilamina) e o teor de trimetilamina têm sido empregados como índices de frescor para pescado (RUIZ-CAPILLAS e MORAL, 2001). Entretanto, existem controvérsias sobre a efetividade destes parâmetros, uma vez que em algumas espécies de pescado, alterações significativas nos teores destes compostos somente ocorrem quando os sinais de deterioração já são perceptíveis sensorialmente (LAPA-GUIMARÃES, 2005).

A análise de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT) é um método relativamente simples e é comu-

Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*

SAVAY DA SILVA, L. K. *et al.*

mente usado para avaliar a qualidade de frescor (odor/*flavor*) de pescado. No entanto, diferentes métodos são usados para determinar as BNVT. Por exemplo, nove diferentes laboratórios na Europa usam seis diferentes metodologias para determinar BNVT. Contudo, cada metodologia, provavelmente, apresenta suas próprias particularidades quanto à detecção da deterioração. Na verdade, quando um único método foi usado nos nove diferentes laboratórios na Europa, diferenças significativas entre os laboratórios foram observadas. Acredita-se que a causa dessas diferenças significativas deva-se a pequenas diferenças no tipo de aparelho usado e a pequenas diferenças no método de operação (AITKEN, 1988 *apud* BOTTA, 1994). Antonacopoulous e Vyncke (1989 *apud* Botta, 1994) conduziram um estudo detalhado da metodologia de BNVT e concluíram que: a) a metodologia de BNVT é um método de rotina que somente deve ser usado para determinar se o pescado está apropriado ou inapropriado para o consumo humano; b) a identificação dos primeiros estágios de frescor não é possível com o BNVT; e c) a determinação do BNVT por destilação direta em peixes é conveniente como um método de determinação da comercialização desse produto por ser simples, rápido e econômico.

No início do processo degradativo, a base volátil mais representativa é a amônia originária dos produtos da desaminação dos derivados do ATP. Posteriormente, a amônia proveniente da degradação de outros compostos nitrogenados, a exemplo de aminoácidos, juntamente com a trimetilamina, formada a partir do óxido de trimetilamina, passa a se fazer presente (OGAWA *et al.*, 1999).

Para Morga (1975), as bases voláteis nitrogenadas ocorrem no músculo dos peixes devido ao desdobramento das proteínas por ação enzimática e bacteriana dando como produtos finais aminas; situando-se entre estas, substâncias voláteis simples. Estas aminas aumentam progressivamente com a deterioração, sendo determinadas no tecido muscular sob a forma de Base Nitrogenada Volátil Total.

As substâncias nitrogenadas voláteis originam-se do Óxido de Trimetilamina (OTMA) e dos aminoácidos livres por mecanismos diferentes, portanto, as BNVT representam o efeito concorrente de várias transformações. Esta inespecificidade é um dos méritos da determinação, pois a amônia e as aminas voláteis são metabólicos ubíquos da decomposição de peixes, crustáceos e moluscos. Os peixes de água doce apresentam algumas particularidades (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

De acordo com Contreras (1994), o aumento de amônia pode se originar da ação das aminoidrolases sobre os nucleotídeos, desenvolvimento microbiano e hidrólise de ureia. A amônia derivada de nucleotídeos é produzida logo após a captura e, em alguns casos, no

esforço anterior à captura e não deve ser considerada um reflexo da deterioração, representando, apenas, uma decomposição autolítica que não pode ser evitada.

No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece o valor de 30 mg N.100 g⁻¹ como limite máximo de BNVT para pescado fresco, exceto para elasmobrânquios (BRASIL, 1997).

De acordo com Ogawa *et al.* (1999), para peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNVT atinge 5 a 10 mg N.100 g⁻¹ de carne; peixes com frescor razoável podem atingir até 15 a 25 mg N.100 g⁻¹. No início da putrefação, este teor pode ir até 30 a 40 mg N.100 g⁻¹ e, quando bastante deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50 mg N.100 g⁻¹.

Em detrimento da situação das pesquisas em pescado e da deficiência de trabalhos que comparem metodologias para pescado, esta pesquisa teve como objetivo otimizar e padronizar o uso de uma metodologia para determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT) em pescado, utilizando camarão como matéria-prima.

2 Material e métodos

As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia do Pescado do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, ESALQ/USP, campus de Piracicaba-SP. A matéria-prima utilizada foram camarões (*Xyphopenaeus kroyeri*) com um grau de deterioração já avançado, pois permaneceram, intencionalmente, em temperatura de 5 °C por quatro dias, com o intuito de se acelerar os processos de deterioração.

Para a determinação do estado de frescor dessa matéria-prima, foi realizada a análise de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT) utilizando-se a metodologia oficial para determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais da instrução normativa número 20, de 21 de julho de 1999, Anexo – Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura, (publicada no Diário Oficial da União de 20 de julho de 1999, seção 1, página 10), em dois ensaios distintos.

Em ambos os casos, o nitrogênio proteico foi precipitado com ácido tricloroacético e o filtrado obtido, contendo o nitrogênio volátil, foi alcalinizado a vapor, recebido em solução de ácido bórico e titulado com solução de ácido padronizado em presença de indicador misto (solução com 0,132 g de vermelho de metila e 0,066 g de verde de bromocresol, dissolvidos em 200 mL de álcool etílico 70%).

Dessa forma, para cada ensaio, foram trituradas 50g de amostra, durante 1 min, com 150 mL de solução de ácido tricloroacético a 5%, até obter uma massa homo-

Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*

SAVAY DA SILVA, L. K. et al.

gênea. Em seguida, filtrou-se essa massa homogênea em funil de Bücker com a utilização de papel filtro qualitativo sob bomba a vácuo (caso o filtrado não fosse límpido, a operação deveria ser repetida utilizando-se papel de filtro quantitativo).

Para destilação, transferiram-se 10 mL (com o auxílio de pipeta volumétrica) do filtrado obtido para o Erlenmeyer de 1000 mL ajustável ao destilador. Depois, adicionaram-se no mesmo Erlenmeyer 20 mL de água destilada e 1 g de óxido de magnésio no momento da destilação. Acoplou-se o Erlenmeyer contendo a amostra, a água e o óxido no destilador e iniciou-se o processo de destilação.

Recebeu-se o destilado em Erlenmeyer de 125 mL contendo 20 mL de ácido bórico 4% e 5 gotas do indicador misto. E, nesse momento, fez-se a distinção entre os ensaios: em um (Ensaio 1) recolheu-se o destilado durante 30 min, como sugere a metodologia original em questão; e no outro ensaio (Ensaio 2), recolheu-se o destilado até se completar o volume de 100 mL no Erlenmeyer de 125 mL.

Nas duas situações, titulou-se a amônia e aminas voláteis, existentes no conteúdo recuperado, com solução de ácido sulfúrico 0,01 N, até o ponto de viragem (quando o verde/azul passa para lilás/rosa).

Para os cálculos, em ambos os casos, utilizou-se a seguinte fórmula (Equação 1):

$$\text{BNVT em mgN/100 g} = \frac{14 \cdot (150 + A) \cdot V \cdot f \cdot N \cdot 100}{V_a \cdot P} \quad (1)$$

onde: N = normalidade da solução do ácido sulfúrico; V = mL de ácido sulfúrico gastos na titulação; F = fator de correção de solução de ácido sulfúrico 0,01 N; Va = volume da alíquota em mL (10 mL do filtrado); P = massa da amostra em gramas (50 g); A = conteúdo de água na amostra expressa em mL.100 g⁻¹.

Observação: Pode-se considerar que o conteúdo médio de água na carne de pescado é de 80%. Como se utilizaram 150 mL de ácido tricloroacético e pesaram-se 50 g, a expressão (150 + 40) = 190.

Foram realizadas 15 repetições em cada ensaio. E os resultados foram analisados usando-se Limite de Confiabilidade de 95%, através do programa Microsoft Office Excel, 2003.

3 Resultados e discussão

Os valores das titulações e de BNVT (mg N.100 g⁻¹) referentes às repetições dos dois ensaios podem ser observados na Tabela 1.

Na Tabela 2, podem ser observados os resultados obtidos para a média dos valores de BNVT (mg N.100 g⁻¹) nos camarões deteriorados, desvio padrão (Std Dev), Erro

Tabela 1. Valores da titulação e de BNVT (mg N.100 g⁻¹) para camarão deteriorado.

Ensaio 1	Titulação	BNVT	Ensaio 2	Titulação	BNVT
A1	5,7	29,4	B1	4,9	25,2
A2	4,2	21,6	B2	4,7	24,2
A3	4,1	21,1	B3	4,6	23,7
A4	4,6	23,7	B4	5,0	25,7
A5	4,9	25,2	B5	4,3	22,1
A6	3,4	17,5	B6	4,2	21,6
A7	4,2	21,6	B7	4,3	22,1
A8	3,7	19,1	B8	4,4	22,7
A9	4,6	23,7	B9	4,3	22,1
A10	4,2	21,6	B10	4,3	22,1
A11	3,3	17,0	B11	4,4	22,7
A12	4,5	23,2	B12	4,9	25,2
A13	4,6	23,7	B13	4,6	23,7
A14	4,6	23,7	B14	4,0	20,6
A15	4,5	23,2	B15	4,6	23,7
Média	-	22,3	-	-	23,2

Tabela 2. Valores das médias de BNVT encontrados nos Ensaios 1 e 2.

Ensaio	Média BNVT (mg N.100 g ⁻¹)	Std dev	N	StdErr	95%CL
1	22,3 ^a	3,0702	15	5,7707	11,5415
2	23,2 ^a	1,4824	15	0,3827	0,7655

1 = Ensaio 1, destilação durante 30 min, 2 = Ensaio 2, destilação até recuperação de 100 mL do destilado; e N = número de repetições.

em relação à média (StdErr) e limite de confiabilidade (CL) (95%).

Para o Ensaio 1, encontrou-se um valor médio de BNVT de 22,3 mg N.100 g⁻¹ de amostra, e no Ensaio 2, o valor médio de 23,2 mg N.100 g⁻¹ de amostra. Ambos os valores estão dentro do valor permitido pela legislação que é de 30 mg N.100 g⁻¹ de amostra (BRASIL, 1997). Entretanto, encontram-se, segundo Ogawa et al. (1999), em um estado de frescor razoável.

Kirschnick e Viegas (2004), estudando as alterações na qualidade do camarão de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*), observaram que os índices de BNVT estocados sem contato com gelo aumentaram significativamente ao longo do armazenamento atingindo 27,10 mg N.100 g⁻¹. Já no camarão estocado em contato com gelo, ocorreu um rápido aumento no segundo dia de armazenamento, permanecendo constante até o fim, concluindo, portanto, que a embalagem possa ter protegido o pescado contra perdas de BNVT por lixiviação.

Guimarães-Lopes (2006) encontrou valores médios de BNVT em camarão-branco-do-pacífico irradiado e não-irradiado, armazenados sob refrigeração, e não detectou diferença significativa entre as amostras, sendo os valores

Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*

SAVAY DA SILVA, L. K. *et al.*

médios de 19,99 a 20,17 mg N.100 g⁻¹ de músculo de camarão.

Yokoyama (2007), avaliando a ação de antimela-nócitos (metabissulfito de sódio e o 4-hexylresorcinol) em camarão, observou que, em relação a camarões inteiros e descabeçados, houve uma diferença significativa dos valores de BNVT encontrados para o tratamento de metabissulfito em pó para os camarões descabeçados, que atingiram o valor de 33,78 mg N.100 g⁻¹ de camarão, principalmente pelo motivo, deste tratamento ter sido obtido no comércio, e por ter sido manipulado excessivamente, sob péssimas condições de higiene e altas temperaturas.

As médias dos resultados das análises de BNVT avaliadas neste estudo (Ensaio 1 e 2) não apresentaram diferença estatística entre elas (5%), embora Aitken (1988) *apud* Botta (1994) afirme que diferentes métodos são usados para determinar o BNVT, sendo que cada metodologia, provavelmente, apresenta suas próprias particularidades quanto à detecção da deterioração, e, conseqüentemente, apresentem diferentes resultados para a mesma amostra.

Entretanto, pode-se verificar também que as amostras das quais foram recolhidos 100 mL do destilado (Ensaio 2) tiveram uma menor variação do Limite de Confiabilidade (CL 95% = 0,7655 - Tabela 2), em relação às amostras de 30 min (CL 95% = 11,5415 - Tabela 2), o que pode ser considerado como um método que apresenta maior confiabilidade, devido à replicabilidade dos dados, resultando em dados com erro e desvio padrão minimizados.

4 Conclusões

O método do MAPA, com recuperação de apenas 100 mL do destilado, mostrou-se mais econômico em relação ao tempo, uso de eletricidade e água, sem prejuízo na qualidade e otimizando a confiabilidade dos dados.

Trabalhos como este são de extrema importância na área de pesquisa, principalmente na cadeia produtiva do pescado, na qual ainda não há trabalhos de pesquisa suficientes e nem metodologias padronizadas e otimizadas

Referências

AITKEN, A. TVB. A quality index. Infotish international. In: BOTTA, J. R. **Freshness quality of seafoods**: a review. London: Blackie, 1994. p.140-167.

AMANAJÁS, P. P. **Determinação dos compostos básicos totais do pescado e o seu potencial para avaliação do frescor**. 1985. 110 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

BOTTA, J. R. Freshness quality of seafoods: a review. In: SHAHIDI, F.; BOTTA, J. R. **Seafoods**: chemistry, processing technology and quality. London: Blackie, 1994. p. 140-167.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. **Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura**. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2855>>. Acesso em: 01 jun 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Portaria 185**, 1997. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 05 de Junho de 2008.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. Métodos químicos para análise de pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U. E. (Coord.). **Controle de qualidade de pescado**: seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado. Santos: Loyola, 1988. 303 p.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409p.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. Santiago de Chile: Centro de estudos em ciência y tecnologia de alimentos, 2002. 309 p.

EHIRA, S.; UCHIYAMA, H. Determination of fish freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. In: KRAMER, D. E.; LISTON, J. (Eds.). **Seafood quality determination**. Amsterdam: Elsevier science, 1987. p. 185-207.

GRAM, L.; HUSS, H. H. Microbiological spoilage of fish products. **International Journal of Food Microbiology**, Denmark, v. 33, n. 1, p. 121-137, 1996.

GUIMARÃES-LOPES, T. G. **Efeito sinérgico da radiação gama e da refrigeração na conservação do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*)**. 2006. 94 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

HUSS, H. H. **El pescado fresco**: su calidad y cambios de calidad. Roma: FAO, 1988. 131 p.

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**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 407-412, 2004.

LAPA-GUIMARÃES, J. **Aminas biogênicas, aminas voláteis, triptofano livre e uréia como índices químicos de qualidade e frescor do pescado**. 2005. 125 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopeneaus kroyeri*

SAVAY DA SILVA, L. K. *et al.*

MORGA, A. **Avaliação do índice de frescor da Pescada Foguete, *Macrodon ancylodon*, conservada em gelo.** 1975. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1975.

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

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake

(*Merluccius merluccius*, L) stored in ice. **Journal of Food Science**, Madrid, v. 66, n. 7, p. 1030-1032, 2001.

YOKOYAMA, V. A. **Qualidade do camarão da espécie *Xyphopeneaus kroyeri* mediante ação de antimelanócitos.** 2007. 124 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.