

DETERMINAÇÃO E MONITORAMENTO DE AMINAS BIOGÊNICAS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA EM FILÉS DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) RESFRIADOS EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADOS*

Fernanda Lima Cunha¹⁺, Maria Lúcia Guerra Monteiro¹, Carlos Adam Conte Júnior², César Aquiles Lázaro de La Torre¹, Érica Barbosa Santos¹, Hélio de Carvalho Vital³, Eliane Teixeira Mársico² e Sérgio Mano²

ABSTRACT. Cunha F.L., Monteiro M.L.G., Conte Júnior C.A., Lázaro de La Torre C.A., Santos E.B., Vital H. de C., Mársico E.T. & Mano S. [**Determination and monitoring of biogenic amines by high performance liquid chromatography fillets tilapia of Nile (*Oreochromis niloticus*) cold treated with modified atmosphere packaged and irradiation**]. Determinação e monitoramento de amins biogênicas por cromatografia líquida de alta eficiência em filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(3):275-282, 2013. Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil Filho, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24230-340, Brasil. E-mail: nandavetuff@yahoo.com.br

The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), among cultivated species, obtained greater emphasis on farming for their sensory characteristics, good fillet yield, high productivity and hardiness, making it quite attractive in the whole country. This study aimed to determine and monitoring the biogenic amines in fillets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cooled, packaged in modified atmosphere and irradiated during the storage. After obtaining samples, the tilapia fillets were divided into four different treatments: aerobic packaging (T1), modified atmosphere packaging (MAP) with 40/60 CO₂/N₂ (T2), aerobic packaging and irradiation dose of 1.5 kGy (T3) MAP and irradiation using the same conditions and irradiation atmosphere (T4). The samples were kept at 0 ± 1 ° C for 14 days. The determination and monitoring of biogenic amines was performed after extraction, derivatization and analysis by high performance liquid chromatography. Regarding the appearance of biogenic amines, the modified atmosphere packaging (T2) showed positive effects in delaying the onset of biogenic amines. However, irradiation (T3) and MAP associated with irradiation (T4) obtained the best results when compared with only the MAP (T2) or packaged in aerobiosis (T1). We conclude that the synergistic effect expected in the use of irradiation associated with modified atmosphere packaging was not observed, the largest inhibitory effect on the formation of biogenic amines attributed to the use of irradiation.

KEY WORDS. HPLC. Bioactive amines, gamma radiation, freshwater fish.

* Recebido em 29 de outubro de 2012.

Aceito para publicação em 23 de agosto de 2013.

¹ Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil, 64, Santa Rosa, Niterói, RJ 24320-340, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: nandavetuff@yahoo.com.br E-mails: marialuciaguerra@yahoo.com.br; aquil18@yahoo.com; ericaebs@hotmail.com

² Médico-veterinário. DSc., Departamento de Tecnologia dos Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Rua Vital Brazil Filho, 64, Niterói, RJ 24230-340, Brasil. E-mails: mtaconte@vm.uff.br; elianee@vm.uff.br; mtasbm@vm.uff.br

³ Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Seção de Defesa Nuclear, Centro Tecnológico do Exército, Ministério da Defesa, Av. das Américas, 28750, Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, RJ 23020-470. E-mail: vital@ctex.eb.br

RESUMO. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), dentre as espécies cultivadas, obteve maior destaque na piscicultura por suas características sensoriais, bom rendimento de filé, alta produtividade e rusticidade, tornando-se bastante atraente em todo o país. Este trabalho teve como objetivo determinar e monitorar as amins biogênicas em filés de tilápia do Nilo resfriados, embalados em atmosfera modificada (40/60 CO₂/N₂) e irradiados (1,5 kGy) durante o período de armazenamento. Após a obtenção das amostras, os filés de tilápia foram divididos em quatro tratamentos distintos: embalagem em aerobiose (T1), embalagem em atmosfera modificada com 40/60 CO₂/N₂ (T2), embalagem em aerobiose e irradiação com dose de 1,5 kGy (T3) e EAM e irradiação, utilizando as mesmas condições de atmosfera e irradiação (T4). As amostras foram mantidas a 0±1°C por 14 dias. A determinação e monitoramento das amins biogênicas foram realizados após extração, derivatização e análise por cromatografia líquida de alta eficiência. Em relação ao aparecimento de amins biogênicas, a embalagem em atmosfera modificada (T2) apresentou efeitos positivos no retardo do aparecimento das amins biogênicas, entretanto, a irradiação (T3) e a EAM associada à irradiação (T4) obtiveram os melhores resultados quando comparados somente com a EAM (T2) ou embalagem em aerobiose (T1). Conclui-se que o efeito sinérgico esperado na utilização da irradiação associada à embalagem em atmosfera modificada não foi observado, sendo o maior efeito inibitório na formação de amins biogênicas atribuído à utilização da irradiação.

PALAVRAS-CHAVE. CLAE, amins bioativas, radiação gama, peixe dulcícola.

INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), dentre as espécies cultivadas, obteve maior destaque na piscicultura por suas características sensoriais, bom rendimento de filé, alta produtividade e rusticidade (Marengoni 2006), tornando-se bastante atraente em todo o país por demonstrar boa adaptabilidade em diversas condições ambientais, boa conversão alimentar e carne de textura firme (Wagner et al. 2004), com qualidade superior e sem espinhos, o que facilita o trabalho de filetagem, além de apresentar boa aceitação no mercado (Kubitza 2007). Este fato, bem como o sabor, valor nutritivo e baixo custo vêm impulsionando a expansão da tilápia no Brasil. Além disso, devido sua facilidade de culti-

vo, os piscicultores despertaram atenção para esta espécie o que, consequentemente, manifestou o interesse das indústrias em processar este peixe (Simões et al. 2007). *Oreochromis niloticus* é a espécie mais cultivada no Brasil, podendo ser produzida em praticamente todo o território nacional. Em 2010, representou 39,4% do total de pescado proveniente da piscicultura nacional, totalizando 155.450 toneladas (Brasil 2012).

Entretanto, o pescado apresenta aspectos fisiológicos e bioquímicos que propiciam condições intrínsecas favoráveis à multiplicação microbiana, como pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, altos teores de lipídeos insaturados, nutrientes facilmente utilizáveis por microrganismos, rápida ação das enzimas autolíticas e alta atividade metabólica da microbiota (Mársico et al. 2006), sendo a ação bacteriana, a principal causa da decomposição do pescado. Esta matriz alimentar apresenta uma microbiota natural variada, principalmente presente no muco superficial, brânquias e trato digestivo. Contudo, tornam-se potencialmente perigosos para os consumidores quando os métodos de sanitização, higienização e conservação são inadequados (Minozzo & Maluf 2007), especialmente devido ao fato da ação microbiana originar inúmeros metabólitos (Rodrigues et al. 2012). Dentre estes alguns compostos apresentam potencial toxicológico a saúde humana, como as amins biogênicas. Estas amins são bases orgânicas de baixo peso molecular, geralmente, produzidas pela descarboxilação bacteriana de aminoácidos livres presentes nos alimentos. Portanto, os produtos que possuem maior possibilidade de conter esses compostos são aqueles que têm uma elevada carga protéica e microrganismos com atividade descarboxilante sobre aminoácidos (Halász et al. 1994, Cunha et al. 2012), como por exemplo, o pescado (Hu et al. 2012).

Apesar das amins biogênicas desempenharem funções essenciais no metabolismo humano, quando ingeridas em concentrações elevadas, estas amins podem causar efeitos toxicológicos e carcinogênicos ao consumidor (Ladero et al. 2010). Contudo, segundo Shalaby (1996) para que a descarboxilação ocorra depende da disponibilidade de aminoácidos livres, da presença de microrganismos capazes de realizar tal atividade e das condições ambientais adequadas para o crescimento bacteriano e produção de enzimas.

A quantificação de amins biogênicas é uma operação analítica com acentuado grau de dificul-

dade devido fundamentalmente a alguns fatores como o acentuado caráter polar dos compostos que resulta numa maior solubilidade em água do que na maioria dos solventes orgânicos; à ausência de propriedades intrínsecas dos compostos que possibilitem a sua detecção diretamente por métodos físico-químicos de aplicação corrente, como é o caso de métodos espectrofotométricos, fluorimétricos ou eletroquímicos; à extrema complexidade da matriz; às baixas concentrações em que estes compostos se encontram nas amostras; a potencial presença de compostos interferentes (Önal 2007). Desta forma, são necessárias pesquisas, a partir de metodologias sofisticadas, como a utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com o intuito de estudar a possível produção de compostos tóxicos durante o período de estocagem desta matriz alimentar submetidas a esses diferentes tratamentos (irradiação, embalagem em atmosfera modificada; irradiação e embalagem em atmosfera modificada).

Alguns métodos de conservação vêm sendo estudados na tentativa de prolongar a validade comercial do pescado (Lopes et al. 2004, Sireno et al. 2010, Novaes et al. 2012). Entre eles, pode-se citar, a embalagem em atmosfera modificada (EAM) que consiste numa embalagem hermética de um alimento, em um material plástico de alta barreira, no qual se substitui a atmosfera ao redor do produto no momento da embalagem por um gás ou mistura otimizada de gases, permitindo controlar melhor, as reações químicas, enzimáticas e microbiológicas, evitando ou minimizando as principais degradações produzidas durante o período de estocagem (Teodoro et al. 2007). Deste modo, a EAM é um método que tem o potencial de diminuir a taxa de crescimento microbiano, estendendo assim, a validade comercial dos alimentos (Mano et al. 2000, Salgado et al. 2006). Outro método de conservação bastante estudado é a irradiação de alimentos que é definida como o processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidade sanitária, fitossanitária e/ou tecnológica (Brasil 2001). Este processo vem se destacando por possuir grande eficácia na redução da carga microbiana, decorrente do efeito da radiação ionizante sobre o DNA cromossômico, lesando os ácidos nucleicos das bactérias contaminantes, acarretando à morte celular, fenômeno que contribui para o aumento da validade comercial sem produzir alterações significativas nas características

sensoriais e nutricionais dos produtos, além de não tornar o alimento radioativo (Vital & Freire 2008). Apesar de haver vários estudos envolvendo esses métodos, existe uma carência de informações relacionadas à produção de aminas biogênicas quando estes métodos são utilizados separadamente e de forma combinada em pescado.

Considerando os aspectos supracitados, o presente estudo teve como objetivo avaliar a produção de aminas biogênicas durante o período de armazenamento de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados, embalados em atmosfera modificada e irradiados.

MATERIAL E MÉTODOS

Imediatamente após o abate por hipotermia e filetagem, foram obtidos 120 filés de tilápia em uma empresa localizada no Rio de Janeiro. Em seguida, as amostras foram transportadas em caixas isotérmicas de poliestireno expandido com gelo reciclável ($0\pm 1^\circ\text{C}$) até o laboratório onde foram divididas em quatro tratamentos distintos, conforme os métodos de conservação utilizados: T1 (embalagem em aerobiose - controle), T2 (embalagem em atmosfera modificada com - 40/60 CO_2/N_2), T3 (embalagem em aerobiose e irradiação com dose de 1,5 kGy) e T4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação, utilizando as mesmas condições de T2 e T3).

As amostras embaladas em aerobiose foram acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido, previamente higienizadas com álcool 70%, envolvidas com filme de cloreto de polivinila (PVC). O processo de embalagem em atmosfera modificada foi realizado sob condições laboratoriais, utilizando-se embalagens plásticas *Cryovac* BBL4 e termoseladora marca Tecmaq, modelo AP 450. A irradiação foi realizada no Centro Tecnológico do Exército (CTEx), Guaratiba/RJ, com fonte césio-137, utilizando-se gelo seco durante o processo. A concentração de gases e a dose de irradiação foram baseadas em resultados descritos por Teixeira (2009). As amostras foram periodicamente submetidas à análise de determinação de aminas biogênicas, a partir da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), sendo os procedimentos analíticos realizados em duplicata e com ausência de determinação prévia de intervalo de tempo, isto é, a periodicidade da realização das análises foi estabelecida com base na evolução dos resultados de cada procedimento.

O processo de extração das aminas foi realizado conforme metodologia modificada do proposto por Cunha et al. (2012). Foram pesadas 5 g da amostra, adicionadas de solução a 5% de ácido perclórico (HClO_4), 1:1 (v:p) que, em seguida, foram vigorosamente homogeneizadas por dois minutos em homogenizador Certomat®. A solução foi mantida durante uma hora sob-refrigeração ($4\pm 2^\circ\text{C}$), com agitação periódica e, posteriormente, centrifugada por 503g por dez minutos a $4\pm 1^\circ\text{C}$ (Rodríguez et al. 2001). O sobrenadante foi submetido a uma primeira filtração (Whatman n° 1 de 150 mm), seguida da adição de hidróxido de sódio 2N até atingir pH superior a 6. Após, a solução permaneceu em banho de gelo durante 20 minutos e foi realizada uma segunda filtração, em condições

similares aquela anteriormente citada, onde foi adicionado hidróxido de sódio 2N até pH superior a 12. A seguir, a etapa de derivatização foi realizada com adição de 40µL de cloreto de benzoila e agitação em vórtex por 15 segundos sendo, posteriormente, mantida em repouso por 20 minutos à temperatura ambiente (Mei 1994). Em seguida, foi adicionado 1 mL de éter dietílico duas vezes consecutivas e, ao final desta etapa, a fase etérea (sobrenadante) foi aproveitada. Realizou-se a evaporação do solvente em corrente de nitrogênio e, posteriormente, o resíduo foi ressuspenso em 500µL da fase móvel, acetonitrila:água 42:58 (v:v). Em seguida, 20µL da ressuspensão foi injetada, sendo 15 minutos o tempo de corrida para cada amostra. Para quantificação das aminas biogênicas foi realizada a elaboração dos padrões externos que consistiu na dissolução de concentrações seriadas dos padrões de cadaverina, histamina, putrescina e tiramina (Sigma Aldrich) em ácido clorídrico (HCl) 0,1N, seguida da etapa de derivatização e análise conforme realizado com as amostras.

Para determinação de aminas biogênicas utilizou-se o cromatógrafo líquido de alta eficiência Shimadzu® modelo LC/10 AS acoplado ao detector UV SPD/10 AV, programado a 198 nm, com integrador C-R6A Chromatopack. Utilizou-se uma coluna Teknokroma, TR-016057 N26243 Tracer Extrasil ODS2 (15 x 0,46 cm, id. 5µm) e uma pré-coluna Supelco, Ascentis C18 (2 x 0,40 cm, id. 5µm). As condições cromatográficas utilizadas foram fluxo de 1 mL min⁻¹ e fase móvel isocrática de acetonitrila:água 42:58 (v:v), utilizando-se para preparação desta, água ultrapura obtida pelo Sistema Simplicity UV Milli-Q (Millipore).

O limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e a recuperação foram realizados de acordo com as Orientações sobre Validação de Métodos Analíticos do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro, 2010).

Foi realizada a Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) pelo método de plaqueamento em profundidade, utilizando-se o meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (APC), com incubação a 36±1°C e leitura em 48 horas. Os resultados foram expressos em log UFC/g de amostra (Brasil 2003).

O tratamento estatístico dos resultados das aminas biogênicas foi realizado por meio de regressão linear simples utilizando o programa Excel®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No método utilizado foram obtidos os seguintes tempos de retenção em minutos para cada amina: tiramina (3,3); putrescina (4,3); cadaverina (5,3), e; histamina (11,4). O LOD e o LOQ para as aminas estudadas variaram de 0,03 a 1,30 mg L⁻¹ e de 0,20 a 5,00 mg L⁻¹, respectivamente. A recuperação para estas aminas variou de 91 a 107%.

Os resultados das concentrações de aminas biogênicas (tiramina, putrescina, cadaverina e histamina em mg Kg⁻¹) nos filés de tilápia submetidos aos quatro tratamentos e estocados sob refrigeração (0±1°C) ao longo de 14 dias de armazenamento podem ser visualizados na Figura 1.

Na Figura 1a pode ser observado um aumento da concentração de putrescina, nota-se uma menor concentração desta amina nos filés de tilápia irradiados e em EAM (T4) e nos filés irradiados (T2) quando comparados aos filés em EAM (T3) e em aerobiose (T1). Os filés embalados em aerobiose (T1) apresentaram valores médios de até 167,71 mg Kg⁻¹ no quinto dia de armazenamento, no entanto, os filés irradiados (T2) e os filés irradiados e em EAM (T4) não atingiram valores superiores a 12,04 mg Kg⁻¹ de putrescina até o décimo quarto dia de armazenamento.

Comportamento similar foi observado para concentração tiramina (Figura 1b) ao longo do período de armazenamento. Percebe-se uma menor concentração de tiramina dos filés de tilápia submetidos aos métodos de conservação estudados, ou seja, irradiados e em EAM (T4), nos filés irradiados (T2) e dos filés em EAM (T3) quando comparados aos filés em aerobiose (T1). Os filés embalados em aerobiose (T1) apresentaram valores médios de 68,31 mg Kg⁻¹ no quinto dia, já os filés irradiados e em EAM (T4) apresentaram valores médios de 20,82 mg Kg⁻¹ de tiramina no décimo quarto dia de estocagem.

Na Figura 1c pode ser observado um aumento da concentração de cadaverina ao longo do período de armazenamento, sendo mais evidente nos tratamentos 1 e 3. Ainda que tenha ocorrido um aumento, nota-se uma menor concentração de cadaverina nos tratamentos 2 e 4. O comportamento desta amina nos diferentes tratamentos estudados foi similar ao da putrescina. Alguns autores (Jorgensen et al. 2000) têm sugerido que aminas biogênicas como a cadaverina e a putrescina, podem ser utilizadas como indicadores químicos de qualidade de pescado. Nesta mesma linha, Al Bulushi et al. (2009) afirmaram que a histamina, cadaverina e putrescina são compostos importantes no controle de qualidade e segurança de pescado.

Os filés embalados em aerobiose apresentaram valores médios de 202,38 mg Kg⁻¹ de cadaverina no quinto dia de estocagem, entretanto os filés irradiados e em EAM não apresentaram valores superiores a 50 mg Kg⁻¹ durante os 14 dias de armazenamento, que pode ser considerada uma baixa concentrações. No entanto, Stratton (1991) afirma que aminas biogênicas, como putrescina e cadaverina, especialmente em produtos de peixes e derivados, podem potencializar os efeitos tóxicos da histamina.

Entre as aminas estudadas em pescado, a que

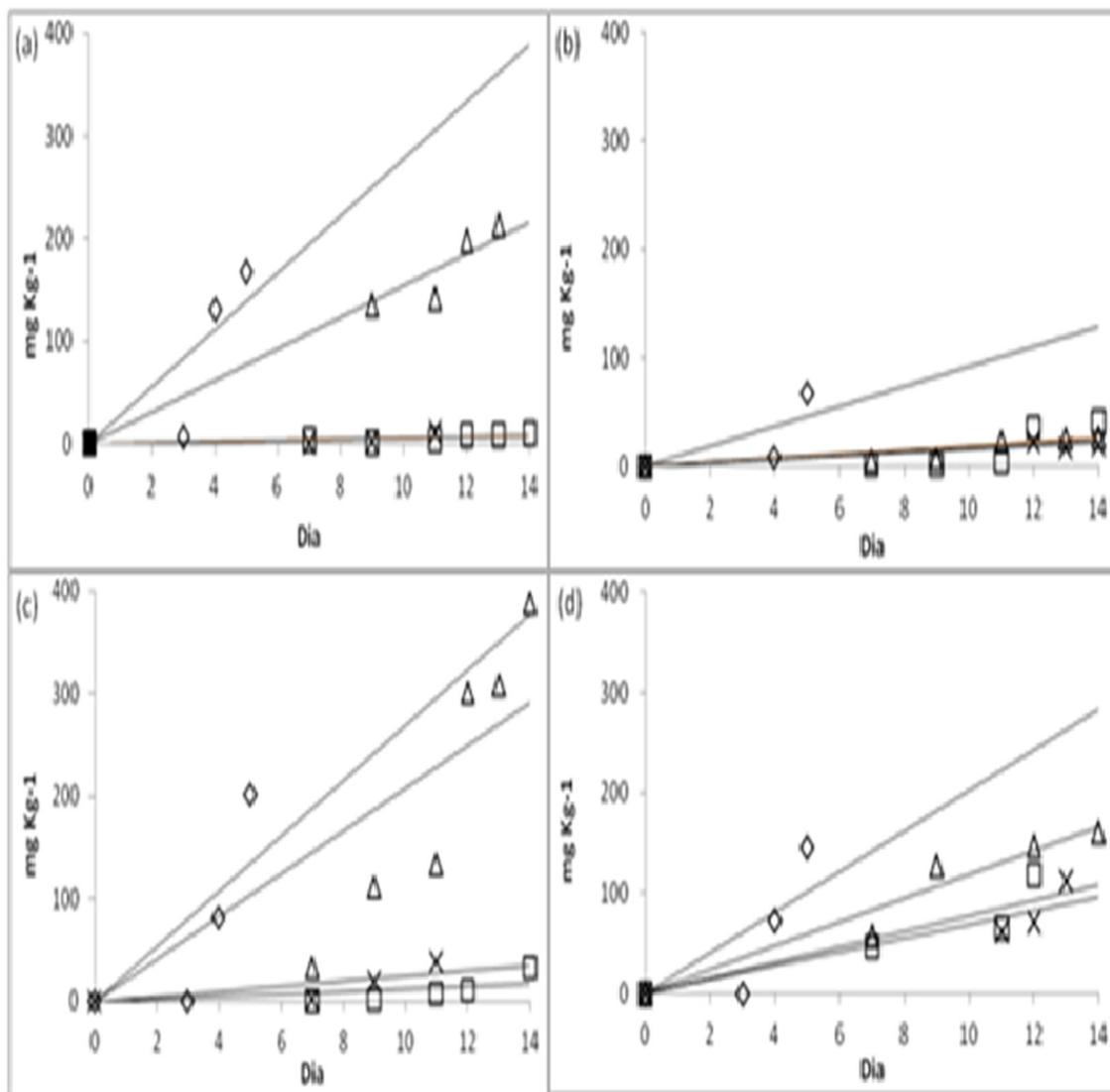


Figura 1. Concentração de aminas biogênicas, Putrescina (a), Tiramina (b) Cadaverina (c) e Histamina (d) em filés de tilápia armazenados em refrigeração durante 14 dias, embalados em aerobiose (◇), submetidos a irradiação 1,5 kGy (□), embalados em atmosfera modificada 40/60 CO₂/N₂ (△), embalagem em atmosfera modificada e irradiação (×), e suas respectivas linhas de tendência.

apresenta maior destaque é a histamina, principalmente devido ao seu fator toxicológico. Na Figura 1d pode ser visualizado um aumento da concentração de histamina ao longo do período de armazenamento sob refrigeração. Percebe-se uma menor concentração de histamina dos filés de tilápia irradiados e em EAM (T4), dos filés irradiados (T2) e dos filés em EAM (T3) quando comparados aos filés em aerobiose (T1). Os filés embalados em aerobiose apresentaram valores médios de 144,95 mg Kg⁻¹ de histamina no quinto dia de estocagem, porém os filés irradiados e em EAM (T4) só apresentaram valores superiores a 100 mg Kg⁻¹ no décimo terceiro dia de estocagem ultrapassando os limites exigidos pela legislação brasileira (Brasil 2001).

A produção de histamina não está relacionada

com o número total de bactérias, mas ao número de bactérias capazes de sintetizar histidina descarboxilase (Bennour et al. 1991). Assim sendo, o menor nível de histamina em T3 e T4 sugere que o CO₂ conseguiu inibir o crescimento desse grupo bacteriano que tem atividade descarboxilase.

O Food and Drug Administration (FDA 2001) estabelece o limite máximo de histamina de 50 mg Kg⁻¹ (50 ppm), que foi observado a partir do 5° e 9° dia nas amostras do T1 e 11° dia nas amostras do T3 e T4. No Brasil, o limite máximo permitido, segundo a Portaria nº185 (BRASIL, 1997) é de até 100 mg Kg⁻¹ (100 ppm) para as espécies pertencentes às famílias *Scombridae*, *Scombresocidae*, *Clupeidae*, *Coryphaenidae* e *Pomatomidae*, limites que também foram observados aproximadamente no 5° e 9°

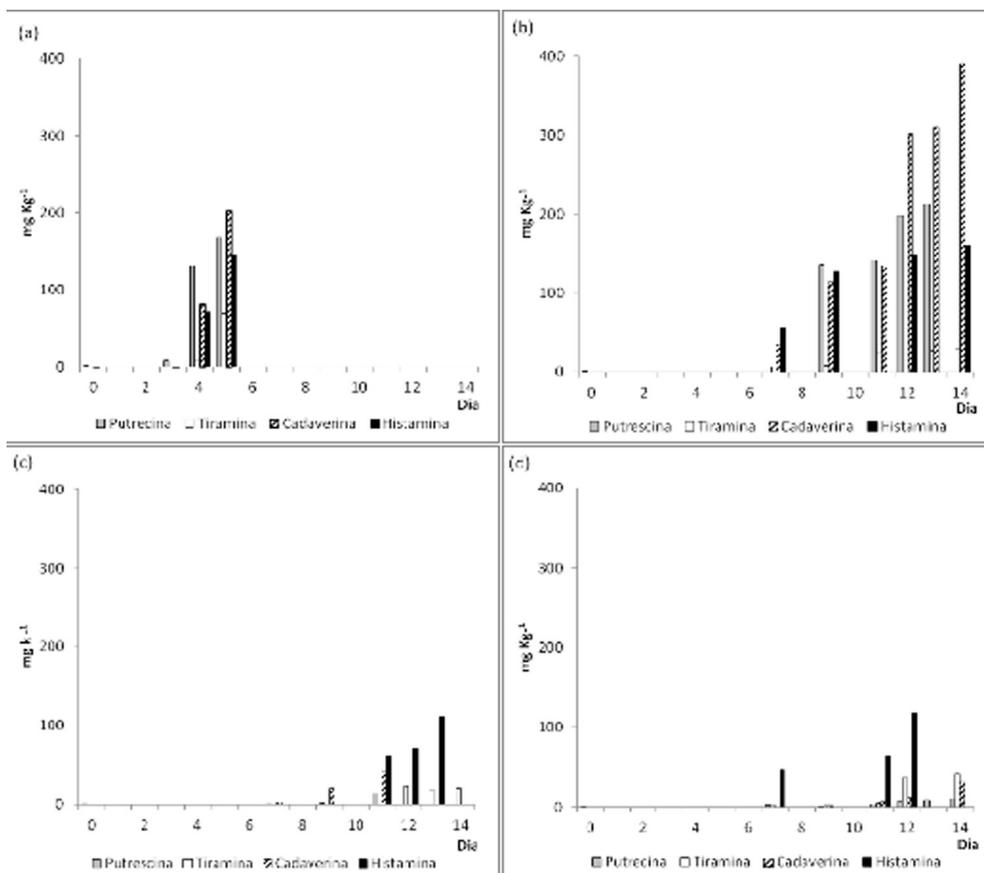


Figura 2. Comportamento das aminas biogênicas em filés de tilápia sob diversos tratamentos [(a) Embalagem em aerobiose (b) Embalagem em atmosfera modificada 40/60 CO₂/N₂, (c) Irradiadas (d) Embalagem em atmosfera modificada e irradiadas] armazenados em refrigeração durante 5 dias em aerobiose e 14 dias nos demais tratamentos.

para os tratamentos 1 e 2 e 12º dia para os tratamentos 3 e 4. Para a Comunidade Européia (2005) o limite permitido é de até 200 mg Kg⁻¹ (200 ppm) para as espécies de peixe com potencial para formação de histamina, o que, no presente experimento, nenhuma das amostras atingiu este limite (Figura 2).

Observa-se, ao analisar a Figura 2, que os tratamentos (T2, T3 e T4) conseguiram aumentar a validade comercial dos filés de tilápia em relação ao aparecimento das aminas, pois as mesmas só começaram a aparecer próximo ao sexto dia quando comparados aos filés embalados em aerobiose (Figura 2a) que já foram identificadas no terceiro dia.

Observa-se na Figura 3 o aparecimento das aminas biogênicas nos filés de tilápia embalado em aerobiose no terceiro dia e seu crescimento exponencial, seguido do aparecimento das aminas nos filés embalados em atmosfera modificada, no sétimo dia, em crescimento ascendente, seguido do surgimento das aminas nos filés tratados por irradiação e os que foram irradiados e embalados em atmosfera modificada também no sétimo dia. Nota-se por meio desta Figura 3 que, em geral, a concentração de aminas biogênicas acompanharam as CBHAM, com exce-

ção da contagem dos filés embalados em atmosfera modificada e irradiados (T4) que possivelmente sofreram um efeito sinérgico da embalagem e irra-

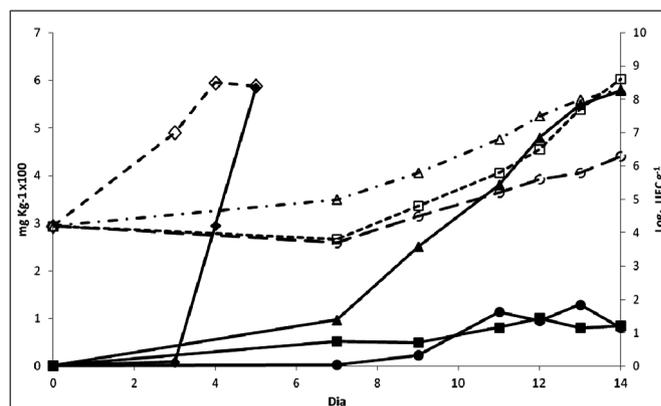


Figura 3. Comportamento do total das aminas biogênicas e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) em filés de tilápia com diferentes tratamentos armazenados em refrigeração por 14 dias. Total de aminas dos filés de tilápia embalados em aerobiose (◆), embalados em atmosfera modificada (EAM) (40/60 CO₂/N₂) (▲), submetidos à irradiação (1,5 kGy) (■) e, EAM (40/60 CO₂/N₂) e irradiados (1,5 kGy) (●). CBHAM dos filés de tilápia embalados em aerobiose (◇), em EAM (40/60 CO₂/N₂) (△), submetidos à irradiação (1,5 kGy) (□) e, EAM (40/60 CO₂/N₂) e irradiados (1,5 kGy) (○).

dição na redução das bactérias deteriorantes não descarboxilases, pois apesar da redução de aproximadamente dois ciclos logarítmicos a concentração de aminas biogênicas continuou aumentando.

CONCLUSÕES

Conclui-se que, em relação ao aparecimento de aminas biogênicas, a irradiação e a EAM associada à irradiação obtiveram os melhores resultados quando comparados somente com a EAM ou, embalagem em aerobiose. Assim sendo, um maior controle no aparecimento das aminas biogênicas em filés de tilápia armazenados sob refrigeração, poderia ser alcançado, principalmente, com a utilização da irradiação. Entretanto, a utilização da embalagem em atmosfera modificada, também poderia ser utilizada, pois também teve efeitos positivos no retardo do aparecimento das aminas biogênicas. O efeito sinérgico esperado na utilização da irradiação associada à embalagem em atmosfera modificada não foi observado, sendo o maior efeito inibitório na formação de aminas biogênicas atribuído à utilização da irradiação.

Importante concluir também que, na legislação brasileira, além da histamina, há necessidade de se estabelecer limites para outras aminas, para que estas possam ser utilizadas como critério de qualidade em peixes refrigerados, já que, quando presentes, podem permanecer no produto final mesmo após o termo processamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al Bulushi I., Poole S., Deeth H.C. & Dykes G.A. Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 49:369-377, 2009.

Bennour M., Elmarrakchi A., Bouchriti N., Hamama A. & Elouadaa M. Chemical and microbiological assessments of mackerel (scomber-scombrus) stored in ice. *J. Food Protect.*, 54:784-792, 1991.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 185 de 13 de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado). *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 1997.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62 de 26 de Agosto de 2003. *Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água*. Diário Oficial da União. Brasília, DF, Seção 1, p. 14-18, set, 2003.

Brasil. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, 2012. 129p.

Brasil. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância

Sanitária, Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos, Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 21, de 26 de janeiro de 2001, publicado no DOU de 29.01.01, Brasília, 2001.

Comunidade Européia. Regulamento (CE) nº 2073 da Comissão, de 15 de novembro de 2005. Relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios. *Jornal Oficial da União Européia*, 22 de dezembro de 2005.

Cunha F.L., Conte Junior C.A., de La Torre L., Aquiles C., Santos L.R., Mársico E.T. & Mano S.B. Determinação de aminas biogênicas em diferentes tipos de queijos por cromatografia líquida de alta eficiência. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 71(1):69-75, 2012.

FDA. Scombrototoxin (Histamine) Formation (A Chemical Hazard). In: FDA. *Fish and Fisheries Products Hazards and Controls Guidance*. 3rd ed. 2001. (Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/Seafood/FishandFisheriesProductsHazardsandControlsGuide/ucm091910.htm>>).

Halasz A., Baráth A., Simon-Sarkadi L. & Holzapfel W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Technol.*, 5:42-49, 1994.

Hu Y., Huang Z., Li J. & Yang H. Concentrations of biogenic amines in fish, squid and octopus and their changes during storage. *Food Chem.*, 135:2604-2611, 2002.

Inmetro. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos Analíticos. DOQ-CGCRE-008, Revisão: 03, 2010, 20p.

Jorgensen L.V., Huss H.H. & Dalgaard P. The effect of biogenic amines production by single bacterial cultures and metabiosis on cold-smoked salmon. *J. Appl. Microbiol.*, 89:920-934, 2000.

Kubitza F. Tilápias na bola de cristal. *Pan. Aquicult.*, 17:15-21, 2007.

Ladero V., Calles M., Fernández M. & Alvarez M.A. Toxicological Effects of Dietary Biogenic Amines. *Curr. Nutri. Food Sci.*, 6:27, 2010.

Lopes M.M., Mársico E.T., Sobreiro L.G., Silva L.P., Conte Júnior C.A., Pardi H.S. & Mano S.B. Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). *Rev. Port. Cienc. Vet.*, 99:207-210, 2004.

Mano S.B., Ordoñez J.A. & de Garcia G.D.F. Growth/survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres. *Food Microbiol.*, 17:657-669, 2000.

Marengoni N.G. Produção de tilápias do Nilo *Oreochromis niloticus* (Linhagem Chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. *Archiv. Zootec.*, 55:127-138, 2006.

Mársico E.T., Oliveira C.M. de, Ferreira P.V., Antunes L. & Sobreiro L.G. Avaliação da qualidade de sushis e sashimis comercializados em shoppings centers. *Hig. Alim.*, 20: 63-65, 2006.

Mei Y.H. A sensitive and fast method for the determination of polyamines in biological samples. Benzoyl chloride pre-column derivatization high-performance liquid chromatography. *J. Liquid Chromat.*, 17:2413-2418, 1994.

- Minozzo M.G. & Maluf M.L.F. Indicadores de qualidade higiênico-sanitárias no processamento da tilápia. Cap. XIII. In: Boscolo W.R. & Feiden A. Industrialização de tilápias. GFM Gráfica & Editora, Toledo, 2007. 167p.
- Novae S.F., Conte Junior C.A., Franco R.M. & Mano S.B. Influência das novas tecnologias de conservação sobre os alimentos de origem animal. *Rev. Cient. Eletronic. Med. Vet.*, 10:1-21, 2012.
- Önal A. A review: current analytical methods for the determination of biogenic amines in foods. *Food Chem.*, 103:1475-1486, 2007.
- Rodrigues B.L., Santos L.R., Mársico E.T., Camarinha C.C., Mano S.B. & Conte Junior C.A. Qualidade físico-química do pescado utilizado na elaboração de sushis e sashimis de atum e salmão comercializados no município do Rio de Janeiro, Brasil. *Semina: Cienc. Agr.*, 33:1849-1856, 2012.
- Rodríguez S.C., López B. & Chaves A.R. Effect of different treatments on the evolution of polyamines during refrigerated storage of eggplants. *J. Agric. Food Chem.*, 49:4700-4705, 2001.
- Salgado R., Costa J.C.B., Conte Junior C.A., Fernández M., de Freitas M.Q. & Mano S.B. Efeitos da embalagem em atmosfera modificada sobre as alterações microbiológicas, químicas e sensoriais de pargo (*Pagrus pagrus*). *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, 13:94-97, 2006.
- Shalaby A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.*, 29:675-690, 1996.
- Simões M.R., Ribeiro C.F.A., Ribeiro S.C.A., Park K.J. & Murr F.E.X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Cienc. Tecnol. Alim.*, 27:608-613, 2007.
- Sireno M., Mársico E.T., Ferreira M., Monteiro M.L., Vital H.C., Conte Junior C.A. & Mano S.B. Propriedades físico-químicas, sensoriais e bacteriológicas de camarões (*Litopenaeus brasiliensis*) irradiados e armazenados sob refrigeração. *Rev. Bras. Ci. Vet.*, 17:91-95, 2010.
- Stratton J.E., Hutkins R.W. & Taylor S.L. Biogenic-amines in cheese and other fermented foods: a review. *J. Food Protect.*, 54:460-470, 1991.
- Teixeira C.E. Avaliação do efeito combinado dos processos de irradiação e atmosfera modificada na qualidade bacteriológica, físico-química e sensorial do filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*) resfriado. Tese (Medicina Veterinária, H.V.P.T.P.O.A.), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009. 119f. (Disponível em: <http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses_doutorado.htm>).
- 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*). *Cienc. Tecnol. Alim.*, 27:158-161, 2007.
- Vital H.C. & Freire Junior M.R. A irradiação de alimentos. In: Rosenthal A. Tecnologia de alimentos e inovação: tendências e perspectivas. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. 2008. p.1-193.
- Wagner P.M., Ribeiro R.P., Moreira H.L.M., Vargas L. & Povh J.A. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes fases de criação. *Acta Sci. Anim.: Sciences*, 26:187-196, 2004.