

# Caracterização do processamento tecnológico e validade comercial de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) anchovadas

## Technological process and shelf life characterization of brined and maturated sardines (*Sardinella brasiliensis*)

Cecília Riscado Pombo,\* Robson Maia Franco,\*\* Eliane Teixeira Mársico\*\*

### Resumo

A sardinha anchovada é uma semiconserva resultante do processo de maturação da sardinha (*Sardinella brasiliensis*) sob a ação de enzimas tissulares e microbianas. O processo ocorre em meio anaeróbico com elevada pressão osmótica causada por altas concentrações de sal. Como a matéria-prima pertence à família *Clupeidae*, a formação de histamina ao longo do processamento tecnológico pode ocorrer. Objetivou-se acompanhar a qualidade deste produto obtido em condições experimentais a partir de parâmetros físico-químicos e microbiológicos, ao longo do processamento tecnológico e da validade comercial de sardinhas anchovadas. Foram realizados a determinação de Bases Voláteis Totais (BVT), pH, percentual de cloretos, quantificação de histamina, enumeração de *Enterococcus* spp., pesquisa de *Tetragenococcus* spp., contagem de bactérias halófilas e contagem de Enterobactérias. A produção de BVT foi crescente com valor inicial de 13,90 mgN/100g no início do processamento tecnológico chegando ao máximo de 87,32 mgN/100g durante a validade comercial. Observou-se uma associação de primeira ordem de interação entre o cloreto de sódio (NaCl) e a matriz alimentar, a formação de histamina foi crescente e o pH decaiu. Houve identificação do crescimento do gênero *Pediococcus*. Desta forma, concluiu-se que o crescimento bacteriano foi inibido pelo elevado percentual de cloretos e pelos baixos valores de pH durante o processamento tecnológico, diminuindo a formação de histamina e favorecendo o desenvolvimento de *Pediococcus* spp.

**Palavras-chave:** sardinha anchovada; *Sardinella brasiliensis*; histamina; enterobacteriaceae.

### Abstract

Brined and maturated sardines are a semi preserve fisheries product resulted of the action of tissue and microbial enzymes. The process occurs in anaerobic medium with high osmotic pressure caused by high salt concentrations. As the raw material belongs to the family *Clupeidae* the formation of histamine during the technological processing may occur. The aim of the study was to follow physico-chemical and microbiological parameters during the technological process and shelf life of the product. Were carried out the determination of total volatile bases (TVB), pH, percentage of chlorides, quantification of histamine, enumeration of *Enterococcus* spp., *Tetragenococcus* spp. research, count of halophilic bacteria and count of Enterobacteria. The TVB production initiates with 13.90 mgN/100g, getting to the maximum of 87.32 mgN/100g during shelf life. There was an association of the first order interaction between the sodium chloride (NaCl) and the food matrix, the formation of histamine was increased and the pH undergoes a decay in a single phase. There was identification of the genus *Pediococcus*. Thus, we concluded that bacterial growth was inhibited by the high percentage of chlorine and the pH values during the technological process, decreasing the formation of histamine and favoring the development *Pediococcus* spp.

**Keywords:** histamine; enterobacteriaceae; *Sardinella brasiliensis*; brined sardines.

### Introdução

A sardinha anchovada é o produto resultante do processo de cura prolongada da sardinha (*Sardinella brasiliensis*), no qual as enzimas tissulares e microbianas compartilham suas ações sobre os componentes da matriz alimentar (Oetterer, 2011). Estas enzimas atuam sobre os hidratos de carbono e proteínas, conferindo aspecto e aromas especiais ao produto, além de produzirem substâncias bloqueadoras da decomposição do pescado. Este produto é tecnologicamente descrito como uma

semiconserva pelo fato de não ser submetido à esterilização comercial ao longo do processamento (Pombo et al., 2009).

A matéria-prima utilizada para o processamento tecnológico pode ser veiculadora de micro-organismos patogênicos, a maior parte originada da contaminação ambiental (Ogawa e Maia, 1999; Jay, 2006). Além do mais, o manejo inadequado do pescado é outra fonte importante de contaminação, desde o momento da captura, ainda nos barcos pesqueiros, até seu destino final, após passar por inúmeras etapas de processamento e transporte.

\* Programa de Pós-Graduação em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, Universidade Federal Fluminense. Rua Vital Brazil Filho, 64. Vital Brazil, Niterói – RJ, CEP 24230-340. Autor para correspondência. E- mail: cissapombo@yahoo.com.br.

\*\* Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense.

A histamina é considerada o maior ponto crítico da indústria de pescado pelo potencial alergênico e pelo fato de ser termoestável (Huss, 1997; Karovičová e Kohajdová, 2005). Adicionalmente, o potencial alergênico causado pela ingestão de pequenas concentrações de histamina pode ser potencializado pela presença de outras aminas biogênicas tais como a putrescina e cadaverina (Lehane e Olley, 2000).

Peixes da família *Scombridae*, como a cavala, cavalinha, atuns, e também da família *Clupeidae*, como a sardinha, são frequentemente envolvidos em surtos de intoxicação histamínica. Este fato está associado aos elevados níveis de histidina presentes na musculatura destas espécies (Ogawa e Maia, 1999).

O princípio da tecnologia de anchovagem consiste em um processo onde há aumento da pressão osmótica do meio com uso de sal combinado com um sistema em anaerobiose (Oetterer, 2011). A redução da atividade de água controla o crescimento microbiano (Pombo et al., 2009) e a anaerobiose diminui os processos bioquímicos que poderiam provocar a deterioração do pescado (Oetterer, 2011). Em complementação à ação do sal, segundo Sikorski (1990), o cloreto de sódio é um dos componentes mais importantes na maturação, tanto para a determinação do sabor como para que os processos químicos ocorram adequadamente.

As principais bactérias responsáveis pela formação de histamina pertencem à família *Enterobacteriaceae* (Halász et al., 1994; Lehane; Olley, 2000). No entanto, outras bactérias produzem enzimas descarboxilases, podendo ser citadas algumas bactérias ácido-láticas (Suzzi e Gardini, 2003) como o *Enterococcus* spp. (Gardini et al., 2001; Giraffa, 2002) e o *Tetragenococcus muriaticus* (Kuda et al., 2006; Satomi et al., 1997). De acordo com Halász et al. (1994), os gêneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Clostridium*, *Bacillus* e *Lactobacillus* também possuem a capacidade de produzir histidina descarboxilase.

Durante o processo de maturação, os aminoácidos livres no músculo e os produzidos pela decomposição de proteínas podem ser degradados por ação de enzimas descarboxilases e desaminases (Pombo et al., 2009; Oetterer, 2011). Entretanto, alguns fatores parecem interferir na formação de histamina e de outras aminas biogênicas como, a disponibilidade de substrato, o pH e a concentração de sal (Bover-Cid et al., 2001; Göküllu, 2003).

Pelo exposto e aliado ao fato de não haver legislação brasileira específica para peixes anchovados, o presente estudo objetivou acompanhar os parâmetros físico-químicos e microbiológicos, ao longo do processamento tecnológico e da validade comercial de sardinhas anchovadas.

## Material e métodos

Para realização deste estudo utilizaram-se 250kg de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) formando um lote experimental de processamento de sardinha anchovada elaborada por uma indústria nacional com Inspeção Federal.

O processamento tecnológico iniciou-se pela seleção e lavagem da matéria-prima. Em seguida, foi realizada a pré-salga das sardinhas inteiras não evisceradas colocando-as em camadas alternadas de sardinha, sal grosso e gelo por um período de sete a dez dias, com formação de salmoura. A temperatura inicial foi de 2°C, aumentando em um limite de 19°C durante a etapa de pré-salga. Posteriormente, as sardinhas foram evisceradas

e a salmoura formada na fase de pré-salga foi filtrada para utilização na fase de maturação e complementada com a adição de salmoura saturada fresca. A fase de maturação durou 90 dias (período mínimo). Em etapa seguinte retirou-se a pele das sardinhas que foram prensadas, filetadas, embaladas, coberta com óleo comestível e lacradas a vácuo.

As amostras foram coletadas nas fases de processamento tecnológico e validade comercial do produto pronto. Ao longo do processamento tecnológico, amostras da matéria-prima fresca foram coletadas. Em seguida, amostras da pré-salga (um, três, sete e dez dias) e, mensalmente, durante a maturação (30, 60 e 90 dias). A cada amostragem, acondicionava-se o produto em recipientes isotérmicos com gelo e encaminhava-se, imediatamente, via terrestre, para os laboratórios de Controle Microbiológico e Controle Físico-químico de Alimentos.

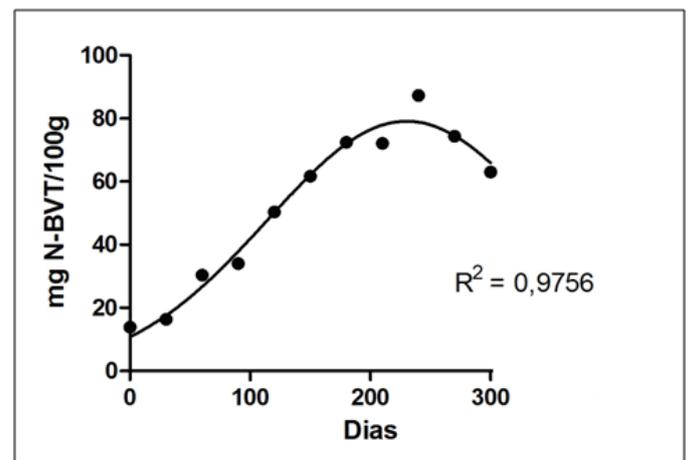
Ao final do processamento tecnológico do lote experimental alocado na indústria, uma caixa contendo 24 embalagens do produto pronto foi encaminhada para os laboratórios. Ao longo da validade comercial foram coletadas amostras, mensalmente, para a realização das análises físico-químicas e bacteriológicas.

Foram realizados a determinação de Bases Voláteis Totais (BVT), pH e percentual de cloretos (método de Möhrh) (Brasil, 1981), quantificação de histamina pelo método de espectrofluorimetria (AOAC, 2002), enumeração de *Enterococcus* spp. (Merck, 2002), pesquisa de *Tetragenococcus* spp. a 7 e 15% de NaCl através de adaptação da metodologia utilizada por Kobayashi et al. (2004), contagem de bactérias halófilas (Brasil, 2003) e contagem de enterobactérias (Brasil, 2003).

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os dados analisados pelo programa estatístico Graph Pad Prism® por análise de regressão (Radushev, 2007).

## Resultados e discussão

A produção de Bases Voláteis Totais (BVT) demonstrou um comportamento crescente dos valores durante a fase de processamento tecnológico, com um valor de 13,9mg N-BVT/100g no início do processo, alcançando o valor máximo de 87,32 mg N-BVT/100g no quinto mês da validade comercial, como pode ser observado na Figura 1.



**Figura 1:** Comportamento da concentração de Bases Voláteis Totais (BVT), em N-BVT/100g da amostra, de sardinhas (*S. brasiliensis*) anchovadas durante processamento tecnológico e parte da validade comercial do produto pronto.

Durante o processamento tecnológico de sardinhas anchovadas há ação de enzimas sobre os componentes da matriz alimentar resultando na formação de compostos nitrogenados, como a amônia, a trimetilamina e a dimetilamina (Oetterer, 2003). Pelo fato de não ser submetido a esterilização comercial, a ação das enzimas permanece durante a validade comercial do produto pronto.

Pombo et al. (2009), ao compararem diferentes processamentos tecnológicos para a elaboração de sardinhas anchovadas, avaliaram a produção de bases voláteis encontrando valores crescentes durante a fase de fabricação da mesma forma como ocorrido na presente pesquisa durante o mesmo período.

Os resultados referentes a análise de cloretos são demonstrados a partir da equação apresentada na Figura 2, onde observa-se uma associação de primeira ordem de interação entre o cloreto de sódio (NaCl) e a matriz alimentar durante o processamento tecnológico. Após 24 horas de salmoura, as amostras analisadas apresentaram média de 2,37% de NaCl, chegando ao máximo de 17,52% aos 30 dias de maturação. A cada intervalo de tempo ocorrido entre a coleta das amostras, uma fração percentual de NaCl se liga à porção muscular da sardinha (*S. brasiliensis*). Contudo, com o avanço do tempo parece ocorrer saturação da porção muscular, fazendo com que a curva do gráfico se torne uma reta.

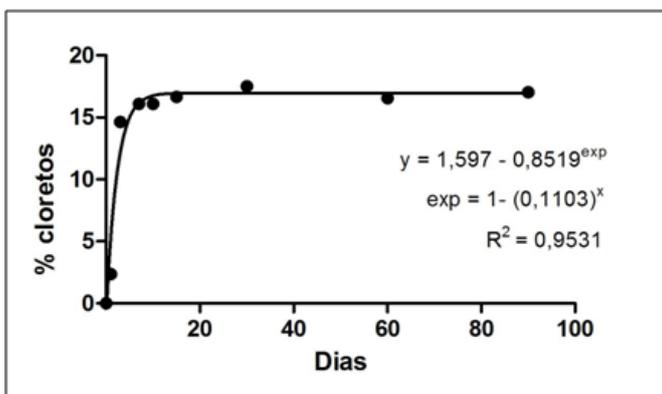


Figura 2: Regressão linear do percentual de cloretos de sardinhas (*S. brasiliensis*) anchovadas durante processamento tecnológico.

Na Figura 3 pode ser observado o comportamento da concentração de cloreto, envolvendo as etapas de produção e validade comercial, tanto o período de processamento tecnológico quanto a validade comercial. Através da equação apresentada observa-se que os percentuais de cloreto apresentam comportamento linear seguido de uma fase de decaimento ao longo do período de estudo. A fase linear representa a saturação da porção muscular das sardinhas no período de processamento tecnológico. Durante o processamento tecnológico, o excesso de salmoura absorvido pela porção muscular é retirado na etapa de prensagem, o que explica o decaimento da concentração percentual de cloreto.

A alta concentração de cloreto de sódio (NaCl) influencia o metabolismo bacteriano e gera progressiva alteração nas membranas. Concentrações de 3,5 a 5,5% de NaCl podem inibir a formação de histamina (Henry e Koehler, 1986).

A formação de histamina, em  $\text{mg.kg}^{-1}$ , foi crescente durante todo o período de processamento, mantendo esse comportamento durante a validade comercial (Figura 4). Pelo fato de ser classificado como semiconserva, o produto não é submetido a tratamento térmico pelo calor durante o processamento tecnológico, o que permite inferir que as enzimas histidina descarboxilases continuam atuando. Pombo et al. (2009) também observaram aumento dos teores de histamina. Entretanto, esse comportamento foi avaliado somente durante o processamento tecnológico de sardinhas anchovadas.

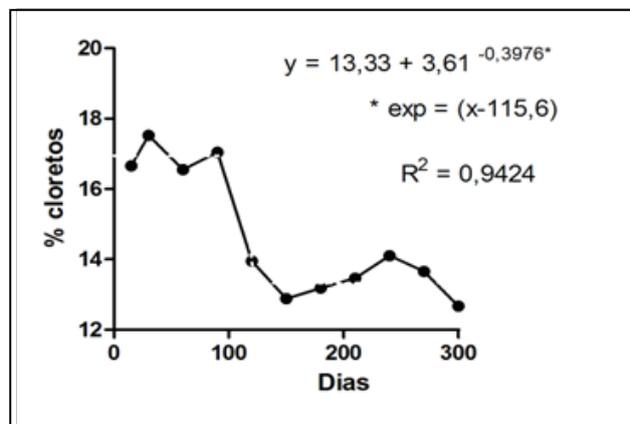


Figura 3: Representação gráfica do percentual de cloretos durante as fases de produção e validade comercial de sardinhas (*S. brasiliensis*) anchovadas.

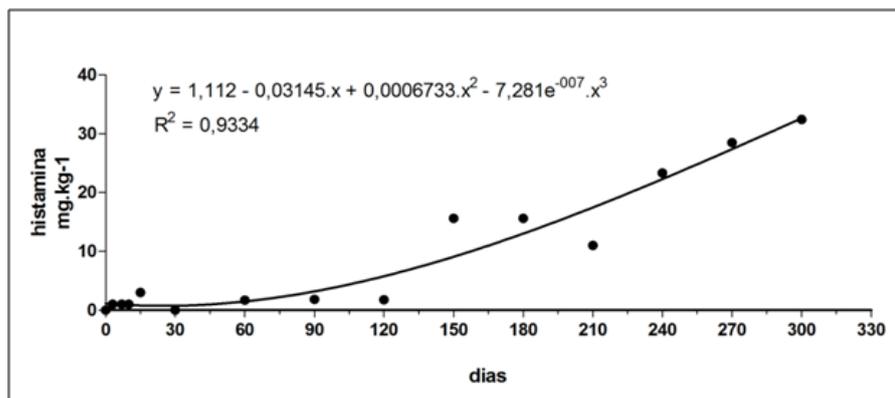


Figura 4: Teor e Histamina, em  $\text{mg.Kg}^{-1}$ , durante processamento tecnológico e validade comercial de sardinhas (*S. brasiliensis*) anchovadas.

No entanto, o valor máximo observado nas amostras analisadas ( $34 \text{ mg.Kg}^{-1}$ ) foi abaixo do limite de  $400 \text{ mg.Kg}^{-1}$  estabelecido pela legislação europeia (CE, 2005) utilizada como referência no Brasil. Esta legislação estabelece padrão de qualidade, com relação à presença de histamina, para produtos da pesca que tenham sido submetidos a tratamento de maturação enzimática em salmoura fabricados a partir de espécies de peixes que possuem elevados teores de histidina.

Ao longo do estudo não houve isolamento de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, principal grupo relacionado com a formação de histamina (Nahla et al., 2005;

Rodtong et al., 2005). Este fato parece estar relacionado com os valores de histamina encontrados terem sido inferiores ao limite estabelecido pela legislação europeia. Entretanto, a literatura faz referência a casos de intoxicação histamínica com níveis de  $50\text{mg.kg}^{-1}$  (Lehane e Olley, 2000). A ausência de crescimento bacteriano também ocorreu nos meios de Chromocult®, utilizado para enumeração de *Enterococcus* spp., e no meio de MRS adicionado de 15% de NaCl para averiguação da presença de *Tetragenococcus* spp., sendo estes gêneros bacterianos também relacionados com a formação de histamina (Satomi et al., 1997; Gardini et al., 2001; Giraffa, 2002; Kuda et al., 2006).

Contudo, bactérias halofílicas foram observadas aos 30 dias de maturação e, posteriormente, no primeiro e sétimo mês de validade comercial do produto pronto. A contagem destas colônias foi inferior a 3 UFC/g da amostra, mas a identificação do gênero bacteriano foi realizada através da caracterização morfolotintorial e posteriormente por provas bioquímicas. No esfregaço corado pelo método de Gram foi observada a presença de cocos Gram-positivos, alguns em tétrades. As provas bioquímicas que se seguiram foram baseadas em Koneman (2005) e no Manual Bergey (1994). Além do crescimento de colônias em meio contendo 7% de NaCl, que demonstram a característica halofilia dos micro-organismos isolados, o resultado da catalase foi negativo. Houve crescimento bacteriano em meio BHI 7% de NaCl nas temperaturas de 10°C, 35°C e 45°C, sendo que o crescimento bacteriano a 35°C foi maior, seguido de 45°C e 10°C. Outras provas bioquímicas foram realizadas indicando que o gênero bacteriano isolado foi o *Pediococcus* ssp.. Este mesmo gênero foi identificado no meio MRS contendo 7% de NaCl, aos 30 dias de maturação e no sétimo mês de validade comercial. O fato de as amostras analisadas serem compostas por exemplares de sardinhas favorece o isolamento de micro-organismos em alguns pontos de coleta e não em outros.

O gênero *Pediococcus* faz parte do grupo de bactérias denominada Bactérias Ácido Láticas (BAL) (Manual Bergey, 1994; Jay, 2006). A ação de enzimas proteolíticas como a tripsina e pepsina (Oetterer, 2011a) degradam proteína gerando metabólitos que são utilizados com fonte de energia para o crescimento de BAL (Cosansu et al., 2010).

Os valores de pH analisados durante o processamento tecnológico são apresentados na Figura 5. A equação resultante da análise de regressão destes dados demonstra que o pH decai de forma inversa à concentração de cloretos durante o mesmo período (Figura 2). Este fato parece estar relacionado com a ionização do NaCl na salmoura. Os valores de pH durante o processamento tecnológico variaram entre 6,3 e 5,36, semelhantes aos encontrados por Kiline et al. (2006) e Pombo et al. (2009), o que valida o fato de que com o processamento, há queda do valor do pH favorecendo o crescimento de BAL, além de promover a inibição da microbiota acompanhante (Franco e Landgraf, 1996).

A Figura 6 contém os dados relativos ao pH durante o processamento tecnológico e validade comercial.

O pH do pescado maturado tende a ser acidificado em função da presença de substâncias resultantes da degradação da matriz, podendo estar presentes os aminoácidos histidina, alanina, leucina, fenilalanina, prolina e ácido glutâmico entre outros componentes como ácido indol acético, ácido indol butírico e ácido hidróxi fenil pirúvico (Oetterer, 2011).

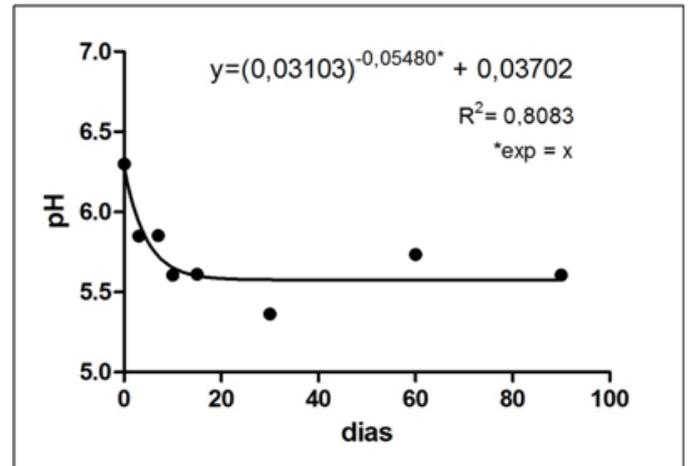


Figura 5: Comportamento do pH de sardinhas (*S. brasiliensis*) anchovadas durante processamento tecnológico.

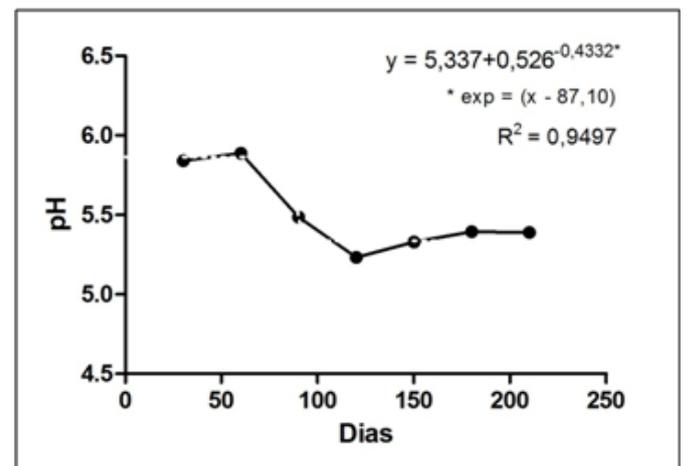


Figura 6: Comportamento do pH de sardinhas (*S. brasiliensis*) anchovadas durante a validade comercial do produto pronto.

Relacionando a formação de histamina com os valores de pH, pode-se sugerir que a faixa de pH durante o processamento tecnológico parece ter relação com a formação da histamina. Koessler et al. (1928) citado por Halasz et al. (1994) sugerem que a formação de amins biogênicas é um mecanismo de defesa das bactérias a um meio muito ácido. Entretanto, Cacciopoli et al. (2006), estudando amins biogênicas em salames tipo italiano, constatou a inexistência de correlação significativa entre os valores de pH e os teores de amins biogênicas nesse estudo, porém afirma que a velocidade de redução do pH é mais relevante do que o pH final na formação destas amins.

O pH é um fator importante na formação de amins biogênicas, pois interfere na descarboxilação dos aminoácidos, que ocorre em maior concentração em meio ácido. O valor ótimo de pH para a formação de AB está entre 2,5 e 6,5, pois nesta faixa a bactéria é estimulada a produzir mais descarboxilases como forma de defesa ao meio (Halasz et al., 1994).

Entretanto, Gardini et al. (2001) estudou os efeitos do pH, temperatura e concentração de NaCl na cinética de crescimento, atividade proteolítica e produção de amins biogênicas pelo *Enterococcus faecalis*, e apresentou resultados que demonstraram que a produção de amins biogênicas foi maior com o aumento do pH (5,4 – 7,0) e diminuição do percentual de NaCl.

Zaman et al. (2009), em revisão sobre a produção de amins biogênicas em molhos à base de pescado, concluíram que o pH na faixa de 5,0 a 7,1, a temperatura (ótimo de 37°C) e a concentração de sal (5 a 20%) são fatores que interferem no crescimento bacteriano e, conseqüentemente, na produção de amins biogênicas.

## Conclusão

O crescimento bacteriano dos principais gêneros relacionados com a formação de histamina foi inibido pelo elevado percentual de cloretos e baixos valores de pH ao longo do processamento tecnológico e validade comercial de sardinhas (*S. brasiliensis*) anchovadas. Este controle permitiu que a formação de histamina fosse inferior ao limite preconizado pela legislação europeia.

## Agradecimento

À CAPES, pelo apoio financeiro. À Indústria e Comércio de Conservas Ubatuba Ltda. pela colaboração com o presente estudo.

## Referências

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA. 17. ed., 2002.

BOVER-CID, S.; HUGAS, M.; IZQUIERDO-PULIDO, M.; VIDAL-CAROU, M. C. Amino acid-descarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*. v. 66, p.185-189, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária (LANARA). Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II – Métodos Físico-Químicos. Brasília, DF, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura. 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] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 2003.

CACCIOPPOLI, J.; CUSTÓDIO, F.B.; VIEIRA, S.M.; COELHP, J. V.; GLORIA, M.B.A. Amins bioativas e características físico-químicas de salame tipo italiano. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 58, n. 4, p. 648-657, 2006.

CE (Comunidade Europeia). Regulamento (CE) Nº 2073/2005 da Comissão de 15 de novembro de 2005. Relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos gêneros alimentícios. J O União Europeia. L.338. 2005.

COSANSU, S.; MOL, S.; ALAKAVUK, D. U. Effect of *Pediococcus* culture on the sensory properties and ripening of anchovy marinade at 4°C and 16°C. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. v.10, p. 373-380, 2010.

FRANCO, B. D. G. M. E LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 1996.

GARDINI, F.; MARTUSCELLI, M.; CARUSO, M. C.; GALGANO, F.; CRUDELE, M.A.; FAVATI, F.; GUERZONI, M.E.; SUZZI, G. Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology*, n. 64, p. 105-117. 2001.

GIRAFFA, G. Enterococci from foods. *FEMS Microbiology*. v 26, p.163-171. 2002.

GÖKÜĞLU, N. Changes in biogenic amines during maturation of sardine (*Sardina pilchardus*) marinade. *Fisheries Science*. v. 69, p. 823-829, 2003.

Os valores de pH durante o processamento tecnológico e validade comercial inibiram o crescimento dos gêneros bacterianos estudados, porém favoreceram o desenvolvimento de *Pediococcus* spp.

A produção de Bases Voláteis Totais (BVT) foi crescente até o quinto mês de validade comercial seguido de decaimento das bases em função da ação enzimática contínua sobre o produto pronto por não haver tratamento térmico pelo calor durante o processamento tecnológico.

Em função dos resultados obtidos é importante que seja feito um alerta para os consumidores deste produto sobre a intoxicação histamínica por pessoas com maior sensibilidade alérgica.

HALÁSZ, A.; BARÁTH, A.; SIMON - SARKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends of Food Science and Technology*, v. 5, p. 42-48, 1994.

HENRY, K. D.; KOEHLER, P. E. Effects of salt concentration and incubation temperature on formation of histamine, phenethylamine, tryptamine and tyramine during miso fermentation. *Journal of Food Protection*. v. 49, p.423-427, 1986.

HUSS, H. H. *Garantia da qualidade dos produtos da pesca*. Roma: FAO, 1997.

JAY, J. M. *Microbiologia de Alimentos*. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

KILINE, B.; CAKLI, S.; TOLASA, S.; DINCER, T. Chemical, microbiological and sensory changes associated with fish sauce processing. *European Food Research Technology*, n. 222, p. 604-613, 2006.

KOBAYASHI, T.; KAJIWARA, M.; WAHYUNI, M.; HAMADA-SATO, N.; IMADA, C.; WATANABE, E. Effect of culture conditions on lactic acid production of *Tetragenococcus* species. *Journal of Applied Microbiology*. n. 96, p 1215-1221, 2004.

KAROVIČOVÁ, J.; KOHAJDOVÁ, Z. Biogenic amine in food. *Chemical Papers*. v. 59, n.1, p 70-79. 2005.

KOESSELER, K. K.; HANKE, M. T.; SHEPPARD, M. S.. Production of histamine, tyramine, bronchospastic and arteriospastic substance in blood broth by pure culture of microorganisms. *Journal of Infectious Diseases*. v. 3, p. 363-377, 1928.

KONEMAN, E. W. Parte II: Streptococci, Enterococci, and the "Streptococcus - like" Bacteria. In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins: Estados Unidos, p. 704 -765, 2005.

KUDA, T.; MIHARA, T.; YANO, T. Detection of histamine and histamine-related bacteria in fish-nukazuke, a salted and fermented fish with rice-bran, by simple colorimetric microplate assay. *Food Control*. v. 18, jun. 2007.

LEHANE, L.; OLLEY, J. Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology*. v. 58, p. 1-37, 2000.

MANUAL BERGEY. Gram-positive cocci. In: *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. 9. ed. Balltmore: Editora Willians e Wilkins. Cap. 17. p. 527-558. 1994.

MERCK. *Microbiology Manual*. Berlin, Germany. 407 p. 2002.

NAHLA, T. K.; HASSEN, EL- S. M. F. Histamine and histamine producing bacteria in some local and imported fish and their public Elath significance. *Research Journal of Agriculture and Biological Science*. v. 1, n. 4, p. 329-336, 2005.

- OETTERER, M.; PERUJO, S. D.; GALLO, C. R.; ARRUDA, L. F.; BORGUESI, R.; CRUZ, A. M. Monitoring the sardine (*Sardinella brasiliensis*). Fermentation process to obtain anchovies. *Sciencia Agrícola*, v. 60, n. 3, p. 511-517, Jul/Set, 2003.
- OETTERER, M. *O processo de fermentação do pescado (Anchoveramento)* USP/ESALQ. LAN.662. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Fermentacaodopescado.pdf> Acessado em: 24 de novembro de 2011.
- OETTERER, M. *Tecnologia do Pescado*. USP/ESALQ. Disponível em: <http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Tecnologiadopescado.pdf> Acessado em: 28 de novembro de 2011, 2011a.
- OGAWA, M. E MAIA, E. L. *Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado*. São Paulo: Livraria Varela, 1999.
- POMBO, C. R.; MÁRSICO, E. T.; FRANCO, R. M.; GUIMARÃES, C. F. M.; CRUZ, A. M. P.; PARDI, H. P. Salted and fermented fish processes evaluation. *International Journal of Food Science and Technology*. v. 44, p. 2100-2105. 2009.
- RADUSHEV, D. Prism 5 for windows versão 5. Graphpad Software, Inc. 2007.
- RODTONG, S.; NAWONG, S.; YONGSAWATDIGUL, J. Histamine accumulation and histamine-forming bacteria in Indian anchovy (*Stolephorus indicus*). *Food Microbiology*. v. 22, n. 5, p. 475 -482. 2005.
- SATOMI, MASATAKA; KIMURA, BON; MIZOI, MICHICO; SATO, TSUNEO; FUJII, TATEO. *Tetragenococcus muriaticus* sp. Nov., a New Moderately Halophilic Lactic Acid Bacterium Isolated from Fermented liquid Liver Sauce. *International Journal of Sistematic Bacteriology*, Jul., p. 832-836. 1997.
- SIKORSKI, Z. E. *Tecnología de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación*. Editora Acribia: Zaragoza, 1990, 330 p.
- SUZZI, G.; GARDINI, F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 88, p. 41-54. 2003.
- ZAMAN, MUHAMMAD ZUKHRUFUZ; ABDULAMIR, A.S.; BAKAR, FATIMAH ABU. A review: Microbiological, Physicochemical and Health Impact of High Level of Biogenic Amines in Fish Sauce. *American Journal of Applied Sciences*. v. 6, n. 6, p. 1199-1211, 2009.