

Dulce Helena Camila dos REIS^{1*}, Mayra MENEGUELLI¹, Igor Mansur MUNIZ², Adriana Reis CAETANO¹, Kaisa Freitas de ARAÚJO³, Alini OSOWSKI¹

AValiação DO PERFIL MICROBIOLÓGICO DO PEIXE *Pseudoplatystoma corruscans* E *Colossoma macropomum* (PINTADO E TAMBAQUI), COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA, TENDO EM FOCO A SAÚDE PÚBLICA

Palavras chave:
Pescado
Comercialização
Alimentos
Segurança

RESUMO: A piscicultura é o cultivo de peixes que surgiu na China há 4 mil anos atrás e se desenvolveu em Rondônia a partir de 1980. Cada vez mais o peixe é procurado por suas propriedades nutricionais, o que não o isenta de ser um transmissor de doenças e patógenos, como: *Staphylococcus* coagulase positiva, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Costridium perfringens* e *Listeria monocytogenes*. A legislação sanitária impõe limites à presença destes microrganismos, com isso, a análise microbiológica em alimentos é bastante utilizada. A avaliação microbiológica em alimentos é usada na avaliação retrospectiva da qualidade microbiológica ou para analisar a “segurança” presumível dos alimentos. O trabalho teve como objetivo analisar o perfil microbiológico do pescado comercializado em Rolim de Moura, visando a saúde coletiva. As amostras de peixes foram obtidas dos principais pontos de comercialização de pescado da cidade e analisadas no Laboratório de microbiologia da Universidade Federal de Rondônia, por meio de métodos recomendados pela American Public Health Association (APHA), descritos no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. A análise foi feita por estatística descritiva. Conclui-se que o pescado oferecido no comércio do município de Rolim de Moura não demonstraram resultados satisfatórios para o consumo humano representando um risco para saúde pública. O que se deva à elevada contagem bacteriana e presença de unidades formadoras de colônias fora dos padrões requeridos pela ANVISA.

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL PROFILE OF *Pseudoplatystoma corruscans* AND *Colossoma macropomum* (PINTADO AND TAMBAQUI), MARKETED IN THE MUNICIPALITY OF ROLIM DE MOURA, FOCUSING PUBLIC HEALTH

Keywords:
Fish
Marketing
Food
Security

ABSTRACT: Aquaculture is the cultivation of fish that arose in China 4000 years ago and developed in Rondonia since 1980. More and more fish is sought after for its nutritional properties, which does not exempt from being a disease transmitter and pathogens such as coagulase positive *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Listeria monocytogenes* *Costridium perfringens*. The health legislation imposes limits on the presence of these microorganisms, with that, the microbiological analysis of food is widely used. Microbiological evaluation of food is used in the retrospective evaluation of microbiological quality or to analyze the "safety" of suspected food. The study aimed to analyze the microbiological profile of fish marketed in Rolim of Moura, with a view to public health. Samples of fish were obtained from the main fish marketing points of the city and analyzed in the Microbiology Laboratory of the Federal University of Rondônia, by methods recommended by the American Public Health Association (APHA), described in the Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. The analysis was done by descriptive statistics. It is concluded that the fish offered in the trade of Rolim de Moura municipality did not show satisfactory results for human consumption representing a risk to public health. What is due to high bacterial count and presence of colony forming units outside the standards required by ANVISA.

¹Médica veterinária; ²Docente do Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, RO.

³Discente de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Rondônia, Rolim de Moura, RO.

* Correspondência: dulce_vete@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A piscicultura é o cultivo de peixes que surgiu na China há 4 mil anos atrás, a partir de observações de peixes no ambiente natural e desenvolvida com o passar dos anos (Garcia, 2009). Torna-se mais evidente no Brasil a partir de 1904 no setor de comercialização (França; Pimenta, 2012). A diversificação dá ao agricultor a possibilidade de melhor aproveitar os recursos naturais, não ficando economicamente subordinado a uma única atividade (Dotto, 1999). A piscicultura rondoniense se desenvolveu na década de 1980 e se baseia principalmente, na cultura de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*), que é a espécie de couro mais procurada, mas também se despontam espécies como Pirarucu (*Arapaima gigas*) e Jatuarana (*Brycon* sp.) (Oliveira, 2008). Rondônia é o segundo maior produtor de peixes da Região Norte (Moura, 2015). Tendo como países importadores destes produtos os Estados Unidos, Suíça e Japão.

O interesse pelo pescado como alimento aumentou após a expansão da ciência da nutrição, devido seu valor nutricional e a divulgação de estudos que o associam com melhorias para a saúde (Neiva, 2009). O pescado é um alimento com baixo teor de gordura, alto teor proteico, grande quantidade de vitaminas, minerais, e ácidos graxos poli-insaturados – AGPI's, incapazes de serem produzidos pelo organismo humano, mas essencial, principalmente, para o bom funcionamento do sistema cardiovascular (Takahashi, 2005). Em relação ao perfil proteico, o pescado contém todos os aminoácidos essenciais com elevado valor biológico, não havendo diferença significativa entre espécies dulcícolas e marinhas. A digestibilidade é alta, acima de 95% conforme a espécie, sendo maior que de carnes e do leite, porque o pescado apresenta uma quantidade menor de tecido conjuntivo (FAO, 2009).

Diversos países conhecem o impacto na saúde e o peso monetário que as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) representam. Apesar de não existir dados confiáveis sobre o número de casos de DTA's no Brasil, os custos com hospitalizações, entre 1999 e 2004, chegaram a 280 milhões de reais, com média de 46 milhões de reais por ano (Carmo et al., 2005). A qualidade higiênica dos produtos da pesca no Brasil é muito variável e influenciada por fatores ambientais, pois quanto mais poluído o ambiente aquático, maiores a diversidade da microbiota a ser encontrada nos peixes, incluindo espécies patogênicas (Rocha et al., 2013). Outros fatores que contribuem para a contaminação é a ação eutrófica humana e os segmentos da cadeia produtiva (Farias; Freitas, 2008). Com isso o pescado pode atuar como potencial veiculador de micro-organismos patogênicos como as bactérias *Staphylococcus coagulase* positiva, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Costridium perfringens* e *Listeria monocytogenes*. No Brasil, peixes e frutos do mar foram implicados em 1% e 0,37%, respectivamente, dos surtos de DTA's (Ribeiro et al., 2014).

A legislação sanitária impõe limites à presença de microrganismos, patogênicos ou deterioradores, para garantir a segurança alimentar e a qualidade do alimento (Farias; Freitas, 2008). Por essa razão a análise microbiológica em alimentos é usada na avaliação retrospectiva da qualidade microbiológica ou para avaliar a “segurança” presumível dos alimentos (Marengoni et al., 2009). As altas contagens de bactérias mesófilas no pescado, podem estar relacionadas com a utilização de equipamentos e utensílios contaminados, a falta de higiene do ambiente e entre os manipuladores. Manipuladores de alimentos possuem um papel importante na disseminação de microrganismos (Simões et al., 2007).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA (Brasil, 2001), a legislação estabelece para pescado congelado ou resfriado e produtos à base de pescado a contagem máxima de estafilococos de 10^3 . Com relação ao grupo de coliformes fecais, a legislação estabelece limites de 102 NMP/g para pescado pré-cozido ou empanado, observando-se contagens inferiores em todas as amostras deste estudo. Por outro lado, a legislação não indica limites para coliformes totais em pescado, entretanto, segundo Agnese et al. (2001), valores acima de 102 NMP/g, constituem entrave para um controle mais rígido quanto à higiene de elaboração e comercialização deste produto (Marengoni et al., 2009).

O isolamento de patógenos e/ou organismos indicadores é usado para avaliar a qualidade e inocuidade do alimento, permitindo o controle sanitário. Padrões microbiológicos para pescado determinados pela ANVISA, para pratos prontos para o consumo a base de pescado servidos crus, determina para Estafilococos coagulase positiva limitado a 103CFU/g, coliformes termotolerantes, que não excedam 102 UFC/g e ausência de *Salmonella* spp. em 25g (Silva et al., 2008). Os peixes podem ser adquiridos em diversas formas de comércio (peixarias, sacolões, supermercados e feiras livres), sendo que as feiras livres apresentam maior fragilidade no que diz respeito à conservação desse alimento. O presente trabalho teve como objetivo analisar o perfil microbiológico do pescado comercializado em supermercados e feira livre do município de Rolim de Moura, visando a saúde coletiva. Assim como, delinear as principais formas as quais o pescado é comercializado.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado na cidade de Rolim de Moura, Rondônia. Na pesquisa, as amostras de peixes de *C. macropomum* e *P. corruscans*, foram obtidas dos principais

pontos de comercialização de pescado da cidade, que incluem quatro supermercados. As amostras foram adquiridas nos referidos pontos de comércio, mantidas em caixas isotérmicas refrigeradas e imediatamente levadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Rondônia, campus de Rolim de Moura. As amostras foram obtidas de peixes fatiados. No Laboratório de microbiologia da Universidade Federal de Rondônia, por meio de métodos recomendados pela American Public Health Association (APHA), descritos no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods e a análise dos dados realizada por estatística descritiva.

Para contagem de aeróbios mesófilos, foi usado o método de plaqueamento em superfície, conforme metodologia descrita por Silva et al. (1997). A abertura das amostras foi feita próximas à chama do bico de Bunsen, com portas e janelas do laboratório fechadas para evitar correntes de ar. Uma alíquota de 25 g do pescado foi transferida para um recipiente com 225 ml de solução peptonada, estéril e posteriormente triturada em liquidificador estéril. A suspensão obtida é a diluição 10^{-1} . A partir desta, sucessivas diluições foram feitas em solução peptonada estéril até obter a diluição 10^{-3} . Em triplicata, 0,1 ml de cada diluição foi inoculada em placa de Petri contendo 15 ml de meio de cultura PCA (Plate count Agar) esterilizado. Uma alça de Drigalski foi usada para espalhar o inóculo sobre a superfície do meio. Após 15 minutos as placas foram invertidas e incubadas nas seguintes condições: 35-37°C, 24/48 horas, para contagem total de aeróbios mesófilos. Após o tempo determinado foi realizada a contagem das colônias.

Para contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes, o método empregado foi o do Número Mais Provável (NMP) (Silva et al., 1997). Inicialmente foi realizado o teste presuntivo para coliformes totais. A preparação das diluições é idêntica à

descrita anteriormente para análise de mesófilos. De cada diluição, 1 ml foi inoculado em tubos contendo 10 ml de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durhan invertidos. A incubação foi a 35°C por 24-48 horas. A turbidez da solução e a concomitante produção de gás verificada através do surgimento de bolhas de ar nos tubos de Durhan, indicaram resultado positivo para a presença de coliformes.

O teste confirmativo da presença de coliformes totais foi feita através da inoculação de uma alçada da solução dos tubos com resultados positivos no ensaio anterior em outros contendo o Caldo Verde Brilhante Bile (VB) e tubos de Durhan e tubos com meio EC (*Escherichia coli*) com tubos de Durhan. Esses tubos foram incubados a 35°C por 24-48 horas. Da mesma maneira se procedeu para realizar o teste para coliformes termolerantes, porém a incubação foi em banho maria a 44,5°C por 24 horas. Os tubos com crescimento microbiano se apresentaram turvos e com presença de ar nos tubos de Durhan invertidos. A determinação do NMP foi feita através de uma tabela de NMP adequada às diluições inoculadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas apresentadas a seguir, mostram os resultados obtidos das amostras de pescado – adquiridas no comércio de Rolim de Moura (supermercados e feira livre), evisceradas e picadas, armazenadas em refrigeração até o momento dos testes microbiológicos – quanto à quantidade de colônias de mesófilos, Número Mais Provável de coliformes fecais e confirmação ou não da presença de *E. coli* na amostra. Sendo os testes realizados em 5 amostras de *C. macropomum* e 7 de *P. corruscans*.

Os primeiros resultados são referentes a contagem de mesófilos crescidos em meio Plate Count Agar (PCA), em temperatura de 37°C, os demais dados são os números

aproximado de unidades formadoras de colônias (UFC), obtidos por meio do número mais provável (NMP) por grama de amostra de coliformes fecais em EC mug, verificando termotolerância. Além da confirmação a respeito da presença ou não de *E. coli*.

Em todas diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} houve turvação do meio de cultura com formação de bolhas de gás nos tubos de Durhan indicando a presença de coliformes, nas amostras de tambaqui. Os tubos com formação de gás em meio EC a 45° por 24 horas foram plaqueados em EMB apresentando crescimento de colônias róseas confirmando a presença da *E. coli*. Já as amostras de pintado, houve algumas variações quando ao NMP, mostrando que algumas amostras se apresentavam viáveis ao consumo, assim como para a confirmação de *E. coli*, que se apresentou ausente em algumas amostras.

Como pode-se observar nas tabelas, a maioria dos valores para mesófilos foram bastante elevados, sendo possível a contagem em apenas três placas, das quais duas, apresentaram valores altos. Os valores de coliformes totais e fecais variaram de acima de 110,0 NMP por g à 0 NMP por g. E houve a confirmação de *E. coli* em todas as amostras que apresentaram termotolerância em todas as diluições em pelo menos um dos tubos – turbidez e produção de gás no interior do tudo de Duhran.

Os valores para contagem de mesófilos em placas ainda não é estipulado pela legislação para o pescado, porém, valores acima de 103, podem apresentar sérios riscos para a saúde humana. Valores elevados estão relacionados com falhas em alguma fase do processamento do produto, necessitando de melhor controle no que se refere aos aspectos higiênicos sanitários (Lanzarin et al., 2012). Os números obtidos para coliformes totais e fecais variaram de valores acima de 110 UFC à 0 UFC por gramas de amostra, a

contaminação por estes microrganismos potencialmente patogênicos, estão relacionados a contaminação por dejetos orgânicos, especialmente de origem humana (Ribeiro et al., 2009).

Os dados do presente trabalho corroboram com os de Agnese et al., (2001); Lira e Pereira (2001); Lanzarin et al., (2012), todos em seus trabalhos com diferentes tipos de pescado, obtiveram contagem para mesófilos altos. O que sugere debilidade nos

aspectos higiênicos sanitários durante o beneficiamento, excluindo o alimento dos padrões de qualidades. Os resultados do NMP para coliformes totais também foi elevado no trabalho de Lira e Pereira (2001), que avaliou amostras de *Pristis pectinata* (tubarão-serra) em Maceió, porém, valores acima de 50 NMP/g em pescados já são alarmantes para um controle mais rígido em relação a higiene de beneficiamento do pescado (Librelato; Lopes-Shikida, 2005).

TABELA 1 Resultados do Número Mais Provável para coliformes totais e termotolerantes nas amostras do tambaqui analisadas e confirmação de *Escherichia coli*.

<i>Colossoma macropomum</i> (Tambaqui)						
	Plaqueamento (Mesófilos)	Diluição 10^{-1}	Diluição 10^{-2}	Diluição 10^{-3}	NMP/g	Confirmação
Amostra 1	Incontáveis colônias	+++	+++	+++	> 110,0	+
Amostra 2	Incontáveis colônias	+++	+++	+++	> 110,0	+
Amostra 3	Incontáveis colônias	+++	+++	+++	> 110,0	+
Amostra 4	Incontáveis colônias	+++	+++	+++	> 110,0	+
Amostra 5	Incontáveis colônias	+++	+++	+++	> 110,0	+

Fonte: Próprio autor. Obs.: (+) Número de tubos com presença de gás.

TABELA 2 Resultados do Número Mais Provável para coliformes totais e termotolerantes nas amostras do pintado analisadas e confirmação para presença de *Escherichia coli*.

<i>Pseudoplatystoma corruscans</i> (Pintado)						
	Plaqueamento (Mesófilos)	Diluição 10^{-1}	Diluição 10^{-2}	Diluição 10^{-3}	NMP/g	Confirmação
Amostra 1	Incontáveis colônias	+++	+++	+++	> 110,0	+
Amostra 2	Incontáveis colônias e > de 500 em -3	++-	+++	---	2,9	+
Amostra 3	Incontáveis colônias e > de 600 em -3	+++	---	+++	9,5	+
Amostra 4	Incontáveis colônias	---	---	---	0	-
Amostra 5	Incontáveis colônias	+-	+++	+-	2,4	+
Amostra 6	Incontáveis colônias	+-	+++	+++	2,9	+
Amostra 7	Incontáveis colônias e 36 colônias -3	---	---	---	0	-

Fonte: Próprio. Autor. Obs.: (+) Número de tubos com presença de gás.

Segundo a portaria 451 de 1997, os limites para coliformes fecais é de 102 UFC por g, o que corresponderia à 100 NPM por gramas de amostra (BRASIL, 1997). Baseado na patogenia da *E. coli*, espera-se a ausência deste microrganismo nas amostras. Apesar de Farias e Freitas (2008) obterem valores altos de coliformes fecais, os testes para identificação de *E. coli* foram negativos, ao passo que Morengoni et al. (2009) além de apresentarem altos níveis de coliformes fecais, ainda foi identificado *E. coli* em todas as amostras analisadas. No entanto, estes dados diferem de Silva et al. (2008), no qual mesmo as amostras cujo NMP de coliformes fecais encontraram-se dentro dos limites, houve a confirmação de *E. coli*. Sendo isso também identificado neste trabalho, nas amostras 2; 3; 5 e 6 da tabela 2. Com isso, apenas as amostras que não apresentaram termotolerância (amostra 4 e 7), ou elevada taxa de coliformes fecais, apresentavam dentro dos padrões.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o pescado oferecido no comércio do município de Rolim de Moura pelas análises preliminares não demonstraram resultados satisfatórios para o consumo humano representando um risco para saúde pública. O que se deva à elevada contagem bacteriana e presença de unidades formadoras de colônias fora dos padrões requeridos pela ANVISA. Apenas 2 amostras (17% da amostragem total), estavam no padrão do NMP para coliformes fecais, constatando ainda a ausência para *E. coli*. Os dados obtidos no trabalho, identificam debilidades higiênicas sanitárias no processo de manipulação, o que ainda sugerem uma ação de fiscalização mais efetiva, para garantir um alimento seguro. No entanto há a necessidade de novas pesquisas, visando a identificação da qualidade sanitária da água de origem deste pescado, com o intuito de verificar a real contaminação durante o processo de beneficiamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNESE, A. P et al. Contagem de bactérias heterotróficas aeróbicas mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica – RJ. **Revista Higiene Alimentar**, Rio de Janeiro, v.15, n.88, p.67-70. 2001.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância sanitária. Portaria N° 451, de 19 de setembro de 1997. **Princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 19 set. 1997. Disponível em <<http://oads.org.br/leis/1337.pdf>> acesso em 06/07/16.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12 de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 02 jan. 2001. Disponível em <<http://e legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>> acesso em 27/04/2015.
- CARMO, G. M. I et al. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no BRASIL, 1999 - 2004. **Boletim Eletrônico de Epidemiologia**, v.5, n.6, p.1-7. 2005.
- DOTTO, D. M. **Mercado da carne de peixe de água doce em Santa Cruz do Sul / RS/ Brasil: uma análise do comportamento do consumidor**. 1999. 112 f. Dissertação (mestrado em desenvolvimento regional) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul.
- FARIAS, M. C. A.; FREITAS, J. A. Microbiologic quality of fish processed in industries of Northern region of Brazil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.2, p.113-117. 2008.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **The State of World**

- Fisheries and Aquaculture.** Fisheries and Aquaculture. Department. Rome, 2009.
- FRANÇA, I.; PIMENTA, P. P. P. La viabilidad de la piscicultura para el pequeño productor de Dourados/MS. **Comunicação & Mercado**, UNIGRAN, Dourados, v.1, n.1, p.36-51. 2012.
- GARCIA, J. H. **Maricultura.** 2009. Disponível em <<http://www.infoescola.com/economia/maricultura/>> acesso em 25/05/2015.
- LANZARIN, M et al. Quantificação de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e ocorrência de *Salmonella* spp. em híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* x *Colossoma macropomum*), comercializado em Cuiabá, MT. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.8, n.15; p. 1500. 2012.
- LIBRELATO, F. R.; LOPES-SHIKIDA, S. A. R. Segurança alimentar: um estudo multidisciplinar da qualidade do filé de tilápia comercializado no município de Toledo - PR. **Informe Gepec**, v. 9, n. 2, 2005.
- LIRA, G. M.; PEREIRA, W. D. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió, AL. **Higiene Alimentar**, v.15, n.84, p.67-74. 2001.
- MARENGONI, N. G et al. Centesimal, microbiological, and sensory characterization of fishburgers made with mechanically separated meat of tilapia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.10, n.1, p.168-176. Jan, 2009.
- MOURA, V. **Rondônia aguarda instalação de entrepostos de piscicultura**, 2015. Disponível em <<http://portalamazonia.com/noticias-detalle/economia/rondonia-aguarda-instalacao-de-entrepostos-piscicultura>> acesso em 25/05/2016.
- NEIVA, C. R. P. **Cresce interesse pelos aspectos nutricionais do pescado.** Instituto de Pesca. Santos – SP, 2009. Disponível em <
- http://www.pesca.sp.gov.br/Semana_Santa.pdf> acesso em 05.07.16.
- OLIVEIRA, M. B. de. **Potencialidades e Perspectivas do Arranjo Produtivo Local da Piscicultura no Município de Pimenta Bueno-Rondônia.** 2008. 126 f. Dissertações (mestrado) – Universidade Federal de Rondônia.
- RIBEIRO, A. L. M. S et al. Microbiological quality avaliation of fish meat processed and imported in Rio de Janeiro State. **Revista brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 109-112, 2009.
- ROCHA, F. A. G et al. Estafilococos coagulase positivos em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) comercializados no mercado modelo nerival araujo, Currais Novos/ RN. **HOLOS**, Currais Novos-RN, ano.29, v.1, 2013.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos.** São Paulo: Varela, 1997. 259p.
- SILVA, M. L et al. Sanitary aspects of fish commercialization in street markets of the city of São Paulo, SP/Brazil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.67, n.3, p.208-214. 2008.
- SIMÕES, M. R et al. Physicochemical and microbiological composition and yield of thai-style tilapia fillets (*Oreochromis niloticus*). **Ciência de Tecnologia Alimentar**, Campinas, v.27, n.3, p.608-613. Jul./set, 2007.
- TAKAHASHI, N. S. **Importância dos ácidos graxos essenciais.** Instituto de Pesca. Santos – SP, 2005. Disponível em <http://www.pesca.sp.gov.br/acidoss_graxos.pdf> acesso em 07/07/16.