



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS

FLÁVIA MICHELLE DUARTE ALVES

GEOSMINA EM TAMBAQUI, *Colossoma macropomum*, (Cuvier, 1818), DE  
PISCICULTURAS EM DIFERENTES ECOSSISTEMAS DE RORAIMA

Boa Vista, RR  
2015

FLÁVIA MICHELLE DUARTE ALVES

**GEOSMINA EM TAMBAQUI, *Colossoma macropomum*, (Cuvier, 1818), DE  
PISCICULTURAS EM DIFERENTES ECOSISTEMAS DE RORAIMA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais da Universidade Federal de Roraima, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais. Área de concentração: Manejo e Conservação de Bacias Hidrográficas.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva.

Boa Vista, RR  
2015

À Angelina Duarte Melo, minha mãe.  
Dedico-lhe de coração esta vitória.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e por ter me dado forças para lutar pelos meus sonhos e fé para acreditar na minha vitória.

À minha mãe, pela presença e por todo amor. As minhas irmãs pelo apoio dado. Aos meus cães pela alegria que concedem na minha vida.

A Universidade Federal de Roraima e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais - PRONAT, pela oportunidade de realização desta dissertação de Mestrado. À CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Prof. Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva, meu orientador, pelos ensinamentos que somaram para o meu crescimento profissional e pessoal.

A todos os professores e funcionários do PRONAT, em especial a Prof. Dra. Gardênia Holanda Cabral que foi sempre muito prestativa.

Aos proprietários e funcionários das pisciculturas visitadas, que abriram as portas de seus estabelecimentos e forneceram ajuda para este trabalho.

Aos amigos que esta jornada me permitiu conhecer, especialmente ao Oliveira Souza, Raissa Sampaio, Elisângela Ponchet, Maria Janes, Aparecida Marinho, Elenilda Rebouças, Alex Araújo e Eliana Fernandes, pela ajuda e amizade.

Aos membros da banca examinadora, que gentilmente aceitaram o convite para colaborarem com este trabalho.

Agradeço a todos que me ajudaram e estiveram envolvidos na minha jornada até hoje.

**OBRIGADA!**

Se as coisas são inatingíveis...ora!  
Não é motivo para não querê-las...  
Que tristes os caminhos, se não fora  
A presença distante das estrelas!  
(Mário Quintana)

## RESUMO

Na piscicultura, diversos fatores podem ocasionar o aparecimento do fenômeno *off-flavor*, que significa sabores e odores indesejáveis e é um dos principais entraves que prejudica a venda do pescado no mundo. A ocorrência do *off-flavor* na carne do peixe é devido à existência de certas substâncias que estão presentes na água, sendo a geosmina (GEO) o composto mais importante. Este trabalho teve por objetivo, determinar e quantificar a presença da GEO na carne do tambaqui (*Collossoma macropomum*, Cuvier, 1818) cultivados em pisciculturas situadas em diferentes ecossistemas de Roraima. O estudo foi conduzido na região da amazônia brasileira, estado de Roraima, durante os meses de dezembro do ano de 2013 a abril de 2014 em 4 pisciculturas localizadas em dois tipos de ecossistemas, 2 em áreas de savana e 2 em floresta, sendo analisadas a carne de 60 peixes e a água de 12 tanques, distribuídos num delineamento inteiramente casualizado (DIC), com dois tratamentos e duas repetições e a determinação da diferença entre as médias dos tratamentos procedeu-se através do teste T de Student para observações independentes quando as variâncias não são iguais. Também foram avaliadas a qualidade da água, o método analítico para detecção da geosmina por Quechers e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e a correlação de duas situações, uma entre as medidas analíticas da GEO e as pontuações do painel sensorial e outra entre as características físico-químicas da água e as medidas analíticas da GEO. Existem diferenças estatisticamente significativas entre as médias da concentração da geosmina ( $t=3,050$ ,  $p=0,04$ ) nos diferentes tipos de ecossistemas avaliados. Apenas as características de pH e a temperatura mantiveram valores apropriados em todas as pisciculturas estudadas. As maiores correlações entre as propriedades físico-químicas da água e as concentrações de geosmina obtidas por meio da CLAE foram o oxigênio dissolvido ( $r= 0,58$ ;  $p<0,001$ ), o pH ( $r= 0,41$ ;  $p<0,001$ ) e o nitrito ( $r= 0,38$ ;  $p<0,001$ ). Quanto à validação, obteve-se excelente linearidade ( $r=0,9998$ ), exatidão (98% e 87%) e precisão ( $CV=8,7\%$ ). Baixos coeficientes de correlação ( $r= -0,001$  a  $r= -0,363$ ) foram encontrados quando se avaliou a correlação entre as variáveis painel sensorial e medidas analíticas da geosmina.

Palavras-chave: *off-flavor*. Validação de método analítico. Amazônia. Quechers.

## ABSTRACT

In fish farming, many factors can cause the appearance of off-flavor phenomenon, which means undesirable tastes and odors and is one of the main obstacles that affect the sale of fish in the world. The occurrence of off-flavor in the fish flesh is due to the existence of certain substances which are present in the water, the geosmin (GEO) is the most important compound. This study aimed to determine and quantify the presence of GEO in the flesh of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) grown in fish farms located in different ecosystems of Roraima. The study was conducted in the Brazilian Amazon region, state of Roraima, during the months of December 2013 to April 2014 in 4 fish farms located in two types of ecosystems, 2 in savanna areas and 2 in forest, being analyzed meat 60 fish and water tanks 12, distributed in a completely randomized design (CRD) with two treatments and two replications and determining the difference between the treatment means was carried out using Student's t test for independent observations when variances are not equal. We evaluated the quality of water, the analytical method for the detection of geosmin by QuEChERS and Liquid Chromatography of High Efficiency and the correlation of two situations, one of the analytical measures of GEO and the scores of the sensory panel and one between the physicochemical characteristics chemical water and analytical measures of GEO. There were statistically significant differences between the mean concentration of geosmin ( $t = 3.050$ ,  $p = 0.04$ ) in different types of ecosystems. Only the pH characteristics and the temperature maintained appropriate values in all fish farms studied. The strongest correlations between physico-chemical properties of water and geosmin concentrations obtained by HPLC was dissolved oxygen ( $r = 0.58$ ;  $p < 0.001$ ), pH ( $r = 0.41$ ;  $p < 0.001$ ) and nitrite ( $r = 0.38$ ;  $p < 0.001$ ). As for validation, was obtained excellent linearity ( $r = 0.9998$ ), accuracy (98% and 87%) and precision (CV = 8.7%). Low correlation coefficients ( $r = -0.001$  -0.363 = air) were observed when the correlation between the variables sensory panel and analytical measures of geosmin.

**Keywords:** *off-flavor*. Analytical method validation. Amazon. Quechers.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Distribuição espacial dos grandes grupos de vegetação de Roraima.....	15
Figura 2-	Tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> ).....	16
Figura 3-	Disco de Secchi.....	21
Figura 4-	Desenvolvimento de peixes em função dos valores de pH na água.....	22
Figura 5-	Estrutura química do <i>4,8a-dimethyl-decahydronaphthalen-4a-ol</i> , também conhecido como geosmina, composto de fórmula química $C_{12}H_{22}O$ e massa molar aproximada de 182,3 g/mol.....	27
Figura 6-	Esquema do cromatógrafo líquido.....	29
Figura 7-	Curva de calibração mostrando a estimativa do resíduo no sinal analítico.....	32
Figura 8-	Mapa de Roraima e seus municípios com as pisciculturas selecionadas.....	37
Figura 9-	Dispositivo do choque elétrico.....	38
Figura 10-	Painel sensorial.....	39
Figura 11-	Procedimentos para a análise instrumental.....	40
Figura 12-	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência- Shimadzu.....	41
Figura 13-	Sonda Multiparâmetros.....	42
Figura 14-	Aparelho Espectrofotômetro.....	42
Figura 15-	Curva de calibração da geosmina por CLAE.....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Concentrações de geosmina na carne do tabaqui determinadas por CLAE.....	45
Tabela 2-	Parâmetros de qualidade de água das pisciculturas avaliadas (média $\pm$ desvio padrão).....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

ACN	Acetonitrila
ANA	Agência Nacional de Águas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina Trifosfato
CETESB	Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CG	Cromatografia Gasosa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CV	Coefficiente de Variação
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
D-SPE	Extração em Fase Sólida Dispersiva
FAO	Food and Agriculture Organization of United Nations
FEMARH	Fundação Estadual do Meio Ambiente e Recursos Hídricos
GEO	Geosmina
HPLC	<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
MRC	Material de Referência Certificado
OD	Oxigênio Dissolvido
Ph	Potencial Hidrogeniônico
PIB	Produto Interno Bruto
PRONAT	Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais
PSA	Primary Secondary Amine
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe
R	Coefficiente de correlação Pearson
S	Siemens
SMGA	Secretaria Municipal de Gestão Ambiental e Assuntos Indígenas
UFRR	Universidade Federal de Roraima
UNT	Unidades Nefelométricas de Turbidez

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
1.1.	AQUICULTURA versus PESCA.....	13
1.2	ECOSSISTEMAS DE RORAIMA E SUA RELAÇÃO COM AS CIANOBACTÉRIAS.....	14
1.3	A ESPÉCIE ESTUDADA - TAMBAQUI ( <i>Colossoma macropomum</i> ).....	16
1.4	IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE DA ÁGUA NA AQUICULTURA.....	17
1.4.1	<b>Parâmetros físicos</b> .....	19
1.4.1.1	Temperatura.....	19
1.4.1.2	Turbidez.....	20
1.4.1.3	Transparência ou visibilidade.....	20
1.4.1.4	Condutividade elétrica.....	21
1.4.2	<b>Parâmetros químicos</b> .....	22
1.4.2.1	pH.....	22
1.4.2.2	Alcalinidade.....	23
1.4.2.3	Dureza.....	24
1.4.2.4	Gases Dissolvidos.....	24
1.4.2.5	Nutrientes na água.....	25
1.5	GEOSMINA (GEO).....	26
1.6	QUECHERS.....	28
1.7	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).....	29
1.8	VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....	31
1.8.1	<b>Seletividade/Especificidade</b> .....	31
1.8.2	<b>Linearidade</b> .....	32
1.8.3	<b>Sensibilidade</b> .....	33
1.8.4	<b>Limite de detecção (LD)</b> .....	33
1.8.5	<b>Limite de quantificação (LQ)</b> .....	33
1.8.6	<b>Precisão</b> .....	34
1.8.7	<b>Exatidão</b> .....	34
1.8.8	<b>Robustez</b> .....	35
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	36
2.1	OBJETIVO GERAL.....	36

2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	36
3	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	37
3.1	AMOSTRAGEM.....	37
3.2	ANÁLISE SENSORIAL.....	39
3.3	ANÁLISE INSTRUMENTAL.....	40
3.4	ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA.....	42
3.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	43
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	44
4.1	CONCENTRAÇÕES DE GEOSMINA NA CARNE DO PEIXE.....	44
4.2	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA.....	45
4.3	CORRELAÇÕES DAS MEDIDAS ANALÍTICAS DE GEOSMINA.....	49
4.4	VALIDAÇÃO PARCIAL DO MÉTODO ANALÍTICO.....	50
5	<b>CONCLUSÕES</b> .....	52
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	53
	<b>ANEXOS</b> .....	63

## 1 INTRODUÇÃO

A pesca na Amazônia é a atividade extrativista mais importante e tradicional na região, porém sofre os efeitos da sazonalidade, sendo assim, dependente do nível das águas nos rios, com superprodução na época da seca, e escassez durante a época da cheia. Durante as enchentes, a maioria das espécies de peixes se deslocam para as novas regiões de savanas e florestas alagadas, onde encontram renovadas fontes de alimento assim como refúgio e proteção dos predadores. Quando o nível do rio começa a baixar, muitos lagos secam completamente ou ficam extremamente rasos e os peixes procuram se abrigar nos corpos d'água remanescentes (ISAAC; BARTHEM, 1995).

Outro fato que gera oscilação na produção pesqueira é a medida anual conhecida como período do defeso da piracema, onde a pesca fica proibida por determinado período do ano permitindo que as espécies realizem migrações reprodutivas o que influi decisivamente no preço final do produto (SANTOS; SANTOS, 2005). Uma alternativa para minimizar os efeitos desta sazonalidade produtiva é a criação de peixes em cativeiro, que além de propiciar equilíbrio entre oferta e demanda no mercado regional estabilizando os preços ao longo do ano, também é capaz de produzir mais em menor espaço geográfico e de tempo (SUFRAMA, 2003).

Um problema na produção piscícola é a falta de manutenção da qualidade da água, da quantidade e qualidade da ração e da densidade de peixes, ocasionando o aparecimento do fenômeno *off-flavor*, um dos principais entraves que prejudica a venda do pescado no mundo. A palavra *off-flavor* não possui uma tradução literal aceitável para o português e apenas conceitua-se como sendo os sabores e odores passíveis de objeção que são adquiridos pelos peixes durante o cultivo por meio da absorção de substâncias dissolvidas na água ou ingeridas durante a alimentação (MATTHIENSEN; GALVÃO; PINTO, 2012).

A água de cultivo revela relação direta com o *off-flavor*, pois a ocorrência deste acontecimento na carne do peixe é devido à existência de certas substâncias que estão presentes na fase líquida, sendo a geosmina (GEO) a mais importante. A GEO é um álcool terciário bicíclico que apresenta odor de terra mesmo em soluções aquosas muito diluídas e pode ser encontrada naturalmente em beterrabas e em algumas raízes de plantas. Esse composto orgânico assim como outros compostos odoríferos são produzidos por elevadas populações de cianobactérias e actinomicetos (SOUZA; MATHIES; FIORAVANZO, 2012).

Atualmente, existem vários métodos de detecção para estudar a presença de cianotoxinas na água, sendo a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) a

metodologia comum utilizada com esse propósito (PÉREZ; SORACI; TAPIA, 2008). O contrário ocorre nas matrizes de origem animal, que devido à complexidade e as baixas concentrações dos compostos orgânicos presentes não existem amplas alternativas de métodos de detecção, por esta razão há grande necessidade de desenvolvimento de métodos analíticos eficientes e confiáveis para identificação e quantificação dos compostos (PRESTES, 2011).

### 1.1 AQUICULTURA versus PESCA

Devido à crescente demanda por alimento se fez necessário encontrar alternativas para formas de cultivo de peixes que complementassem a produção natural e que tivessem capacidade de suprir a demanda mundial de pescado, buscando também a sustentabilidade econômica e ambiental. Nesse caso, foi necessário desenvolver tecnologia para produção em grande escala de organismos cultivados em águas interiores e no mar. Assim, hoje no mundo todo, um grande número de espécies são cultivadas em diferentes sistemas de produção e níveis tecnológicos (ANDRADE; YASUI, 2003).

Atualmente a procura por produtos e derivados da pesca extrativista tem aumentado consideravelmente, levando diversos estoques pesqueiros ao limite. Um método que vem ganhando destaque consiste em confinar em espaço controlado, em diferentes fases de vida, organismos aquáticos e assim realizar o manejo. A aquicultura então vem como opção de negócio, tendo diversos trabalhos e estudos que apresentam números sobre demanda, produção, importação e exportação (OLIVEIRA, 2009).

A aquicultura é considerada uma atividade multidisciplinar referente ao cultivo de diversos organismos aquáticos, incluídos neste contexto plantas aquáticas, moluscos, crustáceos e peixes, sendo que a intervenção ou manejo do processo de criação é imprescindível para o aumento da produção (OLIVEIRA, 2009). Na aquicultura, destaca-se a piscicultura, cujo produto destinado para fins alimentares é denominado peixe, e é considerada atividade de grande importância no cenário mundial, visto o montante de recursos financeiros oriundos do comércio de pescado como também o grande número de empregos que gera (ROTTA, 2009).

Se o problema da pesca extrativista continua sendo a garantia da produção, esse fato parece não existir na aquicultura, cujo potencial de expansão ainda é promissor (OLIVEIRA, 2009). Conforme dados do MPA - Ministério da aquicultura e da pesca do ano de 2010, a produção mundial de pescado atingiu o montante aproximado de 146 milhões de toneladas no ano de 2009, entre o pescado proveniente da pesca extrativa e da aquicultura, sendo a China o

maior produtor, responsável por 41,68 % da produção total no respectivo ano. O Brasil foi responsável por 0,86 % da produção mundial de pescado no ano de 2009, ocupando assim o 18º lugar no ranking mundial, com 1.264.765 toneladas produzidas.

Apesar do seu potencial hídrico, a Região Norte é a que menos produz peixes de cultivo. Isso se explica, fundamentalmente, pelo fato de a oferta dos estoques extrativistas de algumas espécies ainda ser grande na região, e pelas técnicas de cultivo ainda estarem pouco disseminadas. Os principais Estados produtores são Pará, Amazonas, Rondônia, Roraima e Acre (MATTHIENSEN et al., 2009).

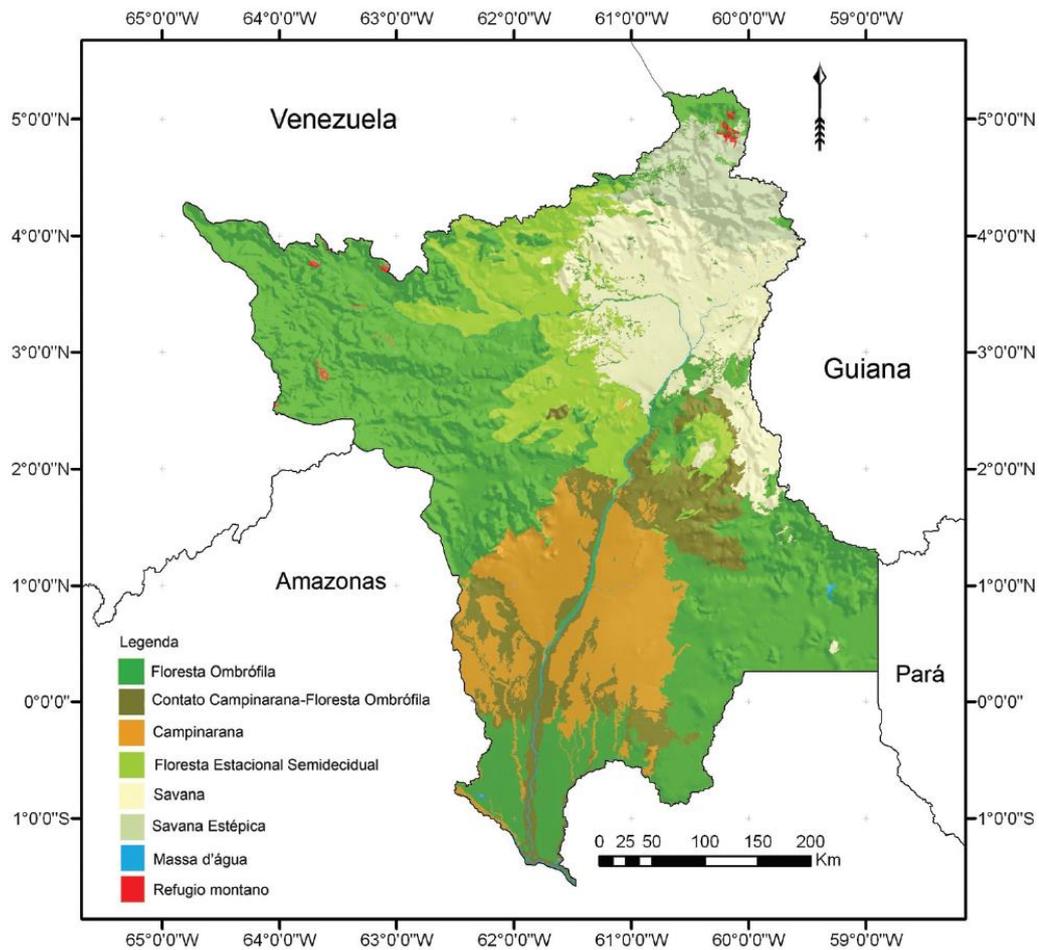
Na Amazônia a pesca continua sendo uma das atividades extrativistas mais tradicionais e importantes, porém nas últimas décadas vem aparecendo os primeiros sinais de esgotamento de alguns estoques naturais de peixes, como o apreciado *Collossoma macropomum* (tambaqui) e o *Arapaima gigas* (pirarucu). Para que uma verdadeira política integrada para o desenvolvimento e manejo da atividade pesqueira possa ser posta em prática é necessário bom conhecimento da dinâmica do ecossistema e das atividades econômicas nele desenvolvidas (ISAAC; BARTHEM, 1995).

## 1.2 ECOSSISTEMAS DE RORAIMA E SUA RELAÇÃO COM AS CIANOBATÉRIAS

A Amazônia brasileira é uma região de proporções continentais formada principalmente por florestas e savanas (cerrados) que possuem grande importância ecológica global. Em Roraima (Figura 1) o maior grupo é o de Floresta Ombrófila Densa (42,76%), seguido das Florestas de Contato (23,44%), das Savanas (11,82%) e das Campinaranas Florestadas (9,52%). Esses grupos são basicamente as grandes fitopaisagens que constroem o mosaico de vegetação do Estado (BARBOSA; KEIZER; PINTO, 2010).

As florestas ombrófilas de baixa altitude do sul do Estado fazem um sistema contínuo com os sistemas florestais do terciário presentes na calha do rio Negro-Amazonas. As campinaranas, no interflúvio rio Branco-Negro, fazem o elo de ligação entre estas paisagens com as florestas de contato e as savanas que se estendem ao norte. As florestas de contato são finalmente ligadas às regiões de florestas ombrófilas de média e alta altitude a oeste e noroeste de Roraima, encontradas quase integralmente nas terras do povo Yanomami (BARBOSA; KEIZER; PINTO, 2010).

Figura 1 – Distribuição espacial dos grandes grupos de vegetação de Roraima



Fonte: Barbosa; Keizer; Pinto (2010).

A savana localizada no nordeste do estado de Roraima é a maior área contínua de vegetação nativa aberta desse bioma, que representa a parte brasileira de um grande complexo de savanas na parte setentrional da Amazônia, incluindo o Brasil, Guiana, Suriname e Venezuela (BARBOSA et al., 2007). Desde o final de 1970, o "lavrado" sofreu um contínuo processo de mudanças derivado do estabelecimento e ampliação da agricultura e projetos pecuários com objetivo de estimular crescimento econômico local (BARBOSA, 1993; BARROS, 1995).

Cianobactérias são microrganismos procariotos fotossintetizantes, que em razão de sua longa história evolucionária (primeiros registros fósseis de cianobactérias datados em 3,5 bilhões de anos) foram capazes de colonizar praticamente todos os ecossistemas do planeta. Entretanto, são mais comumente encontradas no plâncton de ambientes marinhos e de água doce (MOLICA; AZEVEDO, 2009).

A morfologia dos ecossistemas age diretamente sobre a distribuição da diversidade de organismos aquáticos que são diretamente influenciadas pelo tipo de substrato, quantidade e tipo de detritos orgânicos, presença de vegetação aquática, presença e extensão de mata ciliar, e indiretamente afetados por modificações nas concentrações de nutrientes e mudanças na produtividade primária (GOULART; CALLISTO, 2003)

A dominância de cianobactérias tem sido associada a fatores ambientais dispostos nos ecossistemas, como: escassa disponibilidade e baixa razão zona eufótica/zona de mistura, altas temperaturas, principalmente entre 15° C e 30° C, baixas concentrações de CO<sub>2</sub> e alto pH, principalmente entre 6 e 9 ou maior, altas concentrações de fósforo total, baixas de nitrogênio total e de nitrogênio inorgânico dissolvido e baixas razões N:P presentes nos diferentes solos (SILVA, 2009).

### 1.3 A ESPÉCIE ESTUDADA - TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

O *C. macropomum* (Cuvier, 1818) é uma espécie nativa das bacias dos rios Amazonas e Orinoco introduzida na década de 80 no Panamá e Taiwan e, posteriormente, em Cuba, República Dominicana, Estados Unidos, Honduras, Jamaica, Filipinas, Guatemala, Hungria, Costa Rica, Porto Rico e China, onde são cultivados ou possuem populações livres na natureza (MENDONÇA et al., 2009).

O tambaqui (Figura 2) pertence à classe Actinopterygii, ordem Characiformes e família dos Characidae (BARBOSA et al., 2009). É um peixe de piracema considerado o maior caracídeo da Amazônia, atingindo comprimentos de até um metro e peso além de 30 kg (GOULDING, 1988).

Figura 2 – Tambaqui (*Colossoma macropomum*)



Fonte: Oliveira (2012).

Essa espécie é a mais cultivada comercialmente na Região Amazônica, principalmente pela fácil obtenção de alevinos, além de bom potencial de crescimento, alta produtividade e

rusticidade. É muito apreciado pela população local e a demanda por sua carne é grande, razão pela qual muitos pesquisadores e produtores têm intensificado esforços para estabelecer um pacote tecnológico para a criação da espécie (GOMES et al., 2003).

O tambaqui é uma espécie que possui escamas com corpo romboidal, nadadeira adiposa curta com raios nas extremidades, dentes molariformes e rastros branquiais longos e numerosos, boca prognata pequena e fortes lábios grossos; sua coloração parda na metade superior e preta na metade inferior do corpo podendo variar para mais clara ou escura dependendo da cor da água. O hábito alimentar dos adultos é predominantemente herbívoro, porém pode alimentar-se de insetos, caramujos e eventualmente de outros peixes (ARAÚJO; GOULDING, 1998).

O *C. macropomum* também apresenta outras características importantes para a piscicultura como: hábito alimentar diversificado, rápido crescimento, facilidade na produção de alevinos e adaptações ao ambiente exposto, um exemplo clássico é, quando exposto à hipoxia, apresenta como adaptação o desenvolvimento do lábio inferior, que serve para capturar o oxigênio presente na lâmina superficial da coluna d'água (ALMEIDA-VAL; VAL, 1995). Possui grande valor econômico e ecológico, pois sua carne é de grande aceitação no mercado, observando-se, no entanto que, sua abundância na natureza vem se reduzindo devido ao excesso da exploração pesqueira, embora seja considerada a espécie nativa mais estudada e sobre a qual se gerou mais conhecimento sobre a criação em cativeiro (LIMA; GOMES, 2005).

Entretanto, existem desvantagens na criação em cativeiro do tambaqui, segundo Ferrari et al. (1999) a maior restrição ao cultivo é a temperatura, pois a criação dessa espécie apresenta sérios problemas de crescimento quando a temperatura da água atinge valores inferiores a 18,0 °C, exigindo constante monitoramento desse parâmetro. A faixa ideal de temperatura para o tambaqui é de 26-32°C, o nível mínimo de oxigênio dissolvido é de 1 a 3mg/L e a faixa de pH deve permanecer entre 4 e 6 (MENDONÇA et al., 2009).

#### 1.4 IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE DA ÁGUA NA AQUICULTURA

Dentre os vários recursos naturais de reconhecida importância social e econômica, a água é considerada a mais importante, por ser detentora de grande valor econômico agregado. Em escala global, 80 países já vivem em regime de escassez, e países possuidores deste recurso, tanto em quantidade como em qualidade, adquirem grande poder de negociação. Esse é o caso do Brasil, através da Região Amazônica Brasileira (RAMALHO, 2011).

A qualidade das águas superficiais e subterrâneas tem sido imensamente discutida em âmbito mundial, já que o comprometimento deste recurso natural afeta diretamente a vida de todos os organismos vivos do planeta. A atividade de criação de organismos aquáticos no território nacional é promissora e cuidados com o ambiente proporciona produção de melhor qualidade. A análise de parâmetros físicos e químicos da água constitui importante ferramenta para monitorar a qualidade hídrica do sistema (MILLAN, 2009).

Para cultivar organismos aquáticos é necessário primeiro cultivar a água, pois existe intrínseca relação entre aquicultura e qualidade da água, sendo que a cada momento fica mais patente a necessidade de se utilizar racionalmente este recurso, necessitando-se, portanto do entendimento dos fatores que condicionam a qualidade da água. O conhecimento deste assunto é importante não apenas como forma de potencializar a produção, mas como meio de mitigar os impactos ambientais que esta atividade possa causar (FREITAS; DIAS; CAVALCANTE, 2007).

A fertilização dos viveiros acontece unicamente para propiciar um aumento cumulativo de fitoplâncton na água dos tanques, pois por meio de uma cadeia de interações os fertilizantes adicionados na água produzem alimentos e nutrientes para a produção de fitoplâncton e estes por sua vez servem de alimentos para os chamados zooplâncton (LIMA, 2011). Segundo Ostrensky e Boeger (1998), tudo começa com a fertilização dos viveiros, pois havendo condições propícias de luz e temperatura, os nutrientes presentes nos fertilizantes dissolvem-se na água e são assimilados pelo fitoplâncton. Com a combinação destas condições, o fitoplâncton reproduz-se rapidamente, formando densas comunidades que em poucos dias podem se espalhar por todo o viveiro; este rápido desenvolvimento do fitoplâncton é conhecido por "bloom" fitoplanctônico.

De acordo com Sipaúba-Tavares (1994) existem dois fatores importantes que influenciam de maneira marcante a ecologia (qualidade da água) de viveiros de peixes. O primeiro é a grande quantidade de alimento que não são utilizados pelos peixes ficam disponíveis no ambiente, possibilitando o crescimento de algas e bactérias e o segundo é a alta densidade de peixes que pode levar a abundante suprimento de CO<sub>2</sub> devido à respiração, causando o crescimento de grande quantidade de algas, ou mesmo a morte de outras, o que poderia provocar alta mortalidade nos peixes devido às alterações na qualidade da água, especialmente a redução do oxigênio dissolvido, que seria utilizado na respiração dos organismos do viveiro e na decomposição da matéria orgânica gerada pelas atividades vitais daqueles organismos.

A manutenção da qualidade de água em viveiros de piscicultura é requisito básico para o sucesso econômico do sistema produtivo e pode ser influenciada por vários fatores, dentre eles, a origem da fonte de abastecimento de água e o manejo alimentar (PEREIRA; MERCANTE, 2005). A qualidade da água pode ser alterada pela introdução de qualquer substância e pelo manejo em viveiros, os quais nem sempre são favoráveis ao desenvolvimento e à sobrevivência dos organismos aquáticos. A análise e interpretação dos parâmetros físico-químicos e biológicos da qualidade da água são importantes para a atividade de aquicultura. Parâmetros como oxigênio dissolvido e temperatura, entre outros, estão diretamente relacionados ao desenvolvimento dos peixes e a preservação dos corpos da água (SIPAÚBA-TAVARES, 1994).

#### **1.4.1 Parâmetros físicos**

Segundo Albanez e Matos (2007) os parâmetros físicos mais importantes da água para uso na aquicultura são: temperatura, transparência, turbidez e condutividade elétrica.

##### **1.4.1.1 Temperatura**

A temperatura interfere diretamente na solubilidade de gases, velocidade de reações químicas, circulação de água e metabolismo dos peixes, tornando-se um dos fatores mais importantes nos fenômenos químicos e biológicos existentes em sistema de criação. As atividades fisiológicas dos peixes que são: respiração, digestão, reprodução e alimentação, entre outros, estão intimamente ligadas à temperatura da água (FERREIRA; SOUSA; FERNANDES, 2009). Portanto, esse parâmetro é um dos fatores que deve ser objeto de constante monitoramento, pois é um fator limitante na alimentação, provocando redução no consumo alimentar e estresse quando não estiver na faixa de conforto dos peixes, favorecendo a ocorrência de doenças e parasitoses (LIMA, 2011).

Os peixes são animais pecilotérmicos, ou seja, sua temperatura corporal apresenta-se próxima à temperatura da água em que vivem. E cada espécie de peixe possui limites de conforto térmico com faixa de temperatura da água ideal para o seu desenvolvimento (SANDOVAL JÚNIOR et al., 2010). O conhecimento da zona de conforto térmico de cada espécie é fundamental, para que se possa selecionar espécies capazes de manifestarem todo o seu potencial genético e, com isso, proporcionarem maior produtividade (ALBANEZ; MATOS, 2007).

De acordo com Silva, Ferreira e Logato (2001) o metabolismo dos peixes é maior à medida que aumenta a temperatura. Os peixes de águas tropicais geralmente vivem bem com temperaturas entre 20 a 28° C e seu apetite máximo será entre 24 a 28° C, mas abaixo de 20° C o apetite decresce rapidamente e acima de 28° C param de comer, podendo ocorrer mortalidade em temperaturas superiores a 32° C. Por isso é importante para o cultivo dos peixes, um equipamento fundamental para a piscicultura, o termômetro de mercúrio, onde deve-se ter o cuidado de medir tanto a temperatura da superfície, como a do meio e do fundo do tanque.

#### 1.4.1.2 Turbidez

A turbidez da água ocorre devido à presença de partículas em suspensão, que podem ou não serem coloridas. Geralmente, viveiros de cultivo intensivo de peixes são túrbidos, devido ao fitoplâncton que cresce em resposta à adição de fertilizantes ou alimentos destinados aos peixes (MERCANTE et al., 2008).

Em água com elevada turbidez dificulta a penetração da luz, comprometendo o desenvolvimento de microrganismos e a produção aquícola. Além disso, os sólidos em suspensão na água podem causar danos diretos aos peixes, pois quando pequenas partículas ficam aderidas às guelras e aos ovos, podem ocasionar a mortandade de peixes e embriões. A turbidez é determinada com um aparelho denominado turbidímetro e pode ser expressa por meio de unidades de Jackson ou nefelométricas (UNT). Valores normais em águas naturais são de 3 a 500 UNT, enquanto que especificamente para a piscicultura devem variar de 10 a 40 UNT (ALBANEZ; MATOS, 2007).

#### 1.4.1.3 Transparência ou visibilidade

A transparência da água tem sido mais usada na caracterização das condições das águas de viveiros de piscicultura, por ser mais facilmente obtida e não depender do uso de equipamentos sofisticados. Além disso, pode ser utilizada como um indicativo de densidade da população planctônica no viveiro e, por consequência, permite uma estimativa dos riscos da ocorrência de concentrações críticas de oxigênio dissolvido durante o período noturno (ALBANEZ; MATOS, 2007).

A capacidade de penetração da luz na água ou transparência é medida com o auxílio do disco de Secchi (Figura 3) e definida como a profundidade média no qual o disco

desaparece quando introduzido verticalmente na coluna d'água. Esse equipamento pode ser de madeira ou ferro, com um peso para poder chegar ao fundo do tanque, apresentando quatro quadrantes, dois com a cor branca e dois com a cor preta, suspensos por uma corda graduada a cada centímetro ou com uma escala (SILVA; FERREIRA; LOGATO, 2001). Águas com transparência maior que 60 cm permitem a penetração de grande quantidade de luz em profundidade, favorecendo o crescimento de plantas aquáticas submersas e de algas filamentosas; e águas com valores de transparência inferiores a 30 cm indicam excessivo enriquecimento em nutrientes e em plâncton e podem apresentar maiores riscos de problemas como baixo oxigênio dissolvido (FERREIRA; SOUSA; FERNANDES, 2009).

Figura 3 – Disco de Secchi



Fonte: Adaptada de Oliveira (1995).

#### 1.4.1.4 Condutividade elétrica

A condutividade elétrica expressa à capacidade do meio em transmitir corrente elétrica, devida à presença de ânions e cátions em solução, uma vez que o aumento da concentração iônica na solução proporciona aumento na capacidade de condução de corrente elétrica (ALBANEZ; MATOS, 2007). Este parâmetro pode ser usado para inferir importantes informações sobre o ecossistema aquático, como metabolismo e magnitude da concentração iônica, pois os íons mais diretamente responsáveis pela leitura desta variável são considerados dominantes (MILLAN, 2009).

As unidades usadas para condutividade elétrica são mhos ou Siemens (S) por unidade de comprimento. Águas naturais têm condutividade elétrica entre 10 e 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$  e em viveiros de piscicultura, devem apresentar variação de 20 a 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , neste caso o parâmetro pode ser usado para avaliar a disponibilidade de nutrientes nos viveiros (ALBANEZ; MATOS, 2007).

## 1.4.2 Parâmetros químicos

Os parâmetros químicos fundamentais no controle da qualidade da água em piscicultura, geralmente, são o potencial hidrogeniônico (pH), a alcalinidade, a dureza, os gases dissolvidos (oxigênio e gás carbônico) e os nutrientes (amônia, nitrito, nitrato e fosfato total).

### 1.4.2.1 pH

O potencial hidrogeniônico (pH) expressa a atividade de íons  $H^+$  no meio e, como tal, determina seu caráter ácido ou alcalino (ALBANEZ; MATOS, 2007). Ao realizar a fotossíntese, o fitoplâncton retira o  $CO_2$  da água, aumentando o pH. A respiração do  $CO_2$  na água contribui para baixar o pH. A renovação de água ao impedir que grandes concentrações de fitoplâncton ocorram, ajuda a diminuir o problema da variação excessiva do pH em águas de baixa alcalinidade. Os viveiros devem ter o pH medido semanalmente, de preferência no final da tarde (IMBIRIBA; LOURENÇO JÚNIOR; CARVALHO, 2000).

O pH é um parâmetro muito importante a ser considerado em aquicultura, já que possui profundo efeito sobre o metabolismo e processos fisiológicos de todos os organismos aquáticos, podendo ser obtido através de kits de análise de água ou do equipamento denominado pHmetro, que consiste em um eletrodo acoplado a um potenciômetro. Tem sido reportado que os pontos letais de acidez e alcalinidade são de pH 4 e pH 11, respectivamente. As águas com valores que compreendem a faixa de 6,5 a 9,0 são as mais adequadas para a produção de peixes (Figura 4). O pH também exerce forte influência sobre a toxicidade de certos parâmetros químicos, tais como a amônia não ionizada, que se torna mais abundante em pH alcalino (ARANA, 2004).

Figura 4 – Desenvolvimento de peixes em função dos valores de pH na água



Fonte: Albanez e Matos (2007).

Nos ambientes aquáticos acontece um sistema de neutralização do pH chamado capacidade *buffer*. As substâncias *buffer* são aquelas que em solução oferecem resistência às variações de pH, quando ácidos ou bases são incorporados ao sistema. Em águas naturais o CO<sub>2</sub> é liberado pelos processos respiratórios do fitoplâncton e dos organismos, assim como adicionado da atmosfera por difusão. A remoção do CO<sub>2</sub> da água provoca um aumento do pH. Em ambientes de cultivo onde o fitoplâncton costuma proliferar em grandes quantidades (*blooms* algais), o pH pode aumentar bastante devido à liberação de íons hidroxila (OH<sup>-</sup>), resultantes da hidrólise do bicarbonato realizada pelas células vegetais para obtenção de CO<sub>2</sub>. O sistema *buffer* de bicarbonato evita essas mudanças repentinas de pH. Se a concentração dos íons de hidrogênio aumentar, este irá reagir com bicarbonato para formar CO<sub>2</sub> e água, sendo assim, o equilíbrio é mantido e o pH varia pouco (ARANA, 2004).

#### 1.4.2.2 Alcalinidade

A alcalinidade total é a concentração de todas as bases tituláveis na água expressa em equivalente de carbonato de cálcio (mg CaCO<sub>3</sub>/L). A alcalinidade protege contra as variações do pH causadas pela fotossíntese (através de absorção e liberação do CO<sub>2</sub>), servindo ainda como fonte de reserva de CO<sub>2</sub> para o fitoplâncton. O solo é o fator que mais influencia na alcalinidade das águas, pois solos pobres e ácidos tendem a apresentar baixa alcalinidade e para aumentar a mesma é necessário realizar uma calagem, que pode ser feita com calcário, cal virgem ou cal hidratada. O calcário agrícola, calcítico ou magnésiano é preferido por solubilizar lentamente e não elevar o pH a um valor maior que 8,3 e a quantidade de calcário a ser usada na calagem depende do tipo de solo (IMBIRIBA; LOURENÇO JÚNIOR; CARVALHO, 2000).

Os maiores contribuintes para a alcalinidade da água são os bicarbonatos (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), quando o pH da água está entre 4,4 a 8,3; os carbonatos (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) e bicarbonatos, quando o pH da água está entre 8,3 a 9,4 e os hidróxidos (OH<sup>-</sup>) e carbonatos, quando o pH da água é maior que 9,4 (ALBANEZ; MATOS, 2007). Este parâmetro confere resistência a mudanças de pH, prevenindo mudanças bruscas no valor do mesmo, portanto, águas com alcalinidade menor que 20 mg/L apresentam baixo poder tamponante, estando sujeitas a grandes variações diárias de pH (NOGRUEIRA et al., 2011).

#### 1.4.2.3 Dureza

A dureza pode ser definida como a concentração total de cálcio e magnésio na água proveniente da dissolução de rochas calcáreas, variando de acordo com a composição do solo de cada região e é importante em testes de toxicidade, uma vez que interfere de modo significativo na toxidez de alguns produtos químicos, em especial os metais (MILLAN, 2009). A origem da dureza das águas além de ser natural, pode ser antropogênica, devido ao lançamento de efluentes da mineração e industriais em corpos receptores (ALBANEZ; MATOS, 2007).

As águas podem ser classificadas de acordo com seu tipo de dureza: a dureza química total é equivalente à alcalinidade total, denominada como dureza de carbonato que também é conhecida como dureza temporal, porque esta precipita sob um processo de ebulição da água. Se a dureza total da água excede a alcalinidade total, a água contém dureza não carbonatada, que também é conhecida como dureza permanente pelo fato de não poder ser removida por ebulição (ARANA, 2004).

#### 1.4.2.4 Gases dissolvidos

Dentre os gases que podem estar em maior ou menor quantidade dissolvidos na água, o oxigênio é provavelmente o mais importante para o cultivo de animais aquáticos, a falta deste elemento pode ocasionar consideráveis perdas econômicas devido aos seus efeitos negativos sobre o ganho de peso e conversão alimentar, assim como, a morte súbita dos peixes (VALBUENA et al., 2006). Além disso, a deficiência de oxigênio dissolvido na água é considerada responsável por mais de 60% das perdas nos cultivos (BOYD; LICHTKOPPLER, 1979). O gás carbônico também é de fundamental importância para o metabolismo das algas e de outros vegetais fotossintetizantes, mas a distribuição desse gás na massa d' água é exatamente oposta à do oxigênio dissolvido (SIPAÚBA-TAVARES, 1998).

A concentração de oxigênio dissolvido (OD) varia ao longo do dia em função da fotossíntese e da respiração. Logo, quanto maior a quantidade de organismos por unidade de volume, maior a variação diária na concentração desse gás (NOGRUEIRA et al., 2011). Para um ótimo crescimento e desempenho de peixes tropicais como, por exemplo, o tambaqui e o pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) é desejável uma concentração de OD na água maior que 5 mg/L. Dentre os fatores que influenciam na variação da concentração de oxigênio dissolvido na água dos viveiros de piscicultura estão a difusão do ar, a renovação de

água, a fotossíntese realizada pelo fitoplâncton durante as horas de luz e a respiração dos organismos presentes na água (IMBIRIBA; LOURENÇO JÚNIOR; CARVALHO, 2000).

O gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ) é altamente solúvel em água, podendo ser encontrado no meio aquático sob três formas dependendo do pH: como  $\text{CO}_2$  livre e íon bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) em valores de pH entre 4,5 a 8,3 e íon carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) em valores de pH superiores a 8,3. À medida que o pH diminui, aumenta a concentração de  $\text{CO}_2$ , que é tóxico aos peixes, e diminui a de  $\text{CO}_3^{2-}$  no meio (ALBANEZ; MATOS, 2007).

#### 1.4.2.5 Nutrientes na água

Os viveiros de peixes apresentam altas concentrações de nutrientes sólidos e solúveis, derivados de produtos metabólicos, da decomposição da matéria orgânica e lixiviação, dissolvidos na água ou acumulados sobre o sedimento (SHILO; SARIG, 1989; YOO et al., 1995). Segundo Macedo e Sipaúba-Tavares (2010) a concentração de nutrientes nos sistemas de criação de peixes pode aumentar com a fertilização e manejo para incremento da produção dos viveiros. A ração não consumida é convertida em gás carbônico, amônia, fosfatos e outras substâncias dissolvidas pela ação microbiana, gerando impacto nos sistemas de criação de peixes (PILLAY, 1992; BACCARIN; CAMARGO, 2005).

No ambiente aquático, o nitrogênio pode ser encontrado sob diferentes formas, dentre outras, a de amônia, nitrito e nitrato. A quantidade e a natureza de seus compostos muitas vezes determinam a produtividade total do sistema aquático, e, em alguns casos, a disponibilidade desses compostos controla a biomassa algal (SIPAÚBA-TAVARES, 1998).

A amônia ( $\text{NH}_3$ ) é também denominada amônia não ionizada, sendo depois do oxigênio dissolvido o segundo fator em importância em sistemas aquícolas, sendo muito tóxica aos peixes (ALBANEZ; MATOS, 2007). Este composto é resultante do catabolismo das proteínas, sendo encontrada em baixos níveis no início das criações, quando a biomassa é ainda pequena. Com o aumento da biomassa o nível de amônia aumenta proporcionalmente ao aumento da quantidade de alimento fornecido (PEREIRA; MERCANTE, 2005).

A amônia é proveniente da decomposição da matéria orgânica e dos excretas nitrogenados liberados pelos organismos presentes na água. Quando o teor de OD e o pH estão dentro dos limites considerados ideais, a amônia é convertida em nitrito e depois em nitrato, não ficando acumulada na água (NOGRUEIRA et al., 2011). Quanto maior o pH, maior será a porcentagem de amônia tóxica na amônia total. Assim, uma água com 2mg/L de

amônia total pode conter apenas 0,0014mg de  $\text{NH}_3/\text{L}$  em pH 7 (0,7%) ou níveis tóxicos maiores que 1mg em água com pH acima de 9,3 (ARANA, 2004).

A alta densidade de peixes em cultivos intensivos com sistemas de recirculação de água frequentemente resulta em aumento das concentrações ambientais de nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), produto oriundo de resíduos nitrogenados devido à incompleta oxidação da amônia a nitrato (ATWOOD; FONTENOT; TOMASSO, 2001). O acúmulo de  $\text{NO}_2^-$  é uma das alterações mais críticas na qualidade da água em tanques de cultivo de peixes, pois o  $\text{NO}_2^-$  é oxidado a nitrato rapidamente, contudo, sua alta toxicidade para os peixes merece consideração, pois o  $\text{NO}_2^-$  é forte formador de metahemoglobina (MetHb) a partir da hemoglobina (Hb), a qual é incapaz de transportar o  $\text{O}_2$  (HILMY; EL-DOMIATY; WERSHANA, 1986).

O nitrato é considerado uma substância com pequeno poder tóxico por parte de pesquisadores, mas por ser o produto final da nitrificação, pode acumular-se em grandes quantidades, principalmente em sistemas fechados de cultivo (THURSTON; RUSSO; SMITH, 1978). Esta substância pode causar efeitos letais ou subletais para diferentes organismos, ou ainda, atuar sinergicamente com outras formas nitrogenadas, tornando-se extremamente importante o estudo dos seus efeitos tóxicos para diferentes espécies (POERSCH et al., 2007).

O fósforo tem importância fundamental no armazenamento de energia, constituindo as moléculas de adenosina trifosfato (ATP), além de ser constituinte da membrana plasmática. Ele se apresenta na forma de fosfato, sendo classificado como fosfato particulado, fosfato orgânico dissolvido, ortofosfato, fosfato total dissolvido e fosfato dissolvido. Entre as formas de fosfato presentes na água, o ortofosfato é o de maior importância, por ser a principal forma assimilada pelos produtores primários (ESTEVES, 1998).

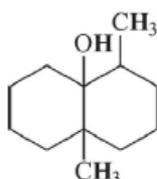
À medida que as concentrações de nutrientes aumentam, há aceleração da produtividade de algas, alterando a ecologia do sistema aquático (ESTEVES, 1998). A assimilação de compostos nitrogenados pelo fitoplâncton pode acarretar crescimento descontrolado dessa comunidade, provocando florações de algas no ambiente e causando problemas à qualidade da água (PEREIRA; MERCANTE, 2005).

### 1.5 GEOSMINA (GEO)

A geosmina foi isolada e identificada pela primeira vez no ano de 1965 pelos pesquisadores Gerber e LeChevalier, que através da produção por cultura de actinomicetos observaram que o composto causava gosto e odor de terra (FILHO; ALVES, 2006). Esta

substância é um álcool alicíclico, bicíclico condensado, muito volátil (Figura 5), naturalmente encontrada no solo, sendo também citado como terpenóides semivoláteis e altamente odorífero na água ou nos peixes (SOUZA; MATHIES; FIORAVANZO, 2012).

Figura 5 – Estrutura química do *4,8a-dimethyl-decahydronaphthalen-4a-ol*, também conhecido como geosmina, composto de fórmula química  $C_{12}H_{22}O$  e massa molar aproximada de 182,3 g/mol



Fonte: Adaptada de Freitas, Sirtori e Peralta-Zamora (2008).

O composto GEO é produzido e liberado para a fase líquida por actinomicetos e cianobactérias, como do ponto de vista microbiológico o ciclo de vida dos actinomicetos é dividido em dois estágios, anaeróbico e aeróbico, é exatamente neste último que ocorre a produção e liberação do GEO para a fase líquida e as cianobactérias durante o seu ciclo de vida produzem inúmeros compostos voláteis e não voláteis que, não podendo ser utilizado imediatamente ou armazenados para uso futuro, também são liberados nesta fase (BIATO, 2005).

A geosmina é produzida principalmente por algas cianofíceas (cianobactérias ou algas azuis-esverdeadas) do gênero *Anabaena*, *Microcystis* e *Oscillatoria*, bem como por bactérias da ordem dos actinomicetos, entre estas as espécies *Streptomyces* spp. e *Nocardia* spp. (SCHRADER; DAVIDSON; SUMMERFELT, 2013). O composto é rapidamente absorvido a partir de água para dentro do tecido adiposo de peixe e outros organismos aquáticos que adquirem sabores e odores indesejáveis, conhecidos como *off-flavor* (LLOYD; GRIMM, 1999).

Os peixes podem adquirir *off-flavor* pela ingestão de cianobactérias contendo reservas intracelulares, sendo que a rota principal de absorção é o transporte passivo dos compostos presentes na água. As brânquias são o sítio primário de absorção, pela sua estrutura e função, aumentando a difusão de geosmina entre a água e o sangue. A GEO é inicialmente transportada para os tecidos de maior suprimento sanguíneo e, depois, redistribuídas pelos tecidos ricos em gordura (SOUZA; MATHIES; FIORAVANZO, 2012).

O composto geosmina não é nocivo para a saúde humana, causando somente desconforto estético (JOE, et al., 2007). Porém, o estudo realizado por Huang et al. (2005) demonstra que os extratos liberados por culturas de *Anabaena*, *Microcystis* e *Oscillatoria*, contendo estes compostos, entre outros, têm atividade mutagênica, existindo a necessidade de identificar precisamente todos os compostos através de análises químicas e toxicológicas.

## 1.6 QUECHERS

Em 2003, Anastassiades e colaboradores com o objetivo de superar limitações práticas dos métodos multirresíduo de extração disponíveis na época, introduziram um novo procedimento de preparo de amostras para extração de resíduos de pesticidas denominado QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe). Esse método, que tem como vantagens ser rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro, explora as possibilidades oferecidas pela instrumentação analítica moderna (PRESTES et al, 2009).

É baseado em uma extração com acetonitrila (ACN), seguida de partição líquido-líquido (adição de  $MgSO_4$  e  $NaCl$ ) e posterior etapa de purificação com extração em fase sólida dispersiva. É um método robusto, adotado nos EUA, como o oficial da Association of Official Analytical Chemists para a determinação de resíduos de pesticidas em alimentos. Também é considerado método oficial pelo European Committee for Standardization (RODRIGUES et al. 2011).

O QuEChERS é destinado para a extração de pesticidas em matrizes alimentícias com baixo conteúdo de lipídios, como frutas e vegetais, porém este método tem sido adaptado para ser aplicado a matrizes alimentícias mais complexas, que contêm alto conteúdo de lipídios e proteínas, como ovo e abacate, chocolate, café e cereal, alimento para bebês, sementes de linhaça e amendoim, azeitona e azeite de oliva, leite e tecido animal (BRONDI; SOUZA; NOGUEIRA, 2013).

O método QuEChERS original é baseado nas seguintes etapas: extração com ACN, seguida da partição, promovida pela adição de sais como por exemplo, o sulfato de magnésio ( $MgSO_4$ ) e o cloreto de sódio ( $NaCl$ ) (PRESTE, 2011). O método induziu uma nova denominação ao procedimento de limpeza da amostra, chamada de extração em fase sólida dispersiva (D-SPE) no qual, diferentemente do procedimento de limpeza tradicional (SPE) que utiliza cartuchos e colunas, os sorventes são adicionados diretamente ao extrato orgânico e permitem que a limpeza da amostra e a redução da água residual sejam realizadas concomitantemente (BASTOS et al., 2012).

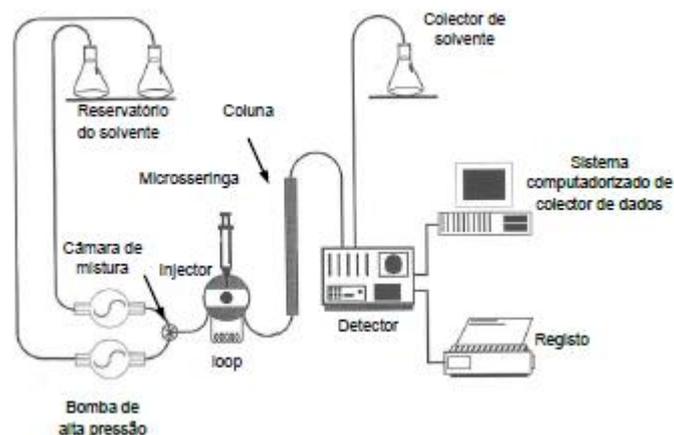
Com o objetivo de atender aos rigorosos Limites Máximos de Resíduos, estabelecidos por legislações internacionais, este método foi idealizado para gerar extratos que pudessem ser analisados por Cromatografia gasosa acopladas à Espectrometria de Massa e/ou Cromatografia Líquida (ANASTASSIADES et al., 2003).

### 1.7 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A cromatografia é um método físico-químico de separação. Ela está fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. A grande variedade de combinações entre fases móveis e estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

Desde o início da cromatografia líquida, em 1950, até os dias atuais, muitos avanços foram alcançados e todos eles foram impulsionados pelo desenvolvimento contínuo de novas partículas de fases estacionárias que fossem capazes de gerar colunas mais seletivas, eficientes e estáveis química e mecanicamente (MALDANER; JARDIM, 2009). A instrumentação básica de um cromatógrafo líquido consiste nos seguintes componentes (Figura 6): reservatório do solvente, bomba de alta pressão, misturador de solventes, injetor, microsseringas, loop, coluna, detector, coletor de solvente, registador e sistema computadorizado para colheita de dados (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

Figura 6 – Esquema do cromatógrafo líquido



Fonte: Skoog; Holler e Nieman (2002).

Somente a partir dos anos 70 se conseguiu um avanço considerável da cromatografia líquida moderna que até então era essencialmente subdesenvolvida, apesar de que um dos primeiros experimentos sobre cromatografia, no início do século, foi o tipo que é hoje chamado cromatografia líquida clássica. Desde 1968 tornou-se possível recheiar colunas com partículas de pequeno tamanho, necessárias para alta resolução e, também, adquirir equipamentos que funcionam nas altas pressões necessárias para obter boa velocidade de eluição (LANÇAS, 2010). O avanço foi gradual e atingiu o atual nível de sofisticação que a CLAE apresenta, devido ao revolucionário desenvolvimento tecnológico da prática deste tipo de cromatografia.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma técnica de separação que, em menos de trinta anos, passou a ser um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos. As razões para este crescimento estão relacionadas à sua adaptabilidade para determinações quantitativas com boa sensibilidade, a possibilidade de separar espécies não voláteis e termicamente instáveis, com destaque para a indústria farmacêutica, bem como as suas aplicações em determinações ambientais e em muitos outros campos da ciência (TONHI et al, 2002).

A CLAE é um tipo de cromatografia líquida que emprega pequenas colunas, recheadas de materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sobre altas pressões. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (CEFET, 2012).

O grande avanço na cromatografia em coluna foi o desenvolvimento e a utilização de suportes com partículas diminutas responsáveis pela alta eficiência, as quais tornam necessário o uso de bombas de alta pressão para a eluição da fase móvel, devido a sua baixa permeabilidade. As fases móveis utilizadas em CLAE devem possuir alto grau de pureza, as válvulas de injeção usadas possuem uma alça de amostragem para a introdução da amostra com uma seringa e duas posições, uma para o preenchimento da alça e outra para sua liberação para a coluna (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

As colunas utilizadas em CLAE são geralmente de aço inoxidável, com diâmetro interno e comprimento variável. Essas colunas são reaproveitáveis, sendo empacotadas com suportes de alta resolução, não sendo necessária sua regeneração após cada separação. O detector mais utilizado para separações por CLAE é o detector de ultravioleta, sendo também empregados detectores de fluorescência, de índice de refração, e eletroquímicos, entre outros.

O registro de dados pode ser feito através de um registrador, um integrador ou um microcomputador (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

## 1.8 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

A necessidade de se mostrar a qualidade de medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida. Dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (RIBANI et al., 2004).

A validação pode ser definida como o processo que confere validade a um método analítico, instrumento ou equipamento, cujas especificações são aceitas como corretas (SILVA; ALVES, 2006). A validação deve ainda garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (ANVISA, 2003).

O processo de validação pode ser aplicado de forma total ou parcial. A validação total deve ser desenvolvida quando é implementado um novo método; todavia, a validação parcial pode ser aplicada em casos em que o método originalmente validado foi modificado. Tais modificações podem incluir, entre outras, transferências entre laboratórios, analistas, mudanças no equipamento, mudanças na matriz em que será analisado o analito, entre outras (MOREAU; SIQUEIRA, 2008).

A validação de um procedimento analítico pode ser atestada por meio da determinação de parâmetros conhecidos como figuras de mérito. Esses parâmetros, dependendo de onde o método será aplicado, do seu propósito e ou do órgão de fiscalização a que estará sujeito podem variar, sendo as principais: seletividade, ajuste da curva analítica e determinação da sua faixa de linearidade, sensibilidade do método, representada pelos limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão, exatidão e robustez (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2009).

### 1.8.1 Seletividade/Especificidade

É a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto específico independente da matriz da amostra e de suas impurezas. Para análise qualitativa (teste de

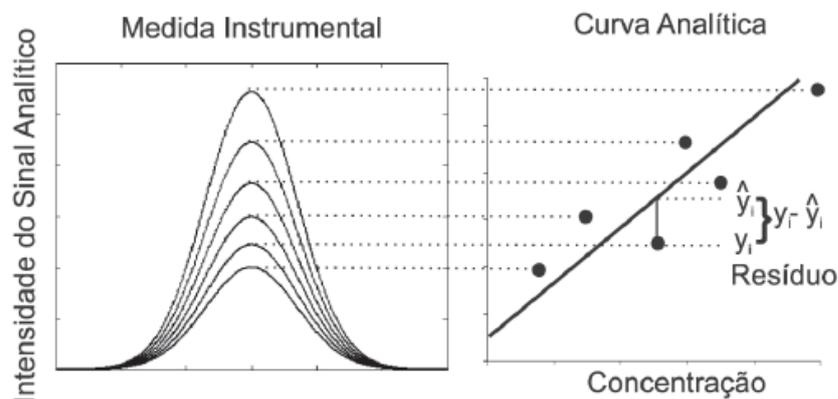
identificação) é necessário demonstrar a capacidade de seleção do método entre compostos com estruturas relacionadas que podem estar presentes. Isto deve ser confirmado pela obtenção de resultados positivos em amostras contendo o analito, comparativamente com resultados negativos obtidos com amostras que não contém o analito, contendo estruturas semelhantes (SILVA; ALVES, 2006).

As diretrizes da Comunidade Européia, ANVISA e INMETRO usam o termo especificidade como sinônimo de seletividade, já que ambas estão relacionadas ao evento da detecção, o que pode levar a interpretações equivocadas (PASCHOAL et al., 2008). A especificidade refere-se a um método específico para um único analito e a seletividade refere-se a um método utilizado para vários analitos com capacidade de distinção entre eles. Em HPLC estes parâmetros são avaliados geralmente através da capacidade de resolução cromatográfica, da eficiência da separação e do fator de assimetria (FIGUEIREDO, 2012).

### 1.8.2 Linearidade

A linearidade de um método expressa a faixa na qual o sinal analítico, denominado variável dependente, é linearmente proporcional à sua concentração, denominada variável independente, e a equação matemática que descreve esta dependência é conhecida como curva analítica ou curva de calibração (Figura 7). O ajuste de qualquer equação matemática é feito pelo método dos quadrados mínimos, no qual a melhor curva será aquela que fornecerá o menor valor para a soma quadrática dos resíduos ( $Q$ ) obtidos entre o sinal analítico medido ( $y_i$ ) e o sinal analítico predito ( $\hat{y}_i$ ), para um conjunto de  $N$  pontos experimentais (RIBEIRO et al., 2008).

Figura 7 – Curva de calibração mostrando a estimativa do resíduo no sinal analítico



Fonte: Ribeiro et al. (2008).

### 1.8.3 Sensibilidade

Outro parâmetro empregado na validação de métodos analíticos e que também é recomendado pela FAO é a sensibilidade (PASCHOAL et al., 2008). É um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito. Pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração, e é determinada simultaneamente aos testes de linearidade. A sensibilidade depende da natureza do analito e da técnica de detecção utilizada (SILVA; ALVES, 2006). A sensibilidade de um método é definida pelos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) (RIBEIRO et al., 2008).

### 1.8.4 Limite de detecção (LD)

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas. No caso de métodos instrumentais (CLAE, CG, absorção atômica), a estimativa do limite de detecção pode ser feita com base na relação de três vezes o ruído da linha de base (SILVA; ALVES, 2006).

Existem diferentes procedimentos para estimar o LD, entre esses o método visual, razão sinal-ruído e a partir da curva analítica, a ANVISA sugere apenas que o LD deve ser estabelecido por meio da análise de soluções de concentrações conhecidas e decrescentes do analito, até o menor nível detectável, recomendando que o LD seja duas a três vezes superior ao ruído da linha de base, no entanto, não fazendo referência se o estudo deve ser realizado com a matriz e o número de replicatas que devem ser realizadas. Já a IUPAC recomenda que se estime o LD a partir de pelo menos seis determinações independentes do analito na amostra branco ou em uma amostra contendo o analito em uma concentração baixa, no entanto, distinguível de zero ou resultado negativo, sendo o valor de LD estabelecido pelo cálculo de três vezes a estimativa do desvio padrão das medidas (PASCHOAL et al., 2008).

### 1.8.5 Limite de quantificação (LQ)

A definição segundo a IUPAC para o limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (PASCHOAL et al., 2008). O limite de quantificação refere-se à concentração do analito correspondente ao valor da média das

amostras em branco mais 5, 6 ou 10 desvios padrão ou pode corresponder ao padrão de calibração de menor concentração descontando o branco (SILVA; ALVES, 2006).

### **1.8.6 Precisão**

É o parâmetro que avalia a proximidade entre as várias medidas efetuadas na mesma amostra é a precisão do processo analítico. Usualmente, é expressa como o desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação de diversas medidas, porém existem duas formas mais comuns que são: por meio de repetibilidade, precisão intermédia e reprodutibilidade. Ambas repetibilidade e reprodutibilidade são geralmente dependentes da concentração do analito e, deste modo, devem ser determinadas para um diferente número de concentrações. A repetibilidade é o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas, efetuadas sob as mesmas condições de medição. Todas as medições são efetuadas com o mesmo procedimento, mesmo analista, mesma instrumentação, no menor intervalo de tempo possível. Reprodutibilidade avalia a imprecisão ao nível mundial, refletindo as diferenças aleatórias esperadas para a comparação dos mesmos resultados entre laboratórios distintos (FIGUEIREDO, 2012).

### **1.8.7 Exatidão**

A exatidão, definida como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico, constitui a chave para o propósito da validação. Os quatro métodos principais, propostos para o estudo da exatidão, são baseados no uso de material de referência certificado (MRC), na comparação do método proposto com um método de referência, no uso de ensaios de recuperação na matriz e em estudos colaborativos. O processo de avaliação por meio de MRC consiste em analisar número suficiente de replicatas desse material e comparar os resultados obtidos com o valor certificado. Entretanto, o alto custo do MRC e a abrangência limitada de matrizes e analitos restringem seu uso. A exatidão também pode ser estabelecida mediante comparação entre os valores obtidos pelo método proposto com os valores obtidos para as mesmas amostras com outro método validado. Após análise de diferentes amostras com ambos os métodos, as diferenças obtidas para cada amostra são calculadas e comparadas com o valor desejado (BRITO et al., 2003).

### 1.8.8 Robustez

De acordo com o INMETRO, a robustez de um método (“robustness”) mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas variações. Diz-se que um método é robusto quando ele não é afetado por uma modificação pequena e deliberada em seus parâmetros. A robustez de um método cromatográfico é avaliada, por exemplo, pela variação de parâmetros como a concentração do solvente orgânico, pH e força iônica da fase móvel em HPLC, programação da temperatura, natureza do gás de arraste em GC, bem como o tempo de extração, agitação, entre outros. As mudanças introduzidas refletem as alterações que podem ocorrer quando um método é transferido para outros laboratórios, analistas ou equipamentos (RIBANI et al., 2004).

## 2 OBJETIVOS

A seguir são descritos os objetivos que direcionam o presente trabalho.

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar e quantificar a presença de geosmina na carne do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) cultivados em pisciculturas situadas em diferentes ecossistemas de Roraima.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a água dos tanques das pisciculturas por meio das variáveis físico-químicas;
- Validar a metodologia analítica para detecção e quantificação da geosmina na carne do peixe empregando o método Quechers e CLAE;
- Realizar análise sensorial das amostras das pisciculturas;
- Relacionar os resultados obtidos quanto aos teores de geosmina com as pisciculturas dos diferentes ecossistemas.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

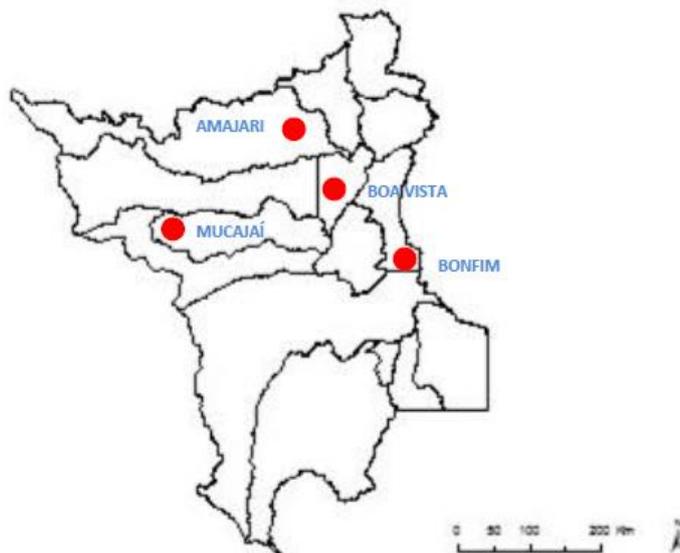
Este trabalho divide-se em duas partes, a amostragem e as análises, cuja metodologia será descrita a seguir.

#### 3.1 AMOSTRAGEM

Os peixes e a água foram coletados no período seco durante os meses de dezembro do ano de 2013 a abril de 2014 em pisciculturas localizadas em diferentes municípios do estado de Roraima e foi realizada uma única coleta em cada piscicultura. Primeiramente foram efetivadas visitas a FEMARH (Fundação Estadual do Meio Ambiente e Recursos Hídricos) e a SMGA (Secretaria Municipal de Gestão Ambiental e Assuntos Indígenas), com um intuito de formar um banco de dados com a localização das propriedades rurais com pisciculturas implantadas.

Após a formação do banco de dados, foram selecionadas de forma aleatória quatro propriedades que se encontravam legalizadas no ano 2013, tendo-se como critério a criação de tambaqui em tanques ou viveiros construídos sobre diferentes tipos de ecossistemas, sendo sorteadas 2 pisciculturas localizadas em área de savana (Boa Vista e Amajari) e 2 em áreas de floresta (Mucajaí e Bonfim), foram então numeradas de 1 a 4, sendo a piscicultura 1 situada no município de Boa Vista, a 2 em Mucajaí, a 3 no Bonfim e a 4 no Amajari (Figura 8).

Figura 8 – Mapa de Roraima com os municípios das pisciculturas selecionadas



Para a realização da coleta dos peixes, o trabalho necessitou ser aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais- CEUA/UFRR (Anexo A), que aprovou o processo de abate realizado em dois estágios, o primeiro os animais foram atordoados e insensibilizados, e no segundo, ocorreu o sacrifício, as duas etapas foram feitas por meio do choque elétrico e térmico respectivamente, que segundo Viegas et al. (2012), é considerado um abate humanitário uma vez que o uso da eletricidade promove a transição rápida para a insensibilidade e evita a recuperação da consciência antes que ocorra a morte.

O choque térmico foi obtido através de água e gelo e o elétrico por meio de um dispositivo (Figura 9) que foi desenvolvido baseado no trabalho de Lambooij et al. (2008) com algumas adaptações para a espécie em estudo, como voltagem e frequência.

Figura 9 – Dispositivo do choque elétrico



Os tambaquis (*C. macropomum*) coletados para as análises apresentavam padrão no peso (cerca de 2 kg), medida que caracteriza a fase de engorda. De cada instalação piscícola foram coletados quinze peixes, ou seja, cinco peixes de cada um dos três tanques de engorda escolhidos, que foram imobilizados e abatidos no local, posteriormente foram identificados e transportados para o laboratório de Ecotoxicologia do PRONAT da Universidade Federal de Roraima em caixas de gelo, mantendo a temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$  até a execução das análises.

As amostras da água dos tanques foram coletadas entre as 8 e às 12 horas em dias ensolarados e com pouco vento, no qual foram recolhidas em garrafas de polietileno, obedecendo aos cuidados preconizados pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo-CETESB e pela Agência Nacional de Águas-ANA (CETESB, 2011). As amostras foram coletadas em triplicada, protegidas da luz solar, acondicionadas em caixas de isopor com gelo

e encaminhadas ao laboratório de Águas do Departamento de Química da UFRR, onde foram mantidas sob refrigeração a uma temperatura de 4° C até a execução das análises.

### 3.2 ANÁLISE SENSORIAL

A análise qualitativa da geosmina presente na carne do peixe foi feita através da avaliação sensorial do odor e sabor dos peixes coletados por meio de um painel sensorial (Figura 10), realizado segundo a pesquisa de Freitas et al. (2012) com algumas modificações. O painel foi constituído por 15 julgadores não treinados, que foram previamente selecionados através de possíveis fatores de exclusão como problemas alérgicos, hábito de fumar, período gestacional, ou uso de aparelhos dentários, inclusive dentaduras.

Figura 10 – Painel sensorial



Os 15 participantes foram divididos em 03 grupos, cada grupo, por sua vez, entrou no laboratório de Grãos da UFRR, assinaram um termo de consentimento (Anexo B) e tiveram à sua disposição quatro diferentes amostras de peixe que foram selecionadas aleatoriamente.

Para a análise de sabor e odor o pescado foi cortado em pedaços de 4 cm<sup>2</sup>, embrulhado em saco próprio e identificado, foi então submetido a cocção em forno micro-ondas por 60 segundos, após foi servido aos provadores. Entre as amostras, os avaliadores usaram água mineral e bolacha neutra para limpar o paladar e grãos de café para limpar o olfato. Um frasco contendo a solução-padrão de referência (padrão analítico de GEO) ficou à disposição dos participantes para eventuais consultas.

Através de uma ficha individual (Anexo C) cada participante avaliou os seguintes atributos, odor e sabor, numa escala hedônica de 7 pontos, que consistiram em: nenhum, fraco, moderado, forte e muito forte.

### 3.3 ANÁLISE INSTRUMENTAL

Para proceder às análises instrumentais foram retiradas alíquotas de todos os peixes coletados e a extração de geosmina da carne do peixe foi realizada utilizando o método Quechers (Figura 11) modificado segundo Prestes (2011). Cada tanque foi considerado como uma amostra e cada amostra foi executada em triplicata, foram então coletados cinco peixes de cada tanque e analisados três tanques de cada uma das quatro pisciculturas selecionadas, totalizando 60 peixes analisados. Os peixes de cada tanque foram então previamente filetados e homogeneizados através de um multiprocessador para obter uma amostra com aproximadamente 10,0 g e que foi pesada diretamente em um tubo de polipropileno (capacidade 50 mL) com tampa rosqueada. Após essa etapa foi adicionado à amostra 10 mL de acetonitrila e procedeu-se a agitação manual e vigorosa, por cerca de 1 min. Em seguida, acrescentaram-se 4,0 g de sulfato de magnésio anidro, 1,0 g de cloreto de sódio, 1,0 g de citrato de sódio diidratado e 0,5 g de hidrogenocitrato sesquidrato de sódio, repetindo-se a agitação. Foram, posteriormente, centrifugados por 8 min (3500 rpm), após transferiram-se 2 mL do extrato líquido para outro tubo de polipropileno (capacidade 2 mL), contendo 150 mg de sulfato de magnésio anidro, 50 mg de PSA e 50 mg de C<sub>18</sub>, sendo novamente agitados manualmente por 1 min, e centrifugados como citado anteriormente. O sobrenadante passou por um filtro de seringa e foi colocado em um vial âmbar de 1,5 mL, para se analisado no sistema CLAE.

Figura 11 – Procedimentos para a análise instrumental



As determinações da concentração de geosmina foi performeda utilizando um sistema CLAE marca SHIMADZU, modelo CBM20A, composto por degaseificador a vácuo (G1322A), bomba binária (G1312A), injetor automático (SIL 20A), compartimento de coluna com termostato (G1316A), detector de arranjo de diodos – DAD (LC 10AD) e detector de fluorescência (LC 10FA). Sistema cromatográfico acoplado a computador e controlado através do software ChemStation (Figura 12). Contendo como sistema de bombeamento o LC-20AT, coluna cromatográfica SHIM=PACK VP-ODS (4,6 mm de diâmetro interno e 75 mm de comprimento) e fase móvel em regime isocrático com 1% água e 99% de acetonitrila. A velocidade de fluxo foi de 1,0 mL/min, volume da injeção de 20 µL. O forno foi o CTO-20A mantido a 40° e o tempo de corrida foi de 5 minutos.

Figura 12 – Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência- Shimadzu



A quantificação da GEO foi realizada por meio de uma curva analítica usando um padrão da AccuStandart com concentração de 2 µg/mL em metanol que foi diluído em acetonitrila nas concentrações de 0,01; 0,02; 0,03, 0,04 e 0,05 mg/L de geosmina. As análises foram realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia do PRONAT da Universidade Federal de Roraima.

### 3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DA ÁGUA

A qualidade físico-química das amostras de água das pisciculturas foi avaliada pelos seguintes parâmetros: temperatura, transparência, condutividade elétrica, pH, alcalinidade, dureza total, nitrito, nitrato, amônia, fosfato total e oxigênio dissolvido. As medições de temperatura, pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido foram realizadas *in situ* com sonda multiparâmetros Hanna modelo HI9828 (Figura 13), cada medição foi repetida três vezes com um intervalo de 30 minutos. A transparência e a profundidade foram medidas utilizando-se o Disco de Secchi.

Figura 13 – Sonda Multiparâmetros



As análises de alcalinidade, nitrato, nitrito, amônia, fósforo total e dureza total da água foram feitas segundo Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 1998) e as determinações foram realizadas por meio do aparelho espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1800 (Figura 14). As análises foram realizadas no Laboratório de Águas do Departamento de Química da Universidade Federal de Roraima.

Figura 14 – Aparelho Espectrofotômetro



### 3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

O trabalho foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com dois tratamentos (savana e floresta) e duas repetições, sendo a unidade experimental constituída por cada tanque. A diferença entre as médias dos tratamentos foi avaliada pelo teste T de Student ( $\alpha = 0,05$ ) para observações independentes quando as variâncias não são iguais.

Também foram utilizadas correlações de Pearson para identificar relações significativas entre as medidas analíticas e as pontuações sensoriais e entre os parâmetros físico-químicos da água e as medidas analíticas da geosmina. As análises dos dados obtidos foram feitas utilizando-se o programa estatístico XLSTAT 2014 (ADDINSOLFT, 2014).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Ao comparar as médias totais das concentrações de geosmina obtidas nos dois tratamentos (savana e floresta) através do teste t de Student para grupos independentes com variâncias diferentes, observou-se que houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ). As pisciculturas localizadas em áreas de savana apresentaram as maiores médias (1,55 e 1,13 mg/L) enquanto as localizadas em áreas de floresta apresentaram as menores (1,10 e 0,85 mg/L).

Os resultados indicam que provavelmente a diferença na composição dos solos dos dois ecossistemas gerou resposta sobre as cianobactérias e actinomicetos produtores de geosmina. Segundo Andreote (2013) os solos das áreas de florestas são ricos em matéria orgânica, mas tendem a ser pobres em nitrogênio. O aumento da concentração de nitrogênio e fósforo desempenha um papel importante na formação das florações porque são elementos que compõem diversos componentes celulares (MOLICA; AZEVEDO, 2009), explicando assim a razão de ter encontrado as menores médias da concentração de geosmina nas áreas de florestas.

Portanto, o trabalho sugere que, pesquisas futuras sejam feitas para o estudo detalhado dos prováveis fatores ou elementos que estão presentes nos ecossistemas e diferem na concentração da geosmina.

### 4.1 CONCENTRAÇÕES DA GEOSMINA NA CARNE DO PEIXE

Todas as amostras analisadas exibiram a presença do composto GEO, sendo encontradas concentrações relativamente altas (Tabela 1) em relação a estudos similares com outras espécies de peixe, uma vez que não foram encontrados na literatura consultada outros trabalhos de quantificação da geosmina no tambaqui. Galvão (2011) estudou as condições toxicológicas da água de cultivo e da tilápia (*Oreochromis niloticus*) em fazenda aquícola no estado de São Paulo e obteve como resultados níveis abaixo de 35 ng/L de GEO. Ruan et al. (2013) analisaram os compostos causadores do *off-flavor* em filés de salmão no Canadá e encontraram concentração média de 1 ng/L de GEO.

Tabela 1 – Concentrações de geosmina na carne do tambaqui determinadas por CLAE

PISCICULTURAS	CONCENTRAÇÃO GEOSMINA (mg/L)	CONCENTRAÇÃO GEOSMINA (µg/g)
1 Savana	1,8873	0,062
	1,9497	0,064
	0,8065	0,026
2 Floresta	1,0603	0,035
	1,0609	0,035
	1,1708	0,038
3 Floresta	0,7819	0,025
	0,8972	0,029
	0,8829	0,029
4 Savana	0,9311	0,030
	0,8268	0,026
	1,6337	0,053

Provavelmente as altas concentrações de GEO encontradas neste trabalho estão relacionadas à elevada porcentagem de gordura existente no tambaqui. Segundo Matthiensen, Galvão e Pinto (2012) a concentração de geosmina nos tecidos que contém lipídeos é maior do que a da água que circunda o peixe, ou seja, sob condições ambientais similares, peixes “gordos” terão maior concentração de geosmina que peixes “magros”.

Outra possível explicação para justificar as altas concentrações determinadas na pesquisa, é o fato de que quase todas as pisciculturas analisadas não adotavam práticas de manejo em relação à qualidade da água, que foi observada por meio da avaliação negativa obtida através dos parâmetros. A ausência de bom manejo refletiu diretamente na proliferação de organismos produtores de geosmina. Segundo Macedo e Sipaúba-Tavares (2010), em tanques de criação de peixes, a proliferação excessiva do fitoplâncton pode causar o aparecimento de produtos do metabolismo secundário de cianobactérias, que causam sabor desagradável no pescado e esse acontecimento pode ser evitado através da aplicação das práticas de manejo.

#### 4.2 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA

Os parâmetros de qualidade de água dos tanques das pisciculturas avaliadas foram representados pelas médias e desvios padrão (Tabela 2). A amplitude de alteração dos parâmetros pH e temperatura foi pequena entre as pisciculturas, sendo que a transparência e a

dureza foram as que mais variaram. Baseado nos valores indicados por Arana (2004), a maioria dos parâmetros físicos e químicos da água não obtiveram níveis adequados ao cultivo de peixes, apenas o pH e a temperatura mantiveram níveis apropriados em todas as pisciculturas estudadas.

A dificuldade para obtenção de boa avaliação da qualidade da água dos tanques estudados pode ser explicado principalmente pela ausência de boas práticas de manejo nas criações. Segundo Macedo e Sipaúba-Tavares (2010), a qualidade da água nos sistemas de criação de peixes está diretamente relacionada a diversos fatores, como a água de origem, espécies cultivadas, quantidade e composição do alimento exógeno e em especial ao manejo (calagem, adubação, limpeza).

Segundo Arana (2004), para obter sucesso na criação de peixes de clima tropical é necessário uma faixa térmica que vai de 25 a 35° C, uma vez que os peixes são animais pecilotermos, sua atividade e sobrevivência estão permanentemente sujeitos à temperatura do ambiente. De acordo com Imbiriba, Lourenço Júnior e Carvalho (2000) o pH ótimo para o crescimento do tambaqui encontra-se na faixa de 6,5 a 7,5, portanto todas as pisciculturas analisadas estavam com pH ideal.

Apesar de todos os piscicultores terem relatado realizarem adubação prévia dos tanques, apenas as pisciculturas 2 e 4 apresentaram níveis adequados de transparência para todos os tanques. O tanque nº 2 da piscicultura 3 apresentou a maior medida da transparência ( $98,333 \pm 0,577$  cm), indicando que sua produtividade primária é muito baixa. Para os tanques nº2 e nº3 da piscicultura 1, foi verificada os menores valores de transparência ( $10,667 \pm 1,155$  cm e  $15,333 \pm 0,577$  respectivamente), observou-se então, que estes tanques foram construídos sobre um solo muito argiloso o que gerou uma turbidez argilosa devido aos materiais em suspensão advindos dos elementos deste tipo de solo.

Os teores de oxigênio dissolvido (OD) estiveram entre 0,3 mg/L e 5,6 mg/L. Os valores mais elevados ocorreram nas horas mais próximas às 12 horas e os menores sempre nas primeiras horas de medição que iniciavam às 8 horas e isso pode ser explicado pela atividade da fotossíntese, que em dias claros a taxa fotossintética aumenta, elevando a demanda de oxigênio a noite e acarretando num déficit desse gás pela manhã. Graef et al. (1987) observaram que valores de oxigênio de 0,1 mg/L a 2,6 mg/L prejudicam o crescimento de jaraquis e matrinhãs, porém o tambaqui é um peixe muito resistente e pouco exigente em relação às concentrações de OD na água, isto explica a sua sobrevivência em concentrações tão baixas.

As médias da condutividade elétrica foram de 11  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 80,333  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , apontando uma grande variação na concentração de íons presente na água dos tanques, porém, os valores máximos permaneceram abaixo de 100  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , o que é muito importante segundo a CETESB (1988) uma vez que níveis superiores a este indicam ambientes altamente impactados.

Segundo Imbiriba, Lourenço Júnior e Carvalho (2000) a concentração da forma tóxica da amônia aumenta com a elevação do pH e da temperatura, de modo que, para os peixes valores acima de 0,01 mg/L afeta o crescimento e a resistência a doenças. Verifica-se que todos os tanques, independente da piscicultura, apresentam níveis tóxicos de amônia, destacando-se o tanque nº 3 da piscicultura 3, que a média foi de 2,877 mg/L. Este fato também ocorreu no trabalho de Stachiw et al. (2013), onde explicaram que a alta concentração de amônia tóxica estava relacionada ao fato de os tanques estarem em um período de quase despesca. Neste período, a concentração da amônia tende a ser elevada.

Os valores de nitrito e nitrato permaneceram dentro dos permitidos na Resolução CONAMA nº 357 de 2005 ( $\leq 1$  mg/L para nitrito e  $\leq 10$  mg/L para nitrato). Altas concentrações de nitrito pode levar o peixe à morte, pois este nutriente liga-se a molécula da hemoglobina formando um composto chamado metahemoglobina, que não é capaz de transportar o oxigênio, então o animal morre por anóxia. Estudos recentes mostram que além deste efeito, o nitrito prejudica as células hepáticas (hepatócito), dificultando a digestão (LAZZARI, 2010).

O fosfato total variou de 0,040 a 10,396 mg/L entre as pisciculturas. Na piscicultura 1 foi observado acúmulo de fosfato com passagem da água de um tanque para outro, ou seja, como o tanque 3 era o último de recebia a água vinda dos outros tanques seu valor de fosfato foi maior (10,396 $\pm$ 0,708 mg/L). De acordo com a Resolução CONAMA 357/2005, águas destinadas à aquicultura podem ser classificadas como de classe II e o nível máximo de fósforo total para ambientes lênticos é de 30,0  $\mu\text{g}/\text{L}$ . Segundo Piveli e Kato (2005) juntamente com o Nitrogênio, o Fósforo é um elemento indispensável à formação de proteínas de animais e vegetais. O fitoplâncton absorve intensamente o Fósforo apresentado em forma de Fosfato que se encontra dissolvido na água.

A alcalinidade observada esteve entre 5,333 mg/L e 28,667 mg/L. De acordo com Sioli (1975), o pH nas regiões de terra firme da Amazônia é muito baixo, o que indica déficit na concentração de substâncias de tamponamento, como bicarbonatos e carbonatos.

Os valores de dureza encontrados em todas as pisciculturas foram superiores aos de alcalinidade. Arana (2004) cita que, nas águas onde a dureza supera a alcalinidade, parte dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  podem estar associados a sulfatos, nitratos, cloretos e silicatos.

Tabela 2 – Parâmetros de qualidade de água das pisciculturas avaliadas (média ± desvio padrão)

Pisc.	Tanques	Parâmetros										
		pH	Temp. (°C)	Transp. (cm)	OD (mg/L)	Cond. (µS/cm)	Amônia (mg/L)	Nitrito (mg/L)	Nitrato (mg/L)	Fosfato total (mg/L)	Dur. (mg/L de CaCO <sub>3</sub> )	Alc. (mg/L de CaCO <sub>3</sub> )
1	1	7,567±0,058	26,803±0,195	26,333±0,577	4,473±0,064	24,667±0,577	0,790±0,072	0,048±0,002	0,516±0,084	3,573±0,187	54,667±8,327	18,333±0,577
	2	7,133±0,115	26,663±0,257	10,667±1,155	3,900±0,100	26,333±0,577	0,648±0,060	0,053±0,005	0,369±0,071	5,959±0,363	78,667±9,899	12,667±1,155
1	3	6,467±0,153	26,200±0,200	15,333±0,577	4,667±0,101	26,333±0,018	0,605±0,018	0,043±0,006	0,097±0,078	10,396±0,708	78±6,907	11±1,000
	1	7,100±0,100	29,197±0,300	50,667±0,577	5,647±0,140	52,333±0,577	0,446±0,065	0,009±0,003	0,154±0,020	0,547±0,181	34,023±5,297	17,067±1,361
2	2	7,373±0,038	28,500±0,458	34,667±0,577	3,430±0,149	57,333±0,577	0,698±0,073	0,023±0,004	0,052±0,020	1,642±0,160	48,707±3,055	19±0,346
	3	7,843±0,049	28,260±0,295	33,333±0,577	3,410±0,044	53,667±0,577	0,653±0,014	0,026±0,001	0,169±0,064	1,299±0,135	46,033±7,217	17,267±0,702
3	1	7,573±0,070	26,650±0,070	42,333±0,577	0,833±0,078	11±1,000	1,146±0,025	0,004±0,001	1,266±0,006	0,136±0,020	49,373±4,163	5,333±1,155
	2	6,700±0,236	27,623±0,263	98,333±0,577	1,537±0,081	46,333±1,528	0,785±0,143	0,011±0,001	1,300±0,013	0,040±0,005	26,017±5,295	15,333±1,155
3	3	7,633±0,174	29,707±0,189	24,333±1,528	2,350±0,202	80,333±1,528	2,877±0,730	0,055±0,002	0,710±0,045	0,062±0,037	23,350±3,061	16±0,000
	1	6,733±0,058	30,627±0,097	64±2,000	0,393±0,025	63,667±1,528	1,204±0,224	0,007±0,000	1,070±0,120	1,196±0,086	68±2,000	28,667±1,155
4	2	6,347±0,137	30,160±0,066	38±1,000	1,750±0,092	52±1,000	1,133±0,161	0,007±0,002	1,695±1,154	0,624±0,087	46±5,292	22±0,000
	3	7,813±0,091	31,453±0,122	41,333±1,528	3,797±0,021	36,333±0,577	0,465±0,098	0,002±0,002	1,151±0,345	0,227±0,039	43,333±5,774	14,667±1,155

### 4.3 CORRELAÇÕES DAS MEDIDAS ANALÍTICAS DE GEOSMINA

Foram realizadas correlações de Pearson ( $r$ ) para identificar as relações significativas de duas situações, uma entre as medidas analíticas e as pontuações sensoriais e outra entre os parâmetros físico-químicos da água e as medidas analíticas da geosmina.

As maiores correlações entre os parâmetros físico-químicos da água e as concentrações de geosmina obtidas através da CLAE foram: o oxigênio dissolvido ( $r= 0,58$ ;  $p<0,001$ ), o pH ( $r= 0,41$ ;  $p<0,001$ ) e o nitrito ( $r= 0,38$ ;  $p<0,001$ ), embora as correlações não apresentaram alto grau de dependência entre as variáveis, elas foram estatisticamente significantes. Analisando a correlação entre o parâmetro oxigênio dissolvido e as medidas analíticas da geosmina, observa-se que a mesma é significativa devido as cianobactérias apresentarem uma natureza tipicamente fotossintética aeróbica, ou seja, elas produzem e consomem oxigênio, sendo então este elemento essencial para sua sobrevivência.

Apesar de baixa, houve correlação estatisticamente significativa entre o pH e a concentração de geosmina que pode ser explicada pelo fato de todas as pisciculturas apresentaram valores de pH ótimos para o crescimento das cianobactérias que, segundo Azevedo (1998), a maioria das espécies apresenta melhor crescimento em águas neutro alcalinas (pH 6 a 9).

Assim como no atual estudo, a baixa correlação encontrada entre nitrito e a medida analítica da geosmina também ocorreu no trabalho de Schrader, Davidson e Summerfelt (2013), eles testaram a resposta da geosmina na carne da truta arco-íris sobre diferentes níveis de nitrogênio que foram adicionados na água. Os resultados indicaram que não houve diferença significativa nas concentrações de geosmina em relação à adição de diferentes níveis de nitrogênio. Por isso, concluíram que oscilações nos níveis de N que podem ocorrer nos animais aquáticos criados em sistemas de recirculação de aquicultura não geram impactos adversos ou benéficos sobre os problemas relacionados ao sabor do peixe.

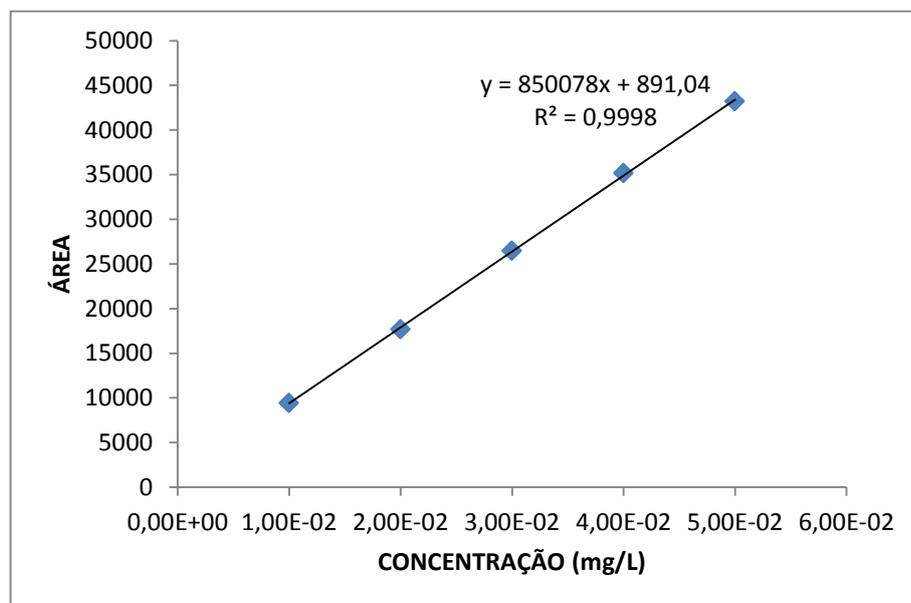
Baixos coeficientes de correlação (de  $r= -0,001$  a  $r= -0,363$ ) foram encontrados entre o painel sensorial e as medidas analíticas da geosmina. A sensibilidade humana para a geosmina pode variar muito, mas, segundo Buttery et al. (1976), se aceita que o limiar de detecção seja em torno de 6  $\mu\text{g}/\text{kg}$  no peixe. Grimm, Lloyd e Zimba (2004) analisaram a similaridade entre as medidas da geosmina do bagre do canal obtidas por cromatografia gasosa com as medidas de percepção obtidas por painel sensorial treinado e obtiveram como resultado alta correlação ( $r= 0,9$ ). Este estudo mostra a importância e necessidade de ter profissionais devidamente

treinados para compor o painel sensorial, uma vez que a maior vantagem deste tipo de análise sobre a instrumental é o baixo custo.

#### 4.4 VALIDAÇÃO PARCIAL DO MÉTODO ANALÍTICO

A determinação da linearidade e intervalo foi executada em triplicata, através da elaboração de curvas de calibração. Segundo a RDC 899/2003 da ANVISA, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação ( $r$ ) da curva de calibração é de 0,99, sendo obtido um valor médio de 0,9998 no atual estudo, revelando uma correlação fortíssima. Através da curva de calibração obtida (Figura 15) foi possível observar que a regressão linear foi significativa e não demonstrou desvio da linearidade na faixa avaliada (0,01 a 0,05 mg/L).

Figura 15 – Curva de calibração da geosmina por CLAE



A exatidão foi demonstrada por meio do percentual de recuperação o método. A média do percentual recuperado foi de 98% para amostras fortificadas com 30  $\mu$ L e 87% para amostras fortificadas com 50  $\mu$ L com coeficiente de variação (CV) de 8,7%, mostrando que o ensaio é exato e preciso para a finalidade determinada. Neste trabalho, seguiu-se a recomendação de validação de métodos cromatográficos, na qual as recuperações devem estar entre 70 e 120% (RIBANI et al., 2004) e para precisão consideram-se aceitáveis coeficientes de variação de até 20% (BRITO et al., 2003).

Ruan et al. (2013) validaram o método analítico para monitorar os compostos causadores do *off-flavor* no filé do salmão e obtiveram boa linearidade com coeficiente de correlação de 0,9996 para geosmina, porém a recuperação foi de apenas 23% a 30%. Grimm et al. (2000) determinaram os compostos voláteis e semivoláteis do tecido do bagre e obtiveram recuperação de 57% para a geosmina, ambos os trabalhos citados encontraram valores inferiores a recuperação do atual trabalho.

Através da medida da linearidade, com os dados obtidos por área, foi calculado o limite de detecção e quantificação por meio das Equações 1 e 2, respectivamente, tendo sido obtidos os valores 0,0026 mg/mL para o limite de detecção e de 0,0086 mg/mL para o limite de quantificação. Esses resultados demonstram que o método proposto é suficientemente sensível para detectar e quantificar a geosmina.

$$LD = \frac{3,33 \text{ Desv. Padrão Branco}}{\text{Coef. Ang. Reta}} \quad (\text{Equação 1})$$

$$LD = \frac{10 \text{ Desv. Padrão Branco}}{\text{Coef. Ang. Reta}} \quad (\text{Equação 2})$$

Lloyd e Grimm (1999) combinaram destilação por micro-ondas (MD) com micro extração e fase sólida (SPME) com objetivo de desenvolver um método rápido para a quantificação da concentração dos compostos que causam aromas desagradáveis em bagres, o qual encontraram limite de detecção de 0,01 µg/Kg e limite de quantificação igual a 0,1 µg/Kg. Bai et al. (2013) também quantificaram com precisão os compostos causadores do *off-flavor* em músculo de peixes vivos através de dois métodos de calibração cinéticos e foi encontrado um limite de detecção de 0,12 ng/g para geosmina. Porém nenhum trabalho para análise da GEO utilizando a CLAE foi encontrado, mostrando a importância do presente estudo para os pesquisadores da área.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados do estudo, pode-se concluir que:

- A maioria dos parâmetros físicos e químicos da água não obtiveram níveis adequados ao cultivo de peixes, apenas o pH e a temperatura mantiveram níveis apropriados em todas as pisciculturas estudadas, evidenciando a importância de um manejo adequado, uma vez que a maioria das pisciculturas desenvolviam suas atividades de forma rústica e não se atentavam as condições básicas de manejo da criação;

- As maiores correlações entre os parâmetros físico-químicos da água e as concentrações de geosmina obtidas através da CLAE foram: o oxigênio dissolvido, o pH e o nitrito, embora as correlações não apresentaram um alto grau de dependência entre as variáveis, elas foram estatisticamente significantes, demonstrando a importância do controle desses parâmetros para reduzir a concentração da geosmina na água e conseqüentemente no peixe;

- Existem diferenças entre as médias da concentração da geosmina, em diferentes tipos de ecossistemas avaliados, indicando a existência de um ou mais fatores que diferenciam os dois ecossistemas em relação à produção do composto geosmina. Portanto, estudos mais detalhados são necessários para confirmar a existência destes prováveis fatores;

- A validação obteve excelente linearidade, exatidão e precisão, sendo que os ensaios de validação utilizados estão de acordo com as recomendações internacionais assim como a resolução 899/2003, vigente no país;

- Baixos coeficientes de correlação foram encontrados entre o painel sensorial e as medidas analíticas da geosmina, mostrando a importância e necessidade de se ter profissionais treinados para compor o painel sensorial nas pesquisas.

## REFERÊNCIAS

- ADDINSOLFT. **XLSTAT for Windows**. Disponível em: <<http://www.xlstat.com/>>. Acesso em: 10 mai. 2014.
- ALBANEZ, J. R.; MATOS, A. T. de. Aquicultura. In: Macedo, J. A. B. de. **Águas e Águas**. Minas Gerais: CRQ-MG, 2007. p. 1097-1146.
- ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L. Adaptação de peixes aos ambientes de criação. In: VAL, A. L.; HONCZARYNK, A. INPA (Eds.). **Criando peixes na Amazônia**. Manaus: INPA, 1995. p. 45-59.
- ANASTASSIADES, M. et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-417. 2003.
- ANDRADE, D. R.; YASUI, G. S. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Animal**, Belo Horizonte, v. 27, n. 2, p. 166-172, abr./jun. 2003.
- ANDREOTE, A. P. D. **Filosfera da Mata Atlântica: isolamento e sistemática de cianobactérias, bioprospecção e caracterização da comunidade diazotrófica**. 2013. 151 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29/05/2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**.
- APHA - American Public Health Association. **Standard methods for examination of water and wastewater**. USA: 1998.
- ARANA, L. V. **Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões**. 2. ed. rev. e amp. Florianópolis: Ed. da UFSC, 2004. 231 p.
- ARAÚJO, L. C.; GOULDING, M. **Os frutos do tabaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Brasília: MCT-CNPq, 1998. 186 p.

ATWOOD, H. L.; FONTENOT, Q. C.; TOMASSO, J. R. Toxicity of nitrite to Nile tilapia: Effect of fish size and environmental chloride. **North Am. J. Aquacult.** [S. l.], v. 63, n. 1, p. 49-51, 2001.

AZEVEDO, S. M. F. O. Toxinas de Cianobactérias : Causas e conseqüências para a Saúde Pública. **Rev. Virt. de Medicina**, [S. l.], v. 1, n. 3, p. 1-16, jul./ago./set. 1998.

BACCARIN, A. E.; CAMARGO, A. F. M. Characterization and evaluation of the impact of feed management on the effluents of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 81-90, 2005.

BAI, Z. et al. In Vivo Solid-Phase Microextraction with in Vitro Calibration: Determination of Off-Flavor Components in Live Fish. **Anal. Chem.**, [S. l.], v. 85, p. 2328-2332, 2013.

BARBOSA, A. C. et al. Avaliação da taxa metabólica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e da tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. Eng. Pesca**, Pernambuco, v. 4, n. 2, p. 46-55. 2009.

BARBOSA, R. I. **Assentamentos em Roraima. II. Uma revisão recente de erro de política de desenvolvimento e expansão**. Belém: Mus. Para. Emílio Goeldi, 1993. 20 p. (Boletim Mus. Para. Emílio Goeldi sér. Antropol. ser. 9, n. 2).

BARBOSA, R. I. et al. O "Lavrados" de Roraima: Biodiversidade e Conservação da Amazônia cerrados do Brasil. **Fun. Eco. Com.**, [S. l.], v.1, n. 1, p. 29-41. 2007.

BARBOSA, R. I.; KEIZER, E.; PINTO, F. Ecossistemas terrestres de Roraima: Área e modelagem espacial da Biomassa. In: BARBOSA, R. I.; MELO, V. F. INPA (Eds.). **Roraima: homem, ambiente e ecologia**. Manaus: INPA, 2010. p. 347-368.

BARROS, N. C. C. **Roraima: paisagens e tempo na Amazônia setentrional**. Recife: Editora Universidade Federal de Pernambuco, 1995. 272 p.

BASTOS, L. H. P. et al. Implementação de método analítico para determinação de resíduos de organofosforados em leite por cromatografia a gás com detector fotométrico de chama. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 35, n. 8, p. 1657-1663, 2012.

BIATO, D. O. **Detecção e controle do off-flavor em tilápia do nylo (*Oreochromis niloticus*), por meio de depuração e defumação**. 2005. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BOYD, C. E.; LICHTKOPPLER, F. Water quality management for pond fish culture. **Research and Development Series**, Alabama, n. 22. p. 3-30, abr. 1979.

BRASIL. CONAMA- Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n° 053, de 18 de março de 2005, p. 58-63.

BRITO et al. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, jan./dez. 2003.

BRONDI, S. H. G.; SOUZA, G. B. de; NOGUEIRA, A. R. A. Desenvolvimento e validação do método Quechers na determinação de resíduos de medicamentos veterinários em leite e carne de búfalo. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 36, n. 1, p. 153-158, 2013.

BUTTERY, R. G. et al. Geosmin, a musty off-flavor of dry beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Denmark, v. 24, p. 419-420, 1976.

CEFET-QUÍMICA (Rio de Janeiro) (Org.). **Análise instrumental: Cromatografia Líquida de Alta Resolução**. Disponível em: <[http://www.ifrj.edu.br/webfm\\_send/546.pdf](http://www.ifrj.edu.br/webfm_send/546.pdf)>. Acesso em: 2 nov. 2012.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Brandão C. J.; Botelho M. J. C.; Sato M. I. Z.; Lamparelli L. C., organizadores. **Guia Nacional de Coleta e Preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos**. São Paulo: CETESB; Brasília: ANA; 2011.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Parâmetros Físico-Químicos: Importância Sanitária e Parâmetros de Controle**. São Paulo: CETESB, 1988.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia, um breve ensaio. **Quí. Nova na Escola**, São Paulo, n. 7, p. 21-25, mai. 1998.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.

FERRARI, V. A. et al. Sobrevivência e maturação gonadal do tambaqui *Colossoma macropomum*, CUVIER, 1818, em ambientes protegidos (estufa). **Boletim Técnico do CEPTA**, Pirassununga, v.12, p. 1-11, 1999.

FERREIRA, A. A. A.; SOUSA, L. S.; FERNANDES, N. M. G. Qualidade da água em tanques para a criação de Pirapitinga. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA REDE NORTE E NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 4, 2009, Belém. **Anais...** Belém: FAPESPA, 2009. p. 62-68.

FIGUEIREDO, T. M. P. **Validação de métodos analíticos, determinação do teor de açúcar numa amostra de produto alimentar.** 2012. 104 p. Dissertação (Mestrado em química) – Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.

FILHO, S. S. F.; ALVES, R. Técnicas de avaliação de gosto e odor em águas de abastecimento: método analítico, análise sensorial e percepção dos consumidores. **Eng. Sanit. Ambient.**, Rio de Janeiro, v.11, n. 4, p. 362-370, out./dez. 2006.

FREITAS, A. M. de.; SIRTORI, C.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Avaliação do potencial de processos oxidativos avançados para remediação de águas contaminadas com geosmina e 2-MIB. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 75-78, 2008.

FREITAS, D. D. G. C. et al. The sensory acceptability of a tilapia (*Oreochromis niloticus*) mechanically separated meat-based spread. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 166-173, abr./jun. 2012.

FREITAS, R. S.; DIAS, J. K.; CAVALCANTE, M. R. A. Avaliação da qualidade da água para piscicultura do açude Ayres de Sousa - bacia hidrográfica do Rio Acaraú - Sobral/CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 24, 2007, Belo Horizonte. **Anais...** Fortaleza: UFC, 2007. p. 40-47.

GALVÃO, J. A. **Rastreabilidade da cadeia produtiva do pescado: avaliação de parâmetros ambientais e sua influência na qualidade da matéria-prima destinada à indústria.** 2011. 202 p. Tese (Doutorado em Ciência)- Centro de energia nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

GOMES, L. de C. et al. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 38, n. 2, p. 283-290, fev. 2003.

GOULART, M. D. C.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. **Rev. da FAPAM**, Pará de Minas, ano 2, n. 1, p. 153-164, 2003.

GOULDING, M. Ecology and management of migratory food fishes of the Amazon Basin. In: ALMEIDA, F.; PRINGLE, C. M. (Eds.). **Tropical rainforests, diversity and conservation.** San Francisco: California Academy of Sciences, 1988, p. 71-85.

GRAEF, E.W. et al. Policultivo de Matrinhã (*Brycon* sp.) e Jaraqui (*Semaprochilodus* sp.) em pequenas represas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 16/17, p. 33-42, 1987.

GRIMM, C. C. et al. Using Microwave Distillation-Solid-Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Analyzing Fish Tissue. **Journal of Chromatographic Science**, [S. l.], v. 38, p. 289-296, jul. 2000.

GRIMM, C. C.; LLOYD, S.W.; ZIMBA, P. V. Instrumental versus sensory detection of off-flavors in farm-raised channel catfish. **Aquaculture**, [S. l.], v. 236, p. 309-319, 2004.

HILMY, A. M.; EL-DOMIATY, N. A.; WERSHANA, K. Acute and chronic toxicity of nitrite to *Clarias lazera*. **Comp. Biochem. Physiol.** [S. l.], v. 86, p. 247-253, 1986.

HUANG, G. et al. Clustered Genes Required for the Synthesis of Heterocyst Envelope Polysaccharide in *Anabaena* sp. Strain PCC 7120. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 187, n. 3, p. 1114-1123. 2005.

IMBIRIBA, E. P.; LOURENÇO JÚNIOR, J. de B.; CARVALHO, L. O. D. de M. **Parâmetros ambientais e qualidade da água na piscicultura**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2000. 4 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Recomendações técnicas, n°8).

ISAAC, V. J.; BARTHEM, R. B. **Os recursos pesqueiros da Amazônia Brasileira**. Belém: Mus. Para. Emílio Goeldi, 1995. 23 p. (Boletim Mus. Para. Emílio Goeldi sér. Antropol. v. 11, n. 2).

JOE, W. H. et al. Advanced treatment for taste and odour control in drinking water: case study of a pilot scale plant in Seoul, Korea. **Water Science and Technology**. [S. l.], v. 55, p. 111-116. 2007.

LAMBOOIJ, E. et al. A humane protocol for electro-stunning and killing of Nile tilapia in fresh water. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 275, p. 88-95, 2008.

LANÇAS, F. M. O renascimento das partículas superficialmente porosas (“core shell particles”) em HPLC. **Scientia Chromatographica**, São Carlos, v. 2, n. 2, p. 47-54. 2010.

LAZZARI, R. Pontos críticos de manejo na piscicultura. In: MARTIN, T. N. et al. UTFPR (Eds.). **Sistemas de Produção Agropecuária (Ciências agrárias, animais e florestais)**. Dois Vizinhos: UTFPR, 2010. p. 11-27.

LIMA, C. A. R. M. A.; GOMES, L. C. Criação de tambaqui. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C (Org). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005, p. 175-202.

LIMA, D. V. G. de. **Identificação dos fatores para otimização das práticas de piscicultura: Um estudo de caso**. 2011. 76 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Engenharia de Produção, Universidade da Amazônia, Belém, 2011.

LLOYD, S. W.; GRIMM, C. C. Analysis of 2-Methylisoborneol and Geosmin in Catfish by Microwave Distillation-Solid-Phase Microextraction. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Denmark, v. 47, p. 164-169, 1999.

MACEDO, C. F.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 149-163, nov. 2010.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Quím. Nova**, São Paulo, v.32, n. 1, p. 214-222. 2009.

MATTHIENSEN, A. et al. **Compatibilização de demandas para o uso da água no estado de Roraima: piscicultura**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2009. 24p. (Embrapa Roraima. Documentos).

MATTHIENSEN, A.; GALVÃO, J. A.; PINTO, J. S. da S. *Off-flavour* em peixes cultivados é, ainda, dificuldade para produção nacional. **Visão Agrícola**, Piracicaba, n. 11, USP ESALQ ano 8, p. 49-53, jul./ dez. 2012.

MENDONÇA, P. P. et al. Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Arch. Zootec.**, Rio de Janeiro, v. 58, n. 223, p. 323-331, out. 2009.

MERCANTE, C. T. J. et al. **Limnologia na aquicultura: estudo de caso em pesqueiros**. São Paulo: Apta, 2008. Disponível em: <http://www.pesca.sp.gov.br>. Acesso em: 08 jan. 2013.

MILLAN, R. N. **Dinâmica da qualidade da água em tanques de peixes de sistema pesque-pague: aspectos físico-químicos e plâncton**. 2009. 87p. Dissertação (Mestre em Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

MINISTÉRIO DA AQUICULTURA E DA PESCA – MPA. **Boletim estatístico da pesca e da aquicultura 2010**. Brasília: MPA, 2012a.

MOLICA, R.; AZEVEDO, S. Ecofisiologia de Cianobactérias produtoras de cianotoxinas. **Oecol. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 229-246, 2009.

MOREAU, R. L. M.; SIQUEIRA, M. E. P. B. **Toxicologia Analítica**. Guanabara Koogan: São Paulo, 2008.

NOGRUEIRA, E. da C. et al. Monitoramento da qualidade da água de um viveiro de cultivo de Tolápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 15, 2011, São José dos Campos. **Anais...** Espírito Santo: UNIVAP, 2011. p. 10-14.

OLIVEIRA, F. de C. E. de. **Resfriamento do sêmen de *Colossoma macropomum* em água de coco em pó (ACP-104) associada à crioprotetores- estudo de toxicidade**. 2012. 66p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2012.

OLIVEIRA, L. de. **Manual de qualidade da água para aquicultura**. Florianópolis: ALFAKIT, 1995. Disponível em: <http://www.alfakit.ind.br>. Acesso em: 16 nov. 2012.

OLIVEIRA, R. C. de. O panorama da aquicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. **Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 71-89, fev. 2009.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. **Piscicultura: Fundamentos e técnicas de manejo**. Guaíba: Agropecuária, 1998. 211 p.

PASCHOAL, J. A. R. et al. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Quím. Nova**, São Paulo, v.31, n. 5, p. 1190-1198. 2008.

PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 81-88, 2005.

PÉREZ, D. S.; SORACI, A. L.; TAPIA, M. O. Cianobacterias y cianotoxinas: rol de las microcistinas en la salud humana y animal y su detección en muestras de agua. **Analecta Veterinaria**, Buenos Aires, v. 28, n. 1, p. 48-56, 2008.

PILLAY, T.V.R. **Aquaculture and the environment**. Oxford: Fishing News Books, 1992. 200p.

PIVELI, R.; KATO, M. T. **Qualidade das águas e poluição: aspectos físico-químicos**. São Paulo: Associação Brasileira de Engenharia sanitária e Ambiental, 2005. 285 p.

POERSCH, L. H. et al. Efeito agudo do nitrato sobre alevinos da tainha *Mugil platanus* (Pisces: Mugilidae). **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 247-252, 2007.

PRESTES, O. D. **Método rápido para a determinação simultânea de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários em alimentos de origem animal por LC-MS/MS**. 2011. 130 p. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

PRESTES, O. D. et al. Quechers – um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Quím. Nova**, São Paulo, v.32, n. 6, p. 1620-1634, 2009.

RAMALHO, O. A. C. **O reuso da água: uma solução sustentável para a Amazônia**. 2011. 68 p. Dissertação (Mestrado em Economia) – Programa de Pós-Graduação em Economia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

RIBANI M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quím. Nova**, São Paulo, v.27, p. 771-774. 2004.

RIBEIRO, F. A. de L. et al. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Quím. Nova**, São Paulo, v.31, n. 1, p. 164-171. 2008.

RODRIGUES, S. A. et al. Otimização e validação de método empregando Quechers modificado e LC-ESI-MS/MS para determinação de agrotóxicos em cebola. **Quím. Nova**, São Paulo, v.34, n. 5, p. 780-786, 2011.

ROTTA, M. A. **Processo de estruturação de sistema de mensuração de desempenho numa cadeia de suprimentos: um caso da aquacultura continental**. 2009. 352 p. Tese (Doutorado em Agronegócios) – Programa de Pós-Graduação em Agronegócios, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

RUAN, E. D. et al. Determination of off-flavor compounds, 2-methylisoborneol and geosmin, in salmon fillets using stir bar sorptive extraction–thermal desorption coupled with gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, [S. l.], v. 1321, p. 133-136, 2013.

SANDOVAL JÚNIOR et al. **Manual de criação de peixes em tanques-rede**. Brasília: Codevasf, 2010. 69p. (Codevasf. Cartilha).

SANTOS, G. M dos; SANTOS, A. C. M. dos. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, [S. l.], v.19, n. 54, p. 165-182, 2005.

SCHRADER, K. K.; DAVIDSON, J. W.; SUMMERFELT, S. T. Evaluation of the impact of nitrate-nitrogen levels in recirculating aquaculture systems on concentrations of the off-flavor compounds geosmin and 2-methylisoborneol in water and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquacultural Engineering**, [S. l.], v. 57, p. 126-130. 2013.

SHILO, M.; SARIG, S. Appearance and control of the toxigenic Chrysophyte *Prymnesium parvum*. In: SHILO, M.; SARIG, S. (Eds.). **Fish culture in warm water systems: problems and trends**. Pennsylvania: Franklin Book Company, Elkins Park, 1989. p. 170-172.

SILVA, A. de P.; ALVES, M. C. C. Como iniciar a validação de métodos analíticos. In: ENQUALAB – CONGRESSO E FEIRA DA QUALIDADE EM METROLOGIA, 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo: REMESP, 2006. p. 8-15.

SILVA, J. R. L. da. **Dinâmica de cianobactérias e cianotoxinas em um braço do reservatório da usina hidroelétrica Luiz Eduardo Magalhães e suas implicações para o abastecimento público de Palmas-TO**. 2009. 114 p. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

SILVA, V. K.; FERREIRA, M. W.; LOGATO, P. V. **Qualidade da água na piscicultura**. Lavras: UFLA, 2001. 23 p. (UFLA. Boletim de extensão n. 94).

SIOLI, H. Tropical Rivers as Expressions of Their Terrestrial Environments. **Tropical Research**, Philippines, v. 19, p. 275-287. 1975.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. **Limnologia aplicada à aquicultura**. Boletim Técnico do CAUNESP n.1, Jaboticabal: FUNEP, 1994. 70p.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Limnologia dos sistemas de cultivo. In: VALENTI, W. C. (Org.). **Carcinicultura de Água Doce**. São Paulo: Editora da Funep, 1998. p. 47-75.

SKOOG, D. A.; HOLLER, J.; NIEMAN, T. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

SOUZA, S. M. G. de; MATHIES, V. D.; FIORAVANZO, R. F. Off-flavor por geosmina e 2-metilisoborneol na aquicultura. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 835-846, abr. 2012.

STACHIW, R. et al. Qualidade da água de tanques de piscicultura em Rolim de Moura – RO. **Rev. Bras. De Ciên. da Amazônia**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 22-34, 2013.

SUFRAMA – Superintendência da Zona Franca de Manaus. **Potencialidades Regionais, estudo da viabilidade econômica da piscicultura**. 2003. Disponível em: <[http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj\\_pot\\_regionais/sumario/piscicultura.pdf](http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot_regionais/sumario/piscicultura.pdf)>. Acesso em: 10 de jan. 2013.

THURSTON, R. V.; RUSSO, R. C.; SMITH, C. E. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. **Trans. Am. fish. Soc.**, [S. l.], v. 107, p. 361-368. 1978.

TONHI, E. et al. Fases estacionárias para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em Fase Reversa (CLAE–FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Quím. Nova**, São Paulo, v.25, n. 4, p. 616-623, 2002.

VALBUENA, M. et al. Efecto del peso corporal sobre el consumo de oxígeno en yamú (*Brycon amazonicus*): reporte preliminar. **Rev. Col. Cienc. Pecuaria.**, [S. l.], v. 19, n. 2, p. 175-179, 2006.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 1278-1287, mai. 2009.

VIEGAS, E. M. M. et. al. Métodos de abate e qualidade da carne de peixe . **Arch. Zootec.**, [S.l.], v. 61 (R), p. 41-50, 2012.

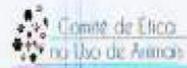
YOO, R. S. et al. **Cyanobacterial (blue-green algae) toxins: a resource guide**. AWWA Research Foundation and American Water Works Association, USA. 1995.

**ANEXOS**

## ANEXO A – Certificado de aprovação do CEUA-UFRR.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA  
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



**CERTIFICADO**

Certificamos que o **Protocolo n° 01/2013**, relativo ao projeto/disciplina intitulado *"Investigação da presença de geosmina no tabaqui (Colossoma macropomum, cuvier, 1818) cultivado em pisciculturas do estado de Roraima"*, que tem como responsável(is) **Henrique Eduardo Bezerra da Silva**, está(ão), de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo *Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFRR)*, tendo sido aprovado na reunião de **15/06/2013**.

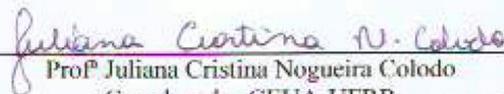
Este certificado expira-se em **15/06/2018**.

**CERTIFICATE**

We hereby certify that the **Protocol n° 001/2013**, related to the project/class entitled *"Investigation of the presence of geosmin in tambaqui (Colossoma macropomum, cuvier, 1818) grown in fish farms of the state of Roraima"*, under the supervisors of **Henrique Eduardo Bezerra da Silva**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the *Ethics Committee on Animal Use (CEUA-UFRR)*, and was approved in **June 15, 2013**.

This certificate expires in **June 15, 2018**.

Boa Vista-RR, 22 de Junho de 2013.

  
Profª Juliana Cristina Nogueira Colodo  
Coordenador CEUA-UFRR

  
COORDENADORA  
CEUA - UFRR

Universidade Federal de Roraima  
Avenida Capitão Ene Garces, 2413, Bairro Aeroporto  
Campus Paricarana - Bloco IV  
www.ufrr.br/ceua      ceua@ufrr.br

ANEXO B – Termo de Consentimento dos participantes do painel sensorial.

### TERMO DE CONSENTIMENTO

Nome da pesquisadora responsável: Flávia Michelle Duarte Alves

Instituição: PRONAT-UFRR/RR

Pesquisa: Investigação da presença de geosmina no tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) cultivado em viveiros do estado de Roraima.

**OBJETIVO:** Investigar a presença ou ausência de geosmina na carne do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) cultivados em pisciculturas situadas em áreas de savana e floresta de Roraima.

**PROCEDIMENTOS:** O painel de provadores será composto por 15 membros voluntários maiores de dezoito anos e não fumantes. As amostras de pescado serão elaboradas em laboratório e serão servidos aos participantes para a análise sensorial, constando da análise degustativa (sabor e odor, após cocção). Os dados serão registrados em folha de avaliação individual, as quais permanecerão sob sigilo.

**DESCONFORTO E POSSÍVEIS RISCOS:** O estudo não apresenta nenhum risco de saúde aos participantes, pois serão tomadas as devidas precauções de higiene no processamento do pescado.

**CONFIDENCIALIDADE:** Nós garantimos que apenas os pesquisadores envolvidos na pesquisa vão ter conhecimento das informações que o(a) senhor(a) registrar, os quais serão usados somente para esta pesquisa. Assim, caso todas as suas dúvidas estejam esclarecidas, pedimos o seu consentimento para incluir o (a) senhor (a) como participante voluntário da pesquisa. Qualquer dúvida entre em contato com:

Flávia Duarte.

Tel: (95) 99625702

.....

### AUTORIZAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Eu, \_\_\_\_\_, concordo em participar da pesquisa “Investigação da presença de geosmina no tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) cultivado em viveiros do estado de roraima.”

Boa Vista, \_\_\_\_\_ de Maio de 2014.

Assinatura da(o) participante

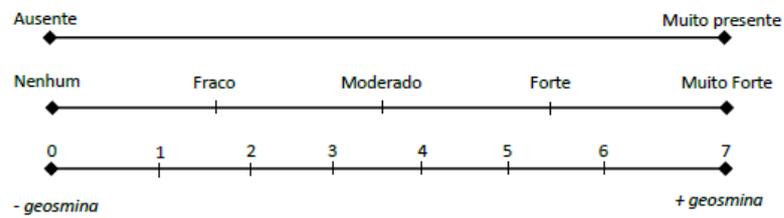
ANEXO C – Ficha individual usada pelo painel sensorial para avaliar a intensidade do sabor ou odor de barro.

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

Amostra: \_\_\_\_\_

Avalie as amostras de peixe por meio de cheiradas rápidas, e atribua uma nota (faça um círculo no número abaixo) de acordo com a intensidade do cheiro.



Agora avalie as amostras de peixe por meio de provadas rápidas, e atribua uma nota (faça um círculo no número abaixo) de acordo com a intensidade do sabor.

