



**FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
E AGRÍCOLA**

**Parametros de Avaliação da Maturação  
de Sardinha (*Sardinella Brasiliensis. S.*) no  
Processo de Anchovagem**

**Luiz Henrique Beirão**  
Farmacêutico - Bioquímico

**ORIENTADOR:**  
Prof. Dr. **Ottílio Guernelli**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e  
Agrícola da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção  
Título de "MESTRE" em Tecnologia de Alimentos.

B397p

2809/BC

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

## ÍNDICE

	Pag
Resumo.....	VI
Summary.....	VIII
1. Introdução.....	1
2. Revisão da Literatura.....	4
2.1. Sardinha.....	4
Distribuição Geográfica.....	5
Disponibilidade de Matéria Prima.....	5
2.2. Semi-conservas do tipo anchovado.....	8
2.3. Considerações bioquímicas sobre a maturação do pescado tratado pelo sal.....	10
2.3.1. Mecanismo da salga.....	10
Fatores que afetam a difusão do sal no músculo.....	12
2.3.3. Alterações enzimáticas e micro-bioló gicas.....	17
2.3.3. Alterações dos produtos anchovados..	23
3. Materiais e Métodos.....	26
3.1. Materiais.....	26
3.1.1. Condições e origem da matéria prima. Exame físico do pescado.....	26

3.1.2. Aditivos .....	28
3.2. Métodos .....	29
3.2.1. Tecnologia de anchovagem .....	29
3.2.2. Análises químicas .....	32
3.2.3. Análises microbiológicas .....	40
3.2.4. Análises sensoriais .....	40
3.2.4.1. Inspeção visual das salmouras do peixe,.....	40
3.2.4.2. Provas de aceitabilidade ...	41
4. Resultados .....	44
4.1. Avaliação da qualidade da matéria prima ....	44
4.2. Composição centesimal da matéria prima .....	44
4.3. Rendimento do processo completo de anchovagem .....	44
4.4. Estudo da penetração do sal e da variação da composição química .....	44
4.5. Alterações dos lipídios .....	45
4.6. Alterações das proteínas e mudanças do pH ..	46
4.7. Mudanças das contagens microbianas .....	48
4.8. Avaliação sensorial .....	49
5. Discussão .....	75
6. Conclusão .....	85
7. Bibliografia .....	91
Agradecimentos .....	101

## ÍNDICE DE FIGURAS, QUADROS E ANEXOS

	Pag.
Figura nº 1 - Área de ocorrência da sardinha na costa brasileira.....	6
Figura nº 2 - Desembarque total anual da pesca de sardinha por Estado .....	7
Quadro nº 1 - Fluxograma do Processo de Anchovagem	31
Quadro nº 2 - Modelo de ficha usada na análise sensorial .....	43
Quadro nº 3 - Composição centesimal da <i>Sardinella brasiliensis</i> .....	50
Quadro nº 4 - Rendimento do processo completo de anchovagem .....	50
Figura nº 3 - Variação do cloreto de sódio durante a maturação de sardinha anchovada ..	51
Figura nº 4 - Variação da umidade durante a maturação de sardinha anchovada .....	52
Figura nº 5 - Variação das proteínas totais durante a maturação de sardinha anchovada	53
Figura nº 6 - Variação do teor de cinza durante a maturação de sardinha anchovada ....	54
Figura nº 7 - Variação do teor de gordura durante a maturação de sardinha anchovada .	55
Quadro nº 5 - Variação dos lipídios totais duran-	

	te a maturação de sardinha anchovada	56
Figura nº 8	- Variação da percentagem de ácidos graxos livres durante a maturação de sardinha anchovada .....	57
Figura nº 9	- Variação do Índice de peróxido durante a maturação de sardinha anchovada	58
Figura nº 10	- Variação do Índice de ácido 2-tiobarbitúrico durante a maturação de sardinha anchovada .....	59
Figura nº 11	- Variação das proteínas solúveis em NaCl 0,6 N durante a maturação de sardinha anchovada .....	60
Figura nº 12	- Variação do nitrogênio não proteico durante a maturação de sardinha anchovada .....	61
Figura nº 13	- Variação do teor de tirosina durante a maturação de sardinha anchovada ..	62
Figura nº 14	- Curva padrão de tirosina .....	63
Figura nº 15	- Variação do teor de trimetilamina durante a maturação de sardinha anchovada .....	64
Figura nº 16	- Curva padrão de trimetilamina.....	65
Figura nº 17	- Variação das bases nitrogenadas voláteis durante a maturação de sardinha anchovada .....	66
Figura nº 18	- Variação do pH durante a maturação	

de sardinha anchovada .....	67
Quadros nºs 6 e 7 - Variação do número de microorganismos durante a maturação de sardinha anchovada .....	68
Quadro nº 8 - Análise de variância referentes ao aspecto geral da sardinha submetida ao processo de anchovagem .....	70
Quadro nº 9 - Análise de variância referente ao aspecto cor da sardinha submetida ao processo de anchovagem .....	70
Quadro nº 10 - Análise de variância referente ao aspecto textura da sardinha submetida ao processo de anchovagem .....	71
Quadro nº 11 - Análise de variância referente ao aspecto sabor .....	72
Quadro nº 12 - Análise de variância referente ao aspecto odor .....	73
Anexo nº 1 - Sistemas para a avaliação das Características Organolépticas do Pescado Fresco .....	87

## Resumo

Foram feitas quatro preparações de sardinha (*Sardinella brasiliensis*), anchovada, de acordo com a técnica empregada nos Países Mediterrâneos, para a anchova verdadeira.

No decorrer do processo, foram avaliados diversos parâmetros químicos para se verificar a utilidade desses testes como critérios objetivos da evolução da maturação do pescado. Paralelamente, análises sensoriais foram realizadas por uma equipe de provadores familiarizados com este tipo de produto.

Os resultados mostram que o pescado processado quando inteiro maturou mais rápido do que as preparações evisceradas, e, entre estas, às que foram aplicadas enzimas proteolíticas, a maturação foi mais rápida do que o lote apenas eviscerado. As quatro preparações de pescado atingiram o estado típico de produto anchovado após 24 semanas de maturação.

De acordo com os resultados a determinação da percentagem de proteínas solúveis em cloreto de sódio 0,6 N e a taxa de nitrogênio não-proteico parecem ser os testes de maior potencial para uso como indicadores de maturação.

Os teores de trimetilamina mantiveram-se estáveis durante todo o processo, o mesmo ocorrendo com a contagem de microorganismos mesófilos, psicrófilos e halófilos.

As determinações dos índices de peróxido e de ácido -

tiobarbitúrico, durante todo o curso do processo de maturação, mostraram que houve alterações de pouca importância - quanto à oxidação dos lipídios.

Os ácidos graxos livres e o nitrogênio volátil apresentaram-se em aumento contínuo durante todo o processo de maturação, porém, dado que essas alterações parecem não estar ligadas aos processos deteriorativos, pode-se admitir que são resultantes de efeitos secundários da degradação de proteínas e de lipídios característicos do processo de maturação.

## Summary

Four stocks of sardines (*Sardinella brasiliensis*) were ripened following a process used in the Mediterranean countries to prepare anchovies.

During the whole process, there were determined several chemical parameters to verify the usefulness of these tests as an objective criteria for ripening. At the same time, the samples were submitted to sensory evaluation by a tasting panel of familiarized with this type of product.

The results showed that the whole sardines ripened more rapidly than the eviscerated ones. Among these, two lots that were treated with proteolytic enzymes ripened more rapidly than the untreated ones. The four preparations attained the typical flavor, texture and color of a ripe product after 24 weeks.

According to the results, of chemical analysis the determination of the solubility of the protein and the values of non protein nitrogen seem to be the best indicators of the changes during ripening.

The trimethylamine value was not increased through the whole process and a similar observation was made for the agar plate count of mesophillic, psychophillic and halophillic bacteria.

The determination of the peroxide value and thiobarbituric acid test showed that detrimental changes of the lipid fraction were of minor importance.

The free fatty acid content and the volatile Nitrogen increased continuously with the progress of ripening. However as the general sanitary condition was satisfactory, it was concluded that such increases were the normal result of the ripening process.

## 1. Introdução

A sardinha (*Sardinella brasiliensis*) é o recurso pesqueiro em exploração de maior expressão econômica, para o Estado de Santa Catarina.

Em épocas consideradas de "safra", nem a indústria catarinense nem o mercado consumidor possuem capacidade de absorver o volume de captura, destinando o pescado a produtos menos nobres como a farinha para consumo animal. A fim de evitar tais desperdícios, torna-se necessário buscar outras alternativas de processamento, que sejam simples e que contribuam para reduzir os custos dos produtos principais, como são a sardinha salgada e enlatada.

Nos países europeus, principalmente os nórdicos, os peixes com características similares à sardinha são curados com vinagre, defumados ou anchovados, redundando em uma atividade altamente lucrativa. Dentre esses produtos, os anchovados tem um mercado de consumo seguro no Brasil, por sua aceitabilidade generalizada em diversos estratos da população. São componentes obrigatórios de certas especialidades para coquetéis e massas alimentícias ao estilo italiano. Anchovados feitos com biqueirão (*Engraulis encrasiolus*), são importados de Portugal e Espanha. Entretanto, algumas empresas brasileiras tem começado a introduzir no mercado produtos similares e-laborados de sardinha, com aceitação satisfatória. A

elaboração de anchovados é bastante empírica, resultando em produtos de qualidade extremamente variável; nota-se mesmo, em alguns casos, produtos apenas salgados, sem nenhuma característica própria de produto amadurecido.

A elaboração de anchovado requer um mínimo de equipamentos e instalações, podendo ser programada como alternativa de produção das indústrias pesqueiras instaladas, o que permitiria maior ocupação do pessoal empregado. Adviriam assim, vantagens sociais e econômicas desejáveis, pois grande número de pessoas vivem em função da pesca. Promover-se-ia uma diversificação do uso da sardinha e uma diminuição das importações de produtos comestíveis.

Os anchovados autênticos são feitos de peixes engraulídeos (*Engraulis encrasicolus*, *Engraulis ringens*, *Engraulis mordax*), mas, podem também ser obtidos da sardinha - (*Sardinella brasiliensis*), já que esta contém todos os componentes biológicos necessários ao desenvolvimento do aroma, do sabor, da cor e da textura próprios dos anchovados.

Na anchovagem intervêm uma série de fatores externos e outros intrínsecos, como o tipo de pré-processamento do peixe, a temperatura do ambiente, a composição do sal, a população de microorganismos halofílicos, a composição química dos músculos (teor de gordura, teor de mioglobina), a época da captura e outros fatores cuja inter-relação resulta em uma degradação controlada das proteínas e dos lipídios, degradação essa, que é em essência, o significado da maturação.

Na presente pesquisa, preparou-se sardinha anchovada de quatro maneiras partindo da sardinha não eviscerada, eviscerada apenas e eviscerada com adição de papaína e de bromelina. A maturação foi acompanhada durante seis meses, através de testes físicos e químicos a fim de se poder relacionar as mudanças dessas características com as organoléticas.

Pretende-se, dessa maneira, determinar quais os parâmetros de maior valor no processo: teor de proteína solúvel, tirosina livre, nitrogênio não-proteico, ácidos graxos livres, índice de peróxidos e outros testes menos críticos, - que avaliam compostos que devem estar presentes nos produtos considerados no seu ponto ótimo de maturação.

## 2. Revisão da Literatura

### 2.1. Sardinha (*Sardinella brasiliensis*)

Peixe da família dos clupeídeos, com características migratórias, de hábitos alimentares plantófagos.

RIJAVEC et alii (50) trabalhando com 34.465 espécimes capturados na região-centro sul do Brasil registra as seguintes informações:

- O intervalo de comprimento para todas as espécimes medidas foi de 13 a 26,5 centímetros;

- Em geral as fêmeas se apresentam maiores que os machos.

- Os cardumes se agrupam de acordo com a idade;

- Na desova, a atividade gonadal tem início em outubro e o pico da desova é alcançado em dezembro; além deste pico de desova, outro, secundário ocorre em fevereiro.

- A fecundidade média por fêmea é de 33.740 óvulos.

- A desova ocorre em período noturno, entre 20 e 24 horas.

- SANTOS & FRATZEN (52) verificaram que a idade máxima da sardinha do Rio de Janeiro seria de 8 anos e a idade máxima da sardinha de Santos seria de 6 anos.

- Migra tanto no sentido norte-sul como sul-norte.

## Distribuição Geográfica

A espécie é capturada desde o Estado do Rio de Janeiro (Cabo Frio) até Santa Catarina (Cabo Santa Marta), a uma profundidade máxima de operação ao redor de 70 m, o que significa que, em alguns pontos, se estende até cerca de 30 milhas da costa, como mostra a figura nº 1.

## Disponibilidade da Matéria Prima

Pesquisas de hidroacústica realizadas no sudeste/sul do Brasil estimaram a abundância absoluta do estoque de sardinha em média de 266.000 toneladas anuais. Este resultado, apesar de não definitivo mostra que as capturas atuais se aproximam da captura máxima sustentável. Flutuações bastante expressivas tem-se verificado não apenas com relação à produção total, mas, também, em termos dos principais portos de desembarque.

De acordo com a legislação, o tamanho do pescado desembarcado é, no caso de pesca da sardinha, 17 cm e permite no máximo 15 por cento de peixes menores de 17 cm. A figura nº 2 mostra que o volume máximo de captura ocorreu no ano de 1973, declinando continuamente até o ano de 1977. Dados recentes indicam que está ocorrendo um aumento notável na captura a partir de 1978.

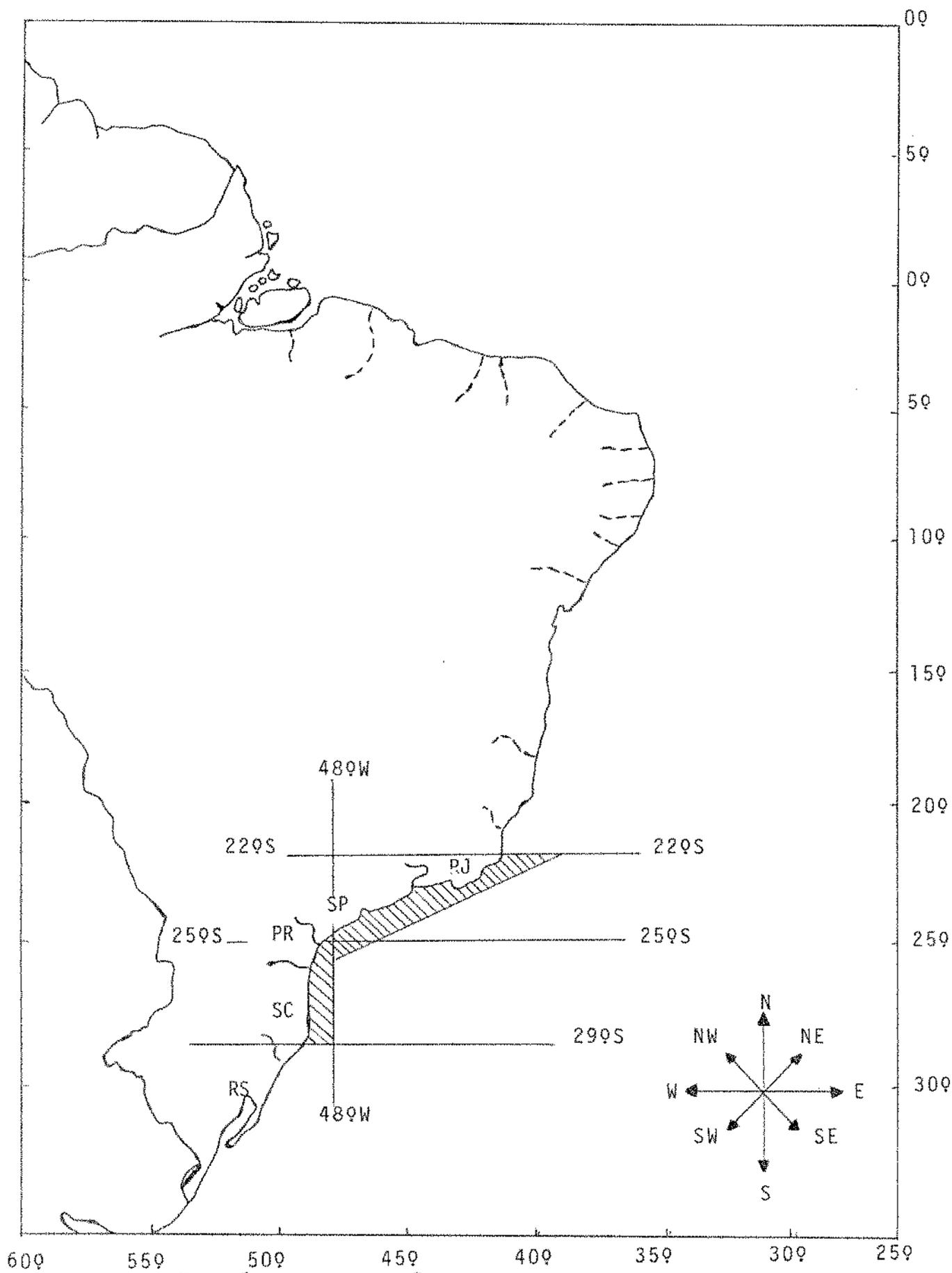


FIGURA Nº 1 Área de ocorrência da sardinha na costa brasileira

Fonte - SUDEPE - Série DOC. TEC. nº 7 Nov. 74

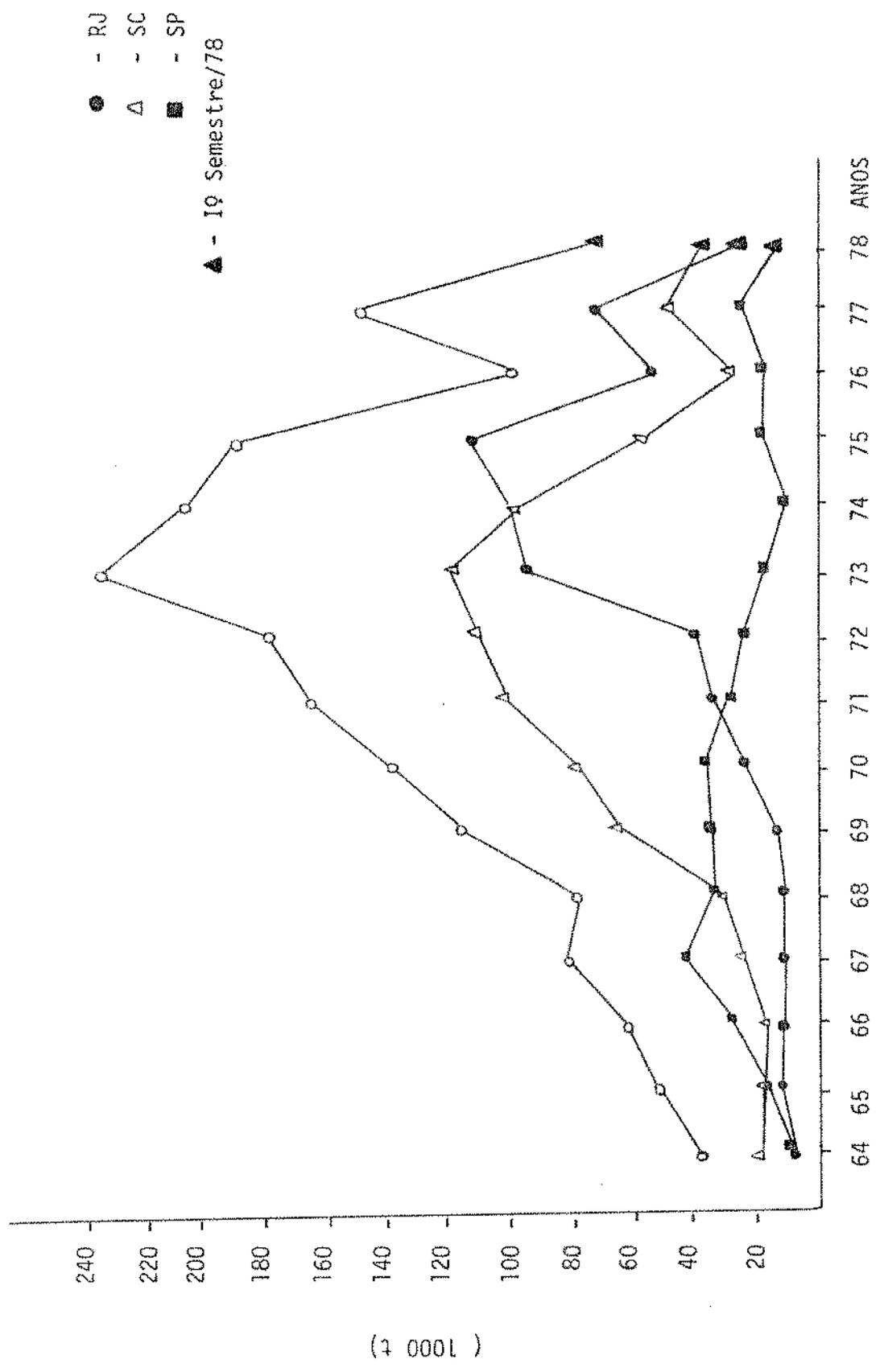


FIGURA Nº 2 Desembarque total anual da pesca de sardinha, por Estado.

Fonte: SUDEPE - PDP. Out. 1978.

## 2.2. Semi conservas do Tipo Anchovado

"Por semi-conservas entendem-se produtos alimentares de origem animal ou vegetal, acondicionados em recipientes apropriados e tendo experimentado um tratamento prévio, a fim de assegurar uma conserva o limitada" (Statut Juridique, Paris, 1956). apud. MATAFOME (43).

Em Portugal denomina-se "semi-conserva de anchovas" o produto obtido a partir do biqueirão (*Engraulis encrasicolus* L.). Além destes se anchovam outros peixes como a cavala (*Scomber japonicus*), peixe agulha (*Belone belone*), sardinha (*Sardinella aurita*), mas não tomando a designa o de anchovas, e sim "cavala anchovada", "sardinha anchovada", etc... Outras semi-conservas, dos países nórdicos são: "Anchovies" feitas a partir do espadim (*Clupea sprattus* L.), "Gaffelbiter" do arenque island es (*Clupea harengus* L.), "Surstromming" do arenque b ltico (*Clupea harengus* var. *membras*).

  conveniente diferenciar o anchovado verdadeiro, ou seja, elaborado com o biqueirão (*Engraulis encrasicolus* L.), preparado na costa mediterr nea, somente com sal, dos produtos similares preparados nos países nórdicos com arenques e outras espécies e que geralmente levam especiarias. Alguns países que se dedicam a este tipo de semi-conservas, por se tratar de produtos de conserva o limitada, adicionam antissépticos para prolongar o seu período de dura o e usam

temperaturas de armazenagem baixas (entre 0º e 5ºC).

ASCHEHOUG citado por MATAFOME (43) defende a necessidade de conservação pelo frio por se tratar de um produto que sofre um processo natural de cura que se prolonga após o enlatamento.

Normalmente se considera que a fermentação ou maturação significa a transformação de substâncias orgânicas em compostos mais simples por ação de enzimas ou microorganismos. Comprovou-se que, quando se regulam estas trocas se desenvolve um sabor agradável e um aroma característico, que aumentam a aceitabilidade do pescado.

Os pescados anchovados estão maduros, e por conseguinte, prontos para o consumo, quando a carne está firme porém elástica, de cor rosada lembrando presunto, sem manchas de sangue.

## 2.3. Considerações Bioquímicas sobre a Maturação do Pescado tratado pelo sal.

### 2.3.1. Mecanismo da salga

O pescado tem sido salgado durante considerável parte da história da humanidade. Todavia o desenvolvimento desta prática tem sido muito empírica e pouca importância tinha sido dada para elucidar o mecanismo básico desenvolvido.

Os processos de conservação pela salga implicam numa série de modificações físicas, químicas e microbiológicas, que tornam a matéria prima apta para a conservação, comunicando-lhe aroma, textura, sabor e cor específicos.

PANTALEON (46) mostra que as salmouras representam meios complexos e dinâmicos, com sais de cálcio, magnésio, carbonatos, brometos, iodetos, nitratos e nitratos bioformados. A salga é governada por fatores físico-químicos tais como a difusão e a osmose. VOSKRESENSKY (60) relata que extração da água e penetração do sal durante o processo de salga do tecido do pescado, se dá sob influência de processos de difusão e osmose de importância fundamental. No decorrer do processo verifica-se a ocorrência de formação de líquido que em pouco tempo cobre o peixe. Isto se deve à difusão dos fluidos do tecido, mais fácil em comparação

com a penetração de sal no mesmo. A salmoura é uma espécie de zona de trânsito, onde fluem os componentes da salmoura para o pescado em contra-corrente com os componentes que o deixam.

GALVÃO (29), BOURY (13) citam que, enquanto a salmoura se apresenta com concentração superior ao soluto de constituição celular, se mantém o ritmo das trocas e o sal terá tendência a penetrar progressivamente no interior do tecido muscular provocando inclusive a coagulação das suas proteínas. Paralelamente o correrá contração dos tecidos, devido à perda de parte dos seu líquidos de constituição.

KORMENDY & GAUTNER citado por DEL VALLE (21) trabalhando com peças cortadas de forma cilíndrica, - mostraram que após prolongada cura, o sal não mais penetra no músculo, ainda que não haja equilíbrio no meio, pois a camada externa do músculo provavelmente - tornou-se impermeável. Para VAN KLAVEREN (57) as impurezas do sal industrial, como íons de cálcio, magnésio e sulfatos conferem ao músculo sabor amargo e textura limosa a qual retarda a penetração de sal no mesmo e contribui para alterar a cor do produto final. Não obstante, a presença dos sais de cálcio e de magnésio é necessária, nas devidas proporções para evitar o aspecto ceroso do peixe salgado.

BOTELHO & NORT (12) relatam que o sal de Mos sorô contém 96-99 por cento de cloreto de sódio e ape

nas 0,43 e 0,05 por cento de cálcio e de magnésio respectivamente. TRESSLER (56), em experiências com sal quimicamente puro e sal com excesso de cloreto de cálcio ou de cloreto de magnésio, concluiu que os ions cálcio e magnésio retardam a penetração de sal no músculo. Este retardamento pode acarretar decomposição antecipada da matéria orgânica. CHEFTEL (16), SHEWAN (54) verificam que sal, com 4,7 por cento de cloreto de magnésio, difundiu-se no músculo em cinco dias; o cloreto de sódio puro em apenas três dias. Disto se deduz que, para a rápida penetração de sal no músculo, deve-se empregar sal livre de impurezas, com no mínimo, 99 por cento de cloreto de sódio.

Fatores que afetam a difusão do sal no músculo

CUMMINS (20) relata os fatores que afetam a velocidade de penetração do sal no pescado: método de salga, temperatura, concentração da salmoura, composição química do sal, características granulométricas do sal, estado de frescura do tecido, superfície ou área de contato, forma do peixe e teor de gordura do peixe. CREAM (18), TORRY (53) observaram em numerosos trabalhos que o músculo de pescado, inicialmente, aumenta seu conteúdo salino de forma rápida e após atingir certa concentração, a velocidade de penetração diminui a

atê cessar por completo. Este fato ocorre quando a concentração salina no líquido celular atinge 15 a 20 por cento. Esta concentração de sal parece ser necessária para que parte da água ligada passe ao estado livre. ZAITZEV (63) relata que a água ligada é a água fixada nos grupos hidrofílicos, não podendo ser extraída por meios mecânicos. A água ligada não está disponível para dissolução de outras substâncias. DEL VALLE (21) relata que uma força adicional existe no músculo de pescado que retarda fortemente a migração dos íons sódio e cloreto e esta força é devida à interação íon-proteína. Relata ainda, que a energia de ativação para difusão e para vencer a interação íon-proteína é da ordem de 4.700 calorias por grama moles. Segundo o mesmo Autor a textura do músculo do pescado salgado, depende somente de sua quantidade total de água e dos valores de água livre e ligada. DUERR & DYER citado por BOTE-LHO (11), demonstram que, enquanto a concentração salina está ao redor de cinco por cento, a água se mantém no interior das células aumentando-as de volume, mas quando a concentração interna atingir nove a dez por cento, há modificação da estrutura celular, com a formação de um complexo sal-proteína. ZAITZEV já citado, reporta que, quando a temperatura aumenta de 1,0°C, a velocidade de salga aumenta de 2,5 a 3,6 por cento.

O aumento da velocidade de difusão por efeito

de temperatura ocorre dado o movimento termal das partículas que é intensificado e também porque a viscosidade da água é 3 por cento menor nas temperaturas ao redor de zero grau centígrado e 2,5 por cento às temperaturas ao redor de 20º graus centígrados.

O tamanho dos cristais de sal afeta a velocidade de dissolução. Sal de granulação demasiadamente fina pode causar desidratação superficial excessiva com consequente coagulação das proteínas dificultando a sua posterior difusão. Sal de granulometria grossa pode danificar os músculos do peixe pela aspereza dos cristais.

BOTELHO (10) relata que certas características do pescado, tais como sua maior ou menor espessura e o seu maior ou menor teor de gordura, têm enorme influência na velocidade de penetração do sal no tecido, em razão inversa àquelas características.

Para REAY citado por BOTELHO (11) a transferência água-sal depende principalmente do teor de gordura. A prática industrial tem demonstrado que os pescados ditos "gordos" se salgam mais lentamente que os pescados ditos "magros". ALM (1) sugere que uma alta percentagem de gordura é desejável para melhor qualidade do anchovado, devendo-se manter o produto em condições anaeróbicas para prevenir oxidações. OLCOTT (45) relata o efeito dos metais pesados contaminantes'

do sal na oxidação catalítica dos lipídios do pescado, recomendando o emprego de sal com teores mínimos de ferro e cobre.

VOSKRESENSKY (60) divide o processo de salga em três etapas: na primeira etapa, o pescado é exposto à alta pressão osmótica; o movimento do sal para o interior é acompanhado por um movimento inverso mais ativo, dos fluidos do tecido do pescado para a salmoura circundante. A camada externa de tecido parece controlar a velocidade de penetração do sal. Nessa etapa o pescado tem odor e sabor à cru. Ocorre aí uma considerável redução do peso do pescado.

Na segunda etapa, a pressão osmótica ainda exerce uma pequena influência; não há grande diferença nas transferências de massas, porém a movimentação continua até que a concentração de sal na camada superficial se iguale à da salmoura circundante.

Na terceira etapa, menor quantidade de sal movimenta-se para o interior do pescado. A concentração salina no fluido celular em todo o peixe aproxima-se da concentração da salmoura. A carne do pescado torna-se densa, contraída e tem sabor salgado. Desaparece o odor e o sabor de material cru e pode-se notar mudança na cor, para um tom acastanhado. Segundo JONES (32) este escurecimento seria de tipo não enzimático, (Maillard), com os açúcares redutores, principalmente a

ribose, presente no pescado. Igualmente os aldeídos originados na autoxidação das gorduras reagem com amínas (reação também de tipo Maillard), provocando o escurecimento da superfície do peixe. Evidenciou-se que essa coloração se desenvolve mais rapidamente quando a oxidação superficial do tecido é ativada por temperaturas elevadas. LUPIN (38) relata que existe diferença - básica entre o pescado salgado inteiro e o pescado salgado com cortes ou filetado. O pescado com cortes alcança um equilíbrio simples em que se igualam as concentrações internas e externas e, no pescado inteiro, ocorre um equilíbrio do tipo GIBBS-DONNAN, resultando num produto com um conteúdo mais baixo de sal.

### 2.3.2. Alterações Enzimáticas e Microbiológicas

No pescado capturado e morto, ocorrem fenômenos físicos e químicos que modificam diversos compostos orgânicos nele presentes.

Em um estágio inicial, a hidrólise rápida do glicogênio leva a um acúmulo de ácido lático, e de ésteres fosfóricos, baixando o pH e, dessa forma protegendo a matéria orgânica da rápida proliferação bacteriana. A duração do estado de rigidez depende de certos fatores, como: espécie, condições do pescado na captura, maneira como foi sacrificado, temperatura e condições de estocagem. O relaxamento da rigidez é dada pela ação de clivagem das enzimas proteolíticas. Para PANTALEON (46) e MACKIE (40) as enzimas proteolíticas que participam da proteólise do pescado são de três grupos: a das vísceras e do tubo digestivo (tripsina, quimiotripsina e pepsina), as do tecido muscular (catepsinas) e as elaboradas pelos microorganismos contaminantes.

As proteínas dos tecidos do pescado se dividem, segundo CONELL (17), DYER & DINGLE (25), em três grandes classes: miofibrilas (65 a 75 por cento); sarcoplasmáticas ou miogênicas (20 a 30 por cento); e as dos tecidos conectivos (5 a 8 por cento) que contem quase todas as enzimas, inclusive as proteolíticas do tecido

muscular. No estado de "post-mortem", há um aumento muito grande de permeabilidade. BATE-SMITH (7) revela a existência de uma relação entre autólise e amaciamento muscular, desenvolvida durante e após o estado de rigor do tecido. PENCHALLA (48) relata que a ação das enzimas catepsinas inicia-se nas proteínas sarcoplasmáticas. Segundo DOSCHIRO, citado por MACKIE (40) também as enzimas do tubo digestivo desempenham uma importante função na degradação das proteínas e a elas se deve, em grande parte, a liquefação do pescado. SIEBERT (55) relata que no tecido muscular do pescado e na cavidade abdominal, existem enzimas muito ativas e apresenta esquemas de hidrólise de 290 peptídeos com um pH ótimo de 4,3. BAILEY (5) sugere que as proteínas musculares de espécies migratórias são mais facilmente hidrolizadas pelas enzimas presentes, que as proteínas das espécies não migratórias.

Segundo VOSKRESENSKY (60) existem três teorias que tentam explicar o fenômeno da maturação do pescado salgado: a microbiana, a autolítica e a enzimática. Na primeira, os microorganismos halofílicos produzem as enzimas importantes à maturação. Na segunda, a maturação é o resultado da atividade das enzimas do músculo, tecidos ou do trato gastro-intestinal, que subsistem após a precipitação salina. Esta teoria atribui papel insignificante às enzimas dos microorganismos. Na ter-

ceira teoria, a maturação do pescado se dá sob a influência de certas enzimas do tecido muscular, do trato gastro-intestinal e também as produzidas por microorganismos. As enzimas musculares seriam as mais importantes no início da maturação, enquanto, que as produzidas pelos microorganismos teriam grande importância no fim do processo. Segundo VISCO (59) na maturação do pescado, a degradação da matéria proteica se regula usando sal suficiente para impedir a proliferação de microorganismos putrefativos. Em geral as bactérias putrefativas que estão presentes no pescado fresco são substituídas por uma flora predominantemente halófila. MARQUES citado por MARINI (41) opina que o cloreto de sódio reduz a atividade das enzimas a tal ponto que, faz da maturação um processo controlável. DIAS CORREIA (22) cita que as enzimas autolíticas atuam preferencialmente sobre proteínas desnaturadas, condição existente no pescado salgado. DOLLAR (23) relata a presença de enzimas proteolíticas endógenas que atacam uma grande variedade de ligações peptídicas. BURKHOLDER (14) trabalhando com peixe fermentado, relata que proteólise é o resultado da ação autolítica de enzimas naturais do peixe e os efeitos da fermentação microbiana, principalmente de bactérias halofílicas, além de fungos e leveduras. LEPIERRE (34) publica experiências sobre anchovagem concluindo que a autólise é ocasionada por

enzimas de origem intracelular. O Autor, isolou microorganismos tipo Bacillus, esporulados e não esporulados, Gram positivo e Gram negativo, produtores de proteases. ALMY (2) relata que as enzimas proteolíticas do estômago quase não atuam, e que a enzima triptica do ceco pilórico tem grande atuação na hidrólise das proteínas. LUIJPEN (37) opina que a tripsina é a enzima que mais contribui na atividade total das enzimas proteolíticas. Apesar de existir grande quantidade de pepsina no tecido, esta tem pouca atividade devido ao pH pouco favorável. MARQUES (42) tentou acelerar a maturação pela adição de enzimas para uso industrial. O uso de pepsina na elaboração de anchovas de biqueirão não ocasionou mudanças no período de cura, enquanto que a adição de tripsina dava produtos de boa qualidade com períodos curtos de cura. MARQUES (42) cita experiências feitas com biqueirão eviscerado e não eviscerado, tendo verificado que o último maturava mais rapidamente. MARVIK citado por BALDRATI (6) publica que as endopeptidases do apêndice pilórico perdem cerca de 20 por cento de sua atividade em solução de concentração salina de 5 por cento. A uma concentração salina de 12 por cento resta apenas 1/6 da atividade inicial e a uma concentração salina superior a 16 por cento a atividade é quase completamente inibida. MATAFOME (43), trabalhando com lotes de pescado tratados com diferen-

tes enzimas, verificou que o lote que apresentou melhores características foi tratado com tripsina, o que concorda com GUZMAN (31). ZAITSEV (63) relata que o pH no pescado salgado é o melhor adaptado para a tripsina, e mostra ainda que o estação do ano em que a atividade da enzima do ceco pilórico é alta, coincide com a melhor maturação do arenque. Alguns autores mostram a importância das bactérias na formação de substâncias aromáticas. JERMOLIEVA citada por MATAFOME (43) demonstra a importância das bactérias não na cura do peixe, mas na formação de substâncias aromáticas. REED (48) relata que algumas enzimas proteolíticas produzidas por microorganismos procedem de fungos (*Aspergillus oryzae*), leveduras (*Saccharomyces spp.*) e bactérias (*Bacillus subtilis*). FENISKOVA et alii citado por MACKIE (40), aceleraram consideravelmente a maturação empregando um preparado de proteases dos fungos (*Aspergillus oryzae*). ERICHSEN (26) relata a presença de (*Pediococcus cerevisiae*) produtores de diacetilas em produtos curados. LUPIN (39) relata a presença de halobactérias redutores de nitratos, no sal comercial formando nitrosaminas. PANTALEON (46) relata a presença de bactérias desnitrificantes contidas nas salmouras, com formação de nitrosomioglobina. Baseados na bibliografia acima detalhada pode-se concluir que a anchovagem

se apoia em um complexo de processos, nos quais as enzimas tissulares e enzimas microbianas parecem ter ação particular sobre os substratos. Os conhecimentos científicos sobre essa matéria são ainda muito esparsos.

### 2.3.3. Alterações dos Produtos Anchovados

Segundo BAUMGATNER ( 8 ) muitas das espécies bacterianas que crescem em soluções salinas são cromogêneas e produzem coloração anormal do peixe salgado. GALVÃO ( 29 ) cita a presença de esporos de (*Clostridium perfringens*), provenientes de sal impuro, sendo susceptível de, durante a sua fase de multiplicação, produzir toxinas capazes de provocar toxí-infecções alimentares. LUPIN ( 38 ) mostra que a aparição de manchas ou pontos escuros na carne são devido a fungos e leveduras, sendo a mais conhecida a levedura (*Sporendonema epizoum*). SHEWAN ( 54 ) mostra que o conhecimento das bactérias halofílicas causadoras do vermelhão (*Sarcinas, H. salinarum, H. cutirubrum*), é estimulada pela presença de sais de cálcio e magnésio. No pescado de má qualidade e processado em temperatura ambiente elevada, a decomposição pode ser mais rápida que a penetração de sal nos tecidos, com conseqüente degradação proteica. BALDRATI ( 6 ) relata que nem sempre a maturação se desenvolve normalmente. Muitas vezes pode existir condições favoráveis para o desenvolvimento de microorganismos, em relação ao conteúdo de sal e prensagem insuficientes, ao grau de frescor da matéria prima e às condições de armazenagem. ERICHSEN ( 26 ) verificou que durante o corte de filés nas fábricas, o peixe é reinfecta-

do por bactérias fermentativas, algumas produtoras de gás, que causam a deterioração do produto. BOTELHO (10) relata a presença de carbamato de amônia de alto poder tóxico provocado por bactérias aeróbias e anaeróbias em salmouras de concentração baixa. ALM (1) relata outras formas de alteração organolética, como a da formação de sulfetos.

Durante a maturação também se produz tirosina que se pode separar na forma de um precipitado branco. CULTRERA (19), CHEFTEL (16) afirmam que a desalinização parcial que precede ao enlatamento do anchovado, deveria vir acompanhada de um determinado grau de dessecação, para que a água de constituição do pescado esteja sempre saturada de sal, permitindo assim manutenção de qualidade e armazenagem de produto por períodos superiores a seis meses. VAN VEEN (58) relata experimentos com pescado salgado armazenado por longos períodos, verificando que as enzimas e os microorganismos competem com os lipídios na captação do oxigênio, não ocorrendo, no entanto, oxidação notável. LOVERN (35) relata os efeitos da hidrólise, com o desenvolvimento de odores e sabores desagradáveis em vários produtos salgados. KIMATA (35) reporta a presença de histamina em pescado salgado gerada por processo autolítico acarretado por enzimas do tecido muscular. ZAITSEV (63) comenta o processo de alteração na superfície do pescado

salgado, devida ao contato com o ar e que consiste na formação de um limo de mau odor, produzido por microorganismos aeróbios. OLCOTT (45) diz que a toxidade dos lipídios com a formação de hidroperóxidos, pode causar morte em ratos, quando ingeridos em forma concentrada.

### 3. Materiais e Métodos

#### 3.1. Materiais

##### 3.1.1. Condições e Origem da Matéria Prima

A matéria prima utilizada constou de Sardinha (*Sardinella brasiliensis*) de tamanho médio (17-19 cm). Foi adquirida na localidade de Governador Celso Ramos, na fase de desembarque, após 6-8 horas de captura. Os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo na proporção de 1:1 e transportados à planta pilôto de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. A salga a seco foi efetuada no mesmo dia de chegada do pescado.

Exame físico do pescado:

Foi realizada usando-se o sistema de avaliação das características do pescado fresco, desenvolvido por WITTFOGEL apud. LUDORFF (36). O anexo nº 1 contém as características dos sistema de avaliação, que se baseia na inspeção da superfície e consistência do peixe, dos olhos, das brânquias, da cavidade abdominal e órgãos, além dos odores gerais. WITTFOGEL classifica a qualidade do pescado nas seguintes faixas:

Qualidade extra	18-20 pontos
Qualidade boa	13-18 pontos
Qualidade média	8-13 pontos
Produto recusado	menos de 8 pontos.

### 3.1.1. Aditivos

Sal - O mesmo tipo usado nas indústrias de Santa Catarina de procedência do Rio Grande do Norte, comprado em casa de comércio atacadista, apresentando uma granulação média.

Bromelina série G-02-74 Instituto De Angeli do Brasil SP.

Papaína N.F. VIII. Difco, digerindo aproximadamente 100 vezes seu próprio peso. Difco Laboratories Detroit 1 - Michigan. USA.

## 3.2. Métodos

### 3.2.1. Tecnologia de Anchovagem

Trinta quilos de pescado fresco foram descabeçados e eviscerados manualmente; 10 quilos foram reservados, sem eviscerar, para maturação de pescado inteiro. Amostras foram separadas para análise de frescor.

Os pescados eviscerados são lavados em água corrente para eliminar o sangue e restos das vísceras. Após, são acondicionados em caixas plásticas destinadas à salga e maturação, colocando-se uma camada de sal no fundo da caixa e ordenando-se o pescado em camadas perpendiculares em relação umas às outras, intercaladas - de camada de sal, e, assim sucessivamente, até a última que é uma cobertura de sal. Geralmente usa-se 30 por cento de sal em relação ao peso do pescado. As caixas são cobertas com tampa de madeira com um peso em cima para manter o pescado mergulhado na salmoura. Ao fim de um ou dois dias a tampa estará coberta por salmoura. A salmoura é removida no nono dia e o peixe eviscerado é dividido em três lotes iguais: um lote recebe salmoura fresca a 25 por cento mais 0,06 por cento de bromelina; outro lote recebe a mesma salmoura - mais 0,06 por cento de papaína e o terceiro lote recebe apenas a salmoura. O lote de pescados salgados in-

teiros é também drenado e adicionado de salmoura fresca a 25 por cento.

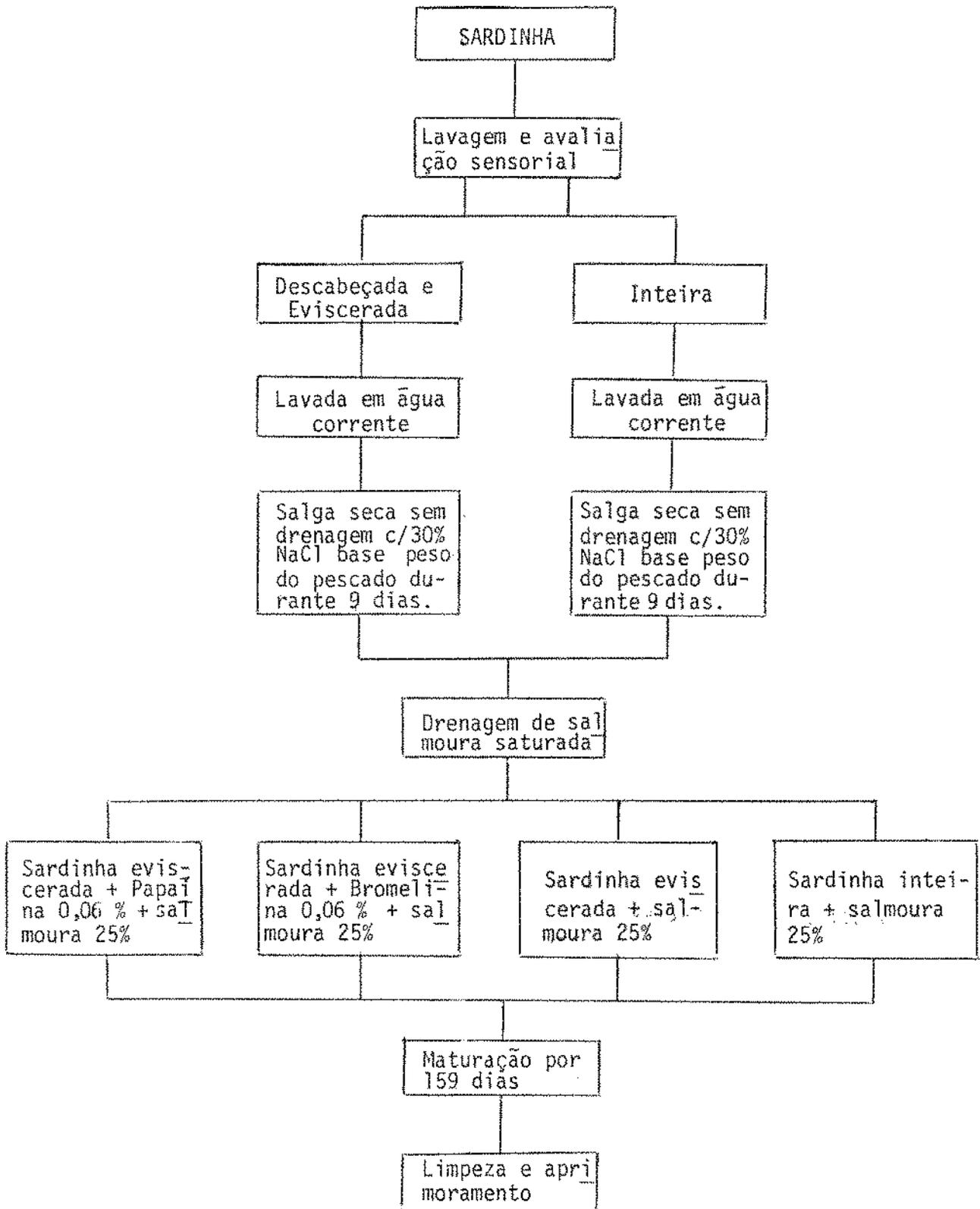
As quatro preparações são mantidas em processo de maturação à temperatura ambiente durante 23 semanas, com controles periódicos a cada 14 dias, afim de determinar o fim da maturação. Durante todo o tempo de cura cuida-se que a salmoura cubra o pescado totalmente.

No final de maturação as quatro preparações foram retiradas da salmoura e lavadas com salmoura saturada fresca. O peixe inteiro foi descabeçado e eviscerado.

Os peixes limpos foram despelados e filetados, fazendo-se aparas com tesoura para padronizar o formato do filé, sendo logo submetida a avaliação sensorial.

O quadro nº 1 resume as etapas básicas do processo de anchovagem.

Quadro nº 1 - Fluxograma do Processo de Anchovagem



### 3.2.2. Análises Químicas

As amostras coletadas em intervalos de 14 dias e devidamente preparadas foram submetidas, em duplicata, às análises que se seguem:

#### 3.2.2.1. Umidade

Determinada pelo método 14003 AOAC, 10ª edição (1965).

#### 3.2.2.2. Proteínas

Nitrogênio total -  $N \times 6,25$

Empregou-se o método microkjeldahl modificado. Analytical Chemistry, 23 (3): 527.

#### 3.2.2.3. Gordura Extractável

Determinado por extração em aparelho Soxhlet, com éter de petróleo (P.E. 40°C) utilizando-se  $Na_2SO_4$  anidro para remoção de água.

#### 3.2.2.4. Cinzas

Determinado pelo método 23006 AOAC, 10ª edição (1965).

### 3.2.2.5. pH

Determinado em potenciômetro E 520 Metron Herisau no produto homogeneizado com prévia diluição 1:1, com água destilada.

### 3.2.2.6. Bases Voláteis totais (B.V.T.)

Determinada através do deslocamento do nitrogênio volátil com óxido de magnésio. O destilado foi recolhido em ácido bórico, usando-se indicador misto de vermelho de metila e verde de bromocresol. Os resultados foram expressos como mgN volátil/100g de amostra.

### 3.2.2.7. Trimetilamina (T.M.A.)

Determinação colorimétrica, segundo método de DYER (24), modificado por CASTELL (15) que usou hidróxido de potássio ao invés de carbonato de potássio para diminuir interferência da dimetilamina.

Os resultados foram expressos como mg/N da TMA por 100g de amostra.

A leitura foi a 410 nm em espectrofotômetro, COLEMAMM 20 e cuba de 1 cm.

3.2.2.8. Determinação da rancidez oxidativa pelo índice de ácido 2-tiobarbitúrico (T.B.A.)

Método de YU e SINNHUEBER (62)

Reagentes

Ácido tricloroacético 20 por cento

Ácido 2-tiobarbitúrico

Ácido clorídrico 0,6 N

Procedimento

Em um balão esmerilhado de 250ml, colocou-se a refluxo por 30 minutos.

1,0g de produto

5,0ml, de 2-TBA reagente

5,0ml, de água destilada

5,0ml. de HCl 0,6 N

10,0ml. de ácido tricloroacético a 20 por cento.

Através da parte superior do condensador, adicionou-se 35ml de HCl e 40 ml de água destilada. Continuou-se o refluxo por mais dez minutos.

Leitura a 535m $\mu$  em espectrofotômetro COLEMANN 20 e cuba de 1cm. Os resultados foram

expressos com mg de aldeido malônico por grama de amostra.

#### 3.2.2.9. Extração dos lipídios totais para testes de controle

Foi empregado o método de BLIGH & DYER (9), que permite a obtenção de lipídios sem alterações analíticas. Os lipídios são extraídos em um sistema ternário de metanol: água: clorofórmio.

O extrato final dissolvido em clorofórmio foi empregado para a determinação do índice de peróxido e de ácidos graxos livres.

#### 3.2.2.10. Índice de Peróxidos (I.P.)

Método A.O.A.C.S. cd 8-53. Os resultados foram expressos em miliequivalente por quilo de gordura.

#### 3.2.2.11. Ácidos graxos livres (A.G.L.)

Método 26060 AOAC, 10ª edição, (1965).

### 3.2.2.12. Nitrogênio não-proteico

A determinação de nitrogênio não-proteico é feita da seguinte maneira: 1,0 grama da amostra de carne de sardinha previamente homogeneizada foi adicionada de 40ml de ácido tricloroacético de concentração 13,6%. Deixa-se em repouso por uma hora e filtra-se. Num balão de Kjeldahl, juntam-se 25ml do filtrado, com 2,0 gramas da mistura catalizadora e 4,0 ml de ácido sulfúrico concentrado, procedendo-se depois como na determinação do Nitrogênio total.

### 3.2.2.13. Proteínas solúveis em NaCl 0,6N

Prepara-se uma pasta homogeneizada de pescado com cloreto de sódio 0,6 N na relação 1:3 (pescado: solução de NaCl). Pesa-se 5,0g da pasta e passa-se para um balão de 100ml. Afere-se com NaCl 0,6 N e se homogeniza a massa suavemente evitando a formação de espuma. Deixa-se em repouso por 12 horas sob refrigeração. Após homogeneizar suavemente o conteúdo do balão, filtra-se uma alíquota para determinação de nitrogênio solubilizado, da mesma forma que se fez com o nitrogênio não-proteico.

#### 3.2.2.14. Cloreto de sódio

Reagentes:

- Carrez I - ferrocianeto de K 30%
- Carrez II - acetato de zinco 15%

A determinação do cloreto de sódio é feita da seguinte maneira: Toma-se uma alíquota de 5,0g de amostra homogeneizada, adiciona-se 200ml de água destilada e coloca-se em banho maria até que a temperatura da mistura atinga 65-70°C durante 3 minutos.

Após adiciona-se 5,0 ml de Carrez I e 5,0 ml de Carrez II. Deixa-se em banho-maria por mais 30 minutos sem ultrapassar 70°C. Filtra-se e eleva-se o filtrado até 250ml. Retira-se alíquota de 100ml e titula-se com nitrato de prata 0,01 ou 0,1 N.

#### 3.2.2.15. Substâncias nitrogenadas expressas como tirosina

1 - Retira-se 1,0ml do filtrado obtido anteriormente para BVT;

2 - Adiciona-se 1,0 ml de água destilada, 3,0 ml solução carbonato de sódio a 12,5% e 0,5 ml de solução de sulfato de cobre a 0,5%

Agita-se.

3 - Adiciona-se 0,5 ml do reagente de Folin-Ciocalteu 2 N diluído na proporção 1:2 com água destilada. Agita-se, deixa-se em repouso por 10 minutos.

4 - Faz-se a leitura no espectrofotômetro a 730m $\mu$  ;

5 - O valor obtido das leituras é comparado com a curva padrão.

#### Curva Padrão

1 - Prepara-se uma solução de tirosina na proporção de 100 mg/ml;

2 - Pipeta-se 0,1: 0,2: 0,3: 0,4: 0,5: 0,6 ml desta solução para 6 tubos de ensaio, respectivamente. Completa-se com água destilada, o volume para 1,0 ml.

3 - Segue-se a técnica referida para a amostra.

Fórmula para o cálculo:

$$\text{mg TYR/100mg de músculo} = A \times f$$

A = g de TYR/ml (valor lido na curva)

f = fator de conversão no caso particular para 100g de músculo.

$$f = \frac{1 \times 200 \times 100}{25} \times \frac{1}{1.000} = 0,8$$

### 3.2.3. Análises microbiológicas

Amostras de pescado coletadas ao longo da anchovagem, foram submetidas a provas de controle microbiologíco, que consistiram em contagem total de microorga - nismos mesófilos, psicrofilos e halófilos.

As contagens foram realizadas paralelamente com as análises químicas.

As amostras foram homogeneizadas em solução tampão fosfato 0,1% e tampão fosfato 0,1% adiciona - do de 15 por cento de NaCl. Usaram-se as seguintes di - luições:  $\times 10^{-1}$ ,  $\times 10^{-2}$ ,  $\times 10^{-3}$ ,  $\times 10^{-4}$  e  $\times 10^{-5}$ . Es - tas foram semeadas em placas de Petri, em duplicata, u - tilizando-se "Agar Padrão para Contagem Total" e "Agar Padrão" acrescentado de 15 por cento de NaCl para con - tagem de halófilos. As placas foram incubadas a 37°C durante 24-48 horas, para análise de mesófilos e 37°C durante 72 horas para contagem de halófilos e a 20°C durante 24-48 horas para psicrofilos.

### 3.2.4. Análises sensoriais

#### 3.2.4.1. Inspeção visual das salmouras do peixe.

Foram feitas observações ocasionais do aspecto externo das caixas de maturação, con -

trolando-se os níveis da salmoura e observando possíveis contaminações. Registrou-se diariamente a temperatura do recinto às 12 horas. Para isto usou-se termômetro de laboratório. Também foi medida a temperatura da salmoura, nas caixas de maturação.

Mensalmente tomaram-se amostras das diferentes caixas de pescado, do fundo, do meio e da superfície, observando-se: odor, cor, sabor e textura.

#### 3.2.4.2. Provas de aceitabilidade

Para avaliar a qualidade do produto foi confeccionada a folha apresentada no quadro nº 2. Nela foram incluídas as seguintes características: aspecto geral, cor, odor, sabor e textura. A cada uma destas características deu-se um valor máximo de quatro pontos, sendo o significado desses valores o seguinte:

- . 4 - ótimo
- . 3 - bom
- . 2 - regular
- . 1 - ruim

Uma equipe de quatro pessoas, participaram dos testes sensoriais, em número de três

no total, que foram efetuadas a medida que os peixes maturavam.

As amostras foram identificadas com as seguintes letras:

SE - para sardinha eviscerada

SI - para sardinha inteira

SB - para sardinha eviscerada adicionada de bromelina

SP - para sardinha eviscerada adicionada de papaína.

O delineamento estatístico empregado nas três repetições foi o de bloco ao acaso, onde:  $T = 4$ ;  $b = 4$ .

QUADRO Nº 2

MODELO DE FICHA USADA NA ANÁLISE SENSORIAL

NOME: \_\_\_\_\_

DATA: \_\_\_\_\_

PRODUTO: \_\_\_\_\_

AMOSTRA: \_\_\_\_\_

INSTRUÇÕES: Tome as amostras, analise e dê sua opinião, usando as escalas abaixo para descrever o aspecto geral, cor, odor, textura, sabor

Valor	Aspecto Geral	Cor	Odor	Textura	Sabor
4	ótimo	ótimo	ótimo	ótimo	ótimo
3	bom	bom	bom	bom	bom
2	regular	regular	regular	regular	regular
1	ruim	ruim	ruim	ruim	ruim

## 4. Resultados

4.1. A avaliação da qualidade da matéria prima usada neste estudo deu uma soma de pontos igual a 18, segundo o sistema proposto por WITTFOGEL.

Este escore corresponde a peixe de qualidade 'extra'.

4.2. Composição centesimal da matéria prima: o quadro nº 3 mostra a composição química do pescado, empregado nos testes preliminares e no experimento final estudado mais detalhadamente (lote nº 4).

4.3. Rendimento do processo completo de anchovagem: o quadro nº 4, apresenta as quantidades de matéria prima usada em cada preparação e os rendimentos de filê anchovado-respectivos.

4.4. Estudo da penetração do sal durante a anchovagem de sardinha: a figura nº 3 mostra a variação do conteúdo de cloreto de sódio no músculo durante o período de maturação.

4.5. Variação da umidade da sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 4 apresenta as percentagens de umidade dos quatros lotes de sardinha em intervalos de 14 dias durante o processo.

4.6. Variação das proteínas totais da sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 5 contém os resultados da percentagem de proteínas de quatro preparações de anchovagem em estudo.

4.7. variação da percentagem de minerais de sardinha durante o processo de anchovagem: a figura nº 6 mostra as percentagens de minerais (constituídos principalmente de cloreto de sódio) nos distintos períodos de análise durante a maturação.

4.8. Variação da percentagem de gordura da sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 7 apresenta os resultados da extração da gordura com éter etílico, na sequência de controles analíticos, durante a maturação.

4.8.1. O quadro nº 5 contém os resultados da extração de lípidios totais obtidos pelo método de BLIGH & DYER (9) que foram realizados afim de se obter lípidios não deteriorados pelo aquecimento para determinação de ácidos graxos livres e índice de peróxido.

4.9. Formação de ácidos graxos livres na gordura da sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 8 mostra o aumento do teor de ácidos graxos livres (expresso em gramas de ácido oleico/100g de gordura) com o decorrer da maturação.

4.10. Variação do Índice de peróxidos na gordura da sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 9 contém as curvas do Índice de peróxidos (expresso em miliequivalente de peróxidos/kg de gordura) nas quatro preparações em estudo no decorrer da maturação.

4.11. Ocorrência de compostos que reagem com ácido 2-tiobarbitúrico na sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 10 mostra a flutuação do Índice de TBA (expressa em mg de aldeído malônico/g da amostra) durante o período de maturação.

4.12. Variação da solubilidade das proteínas em NaCl 0,6 N de sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 11 apresenta graficamente as mudanças nas percentagens de proteínas solúveis ( $N \times 6,25$ ), durante a maturação.

4.13. Evolução do Nitrogênio não-proteico da sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 12 contém as quantidades de Nitrogênio não-proteico (expresso em mg/100g), analisadas no decorrer da maturação.

4.14. Variação do teor de tirosina no extrato de Nitrogênio não-proteico da sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 13 mostra graficamente as mudanças no conteúdo de tirosina (expresso em mg de tirosina/100g da amostra), atra

vês do processo de maturação.

4.14.1. A figura nº 14 mostra a curva padrão empregada para a determinação de tirosina pelo método de Folín-Ciocalteu, segundo indicações que aparecem em Métodos analíticos.

4.15. Determinação de trimetilamina na sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 15 apresenta as variações de trimetilamina (expressa em mg de N de trimetilamina por 100g da amostra), nas quatro operações de sardinha no decorrer da maturação.

4.15.1. A figura nº 16 mostra a curva padrão de trimetilamina usada para a determinação deste composto baseado no método de DYER modificado por CASTELL.

4.16. Formação de bases nitrogenadas voláteis (BVT) na sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 17 apresenta a evolução das aminas voláteis (expressa em mg de N volátil / 100g de amostra) durante o processo de maturação.

4.17. Mudanças de pH na sardinha submetida a anchovagem: a figura nº 18 mostra os valores de pH nas distintas preparações de sardinha no decorrer da maturação.

4.18. Variações das contagens totais de microorganismos da sardinha submetida a anchovagem: os quadros 6 e 7 contêm os resultados das contagens totais de mesófilos, psicrófilos e halófilos nas quatro preparações de pescado, no decorrer da maturação.

4.19. Observações do aspecto da salmoura em que a sardinha foi processada: como foi explicado nos capítulos anteriores, o processo completo de anchovagem tem duas etapas, bem definidas: salga, nos primeiros nove dias e maturação propriamente dita (a partir do 9º dia até o final). Na etapa de salga observa-se acúmulo de óleo na salmoura saturada apresentando esta última uma cor marrom clara.

No início da maturação a salmoura foi trocada por salmoura fresca de 25 por cento, que também ficou escura após algumas semanas. Na superfície da salmoura notou-se desenvolvimento de fungos (halofílicos) que não foram eliminados. O óleo que também acumulou-se na superfície da salmoura rancificou progressivamente. Acredita-se que esses dois fatores não são críticos na qualidade do produto que normalmente se mantém imerso totalmente na salmoura.

A temperatura registrada no local de maturação ao longo do processo de cura foi em média de 18°C. As salmouras apresentam geralmente a mesma temperatura.

4.20. Observação do aspecto da carne da sardinha submetida a anchovagem.

O aspecto translúcido, textura firme e elástica típica do peixe fresco, apresenta após nove dias de salga, uma cor esbranquiçada, aspecto opaco, similar a carne cozida, textura seca e dura.

A partir do 42º dia se observa uma cor marron escura, principalmente ao longo da espinha dorsal, parte da cauda e parede das vísceras. Em torno do 84º dia a cor marron começa a tornar-se avermelhada e a maior parte da carne também apresenta a mesma coloração, porém bem mais clara. Na sardinha inteira a cor é mais intensa. A textura em todas as preparações apresenta-se ainda dura e seca. Finalmente após 168 dias de maturação a carne exibe uma cor rosada, homogênea, textura firme porém elástica.

4.21. Exame organoléptico dos produtos anchovados pelo painel de degustação.

Visto que a maturação foi lenta, os intervalos de avaliação organolépticas foram mudados de 14 para 28 dias.

4.22. Quanto as análises sensoriais, no que se refere ao aspecto geral, cor, textura, odor e sabor do pescado submetido ao processo de anchovagem as análises de variância das quatro amostras são apresentadas nos quadros de 8 a 12.

Pescado	Umidade %	Proteínas %	Lipídios %	Mínerais %
Sardinha lote 1	65.00	19.32	13.40	2.28
Sardinha lote 2	68.00	19.70	11.20	2.30
Sardinha lote 3	67.00	18.97	11.80	2.23
Sardinha lote 4*	70.80	19.70	7.20	2.30

\* Lote usado no estudo completo

Quadro nº 3 - Composição centesimal da *Sardinella brasiliensis*

Pescado	Peso Inicial /g	Peso do desperdício/g após anchovagem	Peso final do filê anchovado /g	Rendimento %
Sardinha <u>eviscera</u> da	10.000	5.000	4.000	40
Sardinha inteira	10.000	6.500	3.500	35
Sardinha + Brome- lina	10.000	5.000	4.000	40
Sardinha + Papaí- na	10.000	5.000	4.000	40

Quadro nº 4 - Rendimento do processo completo de anchovagem.

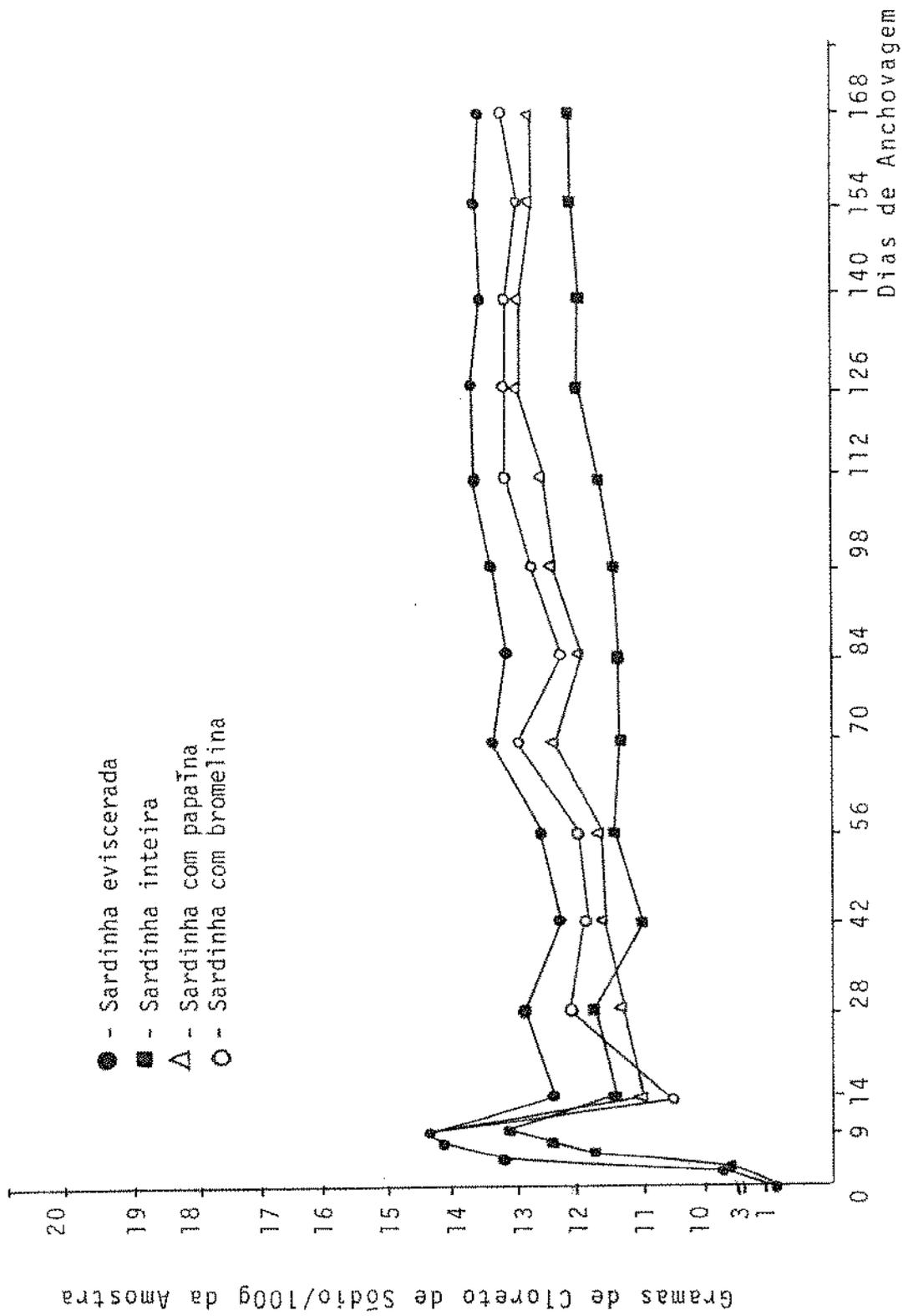


FIGURA Nº 3 Variação do cloreto de sódio durante a maturação de sardinha anchovada

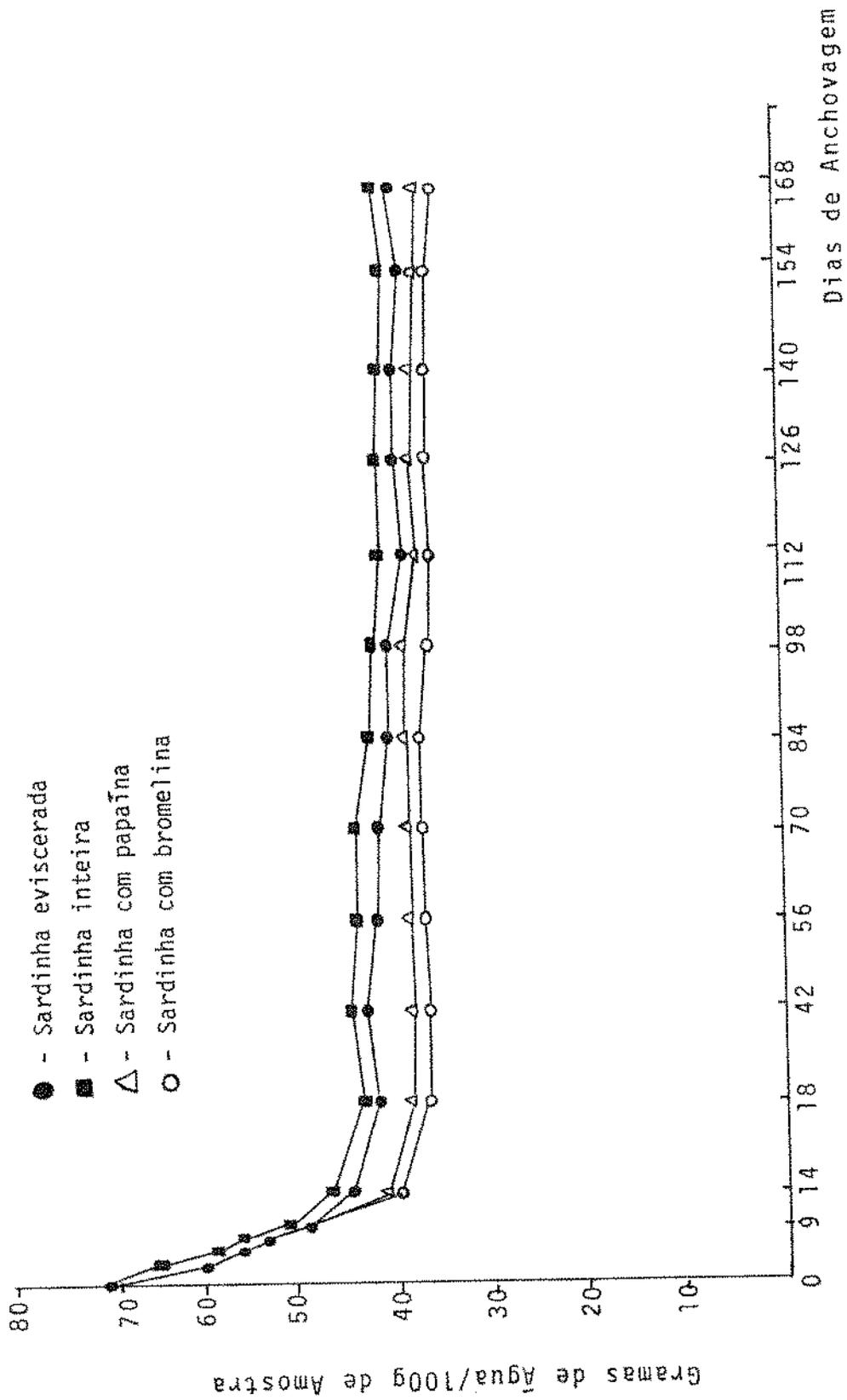


FIGURA Nº 4 Variação da umidade durante a maturação de sardinha anchovada

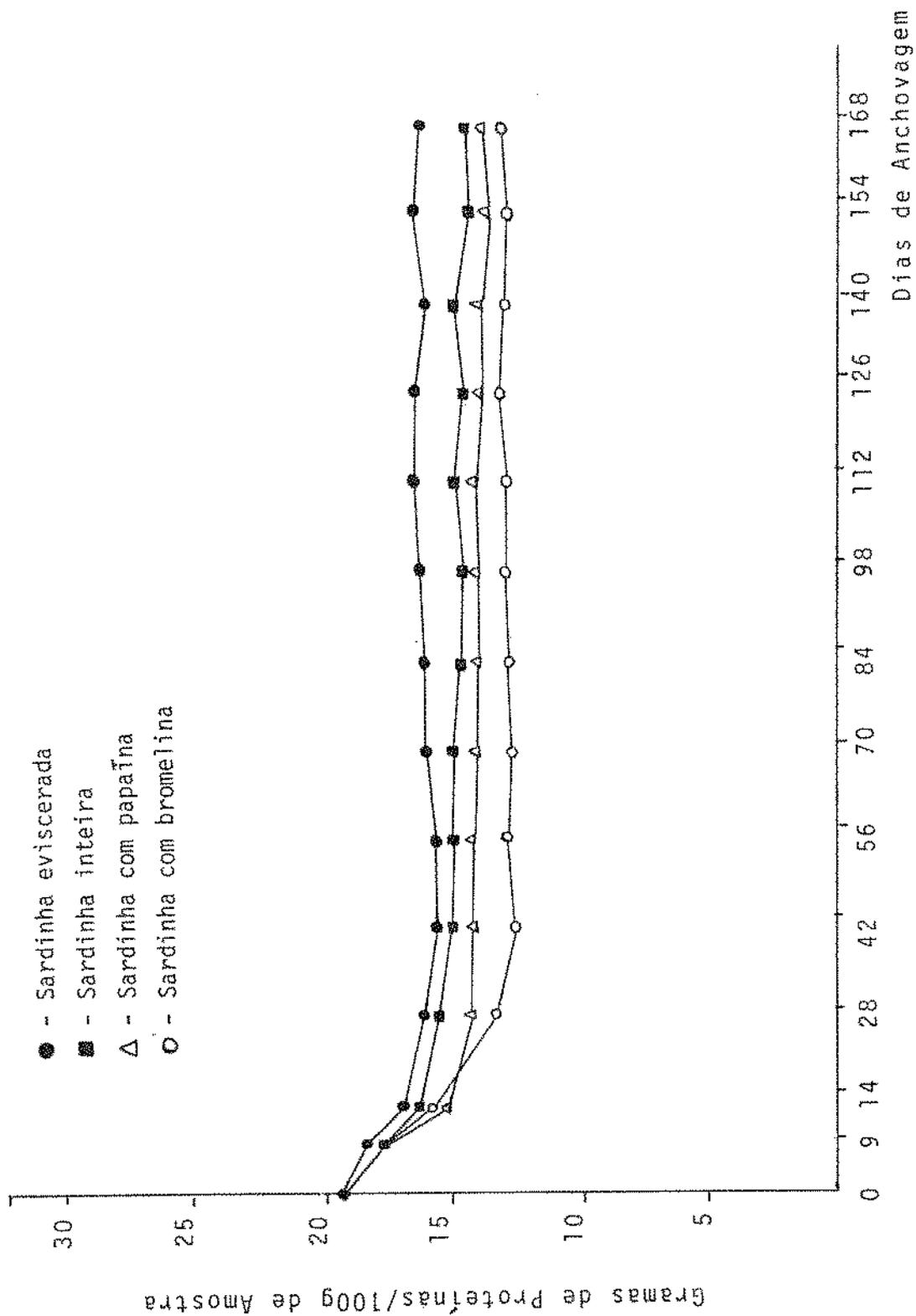


FIGURA Nº 5 Variação das proteínas totais (Nx6,25) durante a maturação de sardinha anchovaca

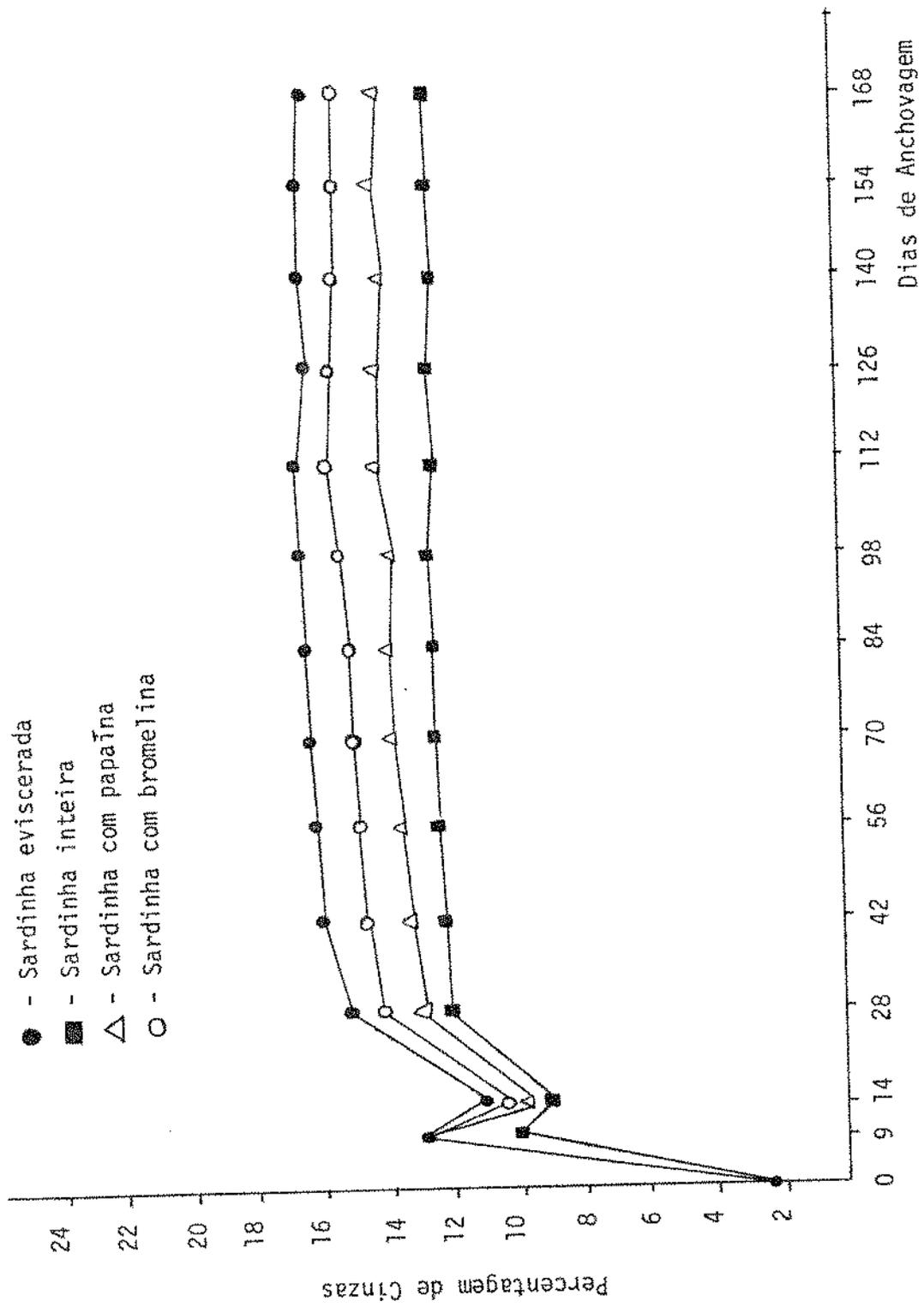


FIGURA Nº 6 Variação do teor de cinzas durante a maturação de sardinha anchovada

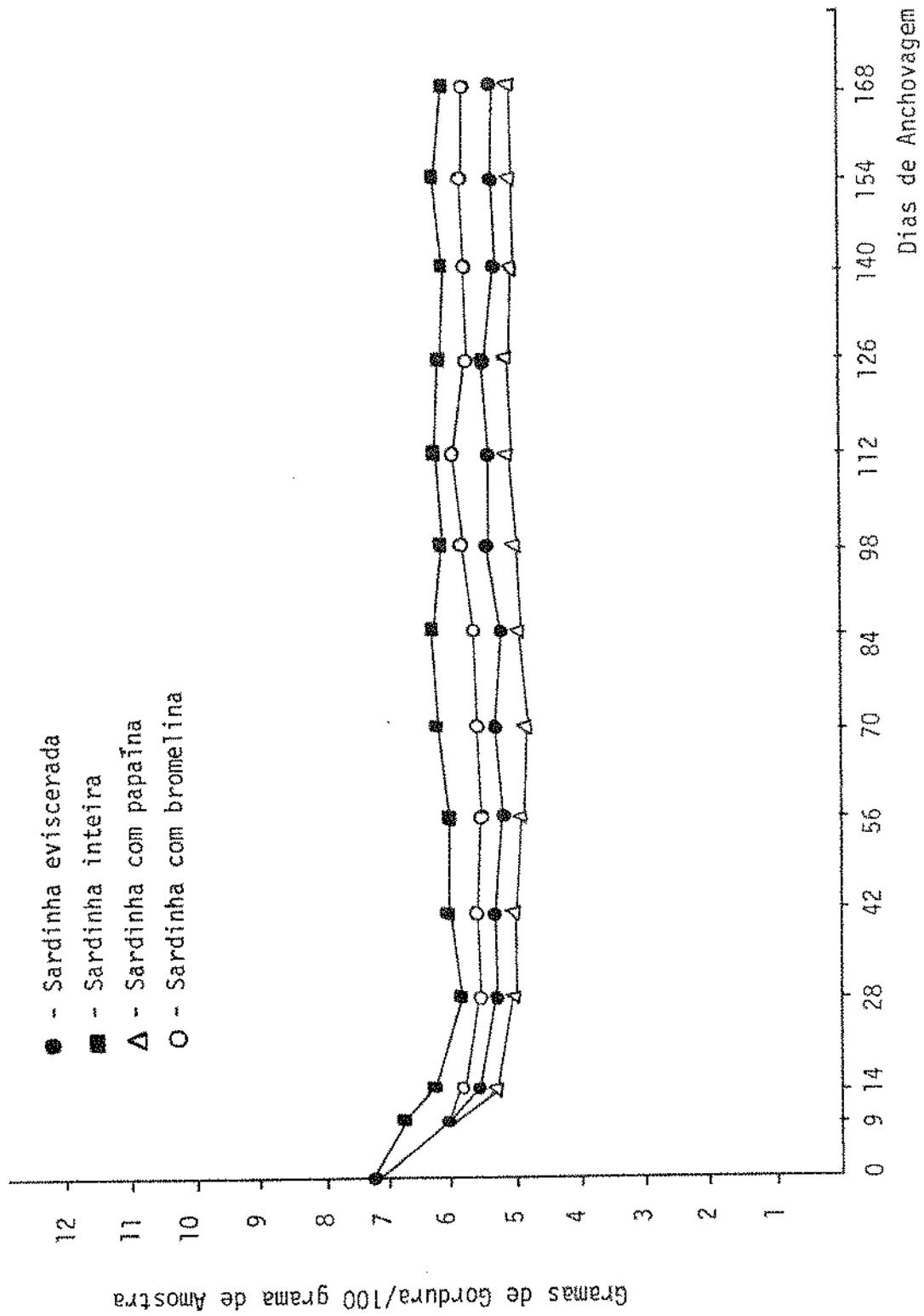


FIGURA Nº 7 Variação do teor de gordura durante a maturação de sardinha anchovada

Dias	SE/g %	SI/g %	SP/g %	SB/g %
0	7,21	7,21	7,21	7,21
9	8,63	10,00	-	-
14	6,97	7,04	6,50	6,60
28	7,50	9,00	7,00	7,00
42	7,89	8,00	8,00	7,20
56	7,40	8,50	8,10	7,30
70	7,45	7,50	8,00	7,74
84	7,40	7,55	7,50	7,50
98	7,36	7,60	7,52	7,31
112	7,30	7,80	7,50	7,40
126	7,34	8,00	7,60	7,40
140	7,40	7,70	7,40	7,50
154	7,50	7,72	7,50	7,70
168	7,80	7,85	7,57	7,68

Quadro nº 5 - Variação dos lipídios totais durante a maturação de sardinha anchovada.

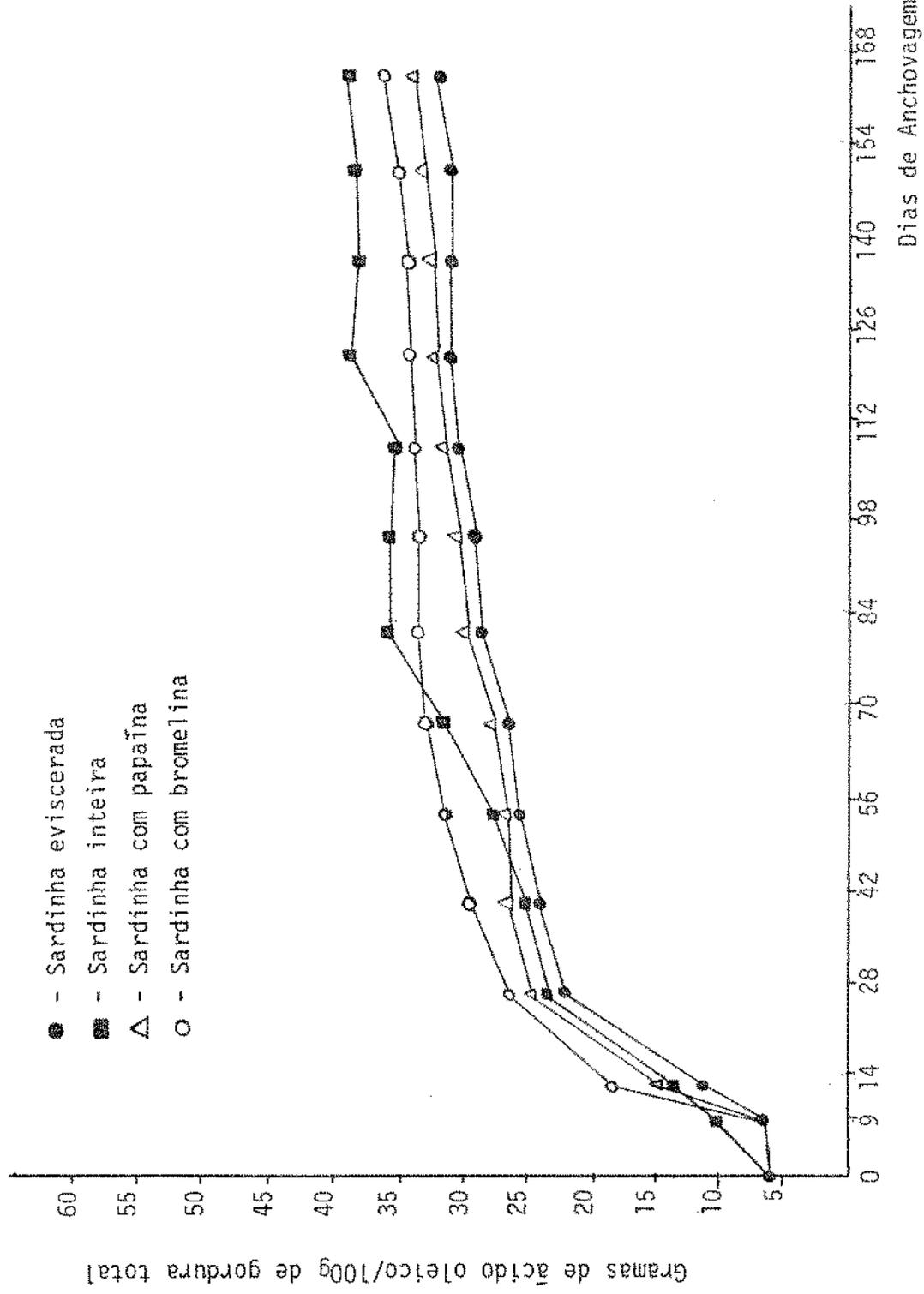


FIGURA Nº 8 Variação da percentagem de ácidos graxos livres durante a maturação de sardinha anchovada

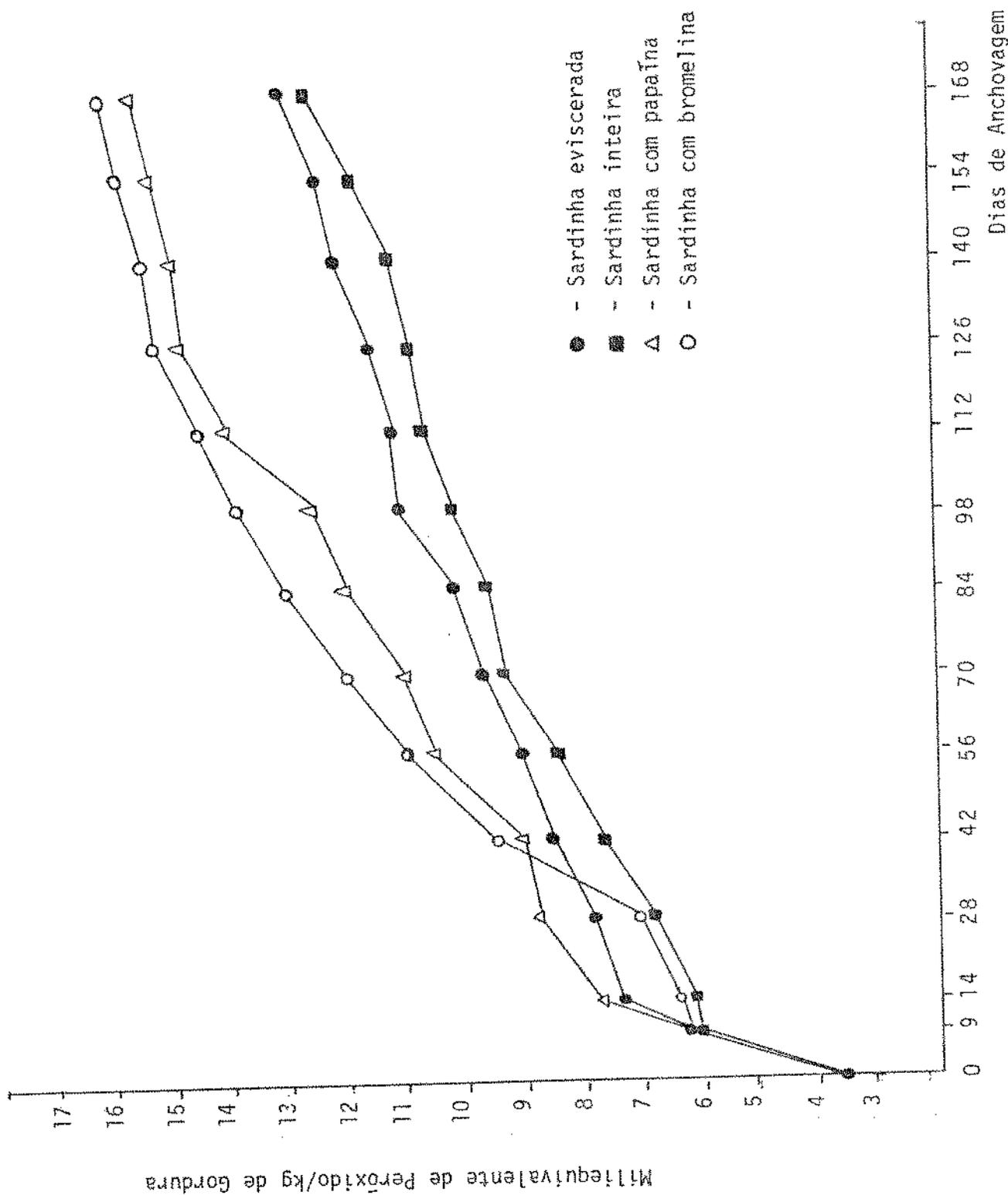


FIGURA Nº 9 Variação do índice de peróxido durante a maturação de sardinha anchovada

Absorbância a 535 mμ (Mg de Aldeído Malôntico/g de Amostra)

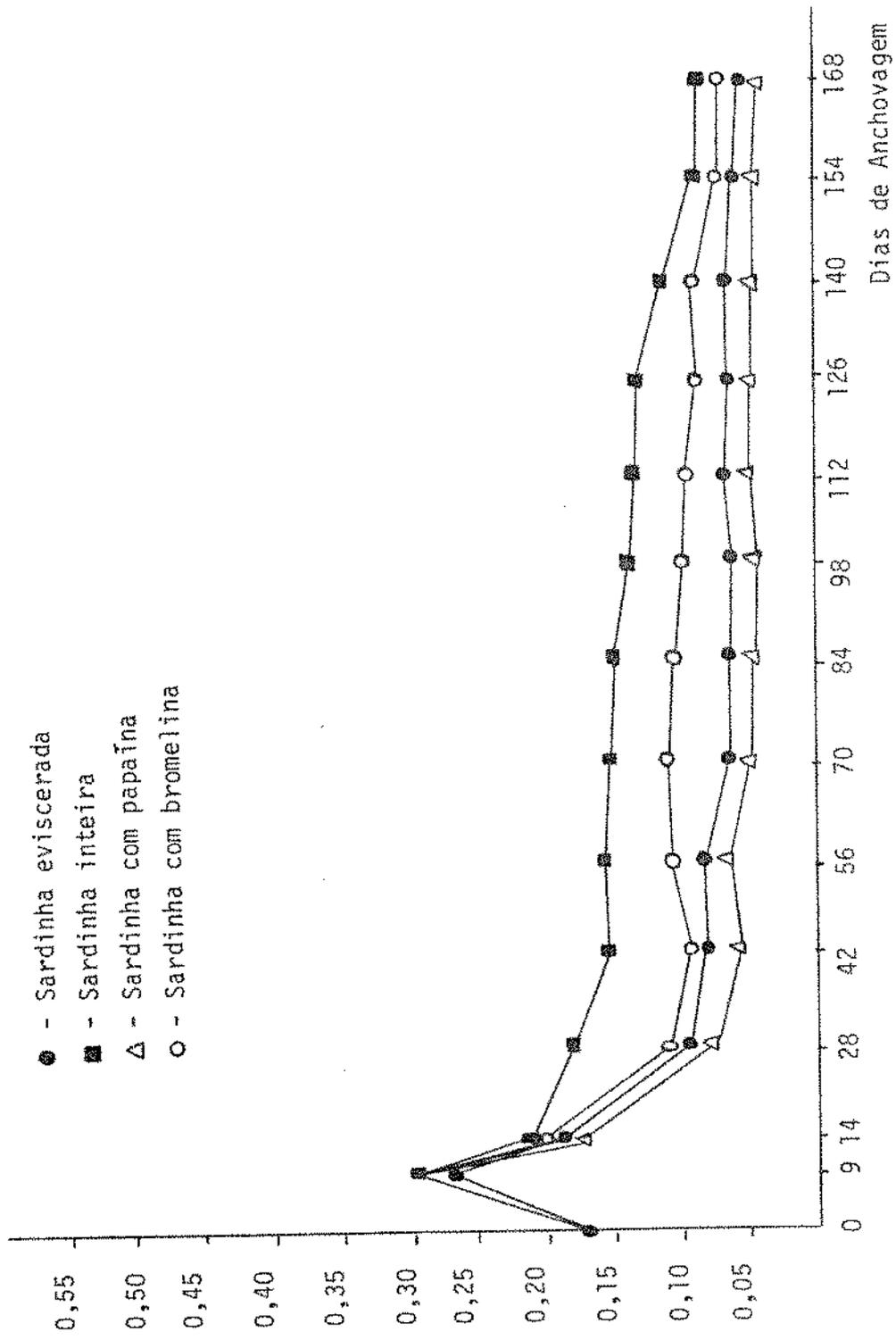


FIGURA Nº 10 Variação do Índice de ácido 2- tiobarbitúrico durante a maturação de sardinha anchovada

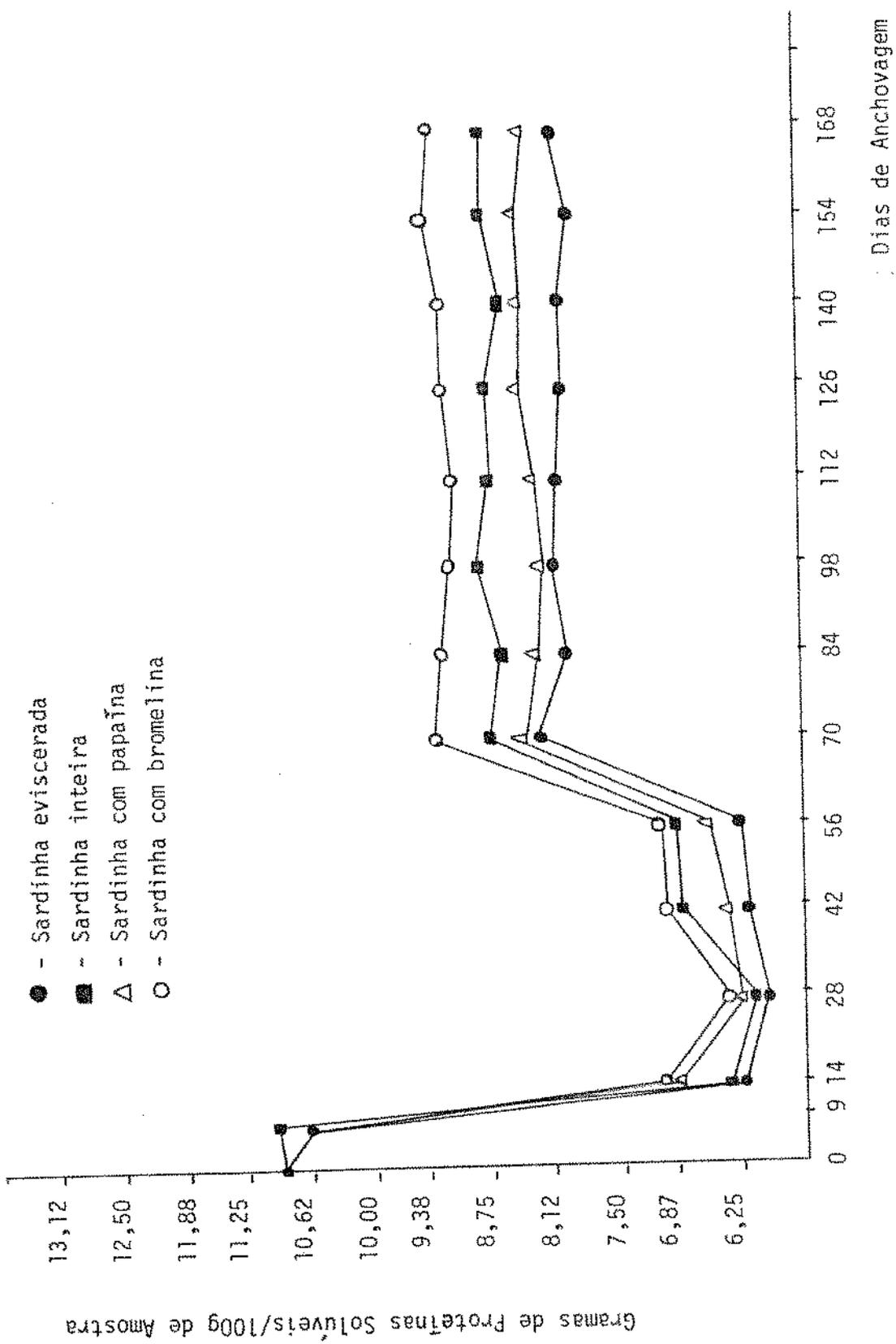


FIGURA Nº 11 Variação das proteínas solúveis em NaCl 0,6N (Nx6,25) durante a maturação de sardinha anchovada

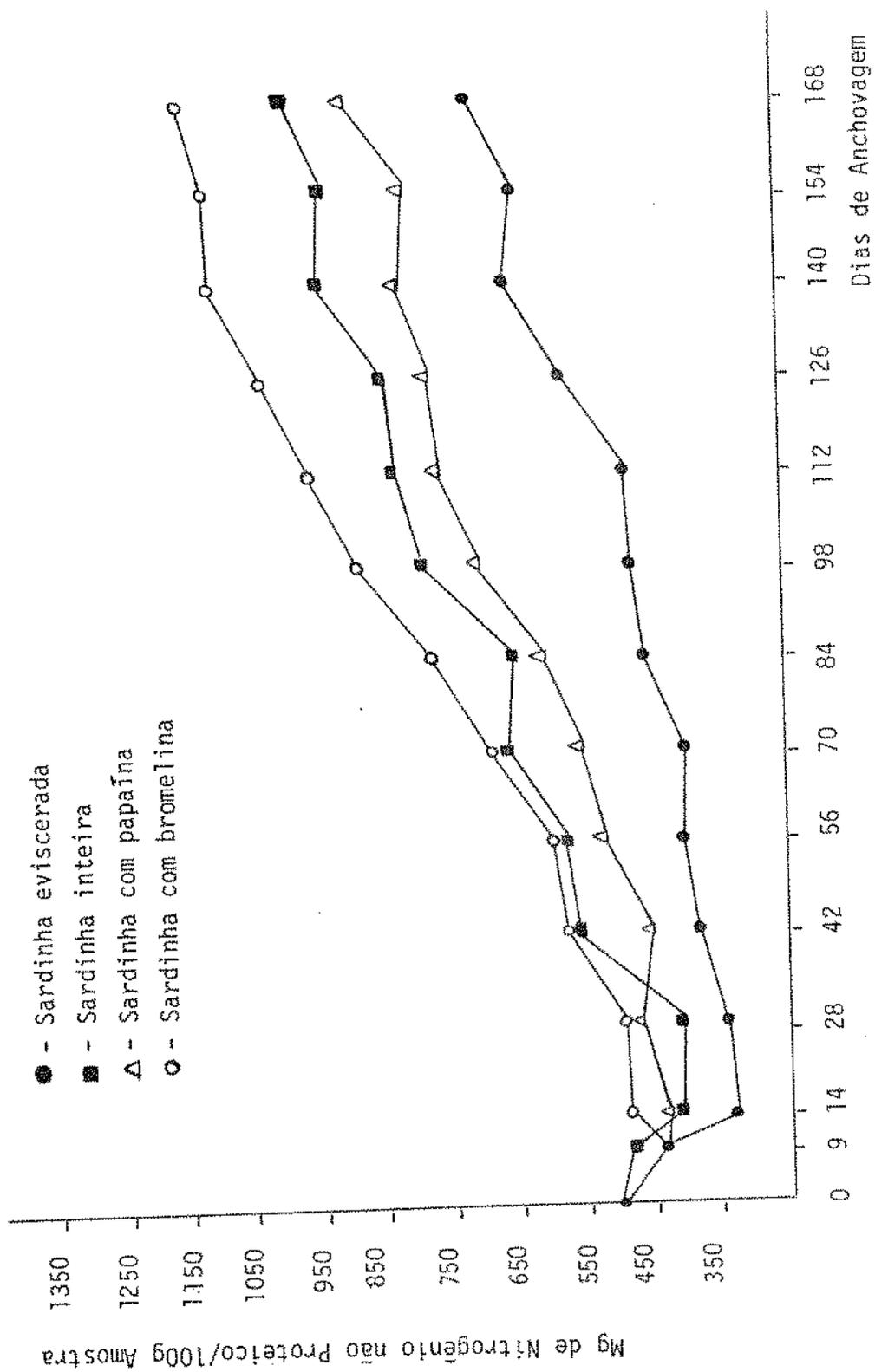


FIGURA Nº 12 Variação do nitrogênio não proteico durante a maturação de sardinha anchovada

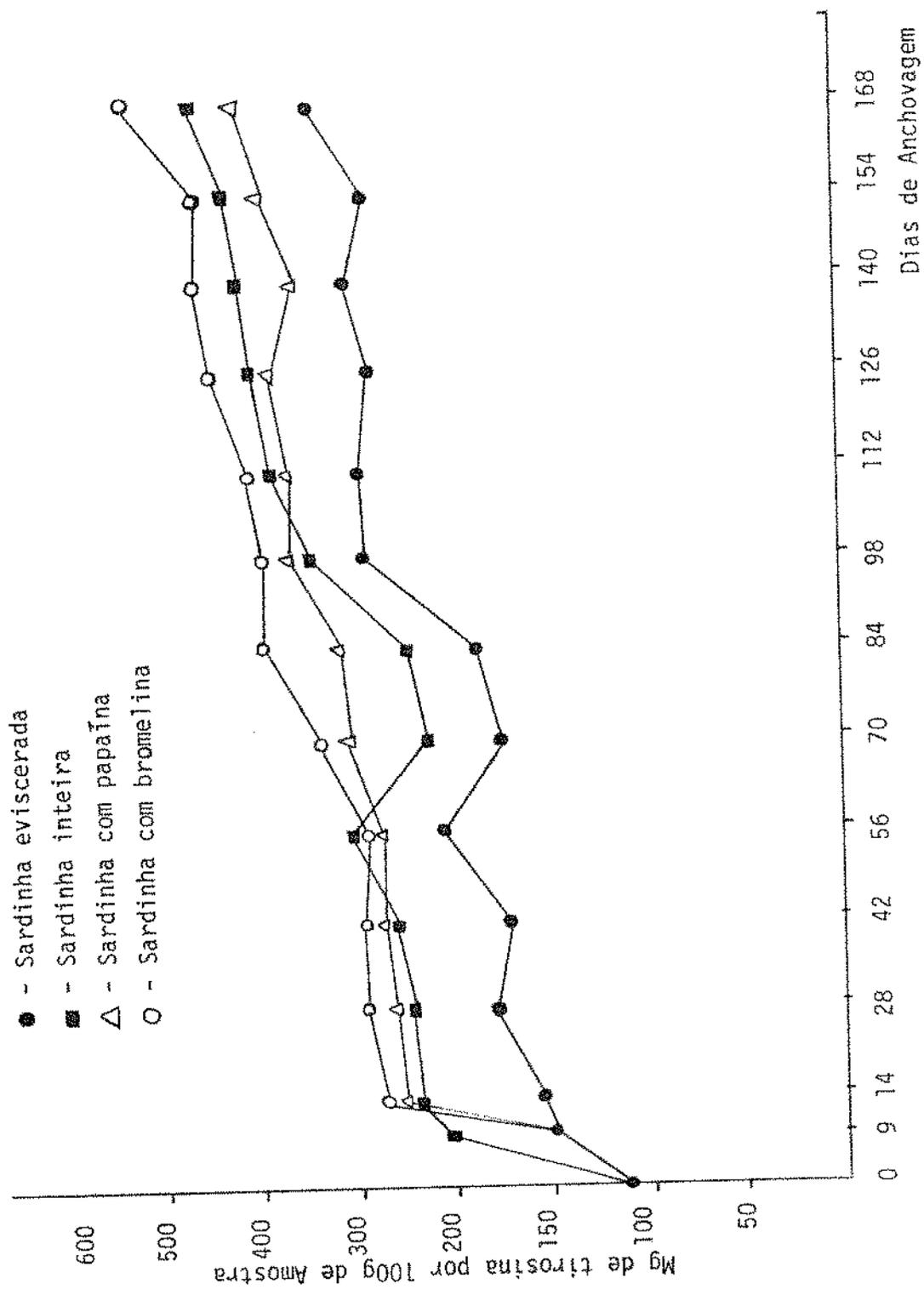


FIGURA Nº 13 Variação do teor de tirosina durante a maturação de sardinha anchovada

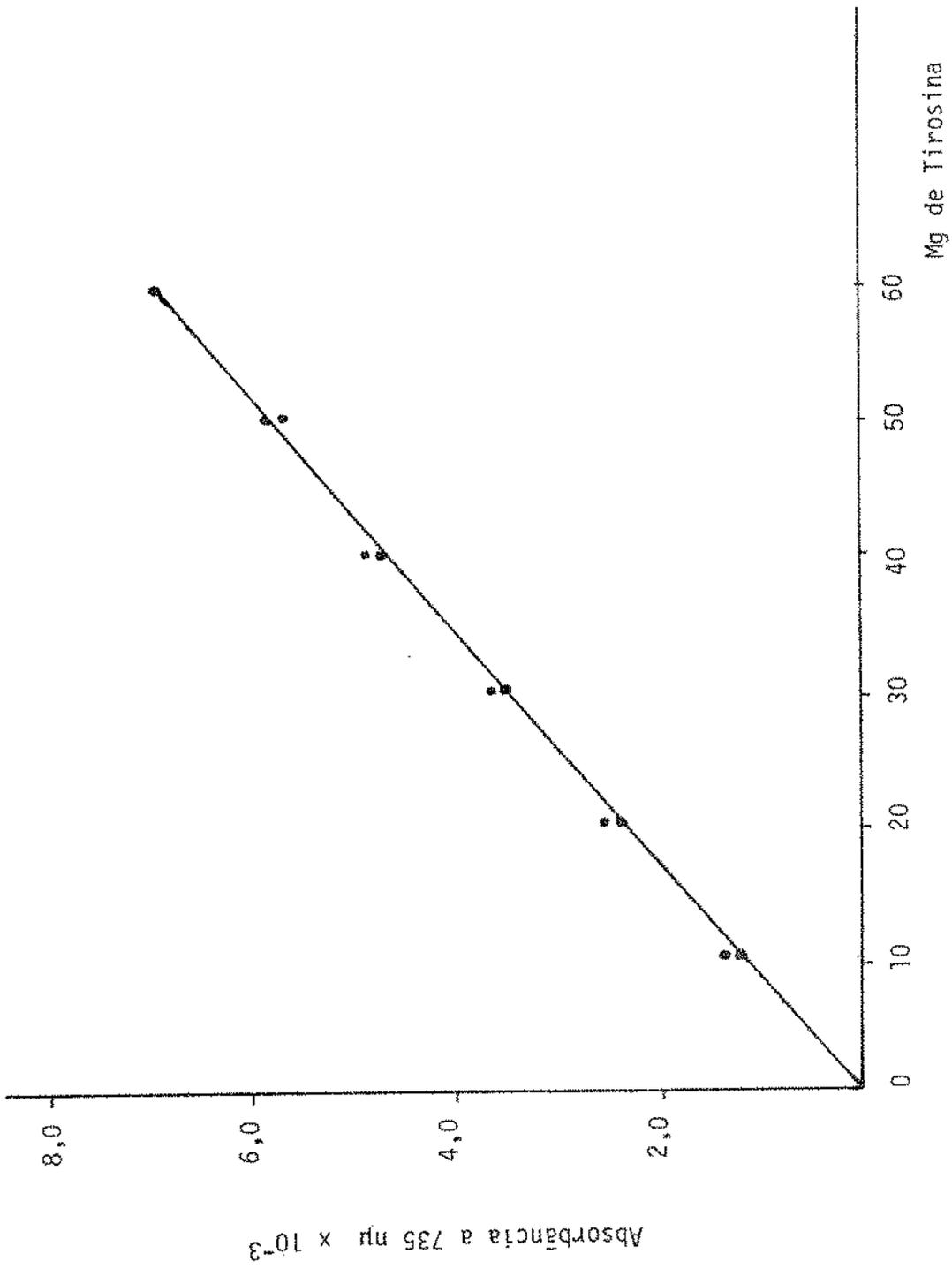


FIGURA Nº 14 Curva padrão de tirosina

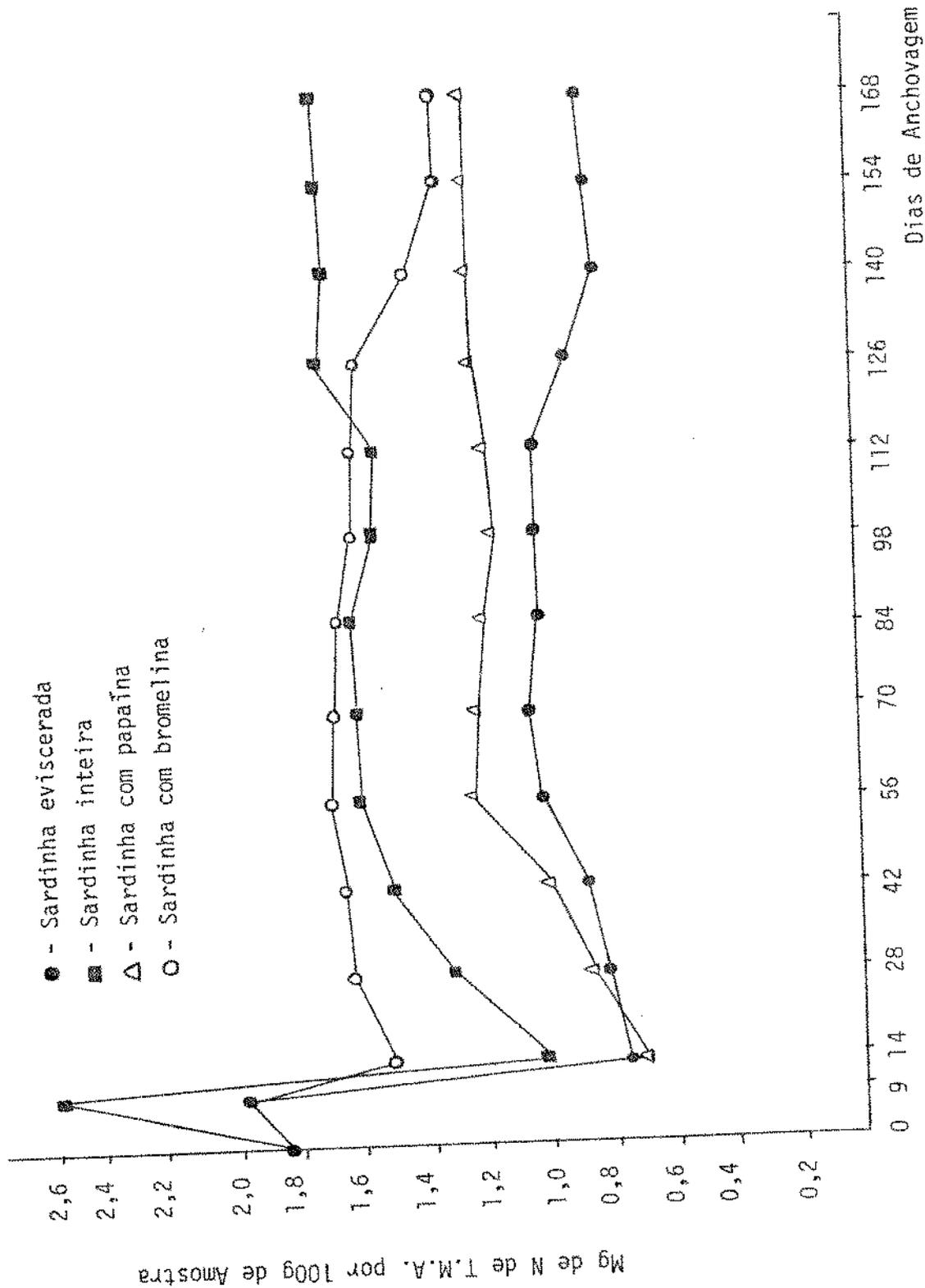


FIGURA Nº 15 Variação do teor de trimetilamina durante a maturação de sardinha anchovada

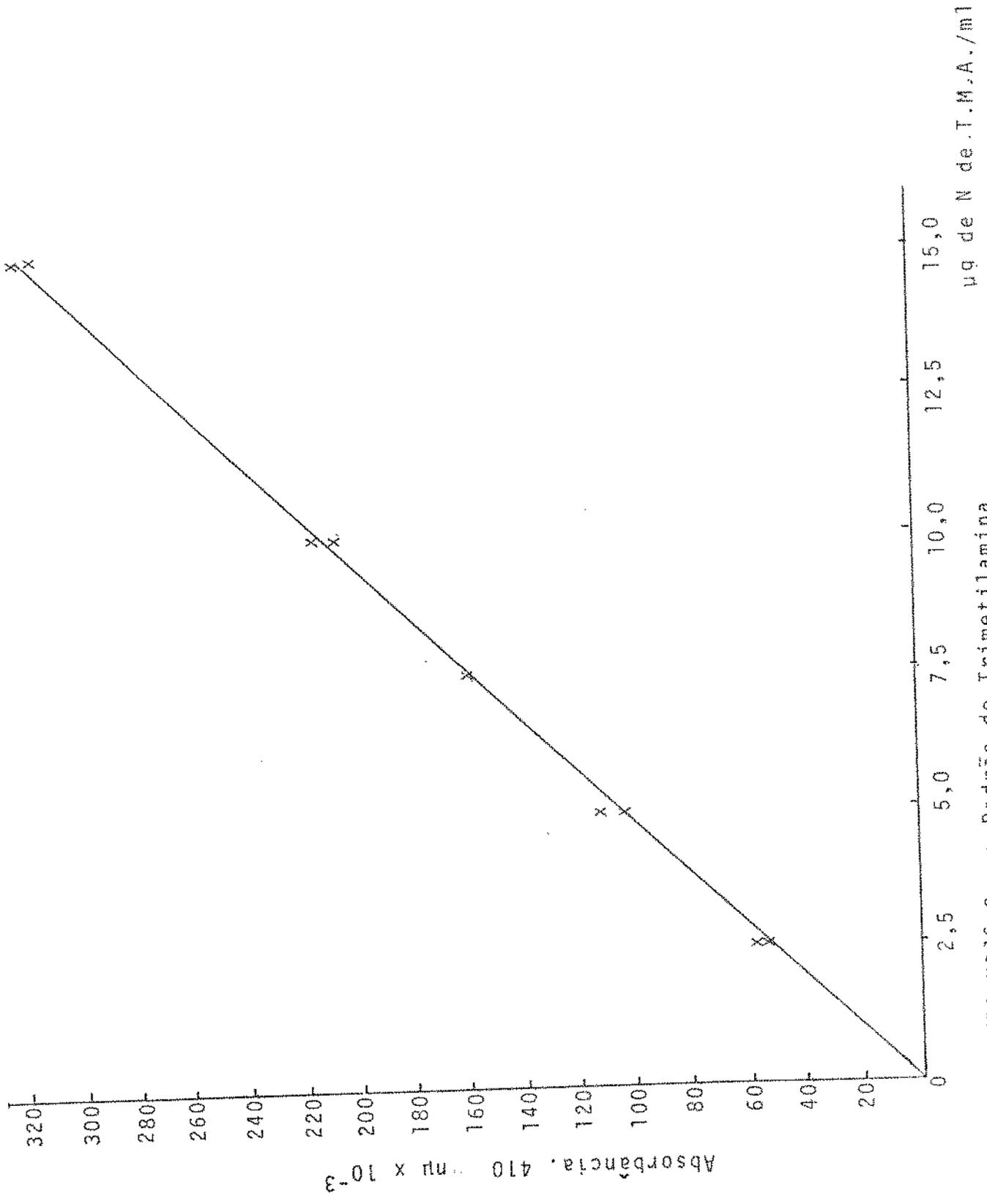


FIGURA Nº16 Curva Padrão de Trimetilamina

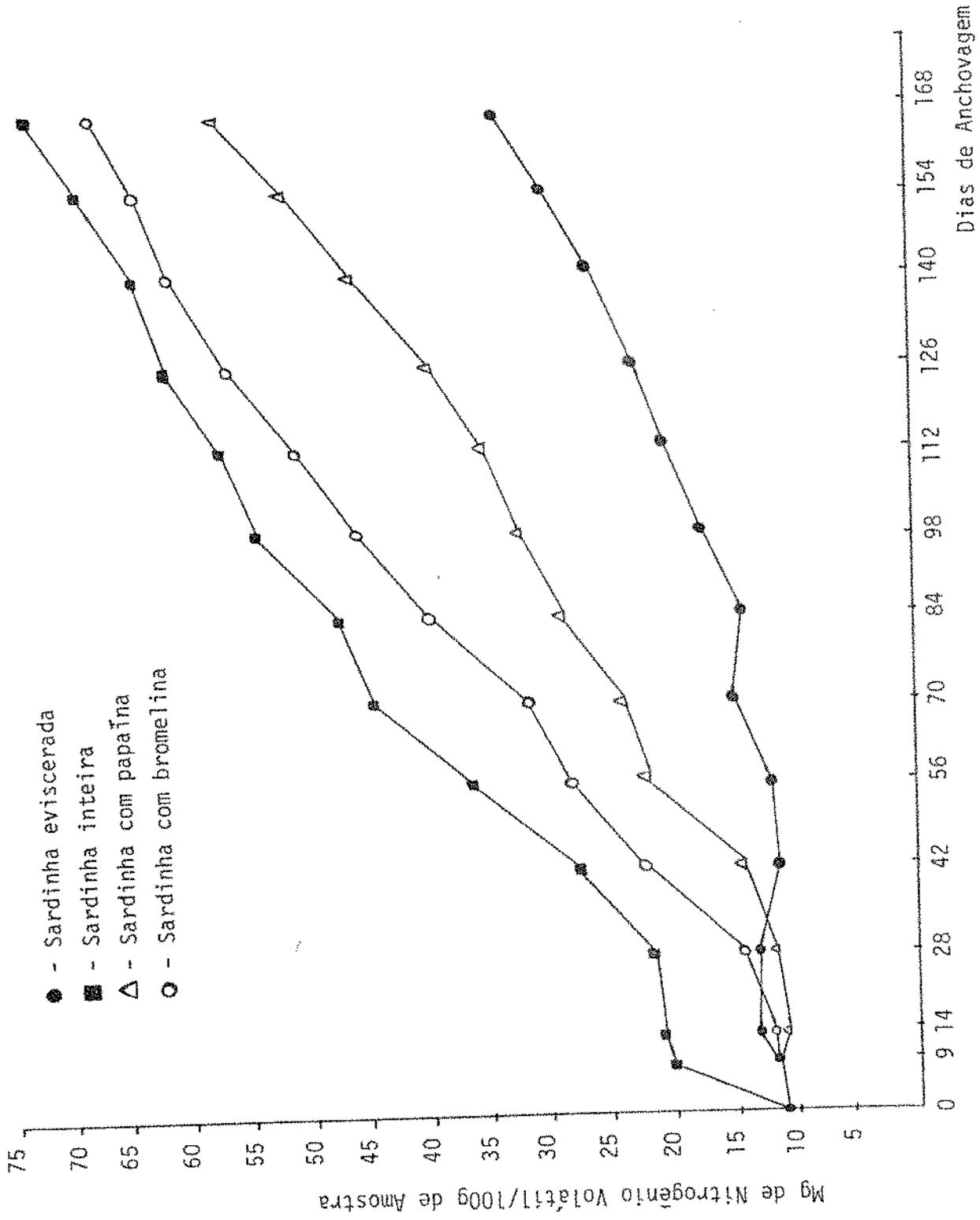


FIGURA Nº17 Variação das bases nitrogenadas voláteis durante a maturação de sardinha anchovada

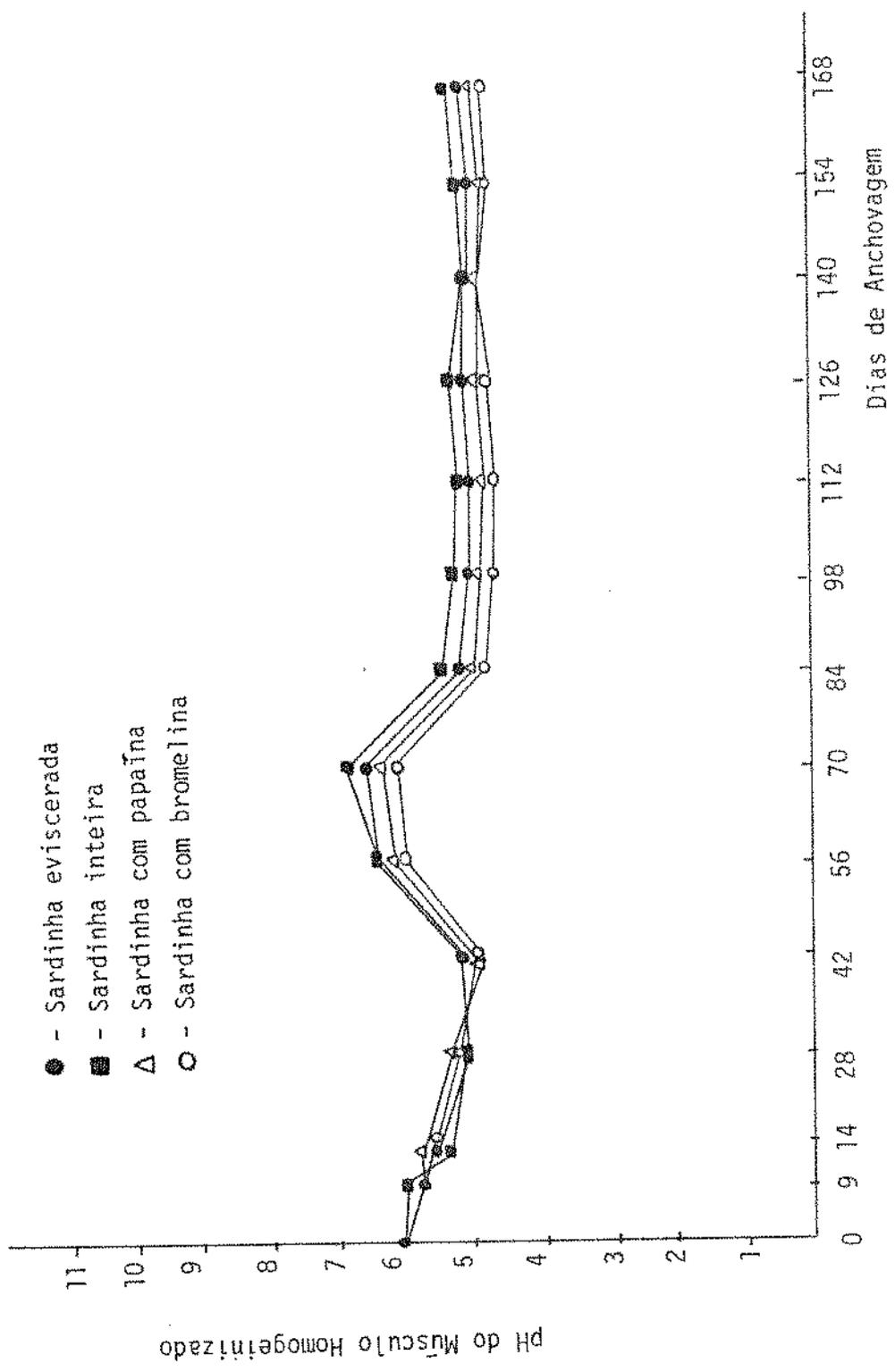


FIGURA Nº 18 Variação do pH durante a maturação de sardinha anchovada

Dias	Número de microorganismos por grama de amostra					
	Sardinha Eviscerada			Sardinha Inteira		
	CTM	CTP	CTH	CTM	CTP	CTH
0	$6,5 \cdot 10^6$	-	-	$6,5 \cdot 10^6$	-	-
9	$3,5 \cdot 10^4$	$4,9 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^4$	$5,9 \cdot 10^4$	$2,9 \cdot 10^2$
14	$3,3 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^4$	$2,9 \cdot 10^3$	$8,3 \cdot 10^4$	$8,5 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$
28	$5,7 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^2$	$5,1 \cdot 10^3$	$9,1 \cdot 10^3$	$5,4 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^3$
42	$4,7 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^3$	$3,8 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^4$	$3,8 \cdot 10^2$
56	$3,2 \cdot 10^2$	$4,8 \cdot 10^3$	$5,6 \cdot 10^2$	$8,1 \cdot 10^3$	$5,9 \cdot 10^3$	$4,8 \cdot 10^2$
70	$8,1 \cdot 10^2$	$4,9 \cdot 10^3$	$5,6 \cdot 10^2$	$9,1 \cdot 10^3$	$8,4 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^2$
84	$6,2 \cdot 10^2$	$4,9 \cdot 10^2$	$5,4 \cdot 10^2$	$6,4 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^2$
98	$1,5 \cdot 10^2$	$1,9 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^2$	$6,0 \cdot 10^3$	$4,9 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^2$
112	$2,2 \cdot 10^2$	$4,4 \cdot 10^3$	$3,9 \cdot 10^2$	$5,4 \cdot 10^3$	$4,4 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^2$
126	$5,6 \cdot 10^2$	$3,2 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^3$	$4,9 \cdot 10^3$	$4,1 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^2$
140	$4,8 \cdot 10^2$	$4,4 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^3$	$4,8 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^2$
154	$5,7 \cdot 10^2$	$4,1 \cdot 10^3$	$4,8 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^3$	$3,4 \cdot 10^2$
168	$4,1 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^3$	$4,1 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^2$

Quadro nº 6 - Variação do número de microorganismos durante a maturação de sardinha anchovada.

Dias	Número de microorganismos por grama de amostra					
	Sardinha com Papaína			Sardinha com Bromelina		
	CTM	CTP	CTH	CTM	CTP	CTH
0	$6,5 \cdot 10^6$	-	-	$6,5 \cdot 10^6$	-	-
9	$6,3 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^3$	$3,6 \cdot 10^3$	$3,8 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^4$	$10,0 \cdot 10^2$
14	$4,3 \cdot 10^2$	$1,9 \cdot 10^3$	$3,4 \cdot 10^2$	$4,1 \cdot 10^3$	$9,0 \cdot 10^3$	$10,0 \cdot 10^2$
28	$8,9 \cdot 10^3$	$7,4 \cdot 10^2$	$9,2 \cdot 10^2$	$1,2 \cdot 10^4$	$5,4 \cdot 10^4$	$4,0 \cdot 10^3$
42	$6,0 \cdot 10^3$	$6,0 \cdot 10^3$	$8,1 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$	$7,4 \cdot 10^2$
56	$5,9 \cdot 10^3$	$7,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^2$	$4,5 \cdot 10^4$	$15,0 \cdot 10^3$	$7,2 \cdot 10^2$
70	$5,0 \cdot 10^3$	$7,9 \cdot 10^2$	$8,1 \cdot 10^2$	$5,5 \cdot 10^4$	$9,0 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^2$
84	$6,2 \cdot 10^2$	$2,2 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^4$	$3,8 \cdot 10^4$	$9,3 \cdot 10^2$
98	$4,9 \cdot 10^3$	$5,6 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^2$	$9,0 \cdot 10^3$	$9,0 \cdot 10^3$	$4,1 \cdot 10^2$
112	$6,0 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^2$	$8,9 \cdot 10^2$	$4,5 \cdot 10^3$	$5,6 \cdot 10^3$	$10,0 \cdot 10^2$
126	$6,1 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^2$	$8,1 \cdot 10^3$	$4,9 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^2$	$11,9 \cdot 10^3$
140	$5,0 \cdot 10^3$	$4,8 \cdot 10^2$	$8,9 \cdot 10^3$	$4,1 \cdot 10^3$	$4,1 \cdot 10^2$	$9,0 \cdot 10^3$
154	$6,5 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^2$	$8,1 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^2$	$8,0 \cdot 10^3$
168	$6,6 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^2$	$9,0 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^2$	$9,0 \cdot 10^3$

Quadro nº 7 - Variação do número de microorganismos durante a maturação de sardinha anchovada.

Para teste F temos

- F. tratamento = 2,90

- F. blocos = 2,90

- F. interações = 2,19

onde:

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	3	0,062	0,021	0,141 < 2,90 não significativo
Blocos	3	0,729	0,243	1,664 < 2,90 não significativo
Interações	9	1,021	0,113	0,776 < 2,19 não significativo
Resíduo	32	4,667	0,146	-
Total	47	6,479	-	-

Quadro nº 8 - Análise de variância referente ao aspecto geral da sardinha submetida ao processo de anchovagem.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Tratamentos	3	5.0625	1.6875	3.52 > 2,90 signif. *
Blocos	3	0.5625	0.1875	0.391 < 2,90 não signif.
Interações	9	0.8541	0.0949	0.198 < 2,19 não signif.
Resíduo	32	15.3344	0.4792	-
Total	47	21.8125	-	-

Quadro nº 9 - Análise de variância referente ao aspecto cor da sardinha submetida ao processo de anchovagem.

Realizando-se o teste de média (teste de TUKEY) para encontrar quais os contrastes de médias 2 a 2 são significativos temos: Valor crítico:  $\Delta = 0,673$

Tratamento	Médias
1-SE	2.583
2-SI	3.083
3-SP	2.250
4-SB	2.333

Comparações: O tratamento 2- SI, de maior média faz os seguintes contrastes com os demais:

$$|SI - SE| = 0,5$$

$$|SI - SP| = 0,833 * > \Delta$$

$$|SI - SB| = 0,750 * > \Delta$$

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Tratamentos	3	17.75	5.917	6.604 > 2,90 signif.*
Blocos	3	1.083	0.361	0.403 < 2,90 não signif.
Interações	9	1.75	0.194	0.217 < 2,19 não signif.
Resíduo	32	28.667	0.896	
Total	47	49.25	-	-

Quadro nº 10 - Análise de variância referente ao aspecto textura da sardinha submetida ao processo de anchovagem

Realizando-se o teste de média temos: Valor crítico:

$$\Delta = 0,923$$

<u>Tratamento</u>	<u>Médias</u>
1-SE	1,833
2-SI	2,250
3-SP	3,083
4-SB	3,333

Comparações: O tratamento SB de melhor média, faz os seguintes contrastes com os demais:

$$\begin{aligned} |SB - SP| &= 0,25 \\ |SB - SI| &= 1,083 * > \Delta \\ |SB - SE| &= 1,5 * > \Delta \end{aligned}$$

<u>C.V.</u>	<u>G.L.</u>	<u>S.Q.</u>	<u>Q.M.</u>	<u>F.</u>
Tratamentos	3	14.167	4.722	5.529 > 2,90 signif.*
Blocos	3	0.834	0.278	0.326 < 2,90 não sig.
Interações	9	1.333	0.148	0,173 < 2,19 não sig.
Resíduos	32	27.333	0.854	-
Total	47	43.667	-	-

Quadro nº 11 - Análise de variância referente ao aspecto sabor.

No teste de médias temos:  $\Delta = 0,893$

Tratamento	Médias
1-SE	2,833
2-SI	3,333
3-SP	1,917
4-SB	2,250

Comparações: O tratamento SI de melhor média, faz os seguintes contrastes com os demais:

$$\begin{aligned}
 |SI - SE| &= 0,5 \\
 |SI - SB| &= 1,083 > \Delta \\
 |SI - SP| &= 1,416 > \Delta
 \end{aligned}$$

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	3	15,084	5,028	5,36 > 2,90 signif.*
Blocos	3	1,75	0,583	0,622 < 2,90 não sig.
Interações	9	3,083	0,343	0,366 < 2,19 não sig.
Resíduo	32	30,0	0,938	-
Total	47	48,867	-	-

Quadro nº 12 - Análise de variância referente ao aspecto:  
Odor.

Nos testes de média temos  $\Delta = 0,971$

<u>Tratamento</u>	<u>Médias</u>
1-SE	2,75
2-SI	3,333
3-SP	1,833
4-SB	2,250

Comparações: O tratamento SI de melhor média, faz os seguintes contrastes com os demais.

$$\begin{aligned}
 |SI - SE| &= 0,583 \\
 |SI - SB| &= 1,083 \quad * > \Delta \\
 |SI - SP| &= 1,5 \quad * > \Delta
 \end{aligned}$$

## 5. Discussão

Os valores da composição química do Quadro nº 3 concordam com os resultados obtidos por WATANABE (61) e RIOS (51), que trabalharam com a mesma espécie.

Pequenas diferenças na composição são devidas a variações sazonais.

Os rendimentos do pescado do quadro nº 4 permitem concluir que a anchovagem tem rendimentos satisfatórios, ao redor de 40 por cento. O rendimento da sardinha anchovada inteira foi menor devido a maior hidrólise observada na região abdominal. O uso de papaína e bromelina não teve efeito significativo no rendimento. Verifica-se que são necessários 10 quilos de pescado inteiro para se obter quatro quilos de carne anchovada. Este valor não inclui as perdas por aparamento ou aprimoramento que podem ser estimadas em torno de 10 por cento de anchovado bruto.

Da figura nº 3 deduz-se que de 0,8 por cento de cloreto de sódio correspondente ao peixe fresco, ascende-se um valor em torno de 15 por cento na sardinha eviscerada e 13 por cento na sardinha inteira nos primeiros nove dias (etapa de salga). No nono dia de salga, ocasião em que a salmoura saturada foi substituída por salmoura de 25 por cento, ocorreu reequilíbrio, ficando o teor de sal ao redor de 12,5 por cento. Esse valor se mantém sem grandes variações atra-

vês do período de cura. Uma vez que o teor de água se manteve em torno de 40 por cento, a concentração da salmoura interna do pescado está nos limites de saturação. Pode-se concluir que o equilíbrio osmótico foi obtido logo nos primeiros dias de maturação.

No que diz respeito a variação de umidade, nota-se na figura nº 4 que existe uma brusca diminuição no início do processo de salga, que é explicada pela desidratação provocada pelo sal e pela prensagem que é submetido o peixe. Logo após, na etapa de maturação, verifica-se que persiste uma diminuição gradual da percentagem de água até o fim da anchovagem.

Quanto a variação das proteínas totais, exposta na figura nº 5, comprova-se que após a diminuição inicial devido à saída de proteínas sarcoplasmáticas, observa-se uma estabilização. Poder-se-ia esperar que acontecesse uma diminuição já que os processos de hidrólise continuam a atuar, mas considerando que o teor de água também diminui, ocorre uma compensação até o fim do processo.

O teor de minerais (incluindo cloreto de sódio), mostrado na figura nº 6, tem um aumento acentuado devido a penetração do sal, diminuindo a partir do nono dia, fato que coincide com a mudança da salmoura. Daí eleva-se gradualmente e se estabiliza no decorrer do processo de anchovagem, refletindo o comportamento do cloreto de sódio.

Na figura nº 7 nota-se que a gordura extractável acom-

panha a tendência das proteínas e umidade, isto é, a maior diminuição ocorre nos primeiros dias da etapa de salga. Essa gordura aparece na superfície da salmoura saturada, por efeito da prensagem. Esta prensagem é necessária para evitar que o peixe flutue na salmoura de maior densidade que ele, o que acarretaria a rancificação. No decorrer da maturação não houve variações importantes do teor de gordura.

No quadro nº 5 aparecem os resultados da análise dos lipídios totais, necessária aos testes de deterioração da gordura. Tais lipídios não devem ser aquecidos nem injuriados pelo processo de extração. É interessante notar que os valores obtidos pelo método de Bligh e Dyer são algo superior aos obtidos pela extração com éter etílico em Soxhlet.

O aumento progressivo dos ácidos graxos livres mostrado na figura nº 8 é a soma das atividades das lipases lisossômicas e das lipases de origem microbiana. Nenhuma delas pode ser completamente inativada nas condições do processo de anchovagem. Sabe-se que as lipases atuam ainda em sistemas alimentares com atividade de água de 0,15 e os ácidos graxos liberados são importantes porque conferem sabores estranhos lembrando sabão; além do que parecem ser oxidados mais rapidamente que os triglicerídios. A variação do teor de ácidos graxos livres durante a maturação não foi muito diferente nas quatro preparações da sardinha.

A figura nº 9 mostra as flutuações do Índice de peróxidos. Nota-se um aumento contínuo deste índice através da ma

turação, porém os valores no final da anchovagem estão ainda abaixo dos valores críticos que se manifestam por alterações importantes de odor e sabor. Em produtos marinhos valores de peróxidos de 20 miliequivalentes por quilo de gordura são considerados aceitáveis.

As curvas não apresentam a forma típica dos peróxidos que tem um valor máximo e logo decrescem. Aparentemente os peróxidos estão na faixa de formação, não atingindo ainda a fase de decomposição.

A determinação do índice do ácido tiobarbitúrico apresentada na figura nº 10 tem utilidade porque está relacionada com o grau de rancificação. Neste gráfico se observa que, após atingir um valor máximo no último dia da etapa de salga, apresentou-se numa contínua diminuição. A preparação com sardinha inteira foi a que manteve os índices de TBA mais elevados, porém sempre que pouco significativos quando comparados com valores encontrados normalmente em pescado salgado. Possivelmente os compostos que reagem com o ácido tiobarbitúrico que são de estrutura semelhante ao aldeído malônico se formam, porém foram carregados pela salmoura, já que são parcialmente solúveis em água.

A figura nº 11 mostra as flutuações da solubilidade das proteínas em NaCl 0,6 N durante o processo de anchovagem. A solubilidade diminui sensivelmente pelo efeito da salga, quando este valor é comparado com a percentagem da solubilidade da amostra fresca (não salgada). Após o período de

salga, a solubilidade das proteínas continua a diminuir chegando a valores mínimos na quarta semana do processo. Nesta fase, pode-se considerar que a proteína muscular é quase 100 por cento insolúvel. A partir desse momento o material protéico solúvel começa a se formar, por efeito da hidrólise das proteínas, atingindo na décima semana o valor de 1,4g de proteína solúvel por 100 gramas de sardinha inteira. Nas semanas seguintes não foram observadas grandes mudanças na solubilidade, mantendo-se a mesma ordem de grandeza entre as quatro preparações, isto é, preparação da sardinha com bromelina com o valor mais alto, seguida da sardinha inteira, sardinha tratada com papaína e finalmente sardinha eviscerada.

Os valores da variação do nitrogênio não-protéico apresentados na figura nº 12 sofrem uma redução devida à exsudação de seus constituintes e troca de salmoura, no nono dia. A partir dessa fase, os valores de nitrogênio não-protéico exprimem valores sempre crescentes. FERREIRA et alii (28), em estudos sobre importância da fração nitrogenada não-protéica em pescado fresco, verificou que representam cerca de 11 a 20 por cento do nitrogênio total, sendo constituída na maior parte de intermediários do metabolismo protéico (amônia, ácidos aminados livres, polipeptídeos, amins de ácidos aminados, creatina, purinas, uréia, creatinina, ácido úrico, etc...). O aumento progressivo do teor de nitrogênio não protéico, significa uma demolição progressiva da molécula

la proteica. Isto comprova os dados de RIBEIRO (50) quando relata que o nitrogênio não-proteico não é indicado como avaliador do índice de frescura, mas tem importância para avaliação do processo de cura do pescado anchovado. MATTOS (44) observa que sua determinação resulta num índice para julgar as condições de conservação do produto, assim como o tempo de maturação. Para esse autor, a maturação é considerada completa quando alcança 33 por cento de nitrogênio não-proteico por nitrogênio total do músculo. Nosso experimento demonstra que a sardinha tratada com bromelina atinge mais rapidamente o valor de 33 por cento sugerido por MATTOS (44). Esse valor ocorre na 18<sup>a</sup> semana. O pescado inteiro atinge um valor próximo a 33 por cento na 20<sup>a</sup> semana, e as outras preparações não atingiram esse valor ainda na última semana de controle. Nossa experiência nos permite concluir que a escolha de um parâmetro único, por exemplo, teor de nitrogênio não-proteico não fornece indicação suficiente, uma vez que o produto pode estar pronto em termos de textura, porém a cor e o aroma podem ser ainda insuficientes.

A figura nº 13 mostra a variação do teor de tirosina, âcido aminado que está relacionado com a hidrólise das proteínas. LUIJPEN citado por MATAFOME (43), relata que a tirosina, trimetilamina e amônia permitem fazer uma avaliação do grau de maturação do pescado anchovado. Relata também que estes valores são difíceis de se estabelecer. O teor de tirosina cresce sempre até o 168º dia de cura. Nesta fase o

valor de tirosina para o produto tratado com bromelina é 530mg/100 g de amostra, seguido da sardinha inteira com 450mg/100g de amostra. No produto apenas eviscerado o valor de tirosina atingiu 330mg/100 gramas de amostra. Pode-se considerar que estes valores são representativos de produto já acabado.

A figura nº 15 mostra as variações de trimetilamina ao longo do experimento de anchovagem. Observa-se que após terminar a salga no nono dia, o valor de trimetilamina desce bruscamente. Supõe-se que isto ocorre apenas pela troca de salmoura que carrega a TMA dos tecidos para o meio líquido fresco. A partir desta fase pode-se notar que a TMA não sofreu muita variação, permanecendo bem definido, indicando que os mecanismos de redução do óxido de trimetilamina, o precursor da trimetilamina tenham sido inativados. Esses mecanismos podem ser microbiológicos ou enzimáticos. Visto que alguns microorganismos halófilos se desenvolvem normalmente nas salmouras de maturação, conclui-se que eles não tem capacidade de reduzir o TMAO. Geralmente na deterioração do pescado fresco um aumento de TMA corresponde a um aumento das bases voláteis totais, relação que não foi observada no processo de cura. Segundo a legislação brasileira o valor máximo permitido para peixe cru é de 4 mg de N de TMA/100g de pescado.

A figura nº 17 mostra os valores da variação das bases voláteis totais. Sabe-se que o nitrogênio volátil total é

um dos produtos resultantes da decomposição proteica. Para produtos elaborados, o limite máximo assinalado está em torno de 60mg de N/100g de amostra na regulamentação de alguns países. A legislação brasileira estabelece que o teor de bases voláteis totais para o pescado fresco deve ser inferior a 30 mg de N/100g de amostra. Todavia, a legislação brasileira não cita os valores que serviriam para a caracterização dos produtos elaborados, que é o nosso caso, e que geralmente são mais elevados pelo efeito do processamento. As quatro preparações de sardinha mostraram diferenças importantes na evolução das bases voláteis. A sardinha eviscerada tem o menor acréscimo de base volátil durante a maturação, enquanto que a sardinha inteira mostra um aumento contínuo destes compostos, duplicando no final do processo o valor observado na amostra eviscerada. O uso das enzimas comerciais papaína e bromelina para acelerar a maturação refletiu-se numa aceleração da formação de bases nitrogenadas voláteis. Os teores altos de BVT observado no processo de anchovagem não devem ser considerados como critérios negativos do estado sanitário, já que a putrefação estava inibida pelo teor de sal do meio. No entanto deve-se considerar como produtos secundários próprios da hidrólise proteica, que é necessária para desenvolver as características desejáveis do anchovado. No produto anchovado inteiro (com vísceras), a maturação é mais rápida devido a atividade das proteases neutras do aparelho digestivo. No produto eviscerado são cons

tam os sistemas de proteases musculares que tem menor atividade em pH neutro.

A figura nº 18 mostra a variação do pH durante o processo de anchovagem. Na sardinha fresca foi de 6,2 e nos primeiros dias de salga, diminui até o valor mínimo de 5,0 após seis semanas. Este fenômeno coincidiu com o período de solubilidade mínima das proteínas, isto é, de capacidade tampão mínimo do sistema. Quando a solubilidade das proteínas aumenta, o pH refletiu essa capacidade tampão elevando-se para 6,9 na amostra de sardinha inteira. Após esta fase de elevação, o pH desceu novamente, mantendo-se ao redor de 5,0 até o último dia de maturação. Esta diminuição é de difícil explicação, podendo ser atribuída a formação progressiva de ácidos orgânicos que mascaram o efeito de neutralização devido ao aumento de proteólise.

O exame do quadro nº 6 mostra que por efeito da salga, as contagens totais de mesófilos da sardinha inteira desceram de  $10^6$  para  $10^4$  microorganismos por grama de produto. Valores semelhantes foram encontrados para as outras três operações. Na maturação as contagens de mesófilos mantiveram-se baixas, em torno de  $10^3$  microorganismos por grama de produto, o mesmo acontecendo para as psicrófilas. As contagens de halófilos mantiveram-se quase constantes nas amostras de sardinha tratada com bromelina e sardinha inteira. Entretanto, constatou-se um leve aumento nas preparações com papaína e sardinha eviscerada. Em qualquer caso, os valores de

halófilos aqui reportados são baixos, acusando provavelmente, boa qualidade do sal empregado no experimento. Apesar das contagens de microorganismos serem reduzidas, não se pode concluir que sua influência seja desprezível na modificação do pescado, já que as enzimas por eles secretadas devem ser de natureza halofílica, sendo efetivas ainda em concentrações elevadas de cloreto de sódio.

A análise de variância apresentada no quadro nº 8 mostra que não existe variações referente ao aspecto da sardinha submetida a anchovagem.

No quadro nº 9, referente a cor do pescado submetido ao processo de anchovagem, verifica-se uma média significativamente melhor para a sardinha inteira.

O teste de textura do pescado mostra no quadro nº 10, que a sardinha tratada com bromelina é significativamente melhor que a sardinha anchovada inteira e eviscerada.

Nos testes de sabor e odor mostrados no quadro nº 11 e 12 respectivamente, verificou-se que o pescado anchovado inteiro apresenta-se significativamente melhor que as outras três preparações.

## 6. Conclusão

A sardinha (*Sardinella brasiliensis*) é uma matéria prima adequada para obter anchovados de alta qualidade.

As primeiras características organolépticas de produto anchovado foram detectadas após dez semanas, sendo máximas e generalizada após 24 semanas de anchovagem.

A preparação de sardinha inteira maturou primeiro que as outras três preparações. A preparação de sardinha eviscerada sem adição de enzimas foi a última a apresentar características de anchovado.

O emprego das enzimas bromelina e papaína contribuíram para acelerar a maturação, porém foram menos efetivas que a preparação de sardinha inteira.

O melhor sabor e odor foram avaliados no produto de sardinha inteira. O sabor e odor mais pobre, foram nas preparações com enzimas.

A determinação de proteína solúvel em NaCl 0,6 N e nitrogênio não proteico, foram os testes que melhor definiram o aparecimento das características texturiais de anchovado, porém, o produto com textura satisfatória era pobre em aroma, sabor e cor que se intensificaram posteriormente.

Os valores do índice de peróxidos, ácidos graxos livres e ácido tiobarbitúrico, demonstram que as deteriorações lipídicas não foram críticas até o final do processo.

A avaliação do estado sanitário pelos testes de trimetilamina e contagens microbiológicas mostram que as ações as sociadas à putrefação permaneceram inibidas no decorrer da maturação.

Anexo nº 1

Sistema para a Avaliação das Características Organolépticas de Pescado Fresco (branco e escuro).

a) Superfície e consistência

Superfície lisa, brilhante, de espelho, cor luminosa, mucilago claro e transparente. Consistência firme e elástica sob pressão dos dedos ..... 4 pontos

Superfície aveludada e sem brilho; cor ligeiramente pálida; mucilago leitoso e opaco. Consistência um pouco relaxada e elasticidade diminuída ..... 3 pontos

Superfície granulosa; cor pálida; mucilago cinza amarelado e denso. Consistência relaxada; escamas facilmente separada da pele.. 2 pontos

Superfície muito granulosa; cor ã sujo e imprecisa, mucilago turvo, amarelado ou marrom, grumoso. Consistência branda. Se deixam impressos os dedos ..... 1 ponto

b) Olhos

Globo ocular inchado e abombado; cornea clara e brilhante; pupila negra escura ... 4 pontos

Globo ocular plano; cornea opalescente, pupila opaca ..... 3 pontos

Globo ocular afundado, cornea aquosa e turva, pupila cinzento, leitosa ..... 2 pontos

Globo ocular contraído, cornea turva, pupila opaca, coberta de mucilago turvo cinza amarelado ..... 1 ponto

c) Brânquias

Cor vermelho sanguíneo, mucilago claro, transparente e filamentososo ..... 4 pontos

Cor rosa pálido, mucilago opaco ..... 3 pontos

Cor vermelho escuro e aquoso, mucilago leitoso, turvo e denso ..... 2 pontos

Cor a sujo, marrom avermelhado, mucilago turvo acinzentado e grumoso ..... 1 ponto

d) Cavidade abdominal e órgãos

Superfície de corte dos lóbulos ventrais com cor natural, sem descoloração, lisa e brilhante, peritônio liso, brilhante e muito firme, rins, restos orgânicos (exceto partes do estômago e intestino), assim como o sangue da aorta de cor vermelha ..... 4 pontos

Superfície de corte dos lóbulos ventrais aveludada e sem brilho, zona roxa ao longo da espinha central, rins e restos orgânicos vermelho pálido, sangue pálido, como laca ..... 3 pontos

Superfície de corte dos lóbulos ventrais amarelecida, peritônio granuloso, áspero, separáveis do corpo, rins, restos orgânicos turvos e pastosos, sangue aquoso de cor marrom sujo, com tonalidade violeta ..... 1 ponto

e) Odor tem-se que percebê-lo na superfície do pescado, brânquias, cavidade abdominal e musculatura.

Fresco, como a água do mar ..... 4 pontos

Imediatamente não como a água do mar, porém fresco e específico ..... 3 pontos

Odor neutro ou ligeiramente ácido, parecido com leite ou cerveja ..... 2 pontos

Odor pesado, ranço, violento "ã pescado", de trimetilamina..... 1 ponto

Wittfogel, considera a classificação com base na pontuação obtida.

Qualidade extra..... 18 -20 pontos  
Boa qualidade ..... 13 -18 pontos  
Qualidade média ..... 08 -13 pontos  
Produtos recusáveis ..... menos de 08 pontos.

## 7. Bibliografia

1. ALM, F. Scandinavian anchovies and herring tidbits, In: BORGSTROM, G. Fish as food. London, Academic Press, 1965. v.3, cap. 6, p. 195-217.
2. ALMY, L.H. The role of the proteolytic enzymes in the decomposition of the herring. *Journal American Chemistry Society*, 48, 2136-46, Aug, 1926.
3. AOAC. Official methods of analysis, 10 ed. Washington, 1965.
4. AOACS. Method Cd 8-53. In: \_\_\_\_\_. American Oil Chemist's Society Official. 3 ed. Washington, 1964, v.1.
5. BAILEY, B. et alii. The autolysis of muscle of highly active and less active fish. *Biol. Bull.*, 83, p. 129, 1942.
6. BALDRATI, G. et alii. Tecnologia di trasformazione delle acciughe. *Industria Conserve*, 4 n° 4. p. 261-66. OTI-DIC, 1975.

7. BATE-SMITH, E.C. The physiology and chemistry of rigor-mortis, with special reference to aging of beef. *Adv. Food Research*, 1:1, 1948.
8. BAUGARTNER, J.G. & HERSON, A.C. *Conservas alimentícias: Fundamentos técnico-microbiológicos*. Zaragoza, Ac  
ria, 1959.
9. BLIGH, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37: 911-17, 1959.
10. BOTELHO, A.T. Alguns aspectos da conservação do peixe pelo sal e sua bacteriologia. *Boletim da Pesca*, Lis  
boa, (83), 1964.
11. \_\_\_\_\_. *Pescado salgado e seco*, Lisboa, 1965.
12. BOTELHO, A.T. & NORT, E. *Pescado salgado e seco no Bra*  
*sil. Programa de Pesquisas e Desenvolvimento Pesquei*  
*ro no Brasil*. Rio de Janeiro, 1974. (série doc. téc.  
nº 6).
13. BOURY, M. Les proteines, leur hidrolyses, proteases. *Revue de la Conserve*, Paris (7): 285, 1961.

14. BURKHOLDER, L. et alii. Fish fermentation. *Food Technology*, Chicago. 22, p. 1278-1284, Oct, 1968.
15. CASTELL, C.H. Current status of the T.M.A. test as a measure of spoilage in fish. *Fish. Res. Bd., Can.* Halifax, 1970.
16. CHEFTEL, H. The processing of the anchovy. In: BORGSTROM, G. Fish as food. London, Academic Press, 1965. V.3, cap. 7. p. 219-225.
17. CONNELL, J.J. Fish muscle proteins and some effect then on processing. In: SCHULTZ, H.W. & ANGLEMIER, A.F. Protein and the reactions. Westport, Avl, 1964. p. 225.
18. CREAN, P.B. The light pickle salting cod. *Journal Fish. Res. Bd. Can.*, Canadá. (18): 833, 1961.
19. CULTRERA, R. Changes in canned anchovies. *Industria Italiana Conserve Aliment.*, Italia (9): 31, 1934.
20. CUMMINS, A. Semi-preservacion. Chile, Universidad Católica del Valparaíso, s.d.
21. DEL VALLE, F.R. & NICKERSON, J.T.R. Studies on salting

- and drying fish: II - Dynamics aspects of the salting of fish. *Journal of Food Sciences*. Chicago 32: 218-224, 1967.
22. DIAS CORREIA, A.A. Contribuição para o estudo do índice de frescura em alimentos carneos. Lisboa, I.N.I.P., 1965.
23. DOLLAR, A.M. & BLACKWOOD, C.M. Endogenous proteolytic and their action on water soluble fish tissue proteins. In: EIRIK, H. Fish in Nutrition. London, Fishing News. 1962. p. 83-85.
24. DYER, W.J. Amines in fish muscle: I - Colorimetric determination of TMA as the picrate salt. *Journal Fish. Res. Bd. Can. Canadá*, 6: 351-8, 1945.
25. DYER, W.J. & DINGLE, J.R. Fish protein with special reference to freezing. In: BORGSTROM, G. Fish as food. London, Academic Press, 1965. 1: p. 275.
26. ERICHSEN, I. The microflora of semi-preserved fish. *Process. Biochemistry*, p. 21-28, Aug. 1973.
27. FAO. Código de práticas para el pescado salado. Roma, Fisheries Circular. 336, 1977.

28. FERREIRA, F.A. et alii. Contribuição para o estudo da alteração do peixe. Separata do *Boletim do Instituto Superior de Higiene Dr. Ricardo Jorge*. Lisboa, ano 7, nº 37.
29. GALVÃO, L.A.P. & BRANCO, A.A. Subsídios para o estudo da anchovagem. Lisboa, Instituto Português de Conservas de Peixe. (s.d.).
30. GIBBONS, N.E. The effect on the metabolism of halophilic bacteria. Ottawa, Division of applied Biology, National Research Council.
31. GUZMAN, E.C. Experiências de planta piloto no curso de tecnologia de produtos marinhos da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Apostila, Campinas, 1976.
32. JONES, N.R. Browning reaction in dried fish products. *Rec. Advances in Food Science*, London 2: 74. 1962.
33. KIMATA, M. The histamine problem. In: BORGSTROM, G. Fish as food. London, Academic Press, 1965. V.1. p. 329.
34. LEPIERRE, C. Anchovagem do Biqueirão. Lisboa, 1945.

35. LOVERN, J.A. The lipids of fish and changes occurring in them during processing and storage. In: EIRIK, H. Fish in nutrition: lipids and vitamins. London. Fishing News. 1962. p. 86-111.
36. LUDORFF, W. El pescado y sus productos. Zaragoza, Ed. Acríbia, 1963.
37. LUIJPEN, A. F.M.G. El efecto de la evisceracion parcial en la maturacion del arenque curado "Maatje". In:FAO. Extractos de la pesca mundial. Roma, nov./dic. 1959. p. 33.
38. LUPIN, H.M. Curso intensivo sobre tecnologia de elabora<sup>ç</sup>ão de produtos pesqueiros. São Paulo (s.e.) 1978. Centro Latino Americano de Capacitacion y Desarrollo de Empresas Alimentarias.
39. \_\_\_\_\_. Nitrosaminas en el pescado salado. *Pesca Mari<sup>na</sup>*, Flórida nº 4 V.30: 18-20, jul/ag. 1978.
40. MACKIE, I.M. Productos pesqueros fermentados. In: FAO. *Informes de Pesca nº 100*. Roma, 1971.
41. MARINI, W.G. & VIDAL, H.S. Estudio preliminar sobre a elaboracion de anchovas com *Engraulis ringens*. Chile, Universidade Católica de Valparaíso. 1974.

42. MARQUES, M. O processo industrial da anchovagem, Lisboa.  
(s.e.). 1951.
43. MATAFOME, M.L.R. Anchovagem do biqueirão. Lisboa, 1968.  
Estudos de Biologia, I.N.I.P. 4. maio 68.
44. MATTOS, S.A. et alii. Estudios sobre el empleo de la an  
chofta en la fabricacion de anchoas. Uruguay, Labo-  
ratorio Tecnologico del Uruguay, 1974.
45. OLCOTT, H.S. Oxidation of fish lipids. In: EIRIK, H.  
Fish in nutrition: lipids and vitamins. London.  
Fishing News. 1962. p. 112-116.
46. PANTALEON, J. Chemie et technologie des viandes; la sa -  
laison. *Industries Alimentaires et Agricole*, Paris,  
(5): 465-470, 1959.
47. PENCHALLA, K.R. et alii. Catheptic activity of fish mus-  
cle. *Journal Food Science*, Chicago, 37 : 643-648.  
1972.
48. REED, G. Enzymes in food processing. New York, Academic  
Press, 1966.
49. RIBEIRO, A.M. et alii. Indices de frescura das sardi -

nhas. Lisboa, I.N.I.P. 1963.

50. RIJAVEC, I. et alii. Contribuição ao conhecimento da biologia e dinâmica da sardinha (*Sardinella Brasiliensis*) em águas brasileira. Brasília, Programa de Pesquisas e Desenvolvimento Pesqueiro do Brasil, 1970 (série doc. ocasionais, 24).
51. RIOS, E.C. Variação estacional de composição química do pescado. An. Assoc. Brasil. Química, 16 (1): 1-4. 1957.
52. SANTOS, E.P. & FRATZEN, F.M Growth of sardines: quantitative aspects. An. Acad. Bras. Ciênc., Rio de Janeiro, 37 (supl): 360-62. 1965.
53. SCOTLAND. TORRY RESEARCH STATION. *Annual reports*: 1961, 1962, 1963. Aberdeen, 1963.
54. SHEWAN, J. Common salt: its varieties and their suitability for fish processing. In: World fisheries year book, 1951. London, British Continental Trade Press, 1950.
55. SIEBERT, G. Enzymes of marine fish muscle and their role. In: EIRIK, H. Fish in nutrition. London, Fishing News, 1962. p. 80-82.

56. TRESSLER, D.K. Some considerations concerning the salting of fish. *U.S. Bull. Fisheries: Doc. 884.*
57. VAN KLAVEREN, A.W. & LEGENDRER, R. Salted cod. In: BORGSTROM, G. *Fish as food.* London, Academic Press, 1965. v.3. cap. 4, p. 195-217.
58. VAN VEEN, A.G. Fermented and dried sea food product in South-East Asia. In: BORGSTROM, G. *Fish as food.* London, Academic Press, 1965, v.3. cap. 4, p. 227-250.
59. VISCO, A. & FRATONI, A. Symposium Substances Estrangēers Alimentos. Microbial process and the preparation of fish sauces, 6 ed. Madrid, 1960.
60. VOSKRESENSKY, N.A. Salting of herring. In: BORGSTROM, G. *Fish as food.* London, Academic Press, 1965. v.3, cap. 3, p. 107-131.
61. WATANABE, K. Variations in chemical composition in some comercial fishes from the South of Brasil. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 29 (5): 469, 1963.
62. YU, I.C. & SINNHUEBER, R.O. Reactions of malonaldehyde with protein. *Journal of Food Science.*, 32: 104, 1967.

63. ZAITSEV, V. et alii. Salting and marinading. In: \_\_\_\_\_.  
Fish curing and processing. Moscow, Mir Publishers,  
1969. cap. 5, p. 198-256.

## Agradecimentos

Ao professor Dr. Ottílio Guernelli pela orientação deste trabalho.

Ao professor Dr. Emilio Contreras Guzman, por sua intensa colaboração.

Ao professor Hêlcio João Moreira da Silveira, Chefe do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFSC.

Ao professor Dr. Andre Tosello, Diretor da Faculdade - de Engenharia de Alimentos e Agrícola.

A Professora Dra. Maria Lucia Silva Setina e Prof. Roberto Luiz Carvalho pela computação dos dados estatísticos.

Ao Senhor Walmor Favretto, pela colaboração na parte experimental.

A todos que de uma forma ou de outra colaboraram no desenvolvimento deste trabalho.