

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

Parecer

Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida por Flávia Maria Netto e aprovada pela Comissão Julgadora em 04.09.84.

Campinas, 04 de setembro de 1984.



Presidente da Banca

MODIFICAÇÕES QUÍMICAS, BIOQUÍMICAS E
SENSORIAIS DO HÍBRIDO DE TILÁPIA ESTOCADO
EM GELO

EDISON J. GEROMEL
Orientador

FLÁVIA MARIA NETTO
Engenheira de Alimentos

11/84

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Campinas - São Paulo - 1984

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. E. J. Geromel pela orientação.

Ao Centro Regional Latino-Americano de Agricultura, Pirassununga, São Paulo, pela concessão das amostras de tilápia.

À Dra. Maria Amélia Chaib de Moraes pela colaboração na estruturação da avaliação sensorial.

Ao Dr. Emilio Contreras Gúzman pelo interesse e sugestões.

À Profa. Maria Lúcia Setina pela orientação e execução das análises estatísticas.

À Iaci dos Santos Draetta e colaboradores do Laboratório de Bioquímica do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) pelo estímulo e valiosa colaboração na realização das análises.

Ao pessoal do Laboratório de Tecnologia pelo apoio durante a realização desta Tese.

À Associação Brasileira de Indústrias de Alimentos (ABIA) pela impressão dos exemplares da Tese.

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMO	iii
SUMMARY	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1. Deterioração do pescado	3
1.1. Rigor-mortis	4
1.2. Autólise	4
1.3. Ação microbiana	5
1.4. Outras observações	7
2. Conservação de pescado em gelo	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
1. Matéria-prima	15
2. Amostragem	16
3. Composição centesimal	16
4. Determinações químicas	16
5. Avaliação sensorial	17
6. Análise estatística	18
7. Eletroforese	18

4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
1.	Composição centesimal	20
2.	Avaliação sensorial	22
3.	Determinações químicas	37
4.	Eletroforese	37
5.	CONCLUSÕES	61
6.	BIBLIOGRAFIA	62
7.	ANEXOS	74

ÍNDICE DE TABELAS

1.	Composição centesimal do híbrido de tilápia.....	21
2.	Avaliação sensorial do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento I)	23
3.	Avaliação sensorial: perfil de deterioração do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento II)	28
4.	Escala sensorial desenvolvida para o híbrido de tilápia es- tocado em gelo (Experimento II)	33
5.	Avaliação sensorial do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento III)	34
6.	Equações lineares que correlacionam o tempo de estocagem em gelo do híbrido de tilápia com os parâmetros sensoriais (Experimento I)	38
7.	Equações lineares que correlacionam o tempo de estocagem em gelo do híbrido de tilápia com os parâmetros sensoriais (Experimento III)	38
8.	Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em ge lo (Experimento I)	41
9.	Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em ge lo (Experimento II)	43
10.	Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em ge lo (Experimento III).....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

1.	Avaliação sensorial do híbrido da tilápia estocado em gelo..	24
2.	Avaliação sensorial do híbrido da tilápia estocado em gelo (Experimento III)	35
3.	Gráfico das equações lineares que relacionam o tempo de esto- cagem do híbrido de tilápia com os parâmetros sensoriais ...	39
4.	Determinações químicas do híbrido de tilápia estocada em gelo (Experimento I).....	42
5.	Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento II)	44
6.	Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento III)	46
7.	Determinações de bases nitrogenadas voláteis (BNV)	47
8.	Determinações de compostos nitrogenados não protéicos (NNP).	51
9.	Determinações de pH	51
10.	Eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas do híbrido de tilápia estocado em gelo	55
11.	Eletroforegrama das proteínas sacroplasmáticas do híbrido de tilápia estocado em gelo	59
12.	Eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas do híbrido de tilápia estocado em gelo	60

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estudar a conservação do híbrido de tilápia estocado em gelo, sob o aspecto químico, bioquímico e sensorial.

A composição centesimal foi determinada em três diferentes épocas do ano, não apresentando variação sazonal. A tilápia foi classificada como pescado de alto teor protéico e o baixo teor de gordura.

A conservação do pescado ao longo da estocagem em gelo foi estudada através de três experimentos. No Experimento I a avaliação foi realizada utilizando-se a escala desenvolvida pela Torry Research Station, com os seguintes parâmetros: aparência geral, textura ao tato e odor das guelras. Esta escala, desenvolvida para gadídeos, ofereceu dificuldades à equipe sensorial. Para contorná-las, no Experimento II, foi traçado o perfil de deterioração do pescado, e com base nos resultados obtidos, foi desenvolvida uma nova escala, específica para o híbrido de tilápia. No Experimento III, a nova escala foi testada e obteve-se melhores resultados para avaliação da deterioração durante a estocagem do que haviam sido obtidas anteriormente com a escala tradicional.

Para os três experimentos, além dos testes sensoriais, a conservação em gelo foi acompanhada por determinações químicas (bases nitrogenadas voláteis, nitrogênio não protéico, pH e reações de Éber). Nenhum dos testes realizados apresentou-se confiável como índice de frescor, embora a reação de Éber para gás sulfídrico tenha indicado o início da deterioração.

As modificações na fração das proteínas sarcoplasmáticas foram acompanhadas durante os experimentos por eletroforese em gel de poli-acrilamida. Observaram-se modificações no eletroforegrama nos diferentes períodos de estocagem. No entanto, este comportamento não mostrou de interesse para uma possível utilização como índice de frescor.

SUMMARY

The objective of this project was to study chemical, biochemical and sensory aspects of tilapia hybrids stored in ice.

The proximate composition was determined at three different occasions during the year, showing no seasonal variation. Tilapia was classified as a high-protein, low-fat fish.

Throughout storage, the preservation of the fish on ice was studied by means of three experiments. In Experiment I, sensory evaluation was carried out using a scale developed at Torry Research Station, which includes the following parameters: general appearance, texture finger-pressing and odour of the gills. However, it was observed that this scale, developed for fish of the Gadidae family, posed difficulties for the test panel. In order to overcome this, in Experiment II, the deterioration profile of the fish was traced. Based on these results, a new scale was developed, specific for tilapia hybrids. In Experiment III this new scale was tested. Better results were observed for evaluation of tilapia hybrids during storage, than those obtained previously with the traditional scale (Torry).

In all three experiments, in addition to sensory analysis, the preservation in ice was followed by chemical determinations (nitrogenous volatile bases, non-protein nitrogen, pH and Eber reaction). None of these tests were shown to be reliable indices of freshness, although the Eber reaction for hydrogen sulphide gas indicated the onset of deterioration.

Modifications in the sarcoplasmic protein fraction during storage were also followed in the three experiments, using polyacrylamide gel electrophoresis. The electrophoregrams were shown to change during ice storage, but this behaviour was not shown to be of the interest as a possible indicator of the degree of freshness.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

As tilápias constituem um gênero de peixes da ordem dos Perciformes, família *Cichlidae*, divididas em várias centenas de espécies (Lowe-McConnel, 1975). São originárias da África e Ásia Menor (Chimits, 1958), estando atualmente distribuídas na maior parte das áreas tropicais, onde a temperatura da água permite sua reprodução e crescimento (Lovshin et al., 1974). A maioria das tilápias cultivadas mostraram ser resistentes a baixas concentrações de oxigênio, a parasitas e enfermidades, utilizando variada gama de alimentos (vegetais, farinhas, resíduos industriais e domésticos). Sua reprodução inicia-se cedo, com 3 a 6 meses, causando problemas de superpopulação, com prejuízo de seu desenvolvimento, diminuindo seu valor comercial. O método mais promissor de controle de reprodução parece ser o da hibridização, de maneira a se obter indivíduos de um só sexo. Tais resultados foram obtidos pelo cruzamento do macho da *Tilapia nilotica* com a fêmea de *Tilapia hornorum*, obtendo-se 100% de machos (Lovshin et al., 1974). Este híbrido oferece um potencial de cultivo excelente na maioria das regiões tropicais do mundo. Seu cultivo é bastante simples, o crescimento rápido, sendo resistente a enfermidades e a má qualidade da água.

A introdução da tilápia na aquicultura nacional mostrou bons resultados. Além disso, devido a sua biologia e técnica de cultivo serem bem conhecidas, já foram realizados estudos em escala piloto e comercial, reduzindo muitos anos de pesquisa necessários quando comparado com o estudo de espécies menos conhecidas (Oliveira, 1931). Experimentos de cultivo foram conduzidos pelo Departamento Nacional de Obras contra as Secas (DNOCS) em Pentecostes, CE, por Lovshin et al.

(1974) e Carvalho & Fernandes (1978), com bons resultados.

A aquicultura apresenta-se como alternativa promissora na produção de alimentos. Admitindo-se que as extensas regiões ora cobertas por reservatórios destinados à produção de energia elétrica fossem utilizados para a prática de piscicultura extensiva, apenas o Estado de São Paulo com mais de 500 mil ha de reservatórios, poderia produzir 40×10^3 ton/ano se acompanhasse a produtividade alcançada em diversos açudes do Nordeste brasileiro (30 kg/ha/ano) (Marcondes, 1977).

Tendo em vista estes aspectos, considerou-se de interesse o estudo de conservação da tilápia híbrida em gelo, para consumo in natura.

Este trabalho teve como objetivo o estudo da conservação da tilápia híbrida em gelo sob os seguintes pontos de vista:

- a) determinação da vida útil em gelo
- b) avaliação de vários parâmetros de frescor usados para acompanhar a deterioração e
- c) desenvolvimento de uma escala para acompanhar por meio da análise sensorial os vários estágios de deterioração desta espécie.

CAPÍTULO 2

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. DETERIORAÇÃO DE PESCADO

Dentre os produtos de origem animal utilizados na alimentação humana, o pescado é considerado como o mais suscetível a alterações por ação de enzimas e de microorganismos.

Tão logo o peixe morre, inicia-se o processo de deterioração. Esta é resultado de complexas mudanças nos tecidos do pescado, devido a ação de enzimas autolíticas, ação microbiológica e reações químicas (Burgess et al, 1967).

A natureza e a rapidez da deterioração dependem de diversos fatores: natureza do pescado, natureza e extensão da contaminação microbiana condições do pescado na captura e condições de processamento e estocagem (Frazier, 1976).

No período que se segue à morte do pescado, ocorre um grande número de modificações bioquímicas e fisiológicas, podendo ser divididas em três fases (Eskin et al, 1971):

- 1) fase de pré-rigor: na qual o músculo é macio e facilmente extensível, sendo caracterizado bioquimicamente pela queda dos teores de adenosina trifosfato (ATP) e creatina fosfato, assim como pela glicólise;
- 2) fase de enrigecimento muscular, isto é, rigor-mortis;
- 3) estágio de pós-rigor: caracterizado pelo amaciamento gradual dos músculos.

Nesta última fase, segundo Ludorff e Meyer (1973), há o desdobramento de derivados purínicos do ATP, formados por desaminação, e

a conseqüente formação de amônia. O pH, que havia sofrido redução logo após a morte, aumenta, tendendo a voltar ao valor verificado no momento da morte. Simultaneamente, os microrganismos podem descobrir os aminoácidos livres formando também amônia. A isto segue-se proteólise propriamente dita, com decomposição do alimento.

Vários são os processos que influem na deterioração de pescados, entre eles, rigor-mortis, autólise e ação microbiana.

1.1. Rigor-mortis

O rigor-mortis é de grande importância para a conservação de pescado, pois no seu curso, as atividades de muitas enzimas e dos microrganismos é interrompida. A rigidez bloqueia a permeabilidade das células impedindo o intercâmbio normal de substâncias. O estado de rigor-mortis parece dificultar a ação microbiana provavelmente devido a rigidez do músculo. Desta forma um período maior de rigidez é desejável sob o ponto de vista de qualidade microbiológica (Pedraja, 1972).

O declínio do teor de adenosina trifosfato (ATP) parece ser o principal fator para o estabelecimento do rigor-mortis em músculos de animais, inclusive peixes (Zaitsev et al., 1969). Enquanto os músculos de mamíferos conseguem manter o nível de ATP por muitas horas após a morte, o músculo de pescado mostra um rápido declínio no teor de ATP (Eskin et al, 1971). O início do rigor-mortis pode ser adiado pela diminuição dos esforços na captura, manuseio apropriado do pescado e rápido abaixamento da temperatura após a morte (Zaitsev et al, 1969), porém o início e a duração do rigor-mortis dependem também da espécie e estado fisiológico do indivíduo, podendo, de maneira geral, ter início de 1 a 3 h e terminar de 1 a 3 dias após a morte (Pedraja, 1970).

1.2. Autólise

O músculo do pescado é bem conhecido por sua fácil digestibilidade. O eficiente ataque das enzimas do pescado às proteínas do próprio músculo é um dos importantes fatores que causam a rápida deterioração após a morte (Siebert, 1962). Segundo Bramsted (1961), existem boas razões para assumir que a etapa inicial de deterioração do pescado consiste nas reações hidrolíticas que são catalisadas por enzimas dos tecidos dos peixes. Estas enzimas, catepsinas muito ativas, peptidases e tripsinas que atravessam a parede intestinal, podem gerar a formação de aminoácidos e peptídeos que por sua vez vão servir como substrato para o desenvolvimento de microorganismos (Siebert, 1962).

O baixo teor de tecido conjuntivo em pescados (2% para teleosteos e 10% para elasmobrânquios contra 17% em carne bovina) e a composição deste tecido, pobre em elastina e rico em colágeno, torna o músculo bastante suscetível ao ataque enzimático (Pedraja, 1972).

1.3. Ação microbiana

A ação microbiana é, sem dúvida, um dos principais fatores que levam à deterioração do pescado. Após a morte, as defesas naturais cessam, propiciando então, a invasão de microorganismos aos tecidos (Liston, 1965). Antes do término do rigor-mortis não há praticamente início da ação microbiana devido à rigidez muscular e ao pH que não é propício ao desenvolvimento dos microorganismos (Leitão, 1977). Alguns estudos indicam que o processo de penetração dos microorganismos no músculo leva cerca de seis dias após a morte (Shewan, 1962).

Os microorganismos nos peixes, estão presentes principalmente no trato intestinal, guelras e limo superficial. Após a captura, novas fontes de contaminação (gelo, manuseio, equipamentos, etc), modificam ou aumentam a flora inicial, participando das alterações deteriorativas do pescado (Leitão, 1977).

A microflora natural do pescado varia com o habitat, espécie, temperatura e profundidade da água, menor ou maior proximidade da costa, grau de contaminação das águas, além de outros fatores. No entanto, alguns trabalhos têm evidenciado que esta variação não é muito acentuada, tendo sido constante em gêneros de peixes de águas frias praticamente o mesmo tipo de flora encontrada em peixes de águas tropicais, embora havendo certa variação na predominância de determinadas espécies de microrganismos (Leitão, 1977).

Segundo Frazier (1976), os principais gêneros de microflora de pescado são: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina*, *Serratia*, *Vibrio* e *Bacillus*. Durante o armazenamento refrigerado, esta microflora sofre alterações, havendo acentuado aumento na população de *pseudomonas* (que chegam a constituir em 90% da população) e decréscimo de *Acinetobacter*, *Moraxella* e *Flavobacterium* (Lee & Harrison, 1968; Shaw & Shewan, 1968; Liston et al, 1963).

A deterioração microbiana leva a uma queda na palatabilidade do pescado. Em alguns casos, há produção de sabores e odores desagradáveis devido a metabólitos tais como aminas, amônia, indol, escatol, mercaptanas, gás sulfídrico, ácidos graxos inferiores e aldeídos (Liston, 1965).

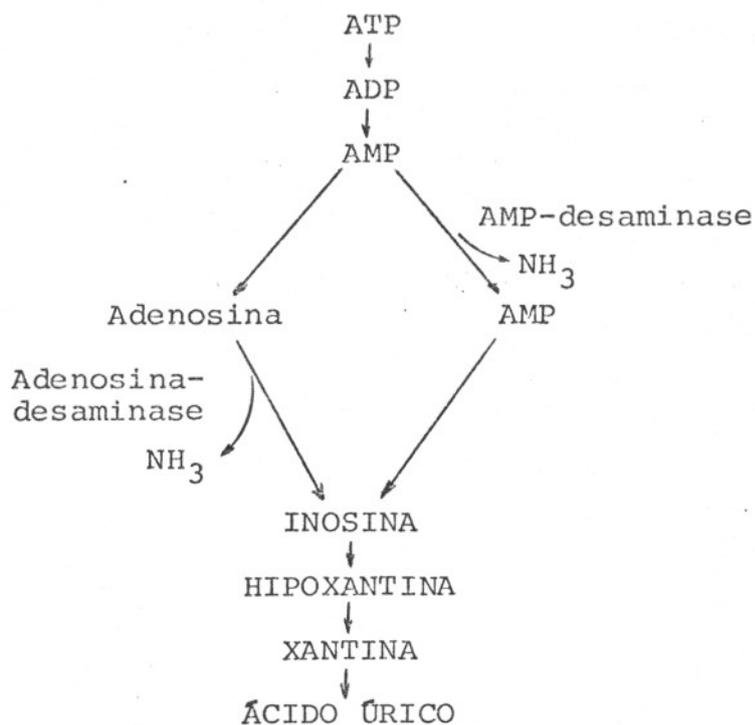
Os primeiros nutrientes utilizados pelos microrganismos, quando estes chegam ao músculo do pescado são os compostos nitrogenados não protéicos (NNP). Após esgotar este substrato, os microrganismos passam a utilizar oligopeptídeos e aminoácidos livres, como nova fonte de substrato para o seu desenvolvimento (Ludorff & Meyer, 1973). Há concordância geral entre os autores que nenhum produto proveniente da proteólise putrefativa é detectado até serem atingidas as fases finais de deterioração (Shewan, 1962). A formação de aminas e amônia a partir de degradação protéica é resultado principalmente da ação de microrganismos e não de enzimas (Siebert & Schmitt, 1965).

1.4. Outras observações

Os processos descritos acima, que concorrem para a deterioração do pescado, são responsáveis pela formação de diversas substâncias químicas ou então, pelo aumento de concentração de substâncias já existentes. Modificações sensoriais também ocorrem, sendo a aparência, odor das guelras e textura os principais parâmetros afetados (Eskin et al, 1971).

Logo após a morte do pescado, observa-se um acúmulo de ácido lático no músculo devido a glicólise, fazendo com que o valor inicial do pH (em torno de 7,2 a 7,0) caia para valores em torno de 6,2 e 6,6, atingindo algumas vezes valores de 5,4 a 5,5 (Ludorff & Meyer, 1973; Eskin et al, 1971). O pH mínimo atingido é dependente do estado fisiológico do músculo, tipo de músculo e espécie de peixe. Quando há violentos esforços durante a captura, o glicogênio é rapidamente utilizado. Conseqüentemente, o pH no rigor-mortis é maior (em torno de 7,0) sendo este rigor denominado de rigor alcalino (Fraser et al, 1961). Conforme avança a deterioração microbiana, verifica-se um acúmulo de produtos de natureza alcalina, como aminas, amônia e algumas bases orgânicas, fazendo com que o pH do músculo do pescado se eleve no decorrer da estocagem (Tomiyasu e Zenitani, 1957). A produção de ácido lático exerce algum controle no início e na duração do rigor-mortis (Jones et al, 1965), contribuindo para a conservação do pescado.

Além de ser um dos principais fatores envolvidos no desenvolvimento do rigor-mortis em músculos de animais (inclusive peixes), o metabolismo do ATP e seus produtos é de grande importância. A degradação do ATP em músculo de pescado é representada, de maneira simplificada, a seguir (Eskin et al, 1971; Cheuk et al, 1979):



A importância destes nucleotídeos, particularmente o IMP, está relacionada ao sabor e qualidade do pescado (Eskin et al, 1971).

No músculo de pescado, o acúmulo de IMP ocorre logo após a morte. Este composto é em seguida degradado para inosina. O grau de hidrólise é dependente da temperatura de estocagem e espécie de peixe. A inosina é posteriormente hidrolisada, formando hipoxantina (Hx) (Eskin, et al, 1971). A presença de Hx no músculo de pescado foi sugerida como índice químico de frescor e qualidade de pescado (Spinelli et al., 1964; Jones et al., 1964). O teor de hipoxantina tem sido considerado por muitos autores como bom índice de frescor para pescado de água-doce.

Além de ter origem na degradação de ATP, a formação de amônia está relacionada com a degradação de aminoácidos e hidrólise de uréia (Tomiyasu e Zenitani, 1957).

Os compostos nitrogenados não protéicos (NNP) assumem grande importância na conservação de pescados pois o teor das diferentes substâncias que compõem este grupo, determinam propriedades tais como sabor, odor e grau de vulnerabilidade à ação dos microrganismos, além

de influir em aspectos tecnológicos de conservação de pescado (Zaitsev et al., 1969).

Os NNP estão dissolvidos nas células e no fluido intercelular. São compostos de fácil extração com água (Zaitsev et al., 1969). A fração de NNP constitui-se em cerca de 9,2% a 18,3% do nitrogênio total dos teleosteos e de 33% a 36% dos elasmobrânquios. Os NNP constitui de um terço a metade do nitrogênio solúvel total dos teleosteos e cerca de três quartos no caso dos elasmobrânquios (Jacquot, 1961).

Os componentes desta fração podem ser agrupados da seguinte maneira (Simidu, 1961, Jacquot, 1961):

- bases voláteis: amônia, mono, di e trimetilamina, de pouco significado no músculo vivo, mas bastante importantes durante a conservação do pescado;
- bases de trimetilamônio: óxido de trimetilamina e betaínas;
- derivados guanidínicos: creatina e arginina;
- derivados imidazólicos: histidinas, carnosina e anserina;
- diversos: uréia, aminoácidos e derivados purínicos.

No grupo das bases nitrogenadas estão os componentes voláteis, que podem auxiliar na caracterização das mudanças químicas do pescado durante a deterioração. Ao longo da estocagem em gelo, o teor das bases nitrogenadas voláteis aumenta progressivamente em função de processos enzimáticos e microbianos, sendo este grupo de substâncias, portanto, considerado útil como indicador de estado de frescor do pescado (Shewan, 1971).

O teor de bases nitrogenadas em músculos de pescado fresco, logo após a morte, em geral não excede ao valor de 15 a 20 mg de nitrogênio por 100g de músculo. O principal componente deste grupo é a amônia, principalmente no que se refere aos peixes de água-doce (Zaitsev et al., 1969).

A causa do amaciamento da carne, em geral na fase de pós-ri

gor, tem sido objeto de inúmeras controvérsias. Sabe-se porém que não há dissociação do complexo actomiosina (Eskin et al, 1971). Ao lado de modificações na capacidade de retenção de água, outros fatores importantes estão envolvidos no amaciamento post-mortem. Segundo Eskin et al, (1971), o papel das catepsinas e outras enzimas hidrolíticas é bastante discutível, porém, de acordo com Pedraja et al. (1970), a ação das proteinases dos tecidos em geral, e catepsina D em particular, são responsáveis por modificações indesejáveis na textura de produtos de pescado. A influência dos produtos da degradação enzimática dos constituintes dos tecidos de pescado (tais como aminoácidos e peptídeos) na qualidade do produto tem sido bastante estudada (Eskin et al, 1971; Doke et al., 1979). Muitos estudos sobre modificações na textura de pescado estão relacionados com modificações na solubilidade de proteínas (Awad et al., 1969; Levin, 1978).

Moorjani et al. (1962), trabalhando com diversas espécies de água-doce, observaram que, apesar de a fração de NNP ter permanecido sem alteração por todo o período de estocagem em gelo, a fração de proteínas solúveis em solução tampão KCl-citrato, diminuiu consideravelmente. Para aqueles autores, esta diminuição de solubilidade parece ter sido devida a uma interação proteína-proteína. Quando observada por períodos de 28 dias, quando foi considerado impróprio para consumo, uma das espécies estudadas mostrou, depois de uma fase de queda de solubilidade, um aumento considerável de solubilidade. Este aumento foi explicado como devido à quebra de proteínas devido à ação de bactérias.

Luijpen (1957) teve dificuldade em demonstrar perda de solubilidade de proteínas em pescado refrigerado. Aquele autor justificou a dificuldade como decorrendo do fato de que, durante o início da estocagem, é possível que a velocidade com que as proteínas são quebradas devido a ação de microorganismos ou de enzimas seja tão alta que não se consiga detectar perda de solubilidade.

As alterações no eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas e miofibrilares durante a estocagem refrigerada, tem sido utilizadas para se acompanhar a perda de qualidade do produto pelas modificações das proteínas, bem como se detectar autólise.

Moore et al. (1970) observaram o aparecimento de novas bandas no eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas do arenque (*Clupea harengus*) em função do tempo de estocagem. Gould (1965) afirmou que as propriedades eletroforéticas das proteínas de pescado podem mudar como resultado da degradação enzimática ou como resultado da migração das enzimas através dos tecidos durante a estocagem. Damiani e Rossi (1974), trabalhando com diversas espécies de peixes de água-doce, verificaram que o eletroforegrama se modifica de acordo com o estado de deterioração do pescado. Awad et al. (1969) observaram, na estocagem congelada do "whitefish" de água-doce (*Coregonus clupeiformes*) aparecimento de duas novas bandas no eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas após 16 semanas de estocagem. A solubilidade destas proteínas, entretanto, não se alterou na estocagem. Cowie (1968), fazendo a identificação de 20 espécies de peixe, concluiu que as bandas do eletroforegrama permanecem inalteradas como resultado da estocagem refrigerada.

Segundo Okutani et al. (1965), a fração miosina da carne da carpa tem seu eletroforegrama modificado no decorrer da estocagem em gelo. Resultados semelhantes foram obtidos para o eletroforegrama da fração miogênica de músculos bovinos (Caldirone e Bazan, 1930; Bechtel e Parrish, 1983).

2. CONSERVAÇÃO DE PESCADO EM GELO

Grande número de espécies de peixe, tanto aquelas de importância comercial como outras ainda sub-utilizadas comercialmente, tem

sido objeto de estudos quanto à sua conservação em gelo.

Barassi et al. (1981), estudaram a conservação do "southern blue whiting" (*Micromesistius australis*), em duas diferentes condições fisiológicas: pré e pós-desova. Foram utilizados como índice de frescor, além das BNV, pH e avaliação sensorial, variações da textura do músculo (medida por penetrômetro) e redução de viscosidade do extrato muscular. Os autores verificaram que o pescado antes da desova, em melhores condições fisiológicas, tiveram período de estocagem (12 dias) superior ao do pescado pós-desova (6 dias). Botta et al. (1975), estudando o "capelin" (*Mallotus villosus*), verificaram que houve mudanças significativas durante o período de estocagem (14 dias) nos valores de pH, hipoxantina (Hx), trimetilamina, umidade, número de iodo e ácidos graxos livres. A fração lipídica mostrou mudanças químicas pouco significativas, enquanto os testes de hipoxantina e trimetilamina acompanharam bem as mudanças sensoriais ocorridas durante a estocagem. Os testes de hipoxantina e trimetilamina mostraram-se também bastante úteis como índice de frescor para a mesma espécie de "capelin" na época de desova, embora o período de estocagem tenha se mostrado inferior (Shaw & Botta, 1975).

A fração lipídica do "roughead grenadier" (*Macrourus berglax*) não apresentou mudanças durante a estocagem em gelo (Botta & Shaw, 1975). A concentração de Hx mostrou-se útil como teste de frescor até o 8º dia de estocagem, sofrendo poucas variações nos dias subsequentes, fato também observado por Jhaveri et al. (1982) para a cavala do Atlântico (*Scomber scombrus*). A deterioração da cavala foi também acompanhada por determinações de trimetilamina, histamina e contagem total. A espécie "gold lined sea bream" (*Rhabdosargus sarba*), de águas tropicais, teve seu período de estocagem avaliado em 1 mês pela análise sensorial (Curran et al, 1980). A determinação de hipoxantina e pH mostraram boa correlação com os resultados da análise sensorial. Os testes de bases nitrogenadas voláteis (BNV) e trimetilamina não se mostraram bons índices de frescor

embora indiquem deterioração incipiente (Curran et al., 1980).

Liston et al. (1961) não detectaram diferença na velocidade de deterioração de diversas espécies de "rockfish" (*Sebastes sp*) do Pacífico. Não foram observadas mudanças na fração lipídica, sendo que o teste de BNV mostrou boa correlação com a análise sensorial.

Lahiry et al. (1963) estudaram a influência da espécie, tamanho e evisceração na conservação de cinco variedades de pescado de água doce: *Barbus carnaticus*, *Barbus dubious*, *Labeo sp*, *Ophicephalus e Wallago attu*. Os autores verificaram que: a) mudança de pH, amino-nitrogênio e BNV não podem ser utilizados para avaliação dos estágios iniciais de deterioração; b) a deterioração de peixes menores é mais rápida; c) a evisceração praticamente não exerce influência no período de estocagem em gelo. Disney et al. (1969) e Hoffman et al. (1974) chegaram a conclusões semelhantes para diversas outras espécies de pescados tropicais de água-doce.

Disney et al. (1969), estudando a conservação de diversas espécies de tilápia em gelo, consideraram o teste de hipoxantina como o mais adequado para a verificação do estado de frescor, sendo o limite de aceitabilidade deste pescado, em condições comerciais, estimado em 10 dias e até 3 semanas em condições ideais de captura e manuseio. Diversas espécies de peixes da importância comercial na África (*Lates sp*, *Bagrus sp*, *Protopterus sp*, *Tilapia esculenta e Tilapia nilotica*) tiveram suas mudanças de qualidade acompanhadas por Hoffman et al. (1974). Aqueles autores verificaram que a Hx aumentava rapidamente nos dez primeiros dias, sofrendo queda gradual posteriormente, limitando desta forma sua utilização como teste de qualidade para estas espécies de pescado.

Moorjani et al. (1958) investigaram processo de deterioração de cinco espécies de água-doce da Índia: *Barbus carnaticus*, *Barbus dubious*, *Cirrhina fulungee*, *Wallogo attu e Labeo sp*. As mudanças das bases nitrogenadas voláteis, substâncias reductoras voláteis e con

tagem bacteriana foram utilizadas como índice de frescor, sendo que aqueles autores observaram que ambos os índices químicos mostraram-se úteis para avaliação de frescor do pescado.

CAPÍTULO 3

MATERIAL E MÉTODOS

1. MATÉRIA-PRIMA

A matéria-prima utilizada foi tilápia híbrida (cruzamento de *Tilapia hornorum* macho com *T. nilotica* fêmea), criada em tanques do Centro Regional Latino-americano de Aquicultura, localizado em Pirassununga, SP.

A despesca foi realizada com rede. Imediatamente após a captura, o pescado foi acondicionado em caixa isotérmica com gelo britado. Para os experimentos I e III cerca de 10 exemplares foram transportados com vida, para realização de análises imediatamente após a morte. Para o experimento II, o transporte de peixes vivos não foi possível, e as primeiras análises foram realizadas com o pescado conservado em gelo por, aproximadamente, 4 h.

Na chegada aos laboratórios da Universidade Estadual de Campinas, o pescado transportado em caixas foi lavado e novamente acondicionado em recipientes isotérmicos, dotado de perfuração na face inferior para saída da água de degelo. Durante a estocagem, o gelo foi adicionado sempre que necessário.

Os peixes transportados com vida, ao chegar ao laboratório, foram sacrificados e imediatamente após, foram realizados os procedimentos necessários às análises.

Os lotes de pescado utilizados para os experimentos apresentaram os seguintes pesos médios: Experimento I: $116,87 \pm 37,44$ g; Experimento II: $163,70 \pm 30,04$ g; Experimento III: $180,00 \pm 17,15$ g.

2. AMOSTRAGEM

A amostragem dos peixes foi feita periodicamente durante a estocagem em gelo, consistindo em cinco exemplares por período de estocagem, tomados ao acaso no lote. Estes exemplares foram utilizados para análise sensorial. Após a avaliação sensorial, os mesmos exemplares foram eviscerados e filetados. O músculo retirado foi homogeneizado, sendo então utilizado para a análises químicas e eletroforese.

3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Proteínas: método semi-micro Kjeldhal, descrito por Pearson (1973) (fator 6,25 para conversão em proteína total).

Lipídios totais: método de extração de lipídios totais, de acordo com Bligh e Dyer (1959).

Umidade: método de secagem em estufa à 105°C até peso constante (A.O.A.C., 1975).

Cinzas: método por incineração em mufla à 550-600°C, até peso constante (A.O.A.C., 1975).

Todas as análises foram feitas em triplicatas, utilizando o homogeneizado de músculo de dez exemplares.

4. DETERMINAÇÕES QUÍMICAS

Compostos nitrogenados não protéicos (NNP): a extração destes compostos foi pela precipitação da fração protéica com solução 5% de ácido tricloroacético (TCA). O sobrenadante obtido, contendo a fração não protéica, foi submetido às etapas descritas pelo método semi-micro Kjeldhal (Pearson, 1973). As determinações foram feitas em triplicata a partir de um extrato único.

Bases nitrogenadas voláteis (BNV): método desenvolvido pelo Instituto de Fomento Pesqueiro do Chile, citado por Morga (1975). O extrato feito para avaliação do NNP foi também utilizado para avaliação das BNV. O extrato foi destilado com vapor vivo na presença do MgO_2 . O condensado foi recebido em solução de ácido bórico, posteriormente titulado com solução padronizada de HCl, para avaliação da quantidade de bases nitrogenadas presentes na amostra. As determinações foram feitas em triplicata a partir de um extrato único.

Determinação de pH: foi feita utilizando-se músculo homogeneizado em água destilada, na proporção de 1:4, utilizando-se potenciômetro com eletrodo de vidro. Foram feitas duas determinações a partir de uma mesma amostra de músculo.

Testes qualitativos para amoníaco e gás sulfídrico (reações de Éber): método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (1976). Os testes foram realizados em triplicata a partir do mesmo homogeneizado de músculo.

5. AVALIAÇÃO SENSORIAL

Experimento I - A amostragem, constituída de cinco exemplares, foi analisada quanto à aparência geral, odor das guelras e textura ao tato, seguindo-se a escala descrita por Shewan et al. (1953) e modificada por Nort (1973). A avaliação sensorial foi realizada por uma equipe constituída de seis provadores. A aparência geral e textura ao tato apresentaram como máximo 5 pontos e odor das guelras 10 pontos. Estes valores máximos foram atribuídos ao pescado absolutamente fresco. O valor zero para os três parâmetros de avaliação corresponderam ao pescado em estado de putrefação. A escala e a ficha sensorial utilizada encontram-se nos Anexos 1 e 2.

Experimento II - A análise sensorial foi realizada à maneira de um painel descritivo. A equipe composta por seis provadores, de acordo com o procedimento descrito por Shewan et al. (1953), discutiu e anotou as principais características e modificações observadas durante a estocagem da tilápia híbrida em gelo. A partir das observações realizadas, foi feita uma adaptação da escala descrita por Shewan et al. (1953). A escala adaptada encontra-se na Tabela 4 e a ficha sensorial no Anexo 3.

Experimento III - A avaliação sensorial foi realizada com equipe de oito provadores, utilizando-se a ficha elaborada anteriormente. A aparência geral, textura ao tato e odor das guelras, tem como valor máximo nove pontos, correspondendo ao pescado absolutamente fresco, e um ponto como valor mínimo, correspondendo ao pescado pútrido.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das avaliações sensoriais e determinações químicas foram submetidas à análise de variância e teste de Tuckey. A correlação entre os dados obtidos foi estabelecida utilizando-se método dos mínimos quadrados (Gomes, 1970).

7. ELETROFORESE

A eletroforese foi realizada em tubos verticais, segundo o método de Davis (1964). O gel inferior (7,5% de poliacrilamida), foi colocado em tubos de 9,5 cm de comprimento com auxílio de uma seringa até atingir 2 cm do topo do tubo. Após a gelificação, foi colocado o

gel superior (3% de poliacrilamida). Os géis foram preparados de acordo com o descrito no Anexo 4.

Ao mesmo tempo, foram utilizados para a eletroforese tubos sem o gel superior, conforme Damiani e Rossi (1974).

As proteínas sarcoplasmáticas foram extraídas por homogeneização com água destilada refrigerada na proporção de 1:4. O homogeneizado foi centrifugado a 10000 rpm em centrífuga refrigerada. O sobrenadante foi filtrado e guardado a -18°C , em freezer doméstico, até sua utilização.

Para efetuar-se a eletroforese, a solução obtida foi diluída na proporção de 1:9 em água destilada. A solução indicadora de migração foi o azul de bromofenol adicionado ao tampão do eletrodo.

A corrida foi feita utilizando 3 mA por tubo durante 30 minutos e 5 mA por tubo até o final da migração.

Para a revelação das proteínas, os géis retirados dos tubos foram imersos em solução de azul de coomassie em ácido tricloroacético. A descoloração foi feita a seguir, com sucessivas lavagens com ácido acético a 7%.

Todas as amostras, de diferentes períodos de um mesmo experimento, foram submetidas a uma corrida única para se obter iguais condições na eletroforese.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os dados relativos à composição do músculo da tilápia são mostrados na Tabela 1.

Observou-se que o teor protéico e o de cinzas apresentaram-se semelhantes nos três experimentos realizados, havendo pequenas variações nos teores de umidade e lipídios totais. Estas diferenças, aparentemente, não se devem a variações sazonais e sim a alterações promovidas no cultivo das tilápias, após a coleta feita para o Experimento I, segundo informações fornecidas pelo Centro de cultivo.

Segundo Nunes (1981), a composição do híbrido de *Tilapia nilotica* com *Tilapia hornorum* foi de 17,52% de proteína, 74,32% de umidade, 0,73% de cinzas e 5,41 de lipídios totais, valor que variou de 3,75% - 7,48% de acordo com o lote analisado. Segundo aquela autora, esta variação se deveu à presença de gordura cavitária em diferentes proporções nas amostras analisadas. Note-se que as análises foram realizadas em amostras de carne desossada mecanicamente.

Gurgel & Freitas (1972) publicaram os seguintes valores e amplitudes para tilápia criada em açudes do Nordeste brasileiro; 24,8% de matéria seca (20,3% - 29,8%), 18,19% (18,0% - 21,0%) de proteína, 3,4% (0,9% - 7,1%) de gordura e 2,2% (1,2% - 2,9%) de cinzas).

Os teores observados no presente trabalho são próximos dos teores dos trabalhos citados acima, sendo que o teor de lipídios apresenta-se inferior ao obtido por Nunes (1981), porém, dentro da amplitude observada por Gurgel & Freitas (1972).

Considerando-se os resultados obtidos no presente trabalho,

Tabela 1 - Composição centesimal do híbrido de tilápia.

Experimento/ data de coleta	Valores médios ⁽¹⁾			
	Proteína (%)	Lipídios (%)	Umidade (%)	Cinzas (%)
Experimento I junho/1982	18,60±0,32	2,21±0,17	77,52±1,18	1,07±0,03
Experimento II novembro/1982	18,61±0,05	1,42±0,04	78,32±0,04	1,16±0,02
Experimento III março/1983	18,58±0,38	1,37±0,07	79,79±0,11	1,10±0,02

(1) três repetições, realizadas a partir de um homogeneizado de músculo de dez exemplares.

pode-se classificar a tilápia na categoria de pescado de alto teor protéico e baixo teor de gordura, segundo classificação elaborada por Stansby (1962); Gurgel e Freitas por outro lado, classificaram a tilápia como pescado de alto teor protéico e baixo ou médio teor de gordura.

2. AVALIAÇÃO SENSORIAL

A Tabela 2 e Figura 1 apresentam os resultados da variação dos parâmetros sensoriais da tilápia estocada em gelo por vários dias (Experimento I). Foi utilizada, neste experimento, a escala elaborada pela Torry Research Station descrita por Nort (1973) (Anexo 1) junto a uma ficha para avaliação sensorial (Anexo 2).

A aparência geral após 24 h de estocagem em gelo apresentou média de 4,54 pontos de um máximo de 5 pontos, que equivale ao pescado absolutamente fresco. Este valor pode ser considerado, portanto, característico do pescado fresco. Não foi observado até o 6º dia, variação estatisticamente significativa em relação ao primeiro dia de estocagem. Nos dias subsequentes houve redução significativa das médias, indicando diminuição da qualidade, que se acentuou após o 13º dia.

O odor das guelras não apresentou diferença significativa até o 8º dia. Neste período, o odor foi de pescado fresco. Após o 8º dia, observou-se uma queda acentuada nas médias, e posterior flutuação, mas sempre mostrando uma tendência decrescente, até o final do experimento.

Não houve variação na textura ao tato até o 6º dia, havendo então, deterioração crescente, traduzida em gradual amaciamento dos músculos.

Para a aparência geral, observou-se três fases distintas du-

Tabela 2 - Avaliação sensorial do híbrido da tilápia estocado em gelo (Experimento I)

Tempo de estocagem (dias)	Parâmetro sensorial ⁽³⁾		
	Aparência ⁽¹⁾ Geral	Odor das ⁽²⁾ Guelras	Textura ao ⁽¹⁾ Tato
1	4,54 ± 0,60 a	9,97 ± 0,12 a	4,86 ± 0,21 a
3	3,90 ± 0,71 b	9,20 ± 0,90 b	4,81 ± 0,28 b
6	3,48 ± 0,44 c	8,63 ± 0,86	4,00 ± 0,58 c
8	2,90 ± 0,55 ad	8,17 ± 0,93 d	3,13 ± 0,51 ad
10	1,76 ± 0,36 abc	4,36 ± 0,93 abcd	1,80 ± 0,63 abcd
13	2,50 ± 0,41 ab	6,30 ± 1,24 abce	2,42 ± 0,49 abce
15	1,80 ± 0,82 abc	3,77 ± 0,99 abcde	1,87 ± 0,63 abcd
17	1,22 ± 0,72 abcd	3,07 ± 1,47 abcde	1,30 ± 0,39 abcde
21	1,23 ± 0,48 abcd	2,97 ± 1,81 abcde	2,03 ± 0,59 abcd
Coefficiente de correlação r ⁽⁴⁾	-0,9394	-0,9349	-0,8849

1- nota máxima: 5 pontos; nota mínima: 0 pontos

2- nota máxima: 10 pontos; nota mínima: 0 pontos

3- cada valor é média de 30 observações (5 peixes x 6 provadores); em cada uma mesma coluna, valores que mostram a mesma letra diferem significativamente (P < 0,01)

4- nível de significância: 1%.

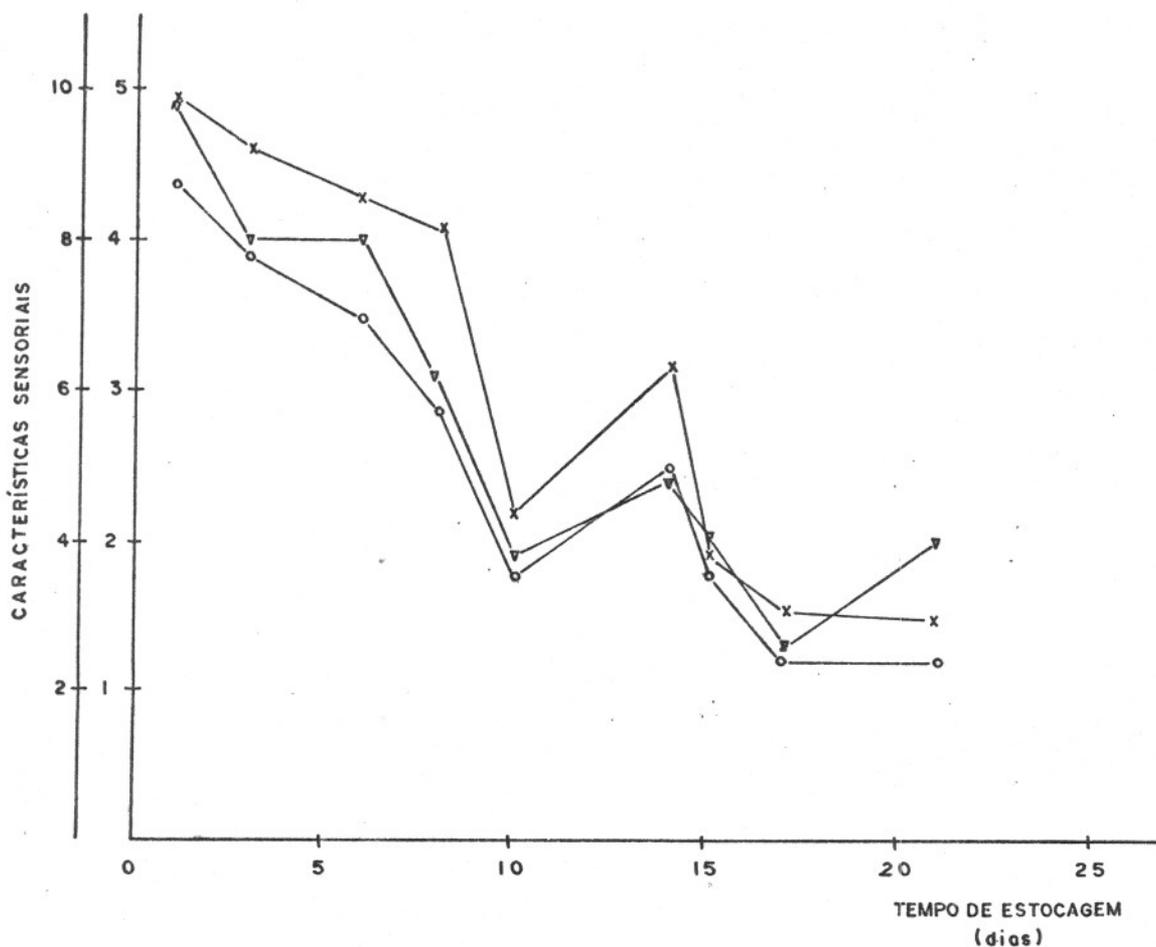


Figura 1 - Avaliação sensorial do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento I) (aparência geral: -o-; odor das guelras: -x- ; textura ao tato: -v-). Escala até 5: aparência ge_ ral e textura ao tato. Escala até 10: odor das guelras.

rante o experimento. A primeira onde se pode classificar o pescado como fresco, de acordo com a escala utilizada, observando-se a partir daí perda acentuada das características iniciais, que se intensificaram após o 17º dia. Para odor das guelras e textura ao tato, observou-se apenas duas fases. Uma fase inicial até o 8º dia, na qual o pescado manteve suas características de frescor, e uma outra fase subsequente, com médias mais baixas.

Para os três parâmetros de análise sensorial, observou-se no 10º dia de estocagem uma queda na qualidade que pode ser considerada anômala, já que foi seguida de médias superiores nos dias subsequentes.

O índice de correlação de $-0,8849$ entre textura ao tato e dias de estocagem mostrou-se inferior aos outros dois índices: odor das guelras, $-0,9349$, e aparência geral, $-0,9394$. Mesmo assim, de modo geral, os coeficientes de correlação entre os parâmetros sensoriais e os dias de estocagem mostraram-se bastante altos, indicando serem bons critérios para acompanhar a deterioração do pescado na estocagem em gelo.

Lahiry et al. (1963) consideraram a aparência como bom critério para avaliação da qualidade de pescado de água-doce. Disney et al. (1969), trabalhando especificamente com tilápia, observaram que a degradação da textura era um bom índice de avaliação do grau de deterioração. Segundo Maia (1980), os mesmos três parâmetros de avaliação sensorial podem ser utilizados com sucesso no caso do curimatã (*Prochilodus scrofa*).

Nenhum teste químico por si só pode ser considerado como satisfatório para medir o grau de deterioração (ou perda de frescor) de pescado (Lahiry et al., 1963). Desta forma, a avaliação sensorial tem sido usada como principal parâmetro de avaliação. A determinação sensorial do limite máximo de aceitabilidade de pescado tem sido delimitada em 60% de perda de suas características ideais (Lahiry et al.

1963; Maia, 1980; Disney et al. 1969; Botta e Shaw, 1975; Shaw e Botta, 1975; Shaw et al., 1977; Curran et al., 1980). Assumindo-se este limite de aceitabilidade, verifica-se que, para os três parâmetros sensoriais, a tilápia mostrou-se imprópria para consumo no 15º dia de estocagem. De acordo com Shewan e Jones (1957), o odor do pescado cru correspondente ao odor de ácidos graxos inferiores, odores ligeiramente adocicados ou semelhante a clorofórmio, dá o limite de aceitabilidade do pescado. Por este critério poderia se confirmar em 15 dias a vida útil da tilápia estocada em gelo.

A equipe sensorial, no entanto, considerou o pescado impróprio para consumo já no 13º dia de estocagem, o que não correspondeu ao período observado pela análise sensorial efetuada.

A escala descritiva de avaliação sensorial elaborada pela Torry Research Station, utilizada no presente trabalho (Experimento I) foi originalmente elaborada para bacalhau e, de forma geral, para outros gadídeos como o "haddock" e o "whithing". Esta escala não é diretamente aplicável a outras espécies com diferentes características tais como os elasmobrânquios, linguados, arenques e peixes de água-doce (Shewan, 1962). Esta inadequabilidade foi notada no presente trabalho, pelas dificuldades verificadas durante a análise sensorial do Experimento I, para enquadrar-se as características observadas dentro daquelas prescritas pela escala utilizada. Achou-se, então, conveniente definir modificações na escala convencional, para estabelecer-se outra mais adequada. Para tanto, foi traçado o perfil de deterioração do híbrido de tilápia estocada em gelo (Experimento II).

Para definição das modificações a serem feitas na escala, uma equipe acompanhou a deterioração de um lote de tilápia, tendo como base alguns parâmetros de qualidade para avaliação sensorial de pescado sugeridos por Shewan et al (1953):

- 1- aparência geral (aparência, guelras, superfície externa)

- 2- aparência da carne (particularmente próximo à coluna vertebral)
- 3- textura do peixe cru (sob pressão manual, incluindo reação ao toque)
- 4- odor do peixe cru (particularmente das guelras e cavidade abdominal)

Cada membro da equipe descreveu as modificações observadas a cada dia de amostragem. Foram realizadas, também, discussões em grupo para se tentar chegar a opiniões e denominações comuns para as características. Os resultados estão descritos na Tabela 3.

O odor das guelras e aparência geral pareceram ser bons parâmetros para avaliação sensorial do híbrido da tilápia. Foi possível detectar diferenças marcantes no odor, durante a estocagem. De forma geral, as modificações de odor obedeceram ao mesmo padrão de deterioração de outros peixes. (Lahiry et al., 1963; Disney et al., 1969; Curran et al., 1980). O odor característico de frescor gradualmente desapareceu dando lugar a um odor metálico. Em seqüência, houve o aparecimento de odores de fruta, fermentado, indol e pútrido. O odor metálico observado após o 7º dia de estocagem, não tem sido relatado para outras espécies de peixe. Segundo Shewan (1977), o odor metálico pode ser devido a altas concentrações de metil-mercaptanas, substâncias encontradas em pescados em fase de deterioração, o que não corresponde ao aspecto da tilápia neste período. Alguns peixes, quando cozidos antes do rigor mortis, apresentam um pronunciado sabor metálico (Jones, 1967). O odor de frutas é devido à presença de ácidos graxos de cadeias curtas como o acético, butírico, propiônico e hexanóico (Shewan, 1977). Quanto à aparência geral, apesar de nem todas as características que constituem este parâmetro terem sido úteis, quando consideradas em conjunto deram boas indicações da qualidade do pescado. A aparência leitosa e opaca dos olhos deve-se ao contato dos mesmos com o

Tabela 3 - Avaliação sensorial: perfil de deterioração do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento II).

Tempo de estocagem	Parâmetro sensorial	Características
0	olhos	convexos, brilhantes, cores nítidas, pupilas preto-azuladas com halo vermelho ao redor, pequena opacidade no centro.
	superfície do corpo	brilhante, ligeira mucosidade translúcida, es camas aderindo firmemente ao corpo.
	guelras	vermelho-escuras, brilhantes.
	odor das guelras	maresia, plantas aquáticas, cheiro de rio (lembrando terra), levemente adocicado.
	textura ao tato	firme e elástica, sem apresentar deformação ao toque.
	parede da cavidade abdominal	brilhante, lembrando madrepérola.
	vísceras	íntegras, facilmente distinguíveis uma das outras, odor característico do pescado.
1	olhos	opacidade atingindo toda a pupila.
	superfície do corpo	sem alteração.
	guelras	sem alteração.
	odor das guelras	sem alteração.
	textura ao tato	sem alteração.
	cavidade abdominal	sem alteração.
	vísceras	sem alteração.
2	olhos	sem alteração.
	superfície do corpo	mucosidade inicial um pouco diminuída.
	guelras	alguma descoloração, pequena mucosidade, brilho menos intenso.
	odor das guelras	cheiro característico diminuindo de intensidade, não apresentando odores estranhos.
	textura ao tato	firme e elástica, mais macia na região abdominal.
	cavidade abdominal	sem alteração.
	vísceras	perdendo a integridade, tornando difícil de distinguir uma das outras, soltas, odor levemente metálico.

5	olhos	opacidade mais acentuada, conservando ainda um pouco da transparência, perda acentuada da convexidade.
	superfície do corpo	pequena mucosidade.
	guelras	vermelho-escuras com manchas mais claras ou mais escuras nas bordas, ligeira mucosidade.
	odor das guelras	ligeiro odor metálico porém ainda conservando o odor característico.
	textura ao tato	sem alteração.
	cavidade abdominal	espinhas visíveis, perfurando a parede da cavidade abdominal.
	vísceras	quase liquefeitas, odor metálico dominante, ligeiramente adocicado.

7	olhos	perda total da convexidade, opacidade acentuada no centro.
	superfície do corpo	mucosidade com ligeiro aumento, brilho menos intenso.
	guelras	desaparecimento do brilho, presença de muitas manchas, mucosidade acentuada.
	odor das guelras	metálico, odor característico quase imperceptível.
	textura ao tato	exemplares menores perderam a elasticidade, exemplares maiores sem alteração.
	cavidade abdominal	sem alteração.
	vísceras	sem alteração.

9	olhos	sem alteração
	superfície do corpo	pequena perda de escamas, maior facilidade com que as mesmas se soltam.
	guelras	mucosidade considerável, manchas, bordas desagregando-se.
	odor das guelras	metálico predominante, desaparecimento total do odor característico, levemente pungente.
	cavidade abdominal	sem alteração.

12	olhos	leve diminuição da opacidade, afundamento acentuado.
	superfície do corpo	diminuição do brilho, perda de escamas que se soltam com facilidade.
	guelras	mucosidade abundante, perda total do brilho e cor adquirindo uma tonalidade vermelho-marrom.
	odor das guelras	metálico, levemente adocidado.
	textura ao tato	alguma perda da elasticidade.
	cavidade abdominal	sem alteração.
	vísceras	sem alteração.

15	olhos	diminuição da opacidade, aspecto sangüíneo, totalmente afundado nas órbitas.
	superfície do corpo	mucosidade amarela bastante viscosa.
	guelras	sem alteração.
	odor das guelras	desaparecimento do odor metálico, odor adocicado, fermentado.
	textura ao tato	alguma perda de elasticidade.
	cavidade abdominal	maior maciez.
	vísceras	apresentando sangramento.

20	olhos	características anteriores mais acentuadas.
	superfície do corpo	sem alteração.
	guelras	sem alteração.
	odor das guelras	indol, fermentado, adocicado, ligeiramente pútrido.
	textura ao tato	perda total da elasticidade, carne flácida.
	cavidade abdominal	sem alteração.
	vísceras	sem alteração.

gelo, que é variável com a posição da amostra no recipiente de estocagem (Lahiry et al, 1963).

As mudanças das condições das vísceras ocorreram no início da estocagem, não indicando deterioração posterior. Após 48 h de estocagem as vísceras já apresentavam-se soltas, sem integridade e com odor alterado. A textura ao tato sofreu alterações mais lentas, podendo, ser usada como indicador de deterioração. Peixes menores sofreram mudanças mais rapidamente, fato também observado para outras espécies de tilápia (Hoffman et al, 1974) e também para outras espécies de peixes de água-doce (Lahiry et al, 1963).

Observações feitas durante a filetagem mostraram que o músculo começou a sofrer alterações a partir do 15º dia de estocagem, quando foram observadas manchas na região do músculo próxima à coluna vertebral, os miômeros soltando-se facilmente uns dos outros, odor atípico lembrando peixe marinho. Este tipo de odor também foi observado por Hoffman et al, (1974) para outras espécies de tilápia. Segundo Murray (apud Shewan, 1977), durante a deterioração em gelo a atividade bacteriana está situada, em grande parte, no muco superficial, sendo que o músculo só é invadido em fase posterior, observação esta também citada por Ludorff e Meyer (1973).

As modificações sensoriais observadas durante a estocagem, puderam ser enquadradas da seguinte forma nos estágios de deterioração descritos por Shewan (1977):

- Fase 1 - (superfície e guelras brilhantes, odor característico de pescado fresco, carne firme e elástica): 0 a 5 dias.
- Fase 2 - (superfície e guelras apresentando ligeira mucosidade, odor neutro ou metálico, carne moderadamente firme e elástica): 5 a 15 dias.
- Fase 3 - (mucosidade e manchas na superfície do corpo e das guelras, odor adocicado, de frutas, fermentado, perda de firmeza e elasticidade da carne): 15 a 19 dias.

Fase 4 - (aparência deteriorada, grande quantidade de muco amarelado na superfície do corpo e das guelras, odor fecal ou pútrido, carne macia e flácida): mais de 19 dias.

A partir das observações realizadas no Experimento II (Tabela 3) procurou-se adaptar a escala elaborada pela Torry Research Station, para utilizá-la especificamente para o pescado em estudo. A escala adaptada resultante das observações da Tabela 3, está descrita na Tabela 4.

Na escala desenvolvida (Tabela 4) foram atribuídos os valores de acordo com estágios de deterioração descritos acima:

Fase 1 - valores entre 9 e 7 para cada um dos parâmetros sensoriais.

Fase 2 - valores entre 7 e 3 para cada um dos parâmetros sensoriais.

Fase 3 - valores entre 3 e 1 para cada um dos parâmetros sensoriais.

Fase 4 - valor de 1 ponto para cada um dos parâmetros sensoriais.

A partir do 15º dia, a equipe sensorial considerou o pescado impróprio para consumo. A esta altura, o pescado apresentava características correspondentes à fase 3, isto é, entre 1 e 3 pontos na escala adaptada.

Tendo em vista o critério estabelecido anteriormente, no Experimento I, que dá como limite de aceitabilidade a perda de 60% das características sensoriais ideais e o odor do pescado cru como sendo de ácidos graxos inferiores, odores adicionados, de frutas ou semelhante ao clorofórmio, nota-se que na discussão do Experimento II, chegou-se a limite de aceitabilidade semelhante. O limite de 3 pontos corresponde à perda de cerca de 60% das características sensoriais e também corresponde aos odores anteriormente citados.

A escala desenvolvida (Tabela 4), foi testada com tilápia híbrida estocada em gelo (Experimento III). Os resultados estão apresentados na Tabela 5 e Figura 2. O modelo da ficha para avaliação sensorial encontra-se no Anexo 3.

Tabela 4 - Escala sensorial desenvolvida para o híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento II)

Aparência Geral	Odor das Guelras	Textura ao tato
9. Olhos convexos e brilhantes, superfície do corpo opalina, guelras vermelho escuro brilhante e escamas firmes.	9. Maresia, água de rio ou alga.	9. Firme e elástico.
7. Olhos com leve opacidade e pequena perda de convexidade, guelras brilhantes com alguma descoloração e escamas firmes.	7. Metálico (levemente pungente)	7. Regularmente firme e elástica.
5. Olhos opacos e levemente côncavos, superfície com algum muco bacteriano, guelras com descoloração e mucosidade, escamas soltando-se mais facilmente.	5. Adocicado, frutas.	
3. Olhos côncavos e totalmente opacos, superfície com muco viscoso e amarelado, guelras com descoloração e muco abundante, escamas soltando-se facilmente.	3. Fermentado.	3. Regularmente flácida e mole.
1. Olhos afundados, translúcidos e sangüíneos, muco superficial viscoso e amarelo formando nódos, guelras com muco abundante, escamas soltando-se facilmente.	1. Fecal, amoniacal, pútrido.	1. Flácida e mole.

Tabela 5 - Avaliação sensorial do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento III)

TEMPO DE ESTOCAGEM (dias)	Avaliação sensorial ^{1,2}		
	aparência geral	odor das guelras	textura ao tato
1	8,03±0,56 a	8,78±0,30 a	8,44±0,48 a
4	7,34±0,76 b	8,06±0,44 b	8,06±0,79 b
7	6,10±0,57 ac	6,84±0,83 ac	7,00±0,87 c
11	6,00±0,44 ad	6,28±0,99 abd	6,72±0,31 ad
13	4,91±0,89 abe	5,25±0,76 abe	5,47±0,93 ab
15	4,19±0,91 abc	4,31±1,24 abcd	5,00±1,15 abcd
19	2,97±1,56 abcde	2,38±1,45 abcde	3,94±1,24 abcde
Coeficiente de correlação r ⁽³⁾	-0,9907	-0,9848	-0,9843

1- nota máxima: 9 pontos; nota mínima: 1 ponto.

2- cada valor é média de 40 observações (5 peixes x 8 provadores); em uma mesma coluna, valores que mostram a mesma letra diferem significativamente (P < 01).

3- nível de significância: 1%.

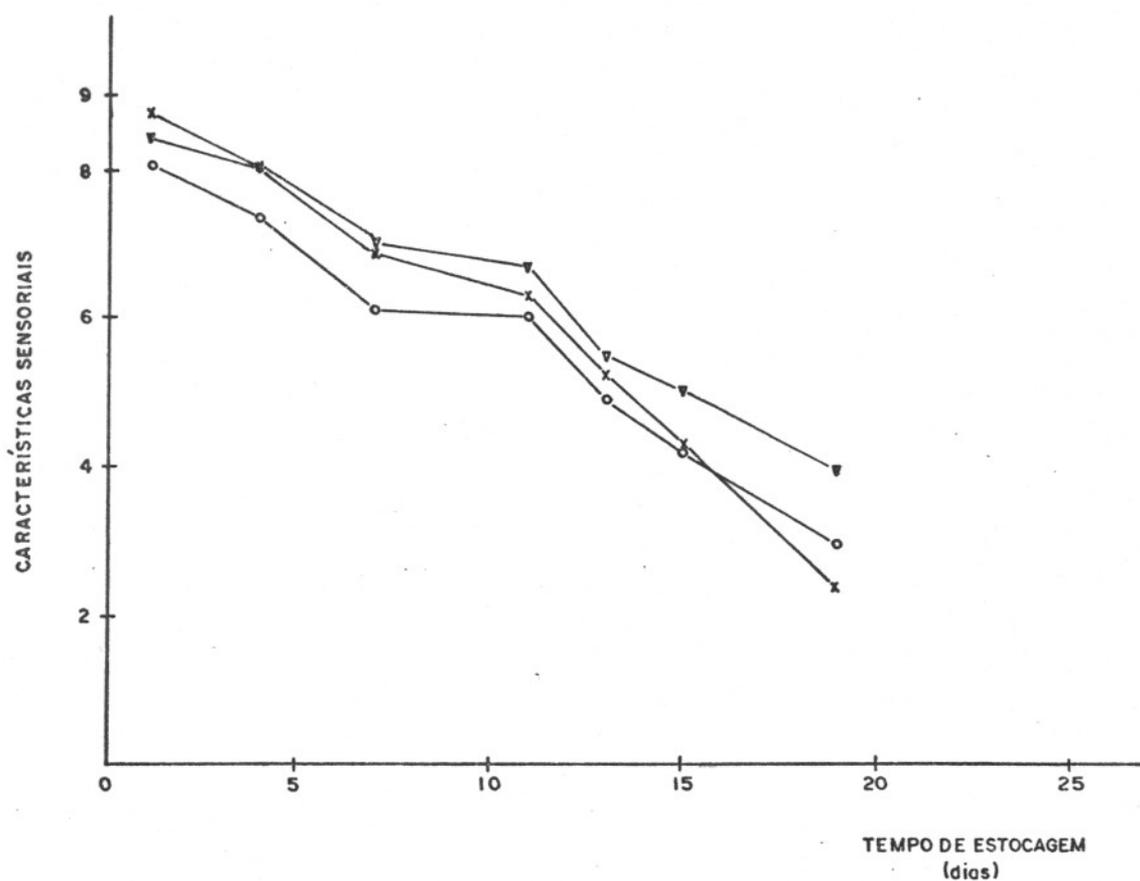


Figura 2 - Avaliação sensorial do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento III) (odor das guelras -x-; aparência geral -o-; textura ao tato -v-).

Para aparência geral foram observadas três fases. Até o 4º dia, não houve variação significativa ($P < 0,01$) nas médias. Nos dias subsequentes, observou-se uma queda estatisticamente significativa que se estendeu até o 15º dia. A partir deste período, notou-se uma queda abrupta da qualidade, constituindo uma nova fase de deterioração. Para o parâmetro odor das guelras, observou-se resultados semelhantes. Para textura ao tato, as médias só apresentaram diferença significativa após o 7º dia de estocagem, sendo que após o 13º dia, observou-se mudanças mais acentuadas.

Em contraste, no Experimento I, onde foi usada a tabela tradicional de avaliação sensorial (Anexo 1), havia sido possível estabelecer-se estatisticamente, apenas duas fases para odor das guelras e textura ao tato, ou seja, foi possível apenas estabelecer o limite de aceitabilidade, sem graduações intermediárias.

Segundo observações do Experimento II, considerou-se impróprio para consumo do pescado que obtivessem média igual ou inferior à 3 pontos. O pescado foi, então, considerado impróprio para consumo a partir do 19º dia.

No Experimento III, pôde-se estabelecer, a partir da análise estatística realizada, uma fase intermediária entre o 7º e 11º dias de estocagem e outra entre o 13º e 15º dias de estocagem. Estas duas fases representam a progressiva perda de frescor que ocorre durante a fase 2 de deterioração.

Os coeficientes de correlação mostraram-se, no Experimento III (Tabela 5), superiores aos do Experimento I (Tabela 2). Este resultado sugere que a escala desenvolvida acusa mudanças de qualidade mais fielmente do que a escala utilizada anteriormente (Experimento I).

O tempo de vida útil em gelo (19 dias) observado no Experimento III, foi superior ao observado no Experimento I (15 dias). Esta mudança nos períodos de estocagem é provavelmente devida às modificações no critério de avaliação. A diferença poderia ser, em parte devi

do às características ligeiramente diferentes da matéria-prima utilizada. O lote utilizado no Experimento III apresentou exemplares de tamanhos relativamente uniformes ao contrário do lote utilizado no Experimento I, que apresentava maior variação no tamanho dos exemplares. No entanto, a inclinação das retas (Figura 3, Tabelas 6 e 7) em ambos os experimentos apresentou somente uma pequena diferença entre si, mostrando que a velocidade de deterioração foi semelhante nos Experimentos I e III. Isto elimina a possibilidade de que a diferença entre os coeficientes de correlação tenha sido devido as diferenças de matéria-prima.

Para outras espécies de tilápia, a vida útil em gelo, foi estimada em 14-15 dias por Watanabe (1965), 21-23 dias por Disney et al (1974), Hoffman et al (1974) e Della Modesta (1976).

3. DETERMINAÇÕES QUÍMICAS

Os resultados das determinações de bases nitrogenadas voláteis (BNV), substâncias nitrogenadas não protéicas (NNP) e pH estão relacionados nas Tabelas 8, 9 e 10 e Figuras 4, 5 e 6. Os resultados das reações de Éber estão relacionados nas Tabelas 9 e 10.

No Experimento I, a evolução das BNV mostrou grande flutuações durante a estocagem (Figura 7; Tabela 8). Pode-se observar três fases na evolução dos teores das BNV. Logo após a morte, o valor apresentou-se bastante reduzido ($8,15 \pm 0,64$ mg N/100g de músculo), havendo então, um rápido aumento nas primeiras 24h de estocagem em gelo, atingindo o valor de $20,19 \pm 0,32$ mg N/100g de músculo. A partir deste período observou-se redução nos teores de BNV, a qual se estendeu até o 10º dia. A diferença entre os valores observados mostrou-se estatisticamente significativa nos dez primeiros dias de estocagem. Após o 10º dia, notou-se aumento contínuo até o final do experimento (21 dias),

Tabela 6 - Equações lineares que relacionam o tempo de estocagem em gelo do híbrido de tilápia com parâmetros sensoriais (Experimento I)

Parâmetro	Equação ⁽¹⁾
Odor das guelras	$Y = 10,39711 - 0,39747 X$
Aparência geral	$Y = 4,36109 - 0,161939 X$
Textura ao tato	$Y = 4,55943 - 0,16402 X$

(1) método dos mínimos quadrados aplicado aos valores da Tabela 2; Y: parâmetro sensorial; X: tempo de estocagem em gelo.

Tabela 7 - Equações lineares que relacionam o tempo de estocagem em gelo híbrido da tilápia com parâmetros sensoriais (Experimento III)

Parâmetro	Equação ⁽¹⁾
odor das guelras	$Y = 9,41514 - 0,34284 X$
aparência geral	$Y = 8,35848 - 0,27478 X$
textura ao tato	$Y = 8,92702 - 0,25517 X$

(1) método dos mínimos quadrados aplicados aos valores da Tabela ; Y: parâmetro sensorial, X: tempo de estocagem em gelo.

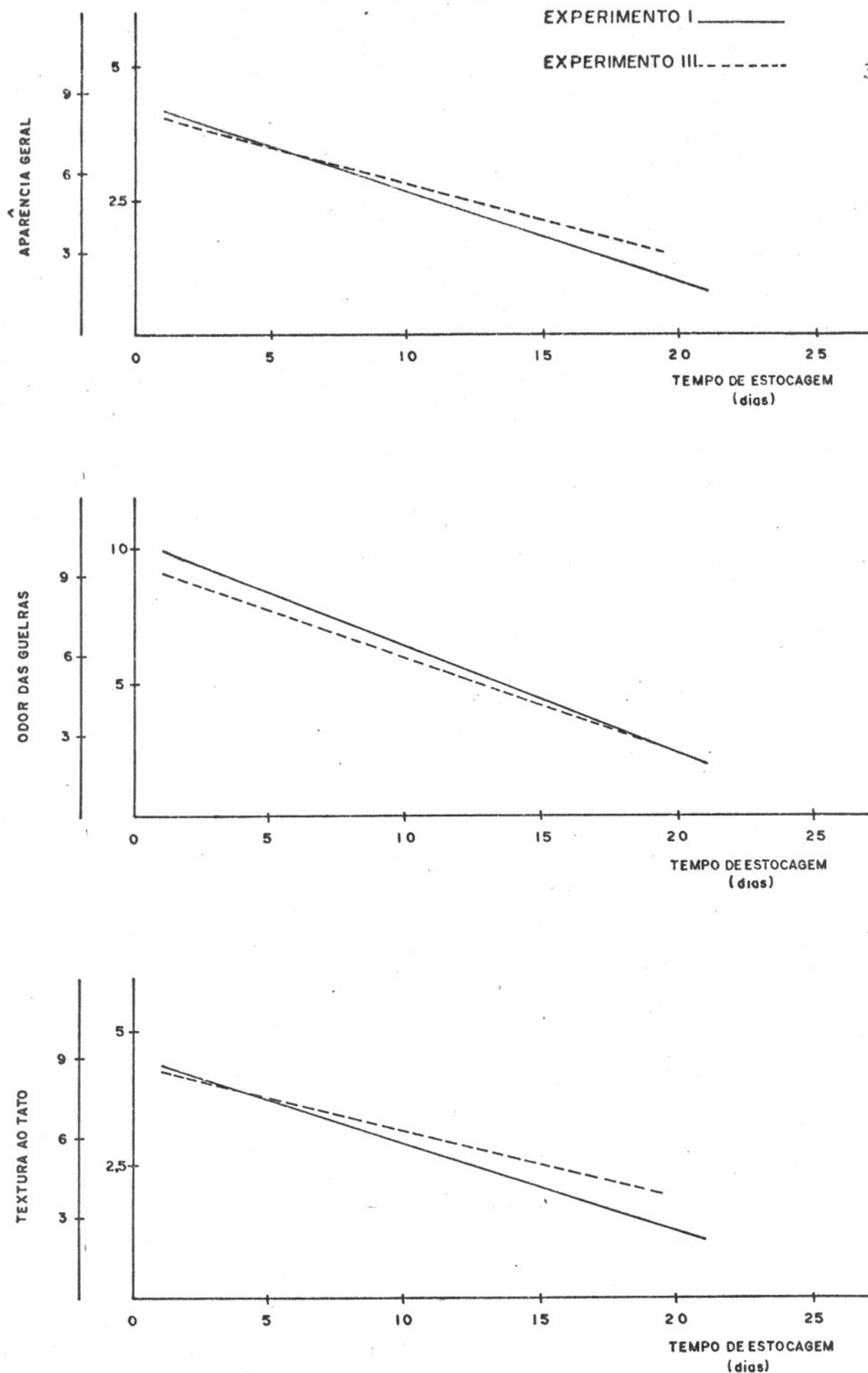


Figura 3 - Gráfico das equações lineares que relacionam o tempo de estocagem do híbrido de tilápia com os parâmetros sensoriais (escala até 5: aparência geral e textura ao tato; escala até 10: odor das guelras).

quando o valor foi de $24,00 \pm 0,64$ mg N/100g de músculo, valor este apenas ligeiramente superior ao encontrado no primeiro dia de estocagem, apesar de ambos mostrarem diferença significativa ao nível de 1%. A diferença do valor observado com 10 dias de estocagem e aqueles observados a 13, 15, 17 e 21 dias, mostrou-se estatisticamente significativa ($P < 0,01$).

Nos Experimentos II e III, a evolução das BNV mostrou comportamento diverso, sem apresentar grandes flutuações como no Experimento I (Figura 7; Tabelas 9 e 10). Em ambos os experimentos, as curvas se apresentaram paralelas durante quase toda a duração da estocagem.

Comportamento diverso para uma mesma espécie também foi observado para o corimbatã (*Prochilodus scrofa*) por Maia (1980). O autor também observou uma elevação rápida nas BNV, seguida por um decréscimo abrupto após 24h, sugerindo que a diferença reside no estado de fadiga do pescado, pois a degradação da ATP e a consequente formação de amônia é mais rápida em pescado fatigado. Ao contrário, o aumento gradual seria próprio do pescado descansado.

O teor de BNV nas primeiras horas de estocagem mostrou-se bastante variável. No Experimento I, a extração feita logo após a morte, mostrou concentração de 8,15 mg N/100g de músculo, que se elevou rapidamente 24h após, atingindo o valor de 20,19 mg N/100 g de músculo. No Experimento II, em extração realizada 4h após a morte, com o pescado conservado em gelo, observou-se o valor de 13,31 mg N/100 g de músculo. No Experimento III, em extração realizada 2h após a morte, o teor foi de 16,33 mg N/100 g de músculo. Nos dois últimos experimentos, não houve variação significativa nos dias subsequentes, ao contrário do que aconteceu no Experimento I. Observou-se, no Experimento III, teores mais elevados que os observados nos experimentos anteriores, porém, nas últimas etapas, os teores apresentaram-se semelhantes (em torno de 20 mg N/100 g de músculo).

Comportamento qualitativo semelhante ao observado no Experi

Tabela 8 - Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento I)

Tempo de estocagem (dias)	Determinação química ⁽¹⁾		
	BNV (mg N/100 g músculo)	NNP (mg N/100 g músculo)	pH
0 ⁽³⁾	8,15 ± 0,64 a	163,94 ± 5,56 a	7,00
1	20,19 ± 0,32 ab	198,68 ± 2,78 ab	6,10
3	15,56 ± 0,00 abc	286,21 ± 5,56 abc	6,10
6	14,82 ± 0,64 abd	250,08 ± 6,42 abcd	6,20
8	12,41 ± 0,32 abcde	241,75 ± 16,67 abce	6,20
10	12,04 ± 0,32 abcdf	266,76 ± 0,00 abef	6,20
13	14,82 ± 0,32 abedg	255,64 ± 9,08 abcg	6,50
15	16,33 ± 0,67 abefh	277,87 ± 4,54 abdeh	6,30
17	15,56 ± 0,00 abefh	215,35 ± 5,31 acdefgh	6,30
21	24,08 ± 0,64 abefghi	214,89 ± 16,98 acdefgh	6,80
Coefficiente de correlação r ⁽²⁾	0,4879 ^{ns}	0,2129 ^{ns}	0,171 ^{ns}

(1) - partindo de um lote de 5 peixes, foram realizadas 3 repetições para BNV, 4 repetições para NNP, 2 repetições para pH.

Para uma mesma coluna, valores que apresentam a mesma letra diferem significativamente (P < 0,01)

(2) - nível de significância: ns (não significativo)

(3) - imediatamente após a morte.

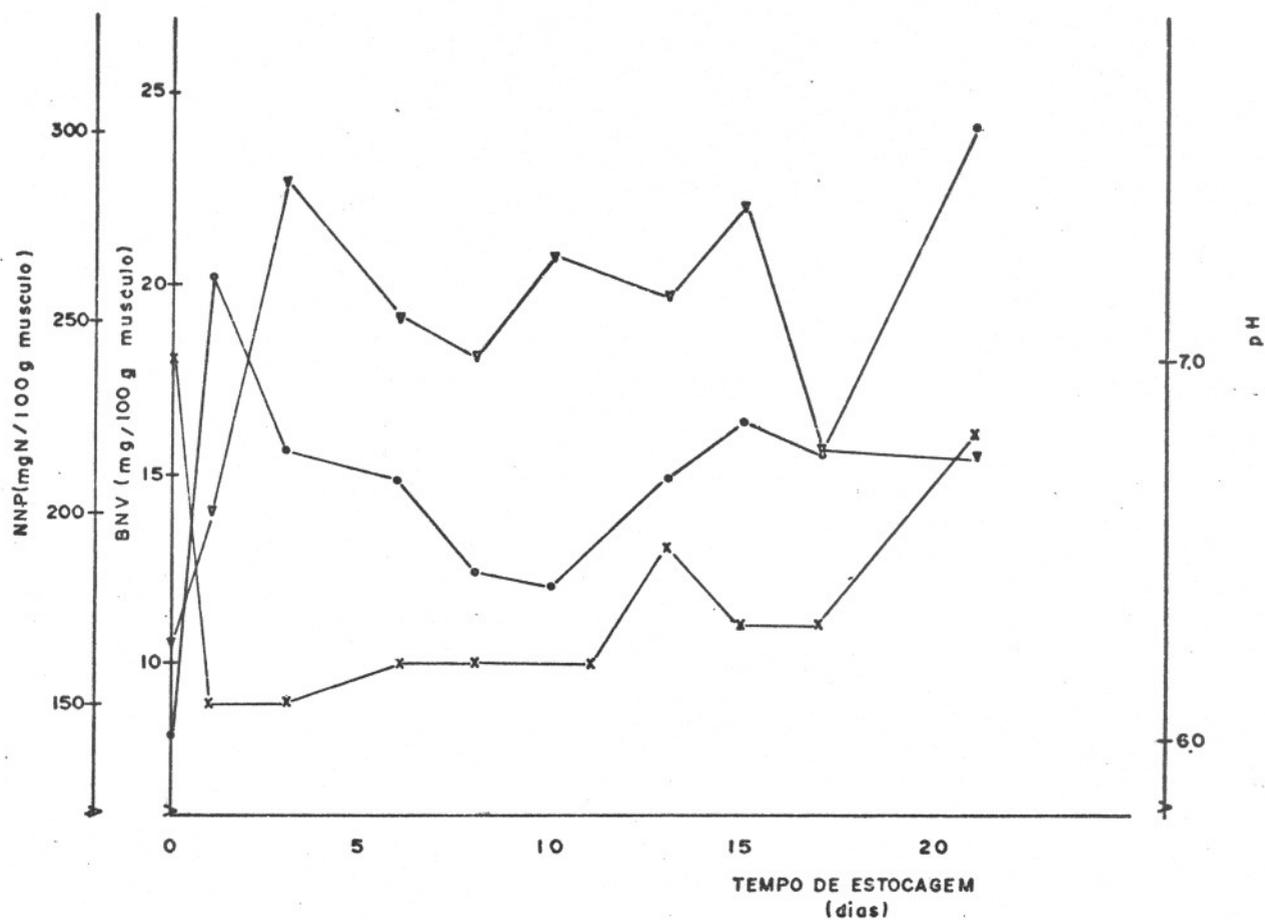


Figura 4 - Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento I) BNV: -o-; NNP: -x- ; pH: -▽-).

Tabela 9 - Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento II)

Tempo de estocagem (dias)	Determinações químicas ⁽¹⁾				
	BNV (mg N/100 g músculo)	NNP (mg N/100 g músculo)	pH	Reações de Éber	
				NH ₃	H ₂ S
0 ⁽³⁾	13,31 ± 0,96 a	294,00 ± 2,90 a	5,90	-	-
1	12,01 ± 0,32 b	269,06 ± 5,03 b	6,00	-	-
2	11,27 ± 0,32 ac	261,51 ± 0,00 ac	6,00	-	-
5	11,83 ± 0,64 d	257,74 ± 2,52 abd	6,00	-	-
7	11,09 ± 0,56 ae	247,69 ± 2,51 abcde	6,10	-	-
9	11,46 ± 0,64 f	238,89 ± 5,03 abcdf	6,25	-	-
12	12,45 ± 0,29 g	251,45 ± 0,00 abcfg	6,30	-	-
15	12,79 ± 0,29 h	207,45 ± 4,82 abcdefgh	6,40	-	+
20	15,98 ± 0,29 abcdefghi	150,87 ± 0,00 abcdefgh	6,70	-	++
23	21,53 ± 0,29 abcdefghij	198,65 ± 2,90 abcdefghij	6,85	+ (?)	+++
26	23,88 ± 0,58 abcdefghij	179,79 ± 2,53 abcdefghij	6,80	+ (?)	++++
Coefficiente de correlação r ⁽²⁾	0,8272**	0,9093**	0,9806**		

(1) - partindo de um lote de 5 peixes, foram realizadas 3 repetições para BNV, 4 repetições para NNP, 2 repetições para pH e 3 repetições para reações de Éber.

Valores que apresentam a mesma letra, em uma mesma coluna, diferem significativamente (P < 0,01)

(2) - Nível de significância: ** (1%).

(3) - 4 h após a morte.

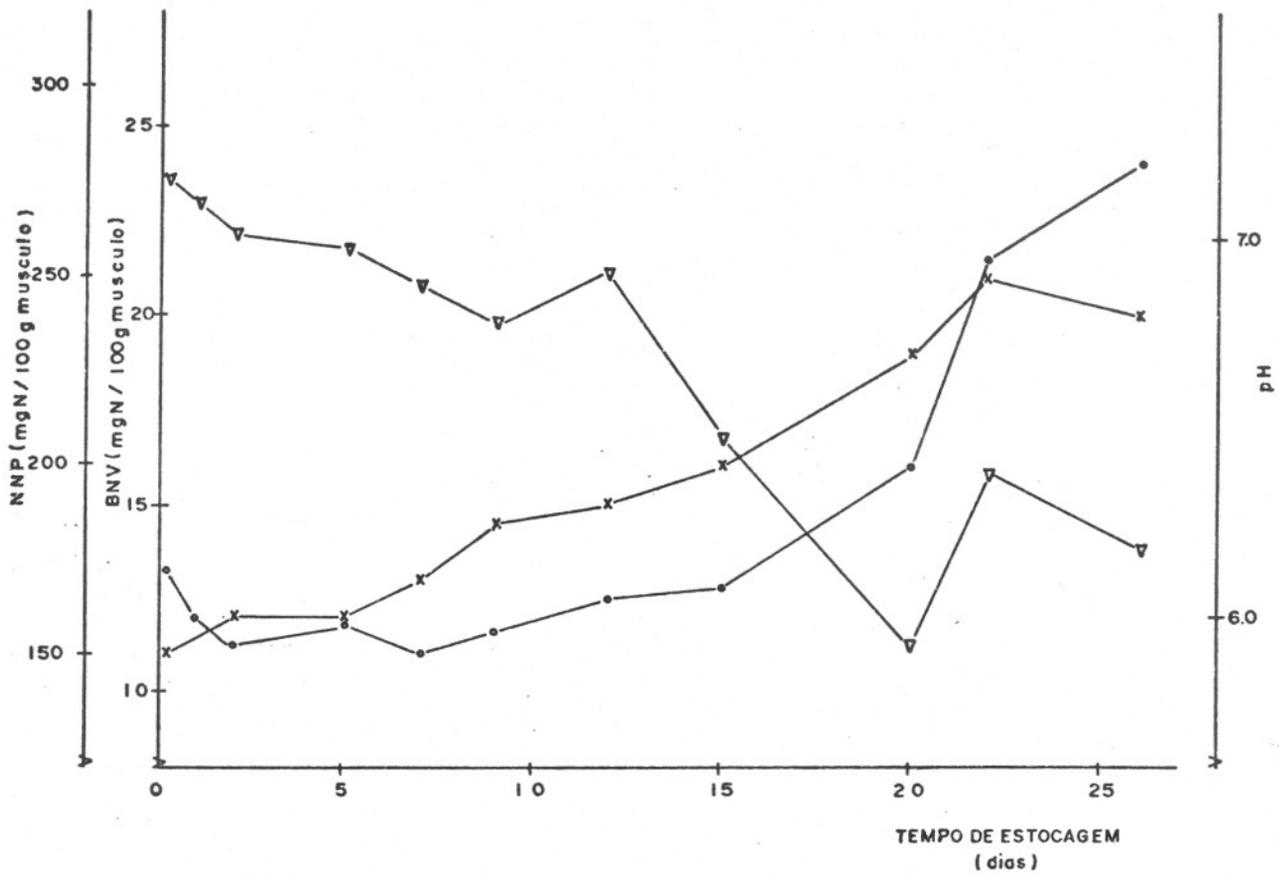


Figura 5 - Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento II) (BNV: -o-; NNP: -v-; pH: -*-)

Tabela 10 - Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento III)

Dias de estocagem	Determinações químicas ⁽¹⁾				
	BNV (mg N/100 g músculo)	NNP (mg N/100 g músculo)	pH	Reações de Éber	
				NH ₃	H ₂ S
0 ⁽³⁾	16,33 ± 0,57 a	292,78 ± 2,45 a	6,50	-	-
1	16,99 ± 1,13 b	300,13 ± 4,69 b	6,00	-	-
4	15,63 ± 0,98 c	309,19 ± 2,94 ac	6,10	-	-
7	17,44 ± 0,71 d	294,25 ± 6,52 cd	6,05	-	-
11	16,66 ± 0,71 e	255,05 ± 5,39 abcde	6,20	-	-
13	17,05 ± 0,71 f	244,76 ± 5,08 abcd	6,30	-	-
15	17,45 ± 1,19 g	232,02 ± 4,39 abcde	6,25	-	+
19	20,06 ± 0,45 abcdfh	240,84 ± 4,89 abcde	6,40	+ (?)	++
21	20,58 ± 0,70 abcdefgi	248,63 ± 4,11 abcdef	6,45	+ (?)	+++
25	31,36 ± 0,59 abcdefghi	238,39 ± 2,45 abcde	6,70	+ (?)	++++
Coefficiente de correlação r ⁽²⁾	0,7457*	0,3660**	0,6423*		

(1) - Partindo de um lote de 5 peixes foram realizadas 3 repetições para BNV, 4 repetições para NNP, 2 repetições para pH e 3 repetições para as reações de Éber
Em uma mesma coluna, valores que apresentam a mesma letra diferem significativamente.

(2) - Nível de significância: 1% (**), 5% (*).

(3) - 2 h após a morte.

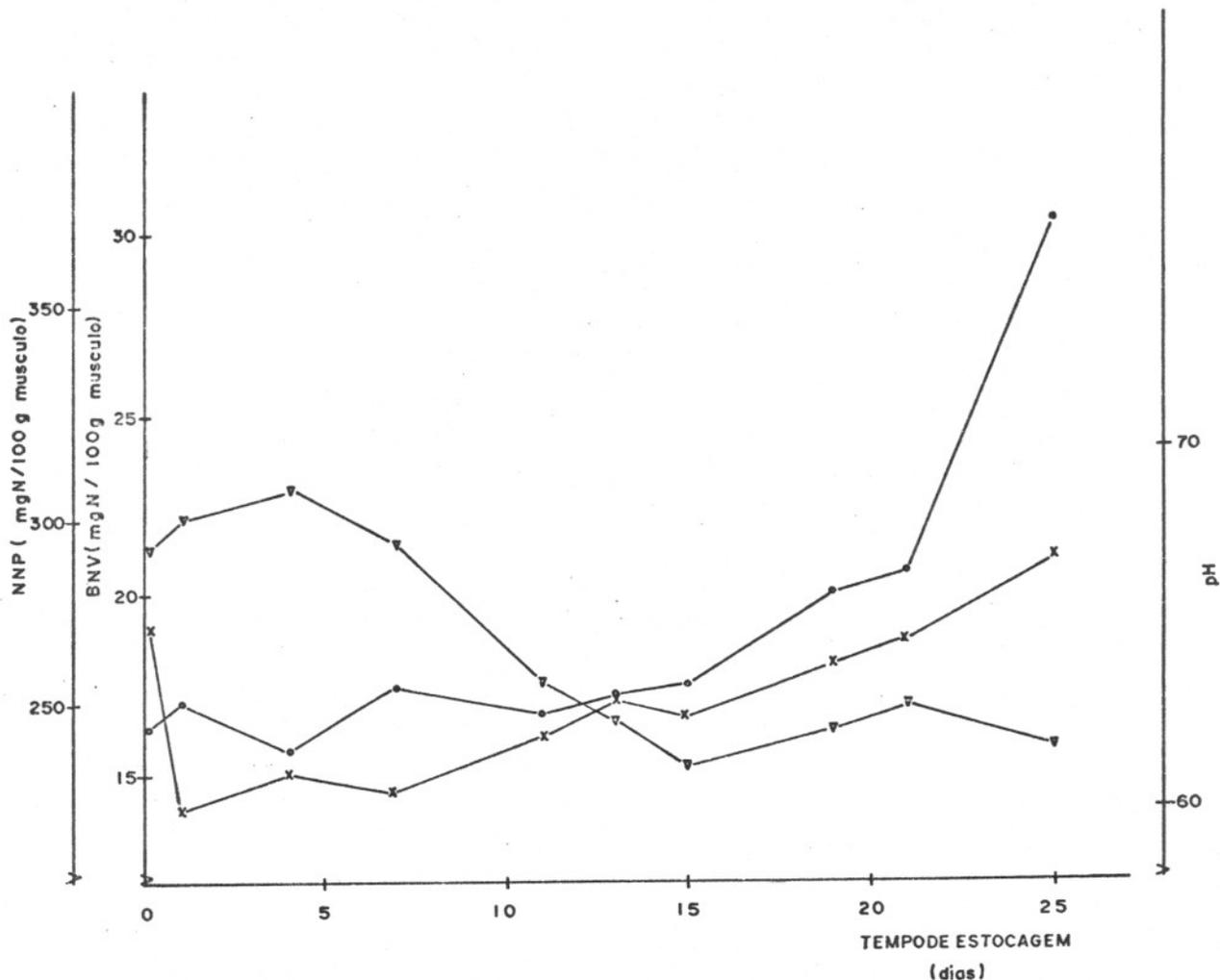


Figura 6 - Determinações químicas do híbrido de tilápia estocado em gelo (Experimento III) (BNV: -o-; NNP -v-; pH -x-).

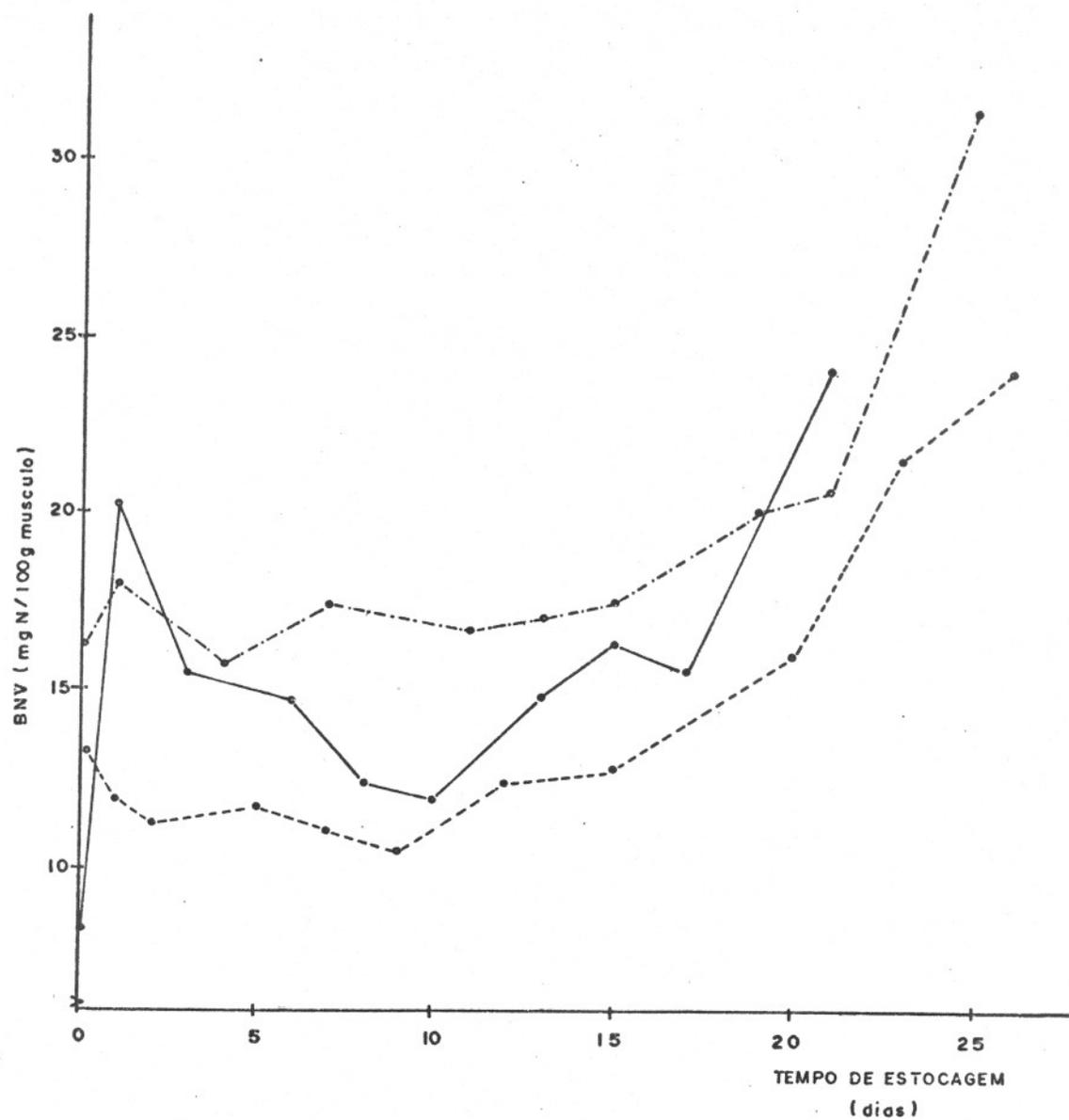


Figura 7 - Determinações de bases nitrogenadas voláteis (BNV)
Experimento I -o-; Experimento II --o--; Experimento
III -.-o-.-

mento I foi observado em espécies de "rockfish" do Pacífico (*Sebastes sp*) (Liston et al. 1961), em peixes marinhos de águas tropicais como o "gold lined sea bream" (*Rhabdosargus sarba*) (Curran et al, 1930).

Trabalhos realizados por Moorjani et al. (1958) e Lahiry et al. (1963) com peixes de água-doce e Barassi et al. (1981), Morga (1975) com peixes marinhos, mostraram comportamentos semelhantes ao observado nos Experimentos II e III.

Segundo Kuaye (1982), a curva de evolução das BNV apresenta-se diferente, dependendo do método analítico utilizado. Para a tilápia, pelo método utilizado pelo Instituto de Fomento Pesqueiro do Chile (IFOP) (Morga, 1975), o mesmo método utilizado no presente trabalho, foi observado período com teores constantes seguido por aumento gradual dos teores, concordando com os resultados obtidos nos Experimentos II e III.

De acordo com Jones (1967), as BNV podem se formar independentemente do ataque microbiano sobre o músculo do pescado, fato que também foi constatado por Yeh et al. (1978) com camarão. Segundo aqueles autores, a produção relativamente alta de amônia nos estágios iniciais da estocagem em gelo, deve-se em parte à ação das enzimas adenosina desaminase e AMP desaminase sobre os produtos de degradação do ATP. A concentração de amônia, então, em pescado fresco depende da extensão em que o ATP foi desaminado antes da morte. Se esta desaminação não ocorreu "in vivo", tem lugar rapidamente após a morte. Segundo Stone (1971), a degradação total do ATP ocorre um ou dois dias após a morte ou com a resolução do "rigor-mortis" (Ludorff e Meyer, 1973). É importante salientar que o principal componente das BNV em peixes de água-doce é a amônia (Zaitsev et al, 1969)

A primeira etapa de deterioração do pescado consiste de reações hidrolíticas catalisadas por enzimas do tecido muscular do peixe (Doke et al., 1979; Siebert, 1962). Estas reações formam nutrientes que facilitam o desenvolvimento de microorganismos (Bramsted , 1965).

As enzimas proteolíticas presentes no músculo são responsáveis pela formação de polipeptídeos e, posteriormente, de amino-ácidos que enriquecem o substrato natural, favorecendo o crescimento de microorganismos (Pedraja, 1970; Siebert, 1962).

Após a morte do pescado, os mecanismos de defesa, que previnem a invasão dos tecidos por microorganismos, param de funcionar (Liston et al. 1963; Shewan, 1962; Martin et al, 1978) e o tempo que as bactérias demoram para penetrar no músculo é ainda duvidoso, variando entre 3 e 6 dias (Martin et al, 1978; Shewan, 1962). Até ocorrer esta invasão, poucas alterações podem ser atribuídas ao ataque microbiano (Shewan, 1962).

Segundo Kuaye (1982), a modificação da flora microbiana pode estar correlacionada com a evolução da curva das BNV. No pescado recém-capturado, os microorganismos gram-negativos predominam. Na fase latente ("lag") de crescimento há modificações e os gram-positivos (*Micrococcus*, *Corynebacterium*, etc) tornam-se dominantes. Ao final da fase "lag" e durante a fase de aceleração de crescimento microbiano a predominância volta a ser de gram-negativos. Nesta fase também há modificação da flora. *Achromobacter* e *Flavobacterium*, de crescimento lento, são rapidamente sobrepujadas pelas *Pseudomonas* (Liston et al., 1963). As *Pseudomonas* atacam compostos nitrogenados aumentando o teor de amônia e outras aminas (Liston et al., 1961).

Para seguir a evolução dos compostos nitrogenados que são facilmente extraíveis, deve-se também considerar-se as perdas por lixiviação através da água de degelo. Esta perda é contínua e variável, alcançando proporções desconhecidas, sendo responsável pela diminuição dos teores das BNV observados no corimbatã (Maia, 1980), e no camarão (Cobb III et al., 1976).

Considerando-se os resultados obtidos na avaliação sensorial que estabeleceu o limite de aceitabilidade deste pescado em torno de 15 dias, observou-se que o teor de BNV neste período variava entre 12

e 18 mg N/100 g de músculo. Considerando-se o tempo necessário para que os resultados das reações de Éber se tornassem positivos, obtemos teores de BNV entre 16 e 18 mg N/100 g de músculo. Estes resultados são bastante inferiores ao que regulamenta a legislação brasileira, 30 mg N/100 g de músculo (Brasil, 1974). Mesmo no final dos experimentos quando o pescado já mostrava claros sinais de deterioração, os teores de BNV mostravam-se bem abaixo do limite da legislação. Apenas no Experimento III, no 25º dia de estocagem, após permanecer algumas horas fora do gelo, o teor de BNV ultrapassou o limite citado. Verifica-se, desta forma, a inadequabilidade do valor previsto pela legislação, para esta espécie de pescado.

A correlação entre os teores de BNV e tempo de estocagem mostrou-se bastante variável com os experimentos realizados. Enquanto que a correlação no Experimento I não se mostrou significativa, no Experimento II obteve-se um bom coeficiente de correlação ($r=0,8272$, significativo a 1%). Já no Experimento III, o coeficiente de correlação apresentou-se inferior ($r=0,7457$, significativo a 5%), indicando não haver boa correlação entre os teores de BNV e o tempo de estocagem. Esta variabilidade de correlação com o tempo de estocagem dificulta a utilização das BNV como índice de frescor para a tilápia. Segundo Lahiry et al, (1963), as modificações que ocorrem nos teores de BNV falham em indicar o início de deterioração do pescado estocado em gelo. Já Moorjani et al (1958) consideraram as BNV como índice útil para avaliação do frescor do pescado de água-doce.

Nos experimentos realizados, foi observada correlação variável entre os teores de NNP e período de estocagem. No Experimento I a correlação não foi significativa, enquanto nos Experimentos II e III obteve-se altos coeficientes de correlação, $-0,9093$ e $-0,8660$, respectivamente (nível de significância 1%).

No Experimento I (Figura 8), observou-se grande flutuação nos teores de NNP, sendo que na fase final de estocagem, notou-se uma

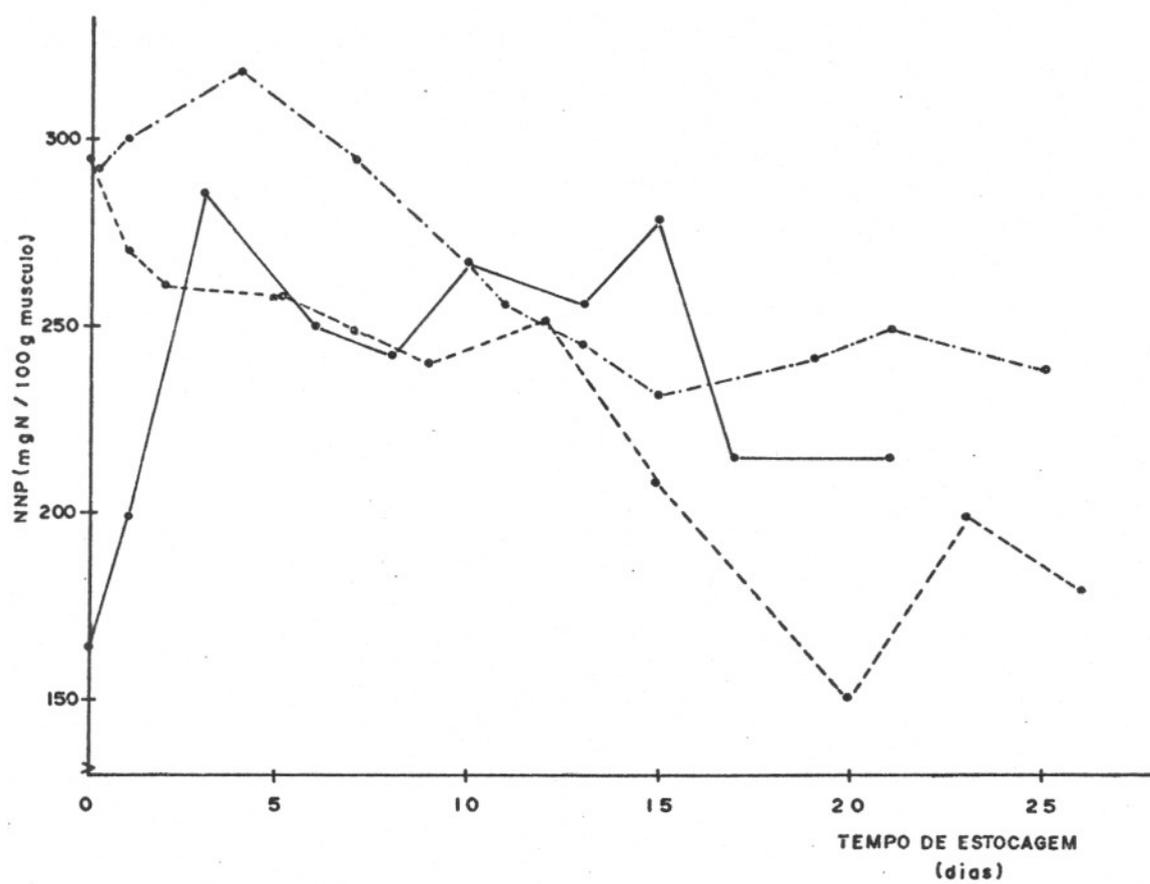


Figura 8 - Determinações de compostos nitrogenados não protéicos (NNP)
Experimento I: -o-; Experimento II: --o--; Experimento III:
-.-o-.-

tendência a estabilização dos teores. Nos Experimentos II e III (Figura 8, os resultados apresentaram-se menos variáveis. Para ambos os experimentos, observou-se uma fase inicial de teores bastante próximos, seguida por uma fase de decréscimo gradual nos teores de NNP. Na fase final de estocagem, a exemplo do Experimento I, também foi notada uma tendência a estabilização nos valores encontrados.

O aumento do teor de NNP no início da estocagem pode estar relacionado à atividade proteolítica das enzimas do músculo (Siebert, 1962; Cobb III et al, 1976), aliado à formação de amônia pela desaminação de derivados purínicos do ATP. É importante salientar que as catepsinas do músculo de pescado apresentam atividades particularmente elevadas, contribuindo para o aumento da fração de NNP (Siebert, 1962).

A tendência ao decréscimo dos teores de NNP, que foi observado em todos os experimentos, foi também constatada para os teores de BNV e pode estar relacionado com a perda pela lixiviação através da água de degelo (Shewan, 1962; Lahiry et al, 1963; Cobb III et al. 1976) como também pela utilização destes compostos pela flora microbiana na fase inicial de estocagem. Os aminoácidos livres e outros componentes são, com certeza, os primeiros nutrientes disponíveis para os microrganismos, que os utilizam na primeira fase de deterioração (Ludorff & Meyer, 1973), com a produção de ácidos e bases voláteis (Liston et al, 1961; Leitão, 1977). A atividade proteolítica dos microrganismos tem lugar em etapa posterior como meio de reposição de oligopeptídeos e aminoácidos no substrato (Tomiyasu e Zenitani, 1957); Shewan, 1962).

Segundo Leitão (1977), há um desenvolvimento seletivo de algumas bactérias, particularmente *Pseudomonas*, capazes de rápida e eficiente utilização dos compostos nitrogenados não protéicos, metabolizando principalmente aminoácidos e assim alterando a composição deste substrato. Em consequência desta alteração, cessa a repressão de produção de proteínases microbianas, acelerando-se o processo proteolítico, causando

um aumento ou reposição nos aminoácidos disponíveis no substrato. A produção de bases e ácidos voláteis, bem como a de H_2S e outros compostos de enxofre é resultante da decomposição de aminoácidos sulfurados.

Pode-se observar nas Figuras 4, 5 e 6 que, apesar da diminuição do NNP durante a estocagem, particularmente nas fases finais de armazenamento, as BNV sofreram aumento, evidenciando o ataque bacteriano.

A atividade microbiana também pode ser evidenciada pela reação positiva de gás sulfídrico observadas nos Experimentos II e III. O H_2S é produto de atividade bacteriana sobre aminoácidos sulfurados, sendo considerado um dos produtos finais de atividade bacteriana sobre as proteínas (Zaitsev et al, 1969). Sua presença é um indicador definitivo de deterioração (Farber, 1965).

A reação de Éber para NH_3 mostrou-se negativa para o Experimento II até o 20º dia de estocagem, havendo formação de nuvens de amônia praticamente imperceptíveis no 22º e 26º dias de estocagem (Tabela 8). Para o Experimento III, o teste mostrou-se positivo no 19º dia, formando, como no experimento anterior nuvens de amônia pouco densas (Tabela 10). O teste de amoníaco se caracteriza pela formação de espessas nuvens brancas (Instituto Adolfo Lutz, 1976) no início da decomposição, o que não foi observado em nenhum dos experimentos. Estes resultados concordam com o que foi observado para as BNV, que não apresentaram valores elevados, mesmo nos últimos dias de estocagem. Maia(1980) observou para o corimbatã, ligeira formação de nuvens de amônia a partir do 11º dia de estocagem, quando o teor de BNV era de 24,62 mg N/100g de músculo, sendo o teste considerado positivo no 21º dia quando o teor de BNV atingiu o valor de 33,03 mg N/100g de músculo. Valores acima de 30 mg N/100 g de músculo não foram observados para a tilápia, podendo explicar o resultado negativo do teste, pois as BNV para os pescados de água-doce são constituídas basicamente de amônia (Zaitsev et al, 1969).

A reação de H_2S é positiva quando há o aparecimento de uma mancha preta no papel de filtro (Instituto Adolfo Lutz, 1976), indicando a presença de gás sulfídrico e consequente putrefação do pescado. No Experimento II a reação foi positiva no 15º dia de estocagem, mostrando resultados mais acentuados nos dias subsequentes. No Experimento III, a reação se mostrou levemente positiva no 15º dia, mostrando resultados mais perceptíveis no 19º dia. Esta reação de relacionou bem aos resultados da avaliação sensorial para ambos os experimentos. A reação foi positiva nos mesmos períodos em que o pescado foi considerado sem condições para consumo pela avaliação sensorial.

Comparando-se as reações de NH_3 e H_2S , nota-se claramente que a de gás sulfídrico mostrou-se mais sensível para a tilápia. Resultados diversos foram obtidos para outras espécies de pescado por Maia (1980), Sigurdsson (1947), Farber (1952), os quais concluíram ser o teste de amoníaco mais sensível.

O pH encontrado para a tilápia, imediatamente após a morte, foi 7,0 (Tabela 8). Após 24 h de estocagem em gelo, foi obtido o pH mínimo que variou entre 6,0 e 6,1. Apesar de medido em diferentes experimentos, pode-se observar que a queda do pH é bastante rápida, sendo que 2 horas após a morte o pH obtido foi 6,5 e 4h após a morte o valor obtido foi 5,9 (Figura 9). Atingido o pH mínimo, este permaneceu praticamente constante por período bastante longo. No Experimento I e II, aumento sensível do pH foi verificado após 1 20º dia, enquanto que no Experimento III elevação semelhante foi observada no 25º dia. O pH máximo atingido nos três experimentos variou entre 6,7 e 6,85, com o pescado mostrando claros sinais de deterioração (Figura 9).

Segundo Liston et al (1963), o pH mínimo alcançado varia grandemente com a espécie, teor inicial de glicogênio, capacidade tampicante dos componentes do músculo, velocidade das reações post-mortem, que vão resultar não apenas na formação de ácido lático como também em sua subsequente oxidação e desaparecimento.

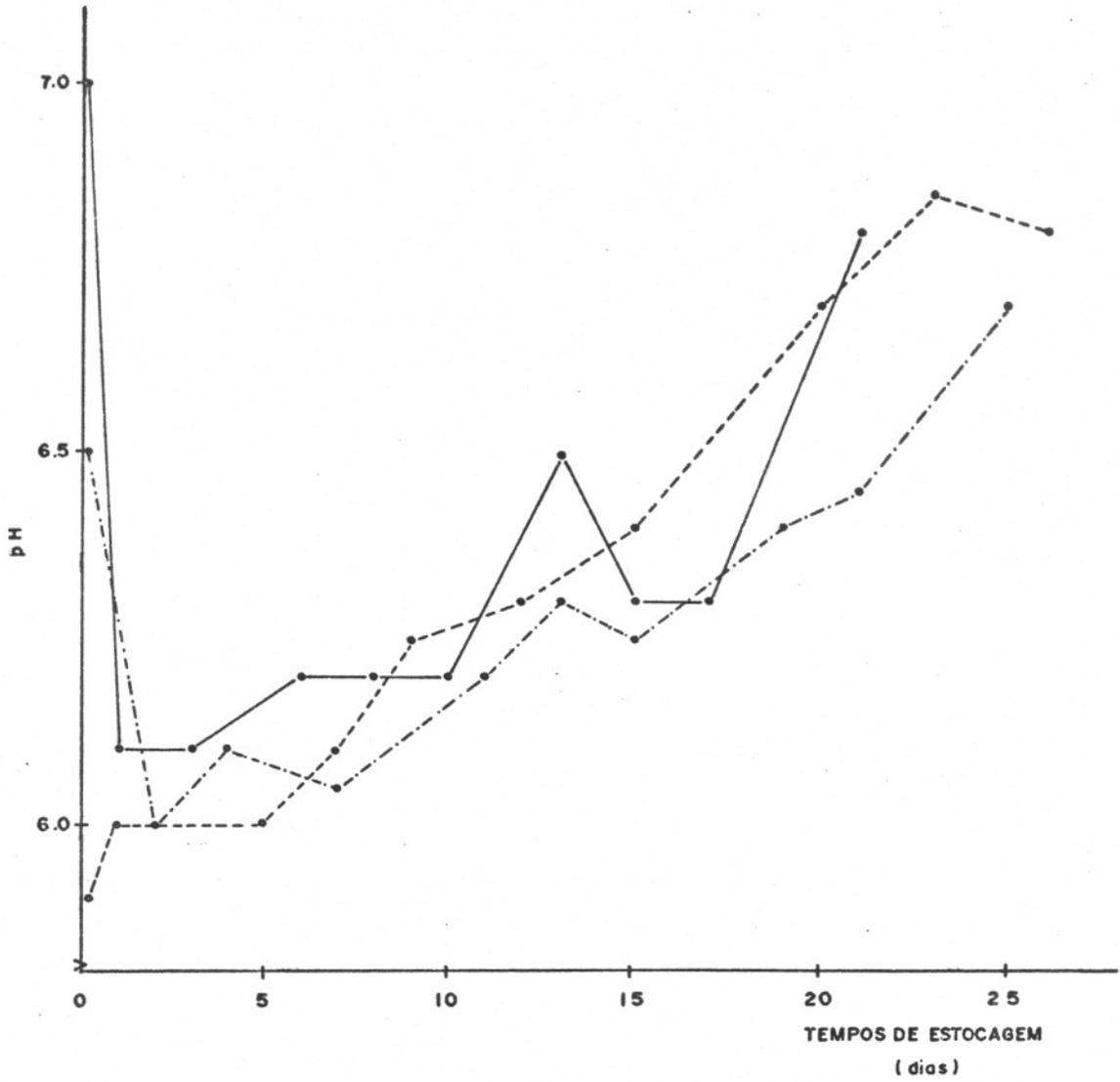


Figura 9 - Determinações de pH. Experimento I: -o-; Experimento II: --o--; Experimento III: --o--

Disney et al. (1969) encontrou para a *Tilapia nilotica* valores semelhantes aos encontrados no presente trabalho. O pH inicial de 6,9 caiu para 6,2, subindo gradualmente até atingir o valor de 6,8 após 23 dias de estocagem. Lahiry et al (1963), trabalhando com diversos peixes tropicais de água-doce, encontrou valores iniciais mais elevados, entre 6,4 e 6,9, variando com a espécie. O pH, para estes peixes, permaneceu constante por um período de 8-12 dias, elevando-se gradualmente até atingir valores em torno de 7,0. Segundo o autor o aumento de pH se deve à formação de amônia e outras aminas durante a estocagem.

Para diversas outras espécies, tais como *Mallotus villosus* (Shaw & Botta, 1975), *Glyptocephalus cynocephalus* (Shaw et al. 1977), *Macrourus berglax* (Botta & Shaw, 1975) e *Micromesistius australis* (Barassi et al., 1981), foi observado comportamento bastante diverso. O pH, com a resolução do rigor-mortis, sofreu apenas pequena alteração, raramente caindo para valores inferiores a 6,8. Durante a estocagem em gelo destas espécies de pescado, o pH alcançou valores acima de 7,0 já nos primeiros dias de estocagem. Segundo Jones (1967), a diferença de período de conservação entre as espécies é, em parte, devido ao pH. As espécies citadas acima tem sua vida útil menor, quando estocado em gelo, quando comparados às espécies estudadas por Lahiry et al., (1963) e Disney et al. (1969) citadas anteriormente.

Observa-se, através das Figuras 4, 5 e 6, que apesar de o pH não acompanhar estritamente as alterações das BNV, as curvas, a grosso modo, evoluem paralelamente. Quando o músculo atingiu pH ótimo para o crescimento bacteriano, entre 6,5 e 7,5, (Martin et al. 1978), observa-se a quase imediata elevação dos teores das BNV, tendo sido possível notar ligeira formação de nuvens de amônia neste período.

A legislação brasileira (Brasil, 1974) considera o pescado impróprio para consumo quando o pH atinge o valor de 6,8. A tilápia foi considerada imprópria para consumo, quer pela avaliação sensorial,

quer pela reação de H_2S , quando ainda exibia valores bem inferiores ao estipulado pela legislação.

A correlação entre o pH e tempo de estocagem mostrou-se bastante variável com os experimentos. No Experimento I não se mostrou significativo, no Experimento II obteve-se um alto coeficiente de correlação ($r=0,9806$, nível de significância 1%) e no Experimento III mostrou-se bastante baixo ($r=0,6423$, nível de significância 5%).

4. ELETROFORESE

O exame dos eletroforegramas das proteínas sarcoplasmáticas do híbrido da tilápia (Figura 10, 11 e 12) mostram diferença qualitativas devido a diferentes técnicas utilizadas (com e sem gel superior). A mesma quantidade de amostra foi utilizada em todos os géis e todos os eletroforegramas são de um mesmo lote de pescado. Na Figura 10, com gel superior, obteve-se maior resolução das bandas de proteínas, porém menor migração. Já sem o gel superior (Figura 11 e 12), obteve-se menor resolução das bandas, porém maior migração, tornando a interpretação mais fácil devido a maior separação das bandas.

Observou-se nas diversas séries de eletroforese realizadas, que ocorre, de forma mais ou menos sensível, uma modificação gradual nos eletroforegramas durante a estocagem. Nota-se pequenas modificações na mobilidade e intensidade das bandas, e na fase final de estocagem, o aparecimento de novas bandas de proteínas. Damiani & Rossi (1974) observaram marcadas diferenças entre os eletroforegramas de pescado fresco e no início de deterioração, e consideraram tais mudanças promissoras como índice de qualidade de pescado. Moore et al (1970), observaram que o eletroforegrama se modifica com a estocagem, porém, esta modificação também está relacionada a diversos outros fatores.

tais como idade, tamanho, e outros, tornando difícil sua utilização como índice de frescor.

Segundo Moorjani et al (1962), a quebra de proteínas por ação de enzimas ou microrganismos, deveria ser acompanhada pelo aumento dos teores de NNP. No presente trabalho, tal fato não foi observado, no entanto há evidências de atividade microbiana nas fases finais de estocagem, comprovada pelo aumento das BNV e aparecimento de H_2S . A partir do eletroforegrama, pode-se verificar, que houve de fato, modificações das proteínas sarcoplasmáticas, indicando ter havido hidrólise durante a estocagem.

A gradativa diminuição da solubilidade das proteínas sarcoplasmáticas durante a estocagem, observada por Moorjani et al (1962) e por Levin (1978), pode ser constatada pela diminuição da intensidade das bandas de proteínas dos eletroforegramas (Figuras 11 e 12).

Apesar de ter sido possível observar modificações do eletroforegrama no decorrer da estocagem, a utilização deste método como índice de qualidade parece pouco viável. Além da dificuldade característica da metodologia, as mudanças observadas foram bastante sutis, dependendo sempre de um padrão para comparação.

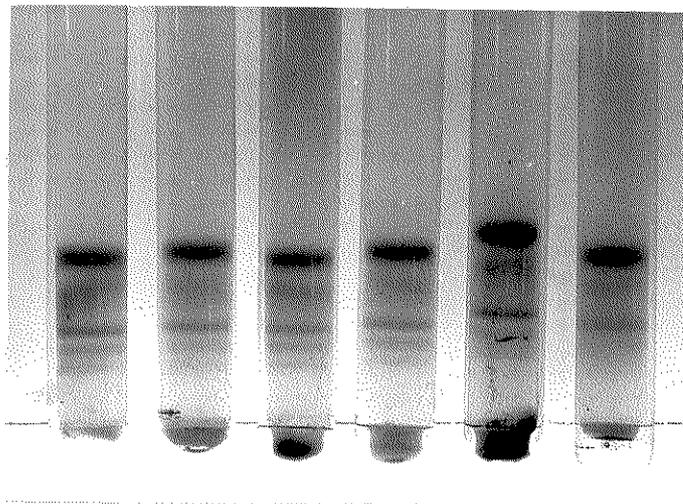


Figura 10 - Eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas do híbrido de tilápia estocado em gelo. Da esquerda para direita: 26, 20, 15, 9, 1 e 0 dias de estocagem.

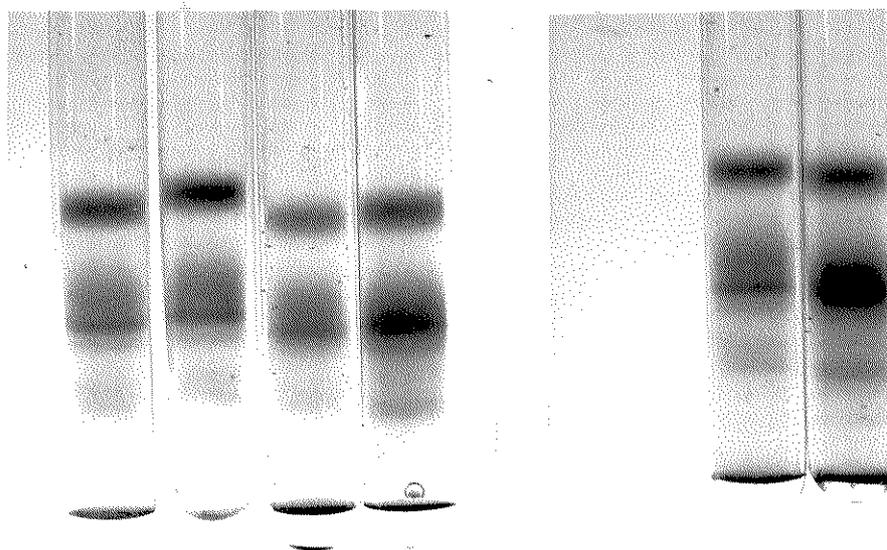


Figura 11 - Eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas do híbrido de tilápia estocado em gelo. Da esquerda para direita:
a) 22, 15, 5 e 0 dias de estocagem.
b) 22 e 0 dias de estocagem.

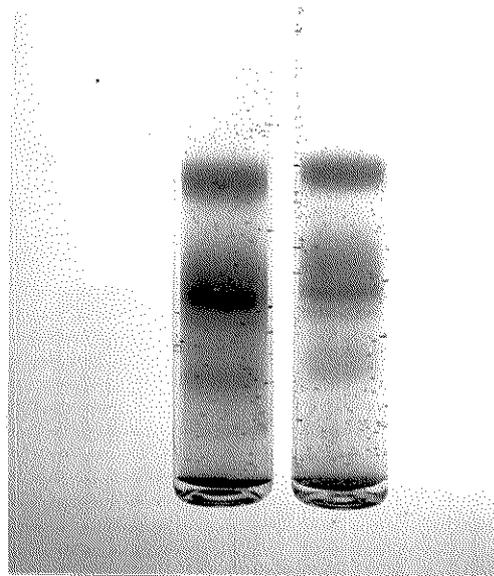
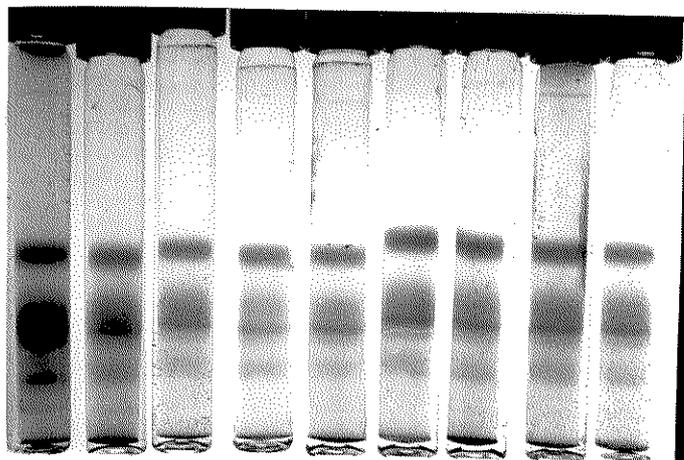


Figura 12 - Eletroforegrama das proteínas sarcoplasmáticas do híbrido de tilápia estocado em gelo. Da esquerda para a direita:

- a) 0, 1, 2, 5, 7, 9, 12, 15 e 22 dias de estocagem.
- b) 0 e 22 dias de estocagem.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

1. O híbrido de tilápia enquadrrou-se como um pescado de alto teor protéico e baixo teor de lipídios.
2. Odor das guelras, aparência geral e textura ao tato mostraram-se bons indicadores para acompanhamento da evolução de deterioração.
3. Características isoladas como aspecto dos olhos, das vísceras e da parede da cavidade abdominal não se mostraram úteis para acompanhamento de deterioração.
4. A escala desenvolvida no presente trabalho mostrou-se mais adequada para avaliação sensorial do híbrido da tilápia do que a escala tradicional.
5. Nenhuma das determinações químicas estudadas (BNV, NNP, pH e reação para amoníaco) mostrou-se apropriada como índice de frescor. A reação de H_2S mostrou-se útil para detectar o limite de aceitabilidade do pescado.
6. A eletroforese mostrou que ocorrem modificações na fração das proteínas sarcoplasmáticas durante a estocagem, particularmente nas fases finais. Sua utilização como índice de frescor não pareceu útil.
7. Pelos critérios utilizados o tempo de conservação em gelo do híbrido de tilápia, situou-se em torno de 15 a 19 dias.

BIBLIOGRAFIA

- A.O.A.C. - Official methods of analysis. 11 ed. Washington D.C., Association of Official Agricultural Chemists, 1975.
- AWAD, A. POWRIE, W.D.; FENNEMA, O. - Deterioration of fresh-water whitefish muscle during frozen storage at -10°C . Journal of Food Science, 34, 1-9, 1969.
- BARASSI, C.A.; BOERI, R.L.; CRUPKIN, M.; DAVIDIVICH, L.A.; GIANNINI, D.H.; SOULÉ, C.L.; TRUCCO, R.E. & LUPIN, H.M. - The storage life of iced southern blue whiting (*Micromesistius australis*). Tropical Science, 16 (2): 185-197, 1981.
- BECHTEL, J.B. & PARRISH, JR., F.C. - Effects of postmortem storage and temperature on muscle protein degradation: analysis by SDS gel eletrophoresis. Journal of Food Science, 48, 294-297, 1983.
- BLIGH, E.G. & DYER, W.L. - A rapid method of total lipid extraction and purifications. Can. J. Bioch. Physiol., 37 (3): 911-917, 1959.
- BOTTA, J.R.; NOONAN, P.B. & LAVDER, J.T. - Chemical and sensory analysis of ungutted offshore (nonspawing) capelin (*Mallotus villosus*) Stored in ice. Journal of the Fisheries Research Board of Canada. 35: 976-980, 1978.
- BOTTA, J.R. & SHAW, D.H. - Chemical and sensory analysis of "roughead grenadier (*Macrourus berglax*) stored in ice Journal of Food Science, 40: 1249-1252, 1975.

- BRASIL. Ministério da Agricultura - Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, DIPOA, 1974, 364 p.
- BRAMSTED, F.A.L. - Amino acid composition of fresh fish and influence of storage and processing. In: HEEN, E. & KREUZER, R. ed. Fish in nutrition. London Fishing News (Books). 1961, p. 61-67.
- BURGESS, G.H.O.; CUTTING, C.L.; LOVERN, J.A. & WATERMAN, J.J. - Fish Spoilage. In: _____; _____; _____; _____. Fish handling and processing. New York, Chemical Publishing Company, 1967, p. 346-356.
- CALDIRONE, H.A. & BAZAN, N.G. - Qualitative determination of low soluble protein patterns of bovine muscle cooked at different temperatures, by sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis. Journal of Food Science, 45: 901-904, 1980.
- CARVALHO, J.M. & FERNANDES, J.A. - Criação intensiva de peixe em perímetro de irrigação do DNOCS. Informativo Técnico, (9): 1-5 Jul. 1978.
- CHEUK, W.L.; FINNE, G.; NICKELSON II, R. - Stability of adenosine deaminase and adenosine monophosphate deaminase during ice storage of pink and brown shrimp from the gulf of Mexico. Journal of Food Science, 44: 1625-1628, 1979.
- CHIMITS, P. - La tilapia y su cultivo una bibliografía preliminar. Boletim de pesca de la FAO, 8 (1): 1-35, 1955.

- COBB III, B.F.; ALANIZ, I.; THOMPSON JR., C.A. - Biochemistry and microbial studies on shrimp: volatile nitrogen and amino nitrogen analysis. Journal of Food Science, 38: 431-436, 1976.
- COWIE, W.P. - Identification of fish species by thin-slab polyacrilamide gel electrophoresis of muscle myogens. Journal of Science, Food and Agricultural, 19 (4), 226-229, 1968.
- CURRAN, C.A.; NICOLAIDES, L.; POULTER, R.G.; PONS, J. - Spoilage of fish from Hong Kong at different storage temperatures. I. Quality changes in gold-lined sea bream (*Rhabdosargus sarba*) during storage at 0 (in ice) and 10°C. Tropical Science, 32 (4): 367-382, 1980.
- DAMIANI, P. & ROSSI, A. - Modificazioni del tracciati elettroforetici delle proteine caratterizzanti le specie ittiche, in campione parzialmente avariati. Industrie Alimentari, 106: 93-97, 1974.
- DAVIS, B.J. - Disc Electrophoresis II: Method and applications to human serum proteins. Annals N. Y. Acad. of Sci., 121: 404, 1964.
- DELLA MODESTA, R.C. - Estudo do índice de refração do fluido dos olhos de peixe de água doce, como possível índice de frescor. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura e Química, 1976. 173p. Tese (mestrado) USP.
- DISNEY, J.G.; CAMERON, J.D.; HOFFMAN, A. & JONES, N.R. - Quality assessment in tilapia species. Technical Conference on Fish Inspection and Quality Control. Halifax, Canada, 15/07/1969. Rome, FAO, 1969, 13 p.

DISNEY, J.C.; COLE, R.C. & JONES, N.R. - Consideration in the use of tropical fish species. In: KREUZER, R. ed. Fishery Products. Surrey, Fishing News (Books) 1974, 462 p.

DOKE, S.N.; NINJOOR, V.; NADKARNI, G.B. - Characterization of Cathepsin D from the skeletal muscle of fresh water fish, *Tilapia mossambica*. Agricultural Biological Chemistry, 44 (7): 1521-1528, 1980.

DOKE, S.N.; WARRIER, S.B.K.; NINJOOR, V.; NADKARNI, G.B. - Role of hidrolytic enzymes in the spoilage of fish. Journal of Food Science and Technology, 16 (6): 223-226, 1979.

ESKIN, N.A.M.; HENDERSON, H.M. & TOWNSED, R.J. Biochemical changes in foods: Meat and fish. In: _____; _____; _____ Biochemistry of foods. New York, Academic Press, 1971, p. 1.

FARBER, L. - A comparison of various methods for the determination of spoilage in fish. Food Technology, 6 (8): 319-324, 1952.

FARBER, L. - Freshness tests. In: BORGSTROM, G. ed. Fish as food. New York, Academic Press, 1965. V. 4, part 2, p. 65.

FRASER, D.I.; PUNJAMAPIROM, S. & DYER, W.J. - Temperature and biochemical processes occuring during rigor mortis in cod muscle. Journal of Fisheries Research Board of Canada, 18 (4): 641-644, 1961.

FRAZIER, W.C. - Contaminación, conservación y alteraciones del pescado y otros productos marinhos. In: _____; Microbiologia de los alimentos; trad. de Victória Medarde Agustin, 2 ed. Zaragoza Editorial Acribia, 1976, p. 280-291.

GOMES, F.P. - Curso de Estatística Experimental. 4 ed. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP, 1970, p. 39.

GOULD, F. - Testing the Freshness of Frozen Fish, London, Fishing News, 1965, 51 p.

GURGEL, J.J.S. & FREITAS, J.V.F. - Sobre a composição química de doze espécies de peixe de valor comercial de açudes do nordeste brasileiro. Bol. Tec. DNOCS, 30 (1): 49-57, 1972.

HOFFMAN, A.; DISNEY, J.G.; PINEGAR, A. & CAMERON, J. D. - The preservation of some East African fresh-water fish. African Journal Trop. Hidrob. Fish. 25: 1-13, 1974.

Instituto Adolfo Lutz, São Paulo. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, 1976, V. 1.

JACQUOT, R. - Organics constituents of fish and other aquatic animal foods. In: BORGSTROM, G. ed. Fish as Food. New York, Academic Press, 1961, V. 1, p. 145-209.

- JHAVERI, S.N.; LEU, S.S. & CONSTANTINIDES, S.M. - Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*, L.): shelf life in ice. Journal of Food Science, 47: 1308-1910, 1982.
- JONES, N.R. - Fish flavors. In: SCHULTZ, H. ed. Symposium on foods: the chemistry and physiology of flavors. Westport, AVI, 1967. p. 267-295.
- JONES, N.R.; BURT, J.R.; STROUD, G.D. - Nucleotides and the analytical approach to the rigor mortis problem. In: KREUZER, R. ed. The technology of fish utilization. Fishing News (Books) Ltd., London, 1965. p. 14-20.
- JONES, N.R.; MURRAY, J.; LIVINGSTONE, B.I. - Rapid estimations of hypoxantine concentrations as indices of the freshness of chillstored fish. Journal of Science Food and Agriculture. 15: 763-774, 1964.
- KUAYE, A.Y. - Comparação dos métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescado: parâmetros críticos e modificações. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1982. 98 p. Tese (mestrado) UNICAMP.
- LAHIRY, N.L.; MOORJANI, M.N. & BALIGE, B.R. - Factors influencing the keeping quality of fresh-water fish in ice. Food Technology, 17 (9): 123-125, 1963.
- LEE, J.S. & HARRISON, J.M. - Microbial flora of pacific hake (*Merluccius products*). Applied Microbiology, 16 (12): 1937-1938. 1968.
- LEITÃO, M.F.F. - Microbiologia do pescado e controle sanitário no processamento. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 14 (50): 1-35, 1977.

- LEVIN, R.E. - Extractable protein as a measure of post mortem age of refrigerated haddock. Journal of Food Biochemistry, 2: 367-378, 1978.
- LISTON, J. - Bacteriological enzymes and their role in the deteriorative changes in fish. In: KREUZER, R. ed. The technology of fish utilization. Fishing News (Books) Ltd., London, 1965, p. 53-57.
- LISTON, J.; CHAPEL, J.G. & STERN, J.A. - The spoilage of Pacific coast rockfish. I. Spoilage in ice storage. Food Technology, 15 (1): 19-22, 1961.
- LISTON, J.; STANSBY, M.E. & OLCOTT, H.J. - Bacteriological and chemical basis for deteriorative changes. In: STANSBY, M.E. Industrial fishery technology: a survey of methods for domestic harvesting preservation, and processing of fish used for food and for industrial products. New York, Rainhold, 1963, p. 350-361.
- LOVSHIN, L.L.; SILVA, A.B. & FERNANDES, J.A. - The intensive culture of the all male hibryd of "*Tilapia hornorum* (male) x *T. nilotica* (female) in the northeast of Brazil". S.l.p. FAO, 1974. CARPAS/6/74 SE 22).
- LOWE-McCONNEL, R.H. - Fish communities in tropical freshwater: their distribution ecology and evolution. New York, Longman In., 1975.
- LUDORFF, W. & MEYER, V. - El pescado como alimento. In: _____; _____; El pescado y los productos de la pesca: trad. de Jaime Esain Escobar. 2. ed. Zaragoza, Editorial Acríbia, 1973. p. 74-100.
- LUIJPEN, A.F.M.G. - Denaturation of fish proteins. Nature, 180: 1422. 1957.

- MAIA, E.L. - Composição, conservação e utilização do curimatã, *Prochilodus scrofa*. Steindachner 1991. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1980. 130p. Tese de Mestrado - UNICAMP.
- MARCONDES, L.F.C. - Perspectivas da pesca. In: Seminário: Alternativas de desenvolvimento: pesca, coleta e cultivo. São Paulo, Secretaria da Agricultura, Secretaria de Cultura, Ciência e Tecnologia, 1977. p. 21-25 (Série Documentos, 7).
- MARTIN, R.E. GRAY, R.J.H.; PIERSON, M.O. - Quality assessment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. Food Technology, 32 (5): 188-198, 1978.
- MOORE, G.S.; PETERS, H.A.; LEVIN, R.E. - Alterations in the eletrophoretic protein patterns of refrigerated fish. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 27 (1): 31-38, 1970.
- MOORJANI, M.N.; IYENGAR, J.R.; VISWESWARAH, K.; BATHIE, D.S. & SUBRAHMANYAN, B. - Changes on the total volatile base, volatile reducing substances and bacterial counts as indices of fresh-water fish spoilage. Food Technology, 12 (8): 385-386, 1958.
- MOORJANI, M.N., BALIGA, B.R.; VIJAYARANGA, B. & LAHIRY, N.L. - Post-rigor changes in nitrogen distribution and texture of fish during storage in crushed ice. Food Technology, 16 (2): 80-84, 1962.
- MORGA, A. - Avaliação do índice de frescor da pescada foguete, (*Macrodon ancylodon*), conservado em gelo. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1975, 80 p. Tese (mestrado) UNICAMP.

- NORT, E. - Laboratório de controle de qualidade em indústrias de pe_ucados. Rio de Janeiro, Programa de Pesquisa e desenvolvimento Pesqueiro do Brasil, PNDU/FAO-MA/SUDEPE, 1973, 17 p. (PDP Documentos técnicos, nº 2).
- NUNES, M.L. - Hidrolisado protéico de peixe: obtenção de um produto funcional. Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1981. 100 p. Tese (mestrado) UNICAMP.
- OLIVEIRA, M.L.V. - Cultivo das tilápias. A Lavoura, março/abril: 34-37, 1981.
- OKUTANI, K.; MATSUMOTO, J.J. & MIGATA, M. - An eletrophoretic study of postmortem changes in carpa muscle protein. In: KREUZER, R. Ed. The Technology of fish utilization. London, fishing News (Books), 1965, p. 65-68.
- PEDRAJA, R. R. - Change of composition of shrimp and other marine animals during processing. Food Technology, 24, (12): 1355-1360, 1970.
- PEDRAJA, R.R. - Quality aspects of refrigerated and frozen fishery products. ASHRAE Journal, Nov. 1972.
- PEARSON, D. - Laboratory technics in food analysis. London, John Wiley & Sons, 1973, p. 10-11.
- SIEBERT, G. - Enzymes of marine fish muscle and their role in fish spoilage. In: HEEN, E. & KREUZER, R., Ed. Fish in nutrition. London Fishing News (Books) Ltda., 1962, p. 80-82.

- SIEBERT, G. & SCHMITT, A. - Fish tissue enzymes and their role in the determinative changes in fish. In: KREUZER, R. ed. The technology of fish utilization. Fishing News (Books) Ltd., London, 1965, p. 47-52.
- SIGURDSSON, G.J. - Comparison of chemical tests of the quality of fish. Ind. Eng. Chem. (Anal. ed. 19: 892-902. 1947.
- SIMIDU, W. - Nonprotein nitrogenous compounds. In: BORGSTRON, G. ed. Fish as Food. New York, Academic Press, 1961. V. 1 p. 363-384.
- SHAW, D.H. & BOTTA, J.R. - Preservation studies of inshore male capelin (*Mallotus villosus*) stored in ice. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 32 (11): 2039-2046, 1975.
- SHAW, D.H.; GARE, R.L. & KENNEDY. Chemical and sensory changes during storage of witch flounder (*Glyptocephalus cyroglossus*) in ice Journal of Food Science 42: 159-162, 1977.
- SHAW, B.G. & SHEWAN, J.M. - Psychrophilic spoilage bacteria of fish. Journal Applied Bacteriology, 31: 89-96, 1968.
- SHEWAN, J.M. - The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: HAWTHORN, J. & LEITCH, J.M., ed Recent Advance in Food Science. London, 1962, v. 1, p. 167.
- SHEWAN, J.M. - The microbiology of fish and fisheries products. A progress report. Journal of Applied Bacteriology, 34: 299-315, 1971

SHEWAN, J.M. - Bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action. In: TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE. Handling, processing and marketing of tropical fish. s. 1. p. TROPICAL PRODUCTS INSTITUTE, 1977, 30 p.

SHEWAN, J.M. & JONES, N.R. - Chemical change occurring in cod muscle during chill storage and their possible use as objective indices of quality, Journal of Science and Food Agriculture. 8: 491-498, 1957.

SHEWAN, J.M., MACINTOSH, R.G.; TUCKER, C.C. & ENRENBURG, A.S.C. - The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice. J. Sci. Fd. Agric., 4: 283-298, 1953.

SPINELLI, J.; EKLUND, M.; MIYAUCHI, D. - Measurement of hypoxanthine in fish as a method of assessing freshness. Journal of Food Science, 29: 710-714, 1964.

STANSBY, M.E. - Proximate composition of fish. In: HEEN, E. & KREUZER, R. Ed. Fish in nutrition. London, Fishing News (Books), 1962, p. 55-57.

STONE, F.E. - Enzymatic deamination of adenosine monophosphate (AMP), adenosine and adenine by salmon, crab and scallop muscle extracts. Journal of Food Science. 35: 565-567, 1970.

TOMIYASU, Y. & ZENITANI, B. - Spoilage of fish and its preservation by chemical agents. Advances in Food Research, 7: 42-82, 1957.

WATANABE, K. - Handling and keeping quality of iced kariba bream,

Tilapia mortimeri, Trwavas (syn. *T. mossambica*, Peters). Fish Res.

Bull. Zambia, 4: 59-64, 1965-1966.

YEH, C.S.; NICKELSON II, R.; FINNE, G. - Ammonia producing enzymes in white shrimp tails. Journal of Food Science, 43 (5): 1400-1404, 1973.

ZAITSEV, V.; KIZEVETTER, I.; LAGUNOV, L.; MAKAROVA, T.; MINDER, L.;

PODSEVALOV, V. - Characteristics of fish as a raw material for

industry. In: _____; _____; _____; _____; _____; _____.

Fish curing and processing; trad. de A. de Merindol. Moscow, Mir

Publishers, 1969, p. 17-97.

ANEXO 1

ESCALA SENSORIAL UTILIZADA PARA AVALIAÇÃO SENSORIAL DO HÍBRIDO DE TI-
LÁPIA ESTOCADO EM GELO (EXPERIMENTO I) - ESCALA MODIFICADA E TRADUZI-
DA POR NORT (1973)

<u>Aparência geral</u> (5 pontos)	nº de pontos	Qualidade
Olhos perfeitamente frescos pupila negra convexa, córnea translúcida, guelras vermelho-vivas (cor depende da espécie), nenhuma viscosidade bacteriana, água viscosa externa branca ou transparente, brilhante reflexo opalino, nenhum descoramento.	5	Pescado absolutamente fresco.
Olhos ligeiramente fundos, pupila cinzenta, ligeira opacidade da córnea; alguma descoloração das guelras e algum muco, viscosidade exterior opaca e um tanto leitosa; perda de reflexo opalino e alguma descoloração.	3	Diminuição do frescor.
Olhos fundos; pupila branco-leitosa, córnea opaca; viscosidade externa grossa e nodosa com alguma descoloração bacteriana.	2	
Olhos ligeiramente afundados, cabeça encolhida coberta por grossa viscosidade bacteriana amarela; guelras mostrando descoramento ou descoloração marrom-escuro; viscosidade externa grossa, amarelo-marrom; frescor inteiramente desaparecido; descoramento e encolhimento acentuado.	0	Pútrido
<u>Odor das Guelras</u> (10 pontos)		
Odores frescor de algas marinhas.	10	Pescado absolutamente fresco.
Perda de odor de algas marinhas fresca e de crustáceos.	9	
Ausência de odores neutros, odor de mofo, de rato, leitoso, caprílico ou odores afins, odor de alho e pimenta.	7	

<u>Odor das Guelras</u> (continuação)	nº de pontos	Qualidade
Odores de pão, malte, cerveja ou fermento.	6	
Odores de ácido lático, leite azedo ou oleoso.	5	Diminuição do frescor.
Alguns odores de ácidos graxos inferiores (ex. ácido acético ou butírico, cheiro de grama) de borracha velha, odores ligeiramente adocicados, de fruta, ou semelhante ao clorofórmio.	4	
Odores de água de repolho estragado, de nabo, fósforo molhado, odores semelhantes ao fosfeno.	3	
Odores amoniacais (trimetilamina e outras aminas) e toluidina.	2	
Odores de H ₂ S (ácido sulfídrico) e outros sulfátos, fortemente amoniacais.	1	
Odor de indol, amônia, odores fecais, nauseabundos ou pútridos.	0	Pútrido.
<u>Textura ao Tato</u> (5 pontos)		
Firme, elástica ao toque dos dedos.	5	Pescado absolutamente fresco.
Amolecimento da carne, alguma arenosidade.	3	
Carne mais mole, arenosidade definida e escamas facilmente removíveis, destacáveis da carne.	2	Diminuição do frescor.
Muito mole e flácida, retêm as impressões dos dedos, arenosidade bastante acentuada, e carne facilmente despregável da espinha dorsal.	1	Pútrido.

ANEXO 2

MODELO DE FICHA EMPREGADO PARA A AVALIAÇÃO SENSORIAL DO HÍBRIDO DE TILÁPIA ESTOCADO EM GELO (EXPERIMENTO I)

DATA / / 1982

NOME _____

①

VOCE VAI RECEBER AMOSTRAS DE PEIXE (TILÁPIA) E DEVERÁ DAR SUA OPINIÃO, BASEADA NAS INSTRUÇÕES DADAS.

	1	2	3	4	5
APARÊNCIA GERAL					
ODOR DAS GUELRAS					
TEXTURA AO TATO					

②

BASEADO NAS CARACTERÍSTICAS GERAIS, VOCE CONSUMIRIA ESTE PEIXE?

SIM

NÃO

③

HOUE ALGUMA ALTERAÇÃO NAS CARACTERÍSTICAS ACIMA? PODERIA DESCREVÊ-LA?

ANEXO 4

ELETROFORESE

1. Soluções para o preparo dos géis:

a- 48 ml de HCl 1N

36,6g de tampão tris

0,23 ml de TEMED

completar o volume para 100 ml

b- 48 ml de HCl 1N

5,98g de tampão tris

0,46 ml de TEMED

completar o volume para 100 ml

c- 60g de acrilamida

0,5g de bisacrilamida

completar para 100 ml

d- 10g de acrilamida e

2,5g de Bis em 100 ml de água destilada

e- 4 mg de riboflavina em 100 ml de água destilada

f- 0,14g de persulfato de amônia em 100 ml de água destilada

Solução tampão: 6 g de tris

28,8g de glicina

adicionar água destilada completando o volume de
1000 ml

ajustar o pH para 8,2-8,4

diluir de 1:9 com água destilada no momento de uso

2. Preparação dos géis:

Inferior: 1,70 da solução a

1,60 da solução c

1,70 da água destilada

5,00 da solução f

superior: 0,5 da solução d
1,0 da solução e
0,4 de água destilada
0,5 da solução tampão

: Solução indicadora de migração: azul de bromofenol (solução aquosa) 10 mg/litro

Corante: Azul de coomassie 1g
Ácido tricloroacético 80g
Água destilada 400g