

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

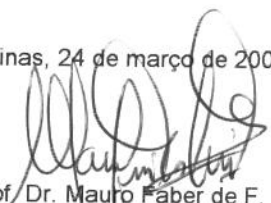
**VIDA ÚTIL DO CAÇÃO (*Prionace glauca*) ARMAZENADO
SOB REFRIGERAÇÃO E OTIMIZAÇÃO DOS MÉTODOS
MICROBIOLÓGICOS E SENSORIAIS DE AVALIAÇÃO
DA QUALIDADE**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Pedro Ysmael Cornejo Mujica, aprovada pela Comissão Julgadora em 24 de março de 2000.

Pedro Ysmael Cornejo Mujica
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

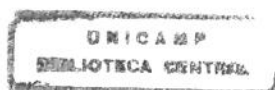
Campinas, 24 de março de 2000.


Prof. Dr. Mauro Faber de F. Leitão
Presidente da Banca

ORIENTADOR: Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão

**Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, como parte dos requisitos exigidos
para a obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos**

CAMPINAS – SÃO PAULO, 2000



UNIDADE BC
 N.º CHAMADA: T/UNICAMP
C 814v
 V. Ex.
 TOMBO BC/ 41413
 PROC. 278/00
 C ☐ D ☒
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 07-07-00
 N.º CPD

CM-00142739-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

C814v

Cornejo Mujica, Pedro Ysmael

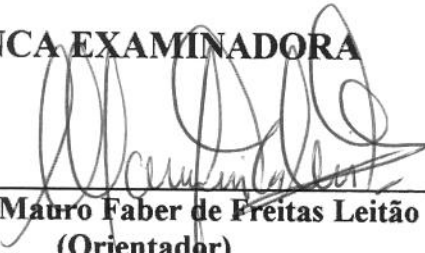
Vida útil do cação (*Prionace glauca*) armazenado sob refrigeração e otimização dos métodos microbiológicos e sensoriais de avaliação da qualidade / Pedro Ysmael Cornejo Mujica. – Campinas, SP: [s.n.], 2000.

Orientador: Mauro Faber de Freitas Leitão.

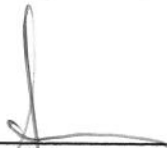
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Microbiologia. 2. Refrigeração. 3. Avaliação sensorial.
 I. Leitão, Mauro Faber de Freitas. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos.
 III. Título.

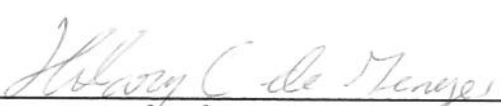
BANCA EXAMINADORA



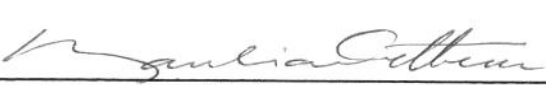
Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão
(Orientador)



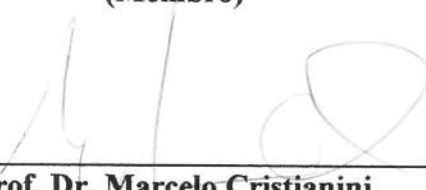
Prof. Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye
(Membro)



Profª Drª Hilary Castle de Menezes
(Membro)



Profª Drª Marília Oetterer
(Membro)



Prof. Dr. Marcelo Cristianini
(Membro)

Profª Drª Mariza Landgraf
(Membro)

Prof. Dr. Vanderlei Perez Canhos
(Membro)

Campinas, _____ de _____ de 2000

**Ao meu pai (*in memoriam*),
à minha mãe,
e aos meus irmãos.**

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão, pela orientação, apoio e dedicada atenção na realização desta pesquisa.

Aos professores integrantes da pré-banca, Dr^a. Hilary Castle de Menezes, Dr^a Mariza Landgraf, Dr^a Marília Oetterer, Dr. Arnaldo Yoshiteru Kuaye, Dr. Marcelo Cristianini e Dr. Vanderlei Perez Canhos, pelas correções e valiosas sugestões apresentadas à versão inicial do texto deste trabalho.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), da UNICAMP, em particular ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, por tornar possível a realização do curso de Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudo e auxílios concedidos.

Aos professores, técnicos e funcionários da FEA/UNICAMP.

À Dirce Yorika Kabuki, Maria Raquel Manhani e a D. Jacinta do Laboratório de Higiene (DTA/FEA/UNICAMP), pelo incentivo e valiosa colaboração na realização desta pesquisa.

À Judite Lapa Guimarães do Laboratório de Pescados e Derivados (DTA/FEA/UNICAMP), pelo apoio durante a realização deste trabalho.

À Maria Helena C.R. Passos e Valéria Amstalden, pelo estímulo e apoio.

A todos os colegas e funcionários da FEA/UNICAMP, que participaram da análise sensorial.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMO	xii
SUMMARY	xiv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1. Cações	5
3.2. Captura de cações no Brasil	5
3.3. Aproveitamento tecnológico e alimentar dos cações	6
3.4. Deterioração do pescado	7
3.4.1. Rigor-mortis	7
3.4.2. Autólise	8
3.4.3. Ação bacteriana	8
3.5. Microbiota do pescado	9
3.6. Efeito dos ácidos orgânicos na inibição do crescimento microbiano em carnes	10
3.7. Métodos para redução da uréia do músculo de cação	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1. Matéria-prima	12
4.2. Metodologia	12
4.2.1. Caracterização da matéria-prima	12
4.2.2. Otimização do meio de cultura para diferenciação e contagem de bactérias produtoras de urease	12
4.2.3. Desenvolvimento de terminologia descritiva e perfil sensorial de filés de cação refrigerados	14

	Página
4.2.4. Caracterização da microbiota produtora de urease em filés de cação armazenados sob refrigeração (4°C) e em temperatura de abuso (10°C) e avaliação de seu potencial deteriorador	16
4.2.5. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de filés de cação armazenados sob refrigeração (0° e 4°C) e em temperatura de abuso (10°C)	18
4.2.6. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de filés de cação submetidos a tratamento prévio de redução do teor de uréia e armazenados sob refrigeração (0°C) e em temperatura de abuso (10°C)	19
4.3. Métodos Analíticos	19
4.3.1. Análise sensorial	19
4.3.2. Análises físico-químicas	20
4.3.3. Análises microbiológicas	21
4.3.4. Análise estatística	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1. Caracterização da matéria-prima	22
5.1.1. Composição química	22
5.2. Otimização do meio de cultura para diferenciação e contagem de bactérias produtoras de urease	23
5.3. Desenvolvimento de terminologia descritiva e perfil sensorial de filés de cação refrigerados	28
5.3.1. Terminologia descritiva	28
5.3.2. Seleção dos provadores	28
5.3.3. Perfil sensorial das amostras	35
5.4. Caracterização da microbiota produtora de urease em filés de cação armazenados sob refrigeração (4°C) e em temperatura de abuso (10°C) e avaliação de seu potencial deteriorador	37
5.4.1. Identificação de culturas produtoras de urease	37

	Página
5.4.2. Avaliação do potencial deteriorador das culturas produtoras de urease	38
5.5. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais em filés de cação armazenados sob refrigeração (0° e 4°C) e em temperatura de abuso (10°C)	44
5.5.1. Análises físico-químicas	44
5.5.2. Análises microbiológicas	59
5.5.3. Análise sensorial.....	63
5.6. Estudo das alterações físico-químicas, microbiológicas e sensoriais em filés de cação submetidos a tratamento prévio de redução do teor de uréia e armazenados sob refrigeração (0°C) e em temperatura de abuso (10°C) ...	69
5.6.1. Análises físico-químicas	69
5.6.2. Análises microbiológicas	70
5.6.3. Análise sensorial.....	73
6. CONCLUSÕES	79
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
ANEXOS.....	89

ÍNDICE DE TABELAS

	Página
TABELA 1 – Captura de cações no Brasil, anos 1990-1996 (toneladas).....	5
TABELA 2 – Composição do ágar triptona - extrato de levedura -uréia (ágar TEU).....	13
TABELA 3 – Composição química do músculo de cação.....	22
TABELA 4 – Contagens de bactérias produtoras de urease (log UFC/g) de amostras de cação deteriorado, em ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4	27
TABELA 5 – Definição dos termos descritivos e referências usadas como extremos de escala de intensidade na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) de filés de cação.....	29
TABELA 6 – Valores de <i>p</i> amostras obtidos por quatorze provadores em cada atributo no teste de seleção da equipe (Valores desejáveis: <i>p</i> amostras < 0,30. Valores em itálico e grifado indicam poder discriminativo insuficiente).....	31
TABELA 7 – Valores de <i>p</i> repetições obtidos por quatorze provadores em cada atributo no teste de seleção da equipe (Valores desejáveis: <i>p</i> repetições > 0,05. Valores em itálico e grifados indicam reprodutibilidade insuficiente).....	32
TABELA 8 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial (ES) e médias individuais de cada um dos quatorze provadores, em cada atributo, no teste de seleção da equipe.....	34
TABELA 9 – Atributos sensoriais que caracterizam as amostras de filés de cação (valores médios).....	36
TABELA 10 – Reações de Eber para Amônia (NH_3) e gás sulfídrico (H_2S) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	46
TABELA 11 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação durante o armazenamento a 0° C.....	64
TABELA 12 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação durante o armazenamento a 4° C.....	65

TABELA 13 –	Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação durante o armazenamento a 10°C.....	66
TABELA 14 –	Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre atributos sensoriais e os resultados de análises físico-químicas e microbiológicas de filés de cação armazenados a 0°, 4° e 10°C. Números entre parênteses representam nível de significância r.....	68
TABELA 15 –	Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com água destilada (controle), durante armazenamento a 0°C.....	74
TABELA 16 –	Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com água destilada (controle), durante armazenamento a 10°C.....	75
TABELA 17 –	Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com ácido acético 1%, durante estocagem a 0°C.....	77
TABELA 18 –	Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com ácido acético, durante estocagem a 10°C.....	78
TABELA 1A –	pH em extratos de músculo de cação inoculados com as bactérias em estudo, durante incubação a 4° e 10°C.....	90
TABELA 2A –	Uréia (mg/100g) em extratos de músculo de cação inoculados com as bactérias em estudo, durante incubação a 4° e 10°C.....	91
TABELA 3A –	Contagens das culturas bacterianas (log UFC/g) inoculadas em extratos de músculo de cação, durante incubação a 4° e 10°C.....	92
TABELA 4A –	pH em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	93
TABELA 5A –	Bases nitrogenadas voláteis (mg/100g) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	94
TABELA 6A –	Uréia (mg/100g) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	95
TABELA 7A –	Amônia (mg/100g) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	96

	Página
TABELA 8A – Trimetilamina (mg/100g) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	97
TABELA 9A – Nitrogênio não protéico (mg/100g) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	98
TABELA 10A – Bactérias psicrotróficas (logUFC/g) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	99
TABELA 11A – Bactérias produtoras de urease (logUFC/g) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	100
TABELA 12A – Uréia (mg/100g) em filés de cação, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.....	101
TABELA 13A – Bactérias psicrotróficas (log UFC/g) em filés de cação, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.....	102
TABELA 14A – Bactérias produtoras de urease (log UFC/g) em filés de cação, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.....	103

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 – Modelo de ficha utilizada para o levantamento de termos descritores das amostras de filés de cação, segundo o Método Rede.....	15
FIGURA 2 – Halos róseos formados nas placas com ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 : A (5g/l), B (10g/l), C (15g/l) e D (20g/l), com orifícios inoculados com 0,1 ml de NaOH 0,1N.....	23
FIGURA 3 – Halos róseos formados nas placas com ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 : A (5g/l), B (10g/l) e C(15g/l) inoculadas por picada, com <i>Morganella morganii</i> e incubadas a 20°C/48 horas.....	24
FIGURA 4 – Halos róseos formados nas placas com ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 : A (5g/l), B (10g/l) e C (15g/l), inoculadas por picada, com <i>Morganella morganii</i> e incubadas a 30°C/48 horas.....	25
FIGURA 5 – Colônias produtoras de urease provenientes de cação em ágar TEU, contendo 10g/l de KH_2PO_4 , utilizando a técnica de espalhamento superficial e incubação a 20°C/48 horas.....	26
FIGURA 6 – Ficha de avaliação sensorial das amostras de filés de cação.....	30
FIGURA 7 – Perfil sensorial das amostras de filés de cação.....	36
FIGURA 8 – pH em extratos de músculo de cação inoculados com as culturas bacterianas, durante incubação a 4° e 10°C.....	38
FIGURA 9 – Uréia em extratos de músculo de cação inoculados com as culturas bacterianas, durante incubação a 4° e 10°C.....	41
FIGURA 10 – Contagens das culturas bacterianas (log UFC/g) inoculadas em extratos de músculo de cação, durante incubação a 4° e 10°C.....	42
FIGURA 11 – pH em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	44
FIGURA 12 – Bases nitrogenadas voláteis (BNV) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	48
FIGURA 13 – Uréia em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	51

	Página
FIGURA 14 – Amônia em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.	53
FIGURA 15 – Trimetilamina (TMA) em filés de cação durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	55
FIGURA 16 – Nitrogênio não protéico (NNP) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	57
FIGURA 17 – Bactérias psicrotróficas em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	59
FIGURA 18 – Bactérias produtoras de urease em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.....	61
FIGURA 19 – Uréia em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.....	69
FIGURA 20 – Bactérias psicrotróficas em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.....	71
FIGURA 21 – Bactérias produtoras de urease em filés de cação, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.....	72

RESUMO

Considerando-se a importância do cação (*Prionace glauca*) na alimentação humana, e como matéria-prima para a indústria, desenvolveu-se a presente pesquisa com o objetivo de obter maiores conhecimentos sobre a sua deterioração e os processos de conservação.

Na primeira etapa do estudo procedeu-se à otimização da metodologia para a avaliação qualitativa e quantitativa de bactérias produtoras de urease. O ágar triptoná-extrato de levedura-uréia (ágar TEU), contendo uma concentração de KH_2PO_4 de 10 g/l, utilizado com a técnica de espalhamento superficial e incubação das placas a 20°C, por um período máximo de 4-5 dias, evidenciou o melhor desempenho na contagem e diferenciação de culturas produtoras de urease. Foi desenvolvida a terminologia descritiva e os perfis sensoriais de filés de cação refrigerados, através da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). Os atributos mais importantes para discriminar os filés em função dos estágios de frescor foram: cor característica, presença de manchas amarelo-esverdeadas, brilho, aspecto úmido, aroma de peixe fresco, aroma de amônia e firmeza. A ficha descritiva desenvolvida, mostrou-se adequada para a avaliação sensorial de filés de cação refrigerados. Também caracterizou-se a microbiota produtora de urease em filés de cação armazenados sob refrigeração (4°C) e em temperatura de abuso (10°C) e avaliou-se o seu potencial deteriorador. Constatou-se a prevalência de bactérias psicrotróficas Gram negativas na microbiota produtora de urease do cação, principalmente *Flavobacterium odoratum* (40%), *Shewanella putrefaciens* (20%) e *Pseudomonas diminuta* (15%). Através de testes de incubação demonstrou-se a capacidade de multiplicação destas bactérias em temperaturas de refrigeração (4°C) e em temperaturas de abuso (10°C), bem como a adequabilidade do extrato muscular do cação como substrato.

Na segunda etapa do estudo, avaliaram-se as alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de filés de cação armazenados sob refrigeração (0° e 4° C) e em temperatura de abuso (10°C). As reações de Eber, para amônia e gás sulfídrico, as determinações de pH, bases nitrogenadas voláteis (BNV), uréia, Nitrogênio não protéico (NNP) e a contagem de bactérias psicrotróficas não foram totalmente adequadas como índices de avaliação da qualidade de filés de cação. Por outro lado, as determinações de

amônia e trimetilamina (TMA) e a contagem de bactérias produtoras de urease mostraram-se satisfatórias para esta finalidade, sempre em correlação com avaliações sensoriais. A vida útil dos filés de cação foi de aproximadamente 2, 6 e 8 dias, durante a estocagem a 10°, 4° e 0°C. Também avaliou-se a eficiência do tratamento dos filés de cação com ácido acético, em relação à redução dos teores de uréia e aumento da vida útil, tanto no armazenamento sob refrigeração (0°) como em temperaturas de abuso (10°C). O tratamento dos filés de cação com ácido acético 1% por 3 horas a 5°C, mostrou-se eficiente na redução dos teores de uréia. A vida útil dos filés de cação submetidos a esse tratamento foi de aproximadamente 3 e 12 dias, durante a estocagem a 10° e 0°C, respectivamente.

Palavras-chave: cação; microbiologia; vida útil; refrigeração; avaliação sensorial.

SUMMARY

Considering the importance of the shark (*Prionace glauca*) for the human diet and as a industrial raw material, this research was developed aiming at learning more about the processes of deterioration and preservation.

In the first step of the study, the optimization of the methodology for the qualitative and quantitative evaluation of urease-producing bacteria was carried out. The tryptone-extract agar of urea-yeast (agar TEU), containing a concentration of KH_2PO_4 of 10 g/l, used with the superficial spreading technique and incubation of the plates at 20°C for 4-5 days, presented the best performance in the counting and differentiation of urease-producing cultures. The descriptive terminology and sensory profiles of refrigerated shark fillets were developed using the Quantitative Descriptive Analysis (QDA). The most important attributes to differentiate the shark fillets according to the degree of freshness stages were: characteristic color, presence of yellow-greenish spots, brightness, wet aspect, fresh fish smell, ammonia smell and firmness. The descriptive record developed seemed adequate for the sensory evaluation of refrigerated shark fillets. The urease-producing microflora in shark fillets stored under refrigeration (4°C) and under temperature abuse (10°C) was also characterized, evaluating its deteriorative potential. The prevalence of Gram negative psychrotrophic bacteria in the urease-producing microflora of the shark, especially *Flavobacterium odoratum* (40%), *Shewanella putrefaciens* (20%) and *Pseudomonas diminuta* (15%) was verified. Through incubation tests the capacity for multiplication of these bacteria at refrigeration temperatures (4°C) and under temperature abuse (10°C) was demonstrated, as well as the adequateness of the shark muscle extract as a substrate.

In the second step of the study the physical, chemical, microbiological and sensorial changes of the shark fillets stored under refrigeration (0°C and 4°C) and under temperature abuse (10°C) were evaluated. The Eber reactions for ammonia and hydrosulphuric gas, pH determinations, total volatile nitrogen (TVN), urea, non-protein nitrogen (NPN) and the psychrotrophic bacterial count were not completely adequate as an index for the quality evaluation of shark fillets. On the other hand, the determinations of ammonia and trimethylamine (TMA) and the urease-producing bacterial count proved

satisfactory for this purpose, always correlating with sensorial evaluations. The shelf-life of shark fillets was about 2, 6 and 8 days during storage at 10°, 4° and 0° C. The efficiency of treatment of the shark fillets with acetic acid was also investigated, in relation to the reduction of the urea content and increasing of shelf-life, for storage under refrigeration (0°C) as well as under temperature abuse (10° C). The treatment of shark fillets with 1% acetic acid for three hours at 5° C, proved to be efficient in the reduction of the urea content. The shelf- life of shark fillets submitted to this treatment was about 3 and 12 days during storage at 10° C and 0° C, respectively.

Keywords : shark , microbiology , shelf-life , refrigeration , sensory evaluation.

1. INTRODUÇÃO

Grande parte da população mundial padece em sua alimentação de carência aguda ou crônica de proteínas de origem animal, o que vem exigindo um esforço contínuo em busca do aumento da oferta de suprimentos protéicos, principalmente os dessa origem. Entre as possíveis alternativas para a solução do problema, tem sido proposta a utilização da proteína de pescado, partindo-se do princípio de que este representa uma fonte importante de proteínas de alto valor biológico, e que ainda é subutilizada pela população, principalmente nos países em desenvolvimento. (Suzuki, 1981).

Segundo estimativas da Food and Agriculture Organization (FAO, 1995), nos últimos dez anos, a produção brasileira de pescado de origem marinha teve um decréscimo de 35%. São poucas as espécies capturadas e comercializadas, com predominância de sardinha, atum, cação, corvina, camarão e lagosta (Teixeira, 1993). Esta baixa produtividade nacional contrasta com o fato do Brasil ser um dos países com maior extensão territorial e costeira no mundo.

Ao lado desta problemática deve se considerar que no país, por razões culturais e sócio-econômicas, o consumo de pescado ainda é pouco expressivo, verificando-se que apenas cerca de 10% da população o incorpora em sua alimentação (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1990). As vantagens em relação ao grande potencial de biomassa marinha são minimizadas pela falta de programas de educação alimentar que sensibilizem a população desinformada da importância nutricional do consumo de pescado. Segundo Ruivo (1994), o brasileiro consome em média 4 kg de peixe/ano, valor insignificante quando comparado, por exemplo, ao consumo no Japão, de 66,6 kg/habitante/ano.

O pescado é um alimento de alto valor nutritivo, constituindo-se numa das mais importantes fontes de proteínas, lipídios, vitaminas e sais minerais, podendo ser comparado com outros alimentos de origem animal, como carne bovina, ovos e leite. Apresenta alto conteúdo de proteínas de elevado valor biológico, grande proporção de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, destacando a boa digestibilidade das proteínas de sua carne (90-

98%), valor acima do constatado nas carnes bovina e suína (Kinsella, 1988; Sikorski *et al.*, 1994; Venugopal & Shahidi, 1995).

Por outro lado, sabe-se que o pescado é um alimento facilmente deteriorável, muito suscetível à autólise, à oxidação de gorduras e à ação bacteriana. O processo de deterioração é de natureza complexa e envolve três mecanismos diferentes e interligados: ação enzimática, ação bacteriana e reações químicas entre os componentes e o meio (Frazier & Westhoff, 1978; Liston, 1980a, 1982; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996). O grau de alteração no transcorrer do processo de deterioração está intimamente vinculado a diversos fatores como espécie de pescado, estágio de maturação, sazonalidade, microbiota natural contaminante, condições de captura, manuseio, processamento e comercialização (Frazier & Westhoff, 1978; Martin *et al.*, 1978; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996).

Cação é a designação comum a todos os peixes elasmobrânquios, pleurotremados, com fendas branquiais laterais e corpo piciforme, sendo chamados tubarões, particularmente as espécies de grande porte. São peixes de estrutura cartilaginosa, da subordem dos esqualos, comumente encontrados em abundância nos mares de todo o mundo (Ferreira, 1986).

Os cações têm importância pelo valor comercial de sua carne, que sob a forma de filés ou postas é destinada ao consumo humano, com ampla aceitação no mercado nacional e internacional (Luna & Burgos, 1978). Face à elevada disponibilidade da matéria-prima e ao conseqüente custo mais reduzido em relação às espécies mais nobres de pescado, o consumo de cação tem sido bastante estimulado.

Diversos estudos foram realizados no Brasil a respeito da utilização do cação na alimentação humana. Assim, Ogawa *et al.* (1973b) avaliaram a utilização e o aproveitamento do óleo de fígado de várias espécies de cações. Beraquet *et al.* (1975) e Torrano & Menezes (1977) estudaram o processo de produção de cação salgado e seco, similar ao bacalhau salgado comumente importado da Europa.

O processo de deterioração do pescado envolve, pelo menos nos estágios iniciais, a utilização do "pool" de substâncias nitrogenadas não proteicas – NNP, composto principalmente por aminoácidos livres, bases nitrogenadas, creatina, óxido de trimetilamina e uréia. (Liston, 1982; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996). No caso específico dos

elasmobrânquios, o teor de uréia é particularmente acentuado; segundo James & Olley (1971) ele pode atingir de 1 a 2,5% do peso do músculo, enquanto Tishin (1970) cita que o tecido muscular de cação apresenta um teor de NNP ao redor de 1.600 mg/100g, muito mais elevado que o de outras espécies de pescado e representado principalmente pela uréia.

Nestas condições, sabe-se que em cações a decomposição da uréia, devida exclusivamente à atividade de microrganismos produtores de urease, com formação de amônia e conseqüente alteração do sabor e aroma, é o principal processo envolvido na deterioração. No entanto, são restritas as pesquisas procurando melhor avaliar esse processo e caracterizar a microbiota nele envolvida. Yap (1979) estudou a microbiota do cação *Galeorhinus australis* armazenado em gelo, verificando que espécies de *Pseudomonas* representavam aproximadamente 70% da microbiota presente. No Brasil, Leitão *et al.* (1979) estudaram a microbiota produtora de urease em cações dos gêneros *Sphyrna* e *Carcharhinus*, constatando a prevalência de *Moraxella spp.*, representando 87,9% dos microrganismos identificados. A constatação da importância da uréia no processo de deterioração dos cações tem levado a inúmeras pesquisas procurando alternativas para a sua eliminação ou redução do tecido muscular na suposição de que a vida útil do alimento seria sensivelmente prolongada.

Assim, Gordievskaya (1973) baseado no fato do sangue apresentar maiores concentrações de uréia, sugeriu a necessidade do imediato e mais completo sangramento dos esqualos imediatamente após a sua captura, prática esta atualmente bastante difundida na captura destas espécies. Este mesmo autor estudou também outros métodos físicos e químicos para a redução da uréia. Ogawa *et al.* (1973a) avaliaram o uso de combinações de soluções de ácido acético e cloreto de sódio com este mesmo objetivo, enquanto Torrano & Menezes (1977) e Torrano (1978) avaliaram, comparativamente, a eficiência dos ácidos cítrico, acético e láctico, concluindo pelo melhor desempenho do ácido acético com esta finalidade.

Baseado nestas ponderações e considerando-se a importância do cação na alimentação humana e como matéria-prima para a indústria e a necessidade de maiores conhecimentos sobre a sua deterioração e os processos de conservação, desenvolveu-se a presente pesquisa.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivos:

- a. Otimização da metodologia para a avaliação qualitativa e quantitativa de bactérias produtoras de urease, visando sua utilização no controle microbiológico da qualidade do cação.
- b. Desenvolvimento de terminologia descritiva e perfil sensorial de filés de cação refrigerados.
- c. Caracterização da microbiota produtora de urease em filés de cação armazenados sob refrigeração (4°C) e em temperatura de abuso (10°C) e avaliação de seu potencial deteriorador.
- d. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de filés de cação armazenados sob refrigeração (0° e 4°C) e em temperatura de abuso (10°C).
- e. Avaliação da eficiência do tratamento de filés de cação com ácido acético, particularmente em relação à redução dos teores de uréia e aumento da vida útil, quando armazenados sob refrigeração (0°C) e em temperatura de abuso (10°C).

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Cações

Os cações são peixes da classe *Chondrichthyes*, subclasse *Elasmobranchii*, ordem *Selachii*, família *Squalidae*, que habitam os mares tropicais e subtropicais. Caracterizam-se por apresentar um tipo de escamas chamadas placóides ou denticulos dérmicos, de estrutura semelhante à de um dente, o que lhes confere uma pele áspera. Possuem 5 a 7 pares de fendas branquiais, situadas lateralmente na cabeça, sendo o corpo fusiforme, com tamanho que varia de 30 centímetros a 18 metros; são todos carnívoros e marinhos, vivendo em alto mar, tanto no fundo como na superfície (Ronsivalli, 1978).

Os cações da ordem *Squaliformes* são encontrados em abundância na costa brasileira, sendo que os estudos avaliam que a captura dessas espécies pode ser considerada subexplorada, principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Ela é realizada em todos os Estados litorâneos do país, destacando-se o Rio Grande do Sul e Santa Catarina, responsáveis por cerca de 55% do total da captura no país (Superintendência de Desenvolvimento de Pesca, 1987). A maioria das espécies que aqui ocorre pertence às famílias *Carcharhinidae* e *Sphyrnae*. De acordo com Torrano & Menezes (1977), as espécies mais comumente comercializadas são *Sphyrna* sp. (cação-martelo), *Carcharhinus* sp. (cação-cinzentos), *Prionace glauca* (cação azul) e *Isurus oxyrinchus* (anequim).

3.2. Captura de cações no Brasil

A TABELA 1 apresenta dados de captura de cações no Brasil, durante os anos 1990-1996.

TABELA 1 - Captura de cações no Brasil, anos 1990-1996 (toneladas).

Anos	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996
	18.000	19.219	18.890	18.850	18.900	19.570	19.270

Fonte: Food and Agriculture Organization (1997)

3.3. Aproveitamento tecnológico e alimentar dos cações

As espécies de cação têm uma importância econômica relativa nos diversos países, notadamente em função de sua utilização parcial ou integral (couro, barbatanas, fígado, dentes e resíduos). Nem todos os cações são passíveis de serem utilizados integralmente e da mesma forma devido às suas características próprias, existindo, em cada região, as espécies mais procuradas e, portanto, economicamente mais viáveis (Kreutzer & Ahmed, 1978).

Deve-se ressaltar que os esqualos apresentam importância principalmente pelo valor comercial de sua carne, que sob a forma de filés ou postas é destinada ao consumo humano, com ampla aceitação no mercado nacional e internacional, seguido do fígado, usado na produção de óleo e vitaminas e do couro, usado para curtimento (Luna & Burgos, 1978).

A defumação das barbatanas e da carne fornece produtos muito apreciados no Japão e na Austrália (Ronsivalli, 1978; Shenoy & Dey, 1984). Na forma marinada e de pastas e palitos secos salgados é consumido em grande escala no Japão (Ronsivalli, 1978).

No Brasil, o cação é consumido principalmente na forma de filés ou postas, sendo comercializado na forma refrigerada ou congelada (Torrano, 1978).

No entanto, inúmeras pesquisas vem sendo desenvolvidas procurando alternativas para o consumo desta espécie, principalmente na forma desidratada e salgada em substituição ao bacalhau salgado, produto de larga aceitação no país, mas com custo bastante elevado, limitando sua aquisição a uma fração restrita da população.

A este respeito caberia destacar as pesquisas desenvolvidas por Beraquet *et al.* (1975), Torrano & Menezes (1977), Torrano (1978) e Madrid (1982) que avaliaram o aproveitamento de diferentes espécies de cação, estudo de técnicas para remoção da uréia residual, otimizando as características organolépticas, testes de natureza sensorial comparativamente ao bacalhau salgado, procurando, assim, desenvolver um sucedâneo de menor custo para consumo da população.

Ogawa *et al.* (1973 a, b), ao lado do aproveitamento da carne, estudaram, também, a utilização das barbatanas e do óleo de fígado de várias espécies de cação. Já Jorge (1985) avaliou o uso da carne de cação na elaboração de almôndegas, combinando o cação salgado e seco com proteína vegetal, obtendo produtos de boa aceitação. Finalmente, Carvajal (1989) estudou a utilização do cação no preparo de sopas desidratadas.

Todas as pesquisas de aproveitamento da carne de cação encontraram como maior obstáculo o de natureza organoléptica, devido principalmente à alteração no odor da carne pela decomposição da uréia e produção de amônia. É por esta razão que pesquisas visando minimizar este problema tem importância crucial na maximização do consumo desta matéria prima.

3.4. Deterioração do pescado

Entre os produtos de origem animal, o pescado é um dos mais suscetíveis ao processo de deterioração devido ao pH próximo à neutralidade, a elevada atividade de água nos tecidos, elevado teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos microrganismos, ao teor de lipídios insaturados, a rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e a alta atividade metabólica da microbiota (Liston, 1982; Leitão, 1984; Pedrosa - Menabrito & Regenstein, 1988; Sikorski *et al.*, 1994, Ghazala, 1994; Ashie *et al.*, 1996). A deterioração é um fenômeno variável, determinado pela composição química da carne e número relativo de espécies bacterianas presentes e favorecida pelo uso inadequado ou mesmo a falta de refrigeração, condições higiênico-sanitárias deficientes e inadequado acondicionamento do pescado durante seu manuseio, armazenamento, transporte e comercialização (Gill, 1983; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996).

Vários são os fenômenos que influem na deterioração do pescado, entre eles, “rigor-mortis”, autólise e ação bacteriana.

3.4.1. Rigor-mortis

O “rigor-mortis” é de grande importância para a conservação do pescado pois, no seu curso, as atividades de muitas enzimas e dos microrganismos são interrompidas. O

estado de “rigor-mortis” parece dificultar a ação microbiana, provavelmente, devido à rigidez do músculo. Desta forma um período maior de rigidez é desejável sob o ponto de vista de qualidade microbiológica (Pedraja, 1972; Pedrosa - Menabrito & Regenstein, 1988; Sikorski *et al.*, 1994).

3.4.2. Autólise

O baixo teor de tecido conjuntivo em pescado (2% para teleósteos e 10% para elasmobrânquios contra 17% em carne bovina) e a composição deste tecido, pobre em elastina e rico em colágeno, que por sua vez é um excelente meio para a proliferação bacteriana, torna o músculo bastante suscetível ao ataque enzimático (Pedraja, 1972; Ludorff & Meyer, 1978; Pedrosa - Menabrito & Regenstein, 1988).

O tecido muscular do pescado possui catepsinas muito ativas, bem como peptidases. Por sua vez, a tripsina dos intestinos pode atravessar a parede abdominal e atingir os tecidos musculares. Estas enzimas podem gerar aminoácidos e peptídeos que podem servir de substrato para o desenvolvimento de microrganismos (Leitão, 1984; Sikorski *et al.*, 1994).

3.4.3. Ação bacteriana

Nos peixes, os microrganismos estão presentes principalmente no trato intestinal, guelras e limo superficial. Após a captura, novas fontes de contaminação (gelo, manuseio e equipamentos.) modificam ou aumentam a microbiota inicial, participando das alterações deteriorativas do pescado (Leitão, 1977; Frazier & Westhoff, 1978; Jay, 1996).

Apesar dos sistemas enzimáticos das bactérias contaminantes serem capazes de decompor proteínas, o melhor substrato é proporcionado pelos produtos de hidrólise resultantes da autólise, isto é, aminoácidos, inosina, creatina, uréia, anserina, carnosina, bases voláteis e óxido de trimetilamina que, em conjunto, constituem os compostos nitrogenados não proteicos - NNP - utilizados preferencialmente pelas bactérias (Shewan, 1976; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie, *et al.*, 1996).

Quantitativamente, as maiores alterações associadas à deterioração são representadas pela produção de bases nitrogenadas voláteis (BNV), particularmente amônia, trimetilamina, dimetilamina, monometilamina, putrescina, cadaverina e espermidina.

• Amônia

A formação de amônia geralmente resulta da degradação do ATP, degradação de aminoácidos e hidrólise da uréia (Ludorff & Meyer, 1978; Sikorski *et al.*, 1994)

A degradação do ATP muscular, após a morte, leva à formação de amônia, bases purínicas livres, inosina e hipoxantina (Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996)

O elevado teor de uréia no músculo, sangue e órgãos é uma característica dos peixes elasmobrânquios, sendo que em espécies marinhas (cação, raia) ela representa de 1 a 2,5% do peso do músculo (Tishin, 1970; James & Olley, 1971)

Na carne de cação, a degradação da uréia a amônia ocorre exclusivamente pela ação de bactérias contaminantes de origem marinha (Ronsivalli, 1978), já que é desconhecida a presença natural de urease nos órgãos e tecidos do pescado.

• Trimetilamina

A formação de trimetilamina (TMA) no músculo de pescado ocorre pela redução do óxido de trimetilamina (OTMA) pela ação de bactérias presentes no músculo. (Liston, 1982; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996).

3.5. Microbiota do pescado

A microbiota natural do pescado apresenta características peculiares, influenciada sobretudo pela natureza do habitat aquático, temperatura, salinidade e presença de matéria orgânica. (Frazier & Westhoff, 1978; Leitão, 1977, 1984; Sikorski *et al.*, 1994).

Em águas frias/temperadas a microbiota é composta predominantemente de bactérias psicrotróficas Gram negativas, principalmente *Psychrobacter*, *Moraxella* / *Acinetobacter*, *Alteromonas* (*Shewanella*), *Pseudomonas*, *Flavobacterium* e vibrios (Liston, 1980b, 1982; Hobbs, 1983; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996; Jay, 1996). Já em águas tropicais, a microbiota é composta principalmente por bactérias mesófilas, dos gêneros *Micrococcus*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Aeromonas* e corineformes (Liston, 1980 b, 1982; Lima dos Santos, 1981; Gram *et al.*, 1990; Sikorski *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996; Jay, 1996). A microbiota inicial do pescado é bastante heterogênea, sendo que o manuseio e estocagem sob gelo produzem mudanças no número, distribuição e composição da mesma.

3.6. Efeito dos ácidos orgânicos na inibição do crescimento microbiano em carnes

O uso de aditivos em pescado fresco, associado com outros métodos de conservação, tem sido aplicado com a finalidade de oferecer produtos de melhor qualidade e de maior vida útil (Berberian, 1970; Willians *et al.*, 1995; Lima & Zapata, 1998).

Os ácidos láctico e acético, produzidos microbiologicamente, são conhecidos por seus efeitos bactericida e bacteriostático há muito tempo, e são encontrados em alguns produtos fermentados como iogurte, chucrute, pickles, salame e outros, evitando a deterioração de origem microbiana. O consenso de que esses ácidos têm baixa toxicidade ao organismo humano incentiva o seu uso como agente da redução da contaminação microbiológica em carnes (Adams & Hall, 1988; Koos, 1993).

Devido à solubilidade, ao sabor e à baixa toxicidade ao organismo humano, os ácidos orgânicos de cadeia curta como o acético, benzóico, cítrico, propiônico, sórbico e láctico, são os mais comumente usados em alimentos. O ácido acético e seus sais são bastante eficientes e largamente usados como acidulantes e conservadores em alimentos. Sua ação conservadora é atribuída à queda de pH provocada no meio, e sua atividade antimicrobiana inicia-se em concentrações superiores a 0,5% (Pardi *et al.*, 1994). A presença de 1 a 2% de ácido não dissociado na carne, peixes e produtos vegetais é geralmente suficiente para a inibição bacteriana, desde que boas condições de higiene sejam mantidas. Os ácidos orgânicos são classificados como conservadores ou como acidulantes pela legislação brasileira no Decreto nº 55.871 de 23/06/1965 (BRASIL, 1965),

definidos como substâncias que são adicionadas aos alimentos com vistas a impedir ou retardar a ação microbiana ou enzimática protegendo o alimento contra a deterioração. O uso de ácido acético é permitido como corretivo de pH, nas condições da Resolução nº 25/70 (Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação, 1989), em diversos alimentos processados como: em alguns tipos de queijo (1%), peixes em conserva (1%) e carnes em conserva (1%); não havendo referência ao seu uso em peixe fresco.

3.7. Métodos para redução da uréia do músculo de cação.

Várias técnicas têm sido recomendadas visando a redução do teor de uréia no músculo de cação. Sabe-se que a maior concentração está presente no sangue, razão pela qual é sugerido o sangramento dos esqualos imediatamente após a captura (Gordievskaya, 1973).

Ogawa *et al.* (1973a) avaliaram o uso de uma combinação de soluções de ácido acético e cloreto de sódio na remoção da uréia da carne de cação, verificando que o tratamento com uma solução de ácido acético 1% e cloreto de sódio 15% por 30 minutos à temperatura de 15°C, foi o mais eficiente na redução da uréia. Gordievskaya (1973) avaliou vários métodos físicos e químicos para a redução da uréia da carne de cação, verificando que o tratamento com ácido láctico a 1,5% por 3-4 horas à temperatura de 14-16°C, foi o mais efetivo. Torrano & Menezes (1977) avaliaram o uso de soluções de ácido cítrico, acético e láctico, em diversas concentrações, durante 4 horas à temperatura de 4-5°C, na remoção da uréia da carne de cação, constatando que o tratamento com ácido acético a 1% por 4 horas à temperatura de 4-5°C, foi o que evidenciou melhor desempenho. Finalmente, Torrano (1978) utilizou soluções de ácido láctico, cítrico e acético, em diversas concentrações, durante 3 horas à temperatura de 5°C na remoção da uréia do músculo de cação, verificando a maior eficiência do tratamento com ácido acético a 1% por 3 horas à temperatura de 5°C.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Matéria-prima

O cação *Prionace glauca* descabeçado e eviscerado foi adquirido na CEASA-Campinas, SP e transportado refrigerado para o Laboratório de Pescados e Derivados do DTA / FEA-UNICAMP, em caixa de isopor contendo gelo picado. A seguir procedeu-se à obtenção de filés de aproximadamente 8-10 cm de comprimento e 1,5 cm de espessura, os quais foram utilizados nas diferentes etapas desta pesquisa.

4.2. Metodologia

4.2.1. Caracterização da matéria-prima

- **Composição química do cação**

A partir de filés de cação obtidos conforme descrito em 4.1 foi retirada uma amostra para a determinação de umidade, proteínas, lipídios e cinzas, segundo metodologia descrita em 4.3.2

4.2.2. Otimização do meio de cultura para diferenciação e contagem de bactérias produtoras de urease

- **Meio de cultura original**

O meio de diferenciação utilizado foi otimizado a partir da formulação do caldo uréia proposto originalmente por Christensen (Mac Faddin, 1970) e modificado por Leitão *et al.* (1979), tendo a seguinte composição básica (TABELA 2).

TABELA 2 – Composição do ágar triptona - extrato de levedura -uréia (ágar TEU).

INGREDIENTES	CONCENTRAÇÃO (g/l)
Triptona (Difco)	3
Extrato de levedura (Difco)	1
Dextrose (Difco)	1
Na Cl (Merck)	5
KH ₂ PO ₄ (Baker)	14
Vermelho fenol (Merck)	0,012
Ágar (Difco)	15

Fonte: Leitão *et al.* (1979)

• **Desenvolvimento e avaliação do desempenho do ágar TEU modificado**

a) Avaliação do efeito tamponante do ágar TEU

Numa fase inicial formulações contendo concentrações de KH₂PO₄ de 5, 10, 15 e 20 g/l (A, B, C e D, respectivamente) foram avaliadas quanto ao efeito tamponante do meio, através da diferenciação e diâmetro do halo de viragem do indicador em decorrência da adição de solução de NaOH 0,1 N. Para isto, em placas contendo diferentes formulações de ágar TEU, foram feitos orifícios aos quais adicionou-se 0,1 ml de NaOH 0,1 N; a seguir, estas foram mantidas à temperatura ambiente por 2-3 horas, seguido de avaliação da diferenciação e diâmetro do halo róseo formado em volta dos orifícios.

b) Avaliação do efeito da inoculação de *Morganella morganii* em ágar TEU

Formulações contendo concentrações de KH₂PO₄ de 5, 10 e 15 g/l (A, B e C, respectivamente) foram avaliadas quanto à diferenciação e diâmetro do halo de viragem do indicador com base na inoculação de cultura pura de *Morganella morganii* fortemente produtora de urease. A inoculação da cultura foi feita superficialmente, utilizando-se replicador de Lederberg, com incubação das placas a 20° e 30°C durante 48 horas.

c) Contagem de microrganismos produtores de urease em três formulações de ágar TEU

Ao longo dos ensaios, foram avaliadas diferentes concentrações de KH_2PO_4 (5, 10 e 15 g/l) procurando melhor adequar o efeito tamponante, restringindo a área de viragem do indicador. Para isto, as diferentes formulações foram testadas, analisando-se amostras deterioradas de cação, utilizando-se as técnicas de semeadura em profundidade e espalhamento superficial do inóculo, com incubação das placas a 20°C por períodos máximos de 5 dias, expressando-se os resultados em log unidade formadora de colônias (UFC/g).

d) Contagem de microrganismos produtores de urease em músculo de cação inoculado com *Morganella morganii*

Nesta etapa, cultura pura de *Morganella morganii* foi inoculada em tecido muscular de cação, seguido de contagem por espalhamento superficial em ágar TEU contendo 10 g/l de KH_2PO_4 , concentração esta selecionada como a ideal, com base nos ensaios anteriores (a, b, c), seguido de incubação das placas a 20°C por um período máximo de 5 dias. Procurou-se, assim, confirmar a adequacidade do ágar TEU modificado como meio diferencial para a contagem de microrganismos produtores de urease.

4.2.3. Desenvolvimento de terminologia descritiva e perfil sensorial de filés de cação refrigerados

• Análise Descritiva Quantitativa (ADQ)

a) Desenvolvimento de terminologia descritiva

A terminologia descritiva das amostras foi desenvolvida pelos provadores utilizando-se o Método Rede, descrito por Kelly e citado por Moskowitz (1983). As amostras de filés de cação em diferentes estágios de frescor foram apresentadas aos provadores em pratos de cerâmica brancos, codificados com números de três dígitos. As amostras foram servidas em pares e os provadores as avaliaram descrevendo suas

similaridades e diferenças, quanto a aparência, aroma e textura manual (FIGURA 1). Na sequência, em discussões abertas com todos os provadores, foi obtida de forma consensual, uma lista de atributos representativos das características sensoriais do produto, com a qual foi elaborada a ficha de avaliação descritiva dos filés de cação bem como a definição de cada descritor e referências.

LEVANTAMENTO DE DESCRITORES DE FILÉS DE CAÇÃO-MÉTODO REDE	
Nome: _____ Data: _____	
1. Por favor, compare as duas amostras quanto à Aparência e Aroma e indique em que são similares e em que são diferentes.	
Amostras: _____ e _____	
Similaridades	Diferenças
Aparência	
Aroma	
2. Pressione a superfície das amostras, com a ponta do dedo indicador e indique em que são similares e em que são diferentes com relação à <u>Textura</u>	
Similaridades	Diferenças
Textura	

FIGURA 1 - Modelo de ficha utilizada para o levantamento de termos descritores das amostras de filés de cação, segundo o Método Rede

b) Treinamento e seleção de provadores

Os provadores foram treinados utilizando-se amostras de cação em diferentes estágios de frescor, a ficha descritiva consensualmente desenvolvida, a lista de definição dos termos e as referências. Após o período de treinamento, procedeu-se a seleção de provadores, onde três amostras de cação em diferentes estágios de frescor foram avaliadas em três repetições, utilizando-se a ficha descritiva obtida no item anterior, a fim de selecionar os provadores com maior poder de discriminação, repetibilidade e concordância com os demais membros da equipe. A intensidade de cada atributo sensorial foi avaliada

através de escalas não estruturadas de nove centímetros, ancoradas nos extremos com os termos “fraco” e “forte” ou “nenhum” e “forte”.

Os resultados individuais de cada provador, para cada atributo, foram estatisticamente avaliados por uma análise de variância (ANOVA), tendo como fontes de variação: amostras e repetições. Os níveis de significância (p) dos valores de F (amostras) e F (repetições) foram computados para cada provador, em cada atributo. Os provadores foram selecionados com base em sua capacidade discriminatória (pF amostras $\leq 0,30$), reprodutibilidade (pF repetições $> 0,05$) e julgamento consensual com o restante da equipe, conforme sugerido por American Society for Testing and Materials (ASTM, 1981) e Damásio & Costell (1991)

c) Avaliação das amostras

Com a ficha descritiva consensualmente desenvolvida, os provadores selecionados, avaliaram três amostras de filés de cação em três diferentes estágios de frescor: fresco, intermediário e no final de vida útil. As amostras foram avaliadas em três repetições. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de dois fatores (amostras e provadores) com interação para cada atributo. Teste de Tukey ($p \leq 0,05$) foi realizado para comparação das médias.

4.2.4. Caracterização da microbiota produtora de urease em filés de cação armazenados sob refrigeração (4°C) e em temperatura de abuso (10°C) e avaliação de seu potencial deteriorador

• Contagem da microbiota produtora de urease

Imediatamente após o processo de filetagem e acondicionamento, conforme descrito em 4.1, foram separadas porções de 25g de filés, adicionadas a 225ml de solução salina peptonada estéril, seguida de homogeneização em liquidificador. A seguir, foram preparadas diluições decimais sucessivas, com semeadura superficial em ágar triptona-extrato de levedura-uréia (ágar TEU) modificado, com a seguinte composição: triptona 3g/l, extrato de levedura 1g/l, dextrose 1g/l, NaCl 5g/l, KH_2PO_4 10g/l, vermelho de fenol

0,012 g/l e ágar 15 g/l. Em continuação, as placas foram incubadas a 20°C durante 72h, seguido de posterior contagem de colônias produtoras de urease, evidenciadas pela presença de halo róseo em sua volta.

- **Caracterização e identificação da microbiota produtora de urease**

- a) Isolamento e purificação das culturas produtoras de urease**

A partir de placas de ágar TEU contendo culturas presuntivamente produtoras de urease foram feitos isolamentos em tubos de ágar TSA (ágar soja tripticase) inclinado, com incubação a 30°C/24h. A seguir, realizou-se o isolamento e purificação dessas culturas, por estrias em placas de TSA, seguido de incubação a 30°C/48h. As culturas isoladas e purificadas foram submetidas a testes de reconfirmação de sua atividade produtora de urease, através de inoculação em ágar TEU inclinado.

- b) Identificação das culturas produtoras de urease**

As culturas produtoras de urease foram submetidas aos seguintes testes: oxidase, produção de indol e Gram (por coloração e teste com KOH), conforme procedimentos recomendados por Mac Faddin (1970), International Commission on Microbiological Specifications for Foods (1978), Krieg & Holt (1984) e Vanderzant & Splittstoesser (1992). A seguir, as culturas foram submetidas a caracterização bioquímica completa e identificadas em nível de gênero ou espécie, de acordo com Krieg & Holt (1984) e com o auxílio de “kits” do sistema bioquímico de identificação CRYSTAL – BD.

- **Avaliação do potencial deteriorador das culturas produtoras de urease**

- a) Preparação da suspensão das culturas**

A partir de culturas identificadas e com forte atividade produtora de urease foram preparadas suspensões em tubos contendo 5 ml de solução salina peptonada 0,85%, correspondendo a escala Mc Farland = 3. A seguir, a suspensão inicial da cultura foi diluída, de forma a alcançar uma população estimada de 10^3 UFC/ml.

b) Preparo do extrato de tecido muscular de cação

Pesou-se 600g de tecido muscular de cação, adicionou-se 600 ml de água destilada e homogeneizou-se em liquidificador por 2 minutos. A seguir, o extrato obtido foi submetido a cocção breve (100°C por 3 minutos), filtrado através de camada de algodão, distribuído em frascos erlenmeyer e esterilizado a 121 °C por 15 minutos.

c) Avaliação do potencial deteriorador das culturas produtoras de urease

Inoculou-se 1 ml da suspensão bacteriana (padronizada em 10^3 UFC/ml) em frascos contendo 600 ml de extrato esterilizado de tecido muscular de cação. A seguir, os extratos foram incubados a 4 °C e 10 °C e nos intervalos de 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias (4 °C) e 0, 1, 2, 3, 4 e 5 dias (10 °C) foram realizadas determinações de pH (por leitura direta dos extratos em potenciômetro), uréia e contagem de bactérias, de acordo com a metodologia descrita em 4.3.2 e 4.3.3

4.2.5. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de filés de cação armazenados sob refrigeração (0° e 4°C) e em temperatura de abuso (10°C)

Filés de cação obtidos conforme descrito em 4.1 foram acondicionados em bandejas de poliestireno, recobertas com filme de PVC esticável, seguido de armazenamento a 0°, 4° e 10°C. Nos intervalos de 0, 2, 6, 8, 10 e 12 dias (0° C), 0, 2, 6, 8 e 10 dias (4°C) e 0, 1, 2 e 3 dias (10°C) foram retiradas amostras e submetidas a análises sensoriais (aparência, aroma e textura) conforme descrito em 4.3.1. Nos períodos de 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias (0°C), 0, 2, 4, 6, 8 e 10 dias (4°C) e 0, 1, 2, 3 e 4 dias (10°C) foram retiradas amostras e submetidas a análises físico-químicas (pH, pH na superfície dos filés, bases nitrogenadas voláteis, uréia, amônia, trimetilamina, nitrogênio não protéico e testes qualitativos para amônia e gás sulfídrico) e microbiológicas (contagens de bactérias psicotróficas e bactérias produtoras de urease) de acordo com a metodologia descrita em 4.3.2 e 4.3.3

4.2.6. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais de filés de cação submetidos a tratamento prévio de redução do teor de uréia e armazenados sob refrigeração (0°C) e em temperatura de abuso (10°C)

Filés de cação, obtidos conforme descrito em 4.1, foram submetidos a tratamento por imersão em solução de ácido acético 1% por 3 horas a 5°C, segundo o procedimento recomendado por Torrano (1978). A seguir, os filés foram removidos da solução, lavados em água potável e acondicionados em bandejas de poliestireno recobertas com filme de PVC esticável, seguido de armazenamento a 0° e 10°C. As amostras controle foram constituídas por filés de cação imersos em água destilada à mesma temperatura durante o mesmo tempo, acondicionadas e armazenadas nas mesmas condições que as amostras tratadas.

Nas amostras tratadas com ácido acético 1%, nos intervalos de 0, 2, 4, 8, 10, 14 e 16 dias (0°C) e 0, 1, 2, 3 e 4 dias (10°C) e nas amostras controle, nos períodos de 0, 2, 4, 8, 10 e 12 dias (0°C) e 0, 1, 2, 3 e 4 dias (10°C), foram retiradas amostras e submetidas a análises sensoriais (aparência, aroma e textura), conforme descrito em 4.3.1. Nos filés tratados com ácido acético 1%, nos períodos de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 dias (0°C) e 0, 1, 2, 3 e 4 dias (10°C) e nos filés controle, nos intervalos de 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias (0°C) e 0, 1, 2, 3 e 4 dias (10°C), foram retiradas amostras e submetidas a análises químicas (uréia) e microbiológicas (contagens de bactérias psicrótróficas e bactérias produtoras de urease) de acordo com a metodologia descrita em 4.3.2 e 4.3.3

4.3. Métodos Analíticos

4.3.1. Análise sensorial

Uma equipe de dez provadores treinados avaliou as amostras por meio de escalas não estruturadas de 9 centímetros, utilizando a ficha de avaliação descrita na FIGURA 6. Os atributos avaliados foram: aparência, aroma e textura. As amostras foram apresentadas aos provadores em pratos brancos de cerâmica, recobertos com filme de PVC esticável, codificados com números de 3 dígitos selecionados aleatoriamente.

4.3.2. Análises físico-químicas

- **Proteínas** - Método micro Kjeldhal, fator 6,25 para conversão em proteína total (Horwitz, 1980).
- **Lipídios** - Método de extração de lipídios (Bligh & Dyer, 1959)
- **Cinzas** - Método por incineração em mufla a 550 – 600°C, até peso constante (Horwitz, 1980).
- **Umidade** - Método gravimétrico por secagem em estufa a 105°C, até peso constante (Horwitz, 1980).

- **pH**

O pH foi medido utilizando-se músculo homogeneizado em água destilada, na proporção de 1 : 4 (Neto, 1984), utilizando-se potenciômetro Micronal B-374.

- **pH na superfície dos filés**

O pH dos filés foi medido em potenciômetro Sentrom 1001, modelo 1080 pH/T, com precisão de +/- 0,1 pH e eletrodo de vidro apropriado para determinações de pH na superfície de carnes. O pH foi medido através de leituras em três diferentes pontos do filé.

- **Bases nitrogenadas voláteis – BNV** - Método descrito por Howgate (1976).
- **Uréia** - Método proposto por Waller (1980).
- **Amônia** - Método descrito por Adler-Nissen (1979).
- **Trimetilamina - TMA** - Método proposto por Murray & Gibson (1972).
- **Nitrogênio não protéico – NNP** – Método descrito por Horwitz (1980).

- **Testes qualitativos para amônia e gás sulfídrico** - Método descrito pelo Instituto Adolfo Lutz (1985).

4.3.3. Análises Microbiológicas

- **Contagem de bactérias psicotróficas**

Em ágar padrão para contagem total (Difco) com espalhamento superficial e incubação a 20 °C por 72 horas. (Oliveira & Parmelee, 1976; Vanderzant & Splittstoesser, 1992)

- **Contagem de bactérias produtoras de urease**

Em ágar TEU (triptona – extrato de levedura – uréia) modificado e otimizado, conforme descrito em 4.2.2, com espalhamento superficial e incubação a 20 °C por um período máximo de 5 dias.

4.3.4. Análise estatística

As variáveis estudadas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias individuais comparadas através do teste de Tukey ao nível de 95% de significância (Gomes, 1990) através do programa SAS, 1992.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização da matéria-prima

5.1.1. Composição química

A TABELA 3 mostra os dados de composição química do músculo de cação (*Prionace glauca*).

TABELA 3 – Composição química do músculo de cação*.

Umidade (%)	Proteínas (%)	Lipídios (%)	Cinzas (%)
83,20	14,90	0,85	0,09

* Valores médios de três repetições.

Os dados contidos na TABELA 3 representam valores médios de composição química. Inúmeros fatores afetam a composição química do pescado. Entre outros, a espécie estudada, estágio de desenvolvimento, condições nutricionais e do ambiente, poderão influir nos valores determinados. Assim, Ogawa *et al.* (1973b), analisando amostras de cação *Prionace glauca* capturado no Nordeste brasileiro, detectaram os seguintes valores: umidade 75,6%, proteínas 20,1 %, lipídios 4,7% e cinzas 1,5 %. Já Torrano & Menezes (1977), analisando a mesma espécie, mas capturada na costa sul do Brasil, constataram a seguinte composição: umidade 83%, proteínas 15%, lipídeos 0,80% e cinzas 0,08%. Os valores detectados na presente pesquisa são bastante semelhantes aos constatados por estes últimos autores citados.

5.2. Otimização do meio de cultura para diferenciação e contagem de bactérias produtoras de urease

a) Avaliação da capacidade tamponante do ágar TEU

A visualização do halo róseo formado nos orifícios (com 0,1 ml de NaOH 0,1N) das placas com ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 : A (5g/l), B (10g/l), C (15g/L) e D (20g/l), revelou que o formado na formulação “B” (10g/l) de KH_2PO_4) apresentou uma melhor diferenciação em relação àquele formado nas outras formulações. (FIGURA 2).

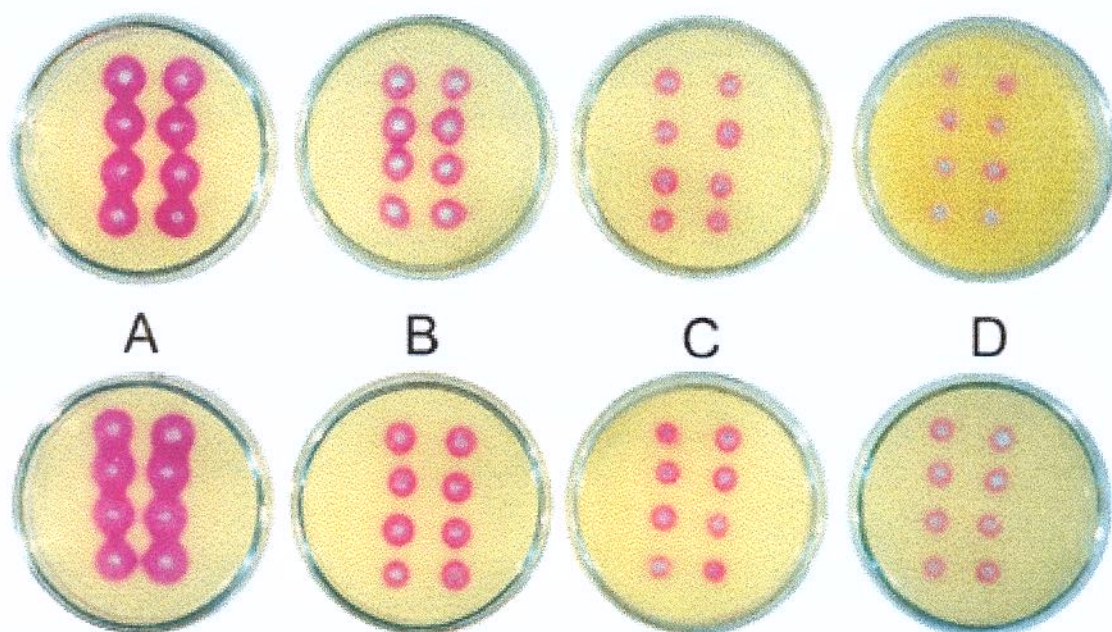


FIGURA 2 – Halos róseos formados nas placas com ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 : A (5g/l), B (10g/l), C (15g/l) e D (20g/l), com orifícios inoculados com 0,1 ml de NaOH 0,1N

Foram considerados como critérios importantes na definição da concentração ideal de KH_2PO_4 para melhor diferenciação, o diâmetro do halo formado e a sua intensidade de coloração. A este respeito, Leitão *et al* (1979) avaliaram o efeito tamponante do ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 (2 a 18g/l), através da

titulação do meio com NH_4OH 0,1N, verificando que a formulação contendo 14g/l de KH_2PO_4 foi a mais adequada.

b) Avaliação do efeito da inoculação de *Morganella morganii* em ágar TEU

• Efeito da inoculação, por picada de *Morganella morganii* em ágar TEU, com incubação a 20°C por 48 horas.

Na FIGURA 3, pode-se observar a variabilidade na diferenciação da cultura de *Morganella morganii* em função da variação nos teores de KH_2PO_4 . Pode-se notar que a concentração de 10g/l de KH_2PO_4 (B) com 48 horas de incubação a 20°C, foi a que permitiu a melhor caracterização da reação, embora ainda houvesse espalhamento acentuado do halo de viragem do indicador. Este resultado confirma a constatação anterior (item a), na qual a viragem foi obtida com utilização de NaOH 0,1N.

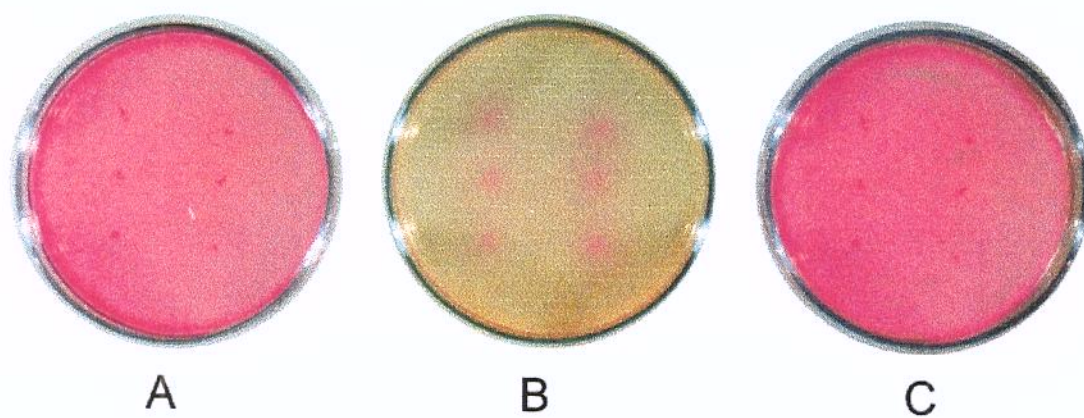


FIGURA 3 – Halos róseos formados nas placas com ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 : A (5g/l), B (10g/l) e C(15g/l) inoculadas por picada, com *Morganella morganii* e incubadas a 20°C/48 horas.

- Efeito da inoculação, por picada de *Morganella morganii* em ágar TEU, com incubação a 30°C por 48 horas.

Na FIGURA 4, pode-se observar a variabilidade na diferenciação da cultura de *Morganella morganii* em função da variação na concentração de KH_2PO_4 . Pode-se notar que nenhuma das concentrações de KH_2PO_4 avaliadas, após incubação a 30°C, por 48 horas, permitiu uma boa caracterização da reação, observando-se um espalhamento acentuado do halo de viragem do indicador, dificultando a diferenciação das colônias produtoras de urease formadas.

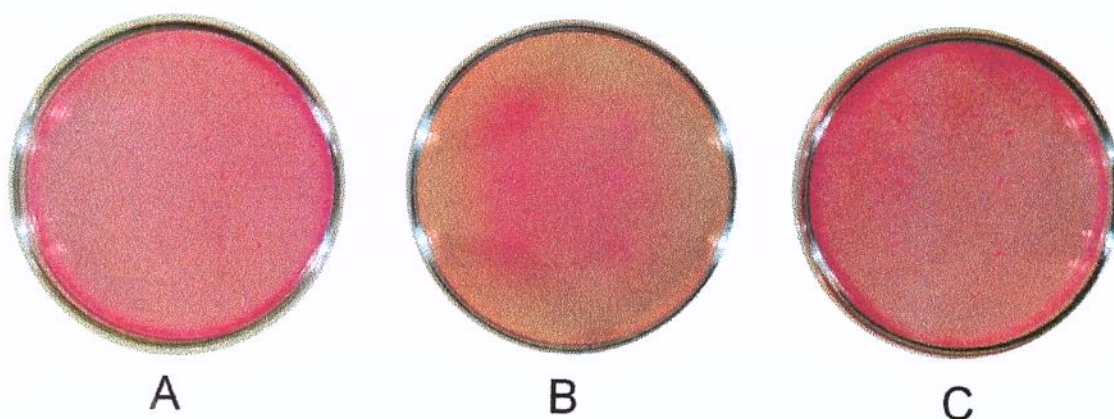


FIGURA 4 - Halos róseos formados nas placas com ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 : A (5g/l), B (10g/l) e C (15g/l), inoculadas por picada, com *Morganella morganii* e incubadas a 30°C/48 horas.

Este problema é particularmente crítico em culturas dos gêneros *Proteus* e *Morganella*, que apresentam a reação de espalhamento (“swarming”) muito pronunciada, dificultando a caracterização de colônias isoladas. Nestas condições, a secagem prévia das placas e o número reduzido de colônias formadas são condições importantes no sentido de garantir uma melhor diferenciação. Já Leitão *et al.* (1979), ao desenvolverem o ágar TEU haviam constatado esta dificuldade na caracterização das culturas produtoras de urease.

No entanto, os resultados obtidos nesta pesquisa revelaram que o ágar TEU contendo 10g/l de KH_2PO_4 (formulação B) mesmo com as limitações assinaladas, foi o que evidenciou um melhor desempenho na diferenciação das culturas produtoras de urease, após incubação a 20°C/48 horas.

c) Contagem de bactérias produtoras de urease em três formulações de ágar TEU

Analisou-se amostras deterioradas de cação, avaliando-se as diferentes concentrações de KH_2PO_4 e o uso das técnicas de semeadura em profundidade e espalhamento superficial. Os resultados novamente sugeriram a concentração de 10g/l de KH_2PO_4 (formulação B) como a mais indicada obtendo-se, também, maiores contagens pela técnica de espalhamento superficial comparativamente à de semeadura em profundidade (FIGURA 5 e TABELA 4).

Na FIGURA 5, observam-se as colônias produtoras de urease desenvolvidas no ágar TEU.

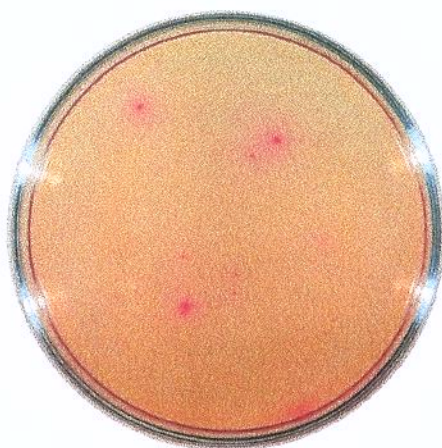


FIGURA 5 – Colônias produtoras de urease provenientes de cação em ágar TEU, contendo 10g/l de KH_2PO_4 , utilizando a técnica de espalhamento superficial e incubação a 20°C/48 horas.

TABELA 4 – Contagens de bactérias produtoras de urease (log UFC/g) de amostras de cação deteriorado, em ágar TEU contendo diferentes concentrações de KH_2PO_4 .

Técnica de Inoculação	Repetição	Nível de adição de KH_2PO_4		
		A (5g/l)	B (10g/l)	C (15g/l)
Semeadura em profundidade	1	5,76	6,30	4,60
	2	5,30	6,54	4,71
	3	5,50	6,69	4,65
	Média $\bar{x}$	5,52	6,51	4,65
Espalhamento superficial	1	6,44	6,81	5,30
	2	6,50	6,98	5,91
	3	6,38	6,85	5,54
	Média $\bar{x}$	6,44	6,88	5,58

Os resultados obtidos (TABELA 4) confirmam a presença de populações elevadas de bactérias produtoras de urease nas amostras de cação, com evidências de deterioração. Resultados semelhantes foram constatados por Leitão *et al.* (1979) e Waller (1980) que relataram a presença de populações elevadas de bactérias produtoras de urease em amostras de cação em estágios avançados de deterioração.

d) Contagem de bactérias produtoras de urease em músculo de cação inoculado com *Morganella morganii*

Nos ensaios em que se inoculou culturas puras de *M. morganii* em tecido muscular de cação, seguido de contagem por espalhamento superficial, em meio contendo 10g/l de KH_2PO_4 (formulação B), os resultados obtidos confirmaram o desempenho satisfatório do ágar TEU modificado, embora não permitindo a recuperação total do inóculo adicionado. Os índices de recuperação, em dois ensaios efetuados, oscilaram entre 18,2 e 20,8%, sendo provável que em função da composição do meio, relativamente restrito em nutrientes, nem todos os microrganismos presentes tenham tido condições ótimas de desenvolvimento. Além disso, a temperatura de incubação (20°C) favorece o

desenvolvimento de psicrotróficos, restringindo o de microrganismos mesófilos, caso da maioria dos microrganismos da família *Enterobacteriaceae*.

Em conclusão, os resultados obtidos nesta pesquisa revelaram que o ágar TEU contendo 10g/l de KH_2PO_4 e utilizado com a técnica de espalhamento superficial, teve um desempenho satisfatório, permitindo uma melhor caracterização das colônias produtoras de urease e uma clara diferenciação daquelas não produtoras.

Entretanto, o ágar TEU modificado ainda revelou duas deficiências: no caso de culturas fortemente produtoras de urease, o halo formado disseminava-se rapidamente pelo meio, dificultando a caracterização dessas colônias após incubação prolongada (72 h); além disso, no caso de placas com crescimento excessivo de colônias, a diferenciação era também muito dificultada, pela confluência dos halos.

5.3. Desenvolvimento de terminologia descritiva e perfil sensorial de filés de cação refrigerados

5.3.1. Terminologia descritiva

Os provadores desenvolveram sete termos descritores para descrever as similaridades e diferenças sensoriais entre as amostras de filés de cação avaliadas. Cada termo descritor foi definido em consenso pela equipe, que também sugeriu as amostras de referência dos mesmos, bem como as referências de intensidade que ancoraram os extremos das escalas durante o treinamento dos provadores (TABELA 5). Os termos descritores desenvolvidos foram utilizados na elaboração da ficha de avaliação sensorial das amostras (FIGURA 6).

5.3.2. Seleção dos provadores

A TABELA 6 apresenta os valores de p amostras para cada um dos 14 provadores, em relação aos 7 atributos avaliados. De acordo com os critérios de seleção aplicados nesta pesquisa, verifica-se que a maioria dos provadores apresentaram deficiência discriminatória em, no máximo, dois atributos dos sete julgados, resultados esses que podem ser considerados bastante satisfatórios.

TABELA 5 – Definição dos termos descritivos e referências usadas como extremos de escala de intensidade na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) de filés de cação.

ATRIBUTO	DEFINIÇÃO	REFERÊNCIA
Cor característica	Intensidade de cor rosada viva característica de filé de cação fresco	Fraca: Filé de cação deteriorado (armazenado a 10°C por 2-3 dias) Forte: Filé de cação fresco (armazenado a 0°C por 1-4 dias)
Manchas amarelo-esverdeadas	Intensidade de cor amarelo-esverdeada característica de filé de cação deteriorado	Nenhuma: Filé de cação fresco (armazenado a 0°C por 1-4 dias) Muita: Filé de cação deteriorado (armazenado a 10°C por 2-3 dias)
Brilho	Qualidade de reflexão da luz	Fraca: Filé de cação deteriorado (armazenado a 10°C por 2-3 dias) Forte: Filé de cação fresco (armazenado a 0°C por 1-4 dias)
Aspecto úmido	Presença de água exsudada na superfície do filé	Fraca: Filé de cação deteriorado (armazenado a 10°C por 2-3 dias) Forte: Filé de cação fresco (armazenado a 0°C por 1-4 dias)
Aroma de peixe fresco	Aroma associado a água de mar, algas marinhas, característico de peixe fresco	Nenhum: Filé de cação deteriorado (armazenado a 10°C por 2-3 dias) Forte: Filé de cação fresco (armazenado a 0°C por 1-4 dias)
Aroma de amônia	Aroma característico de uma solução aquosa de Cloreto de amônia	Nenhum: Água destilada (filé de cação fresco) Forte: Solução aquosa de Cloreto de Amônia 10% (filé de cação deteriorado)
Firmeza	Resistência do filé ante a pressão dos dedos	Pouca: Filé de cação fresco (armazenado a 0°C por 1-4 dias) Muita: Filé de cação deteriorado (armazenado a 10°C por 2-3 dias)

AVALIAÇÃO SENSORIAL DE FILÉS DE CAÇÃO

Nome: _____ Data: _____

POR FAVOR, FAÇA UM TRAÇO VERTICAL NA ESCALA NO PONTO QUE MELHOR DESCREVE A INTENSIDADE DE CADA ATRIBUTO

AMOSTRA: _____

APARÊNCIA:

- 1) Cor característica: 
Fraca Forte
- 2) Manchas amarelo-esverdeadas: 
Nenhuma Muita
- 3) Brilho: 
Fraco Forte
- 4) Aspecto úmido: 
Fraco Forte

AROMA:

- 1) Peixe fresco: 
Nenhum Forte
- 2) Amônia: 
Nenhum Forte

TEXTURA:

- 1) Firmeza: 
Pouca Muita

FIGURA 6 – Ficha de avaliação sensorial das amostras de filés de cação.

TABELA 6 – Valores de p amostras obtidos por quatorze provadores em cada atributo no teste de seleção da equipe (Valores desejáveis: p amostras $< 0,30$. Valores em *itálico e grifado* indicam poder discriminativo insuficiente)

Provador	COR	MAVE	BRIL	ASUM	PEFR	AMON	FIRM	** Total
1	0,0004	0,0001	0,0047	0,0064	0,0002	0,0043	0,0060	0
2	0,0001	0,0017	0,0059	0,0006	0,0001	0,0001	0,0001	0
3	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0
4	0,0052	0,0031	0,0010	0,0097	0,0111	0,0001	0,0013	0
5	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0026	0,0001	0,0637	0
6	0,0289	0,0003	0,0865	0,0886	0,0142	0,0001	0,0230	0
7	<u>0,3223</u>	0,0083	0,1926	0,0627	0,0187	0,0091	<u>0,8243</u>	2
8	0,0001	0,0044	0,0140	0,0007	0,0003	0,0031	0,0031	0
9	0,0002	0,0001	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001	0,0014	0
10	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0009	0,0001	0,0026	0
11	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0024	0,0012	0,0001	0
12	0,0182	0,0398	0,0231	0,0232	0,0564	0,0130	0,0613	0
13	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0010	0
14	0,1109	0,0714	0,1102	0,0842	0,0845	0,0879	<u>0,4167</u>	1
Total	1	0	0	0	0	0	2	

** Total de ocasiões em que o poder discriminativo mostrou-se insuficiente

Legenda:

COR: cor característica.

MAVE: manchas amarelo-esverdeadas.

FIRM: firmeza

BRIL: brilho

ASUM: aspecto úmido

PEFR: aroma de peixe fresco

AMON: aroma de amônia

A TABELA 7 lista os valores de p repetições e verifica-se que a equipe apresentou boa reprodutibilidade entre as repetições. Os provadores 2, 3 e 11 apresentaram deficiência de repetibilidade com relação a um atributo.

TABELA 7 – Valores de p repetições obtidos por quatorze provadores em cada atributo no teste de seleção da equipe (Valores desejáveis: p repetições $> 0,05$. Valores em *itálico* e **grifados** indicam reprodutibilidade insuficiente)

Provador	COR	MAVE	BRIL	ASUM	PEFR	AMON	FIRM
1	0,2779	0,6984	0,2473	0,3112	0,0491	0,4644	0,3927
2	<u>0,0344</u>	0,7298	0,5392	0,1437	0,0644	0,3116	0,6926
3	0,6553	0,1384	<u>0,0348</u>	0,9121	0,7575	0,7422	0,2515
4	0,2196	0,3167	0,0613	0,2728	0,3693	0,3881	0,3147
5	0,2215	0,4444	0,7436	0,4225	0,3406	0,4444	0,4444
6	0,8989	0,2745	0,7433	0,7654	0,6477	0,4572	0,0688
7	0,9201	0,5113	0,4411	0,8464	0,5188	0,8420	0,6736
8	0,2101	0,5365	0,5660	0,4236	0,2682	0,3291	0,6115
9	0,2712	0,4839	0,1500	0,1091	0,6049	0,3460	0,3154
10	0,1253	0,4444	0,3630	0,2475	0,9771	0,6732	0,7342
11	0,2520	<u>0,0434</u>	0,5691	0,2890	0,8283	0,5401	0,2386
12	0,8496	0,9308	0,6958	0,6126	0,3519	0,3997	0,2723
13	0,8711	0,6374	1,0000	0,6067	0,4444	0,6449	0,3934
14	0,7699	0,8367	0,4245	0,2825	0,3527	0,7694	0,8243

Legenda:

COR: cor característica.

MAVE: manchas amarelo-esverdeadas.

FIRM: firmeza

BRIL: brilho

ASUM: aspecto úmido

PEFR: aroma de peixe fresco

AMON: aroma de amônia

A TABELA 8 lista as médias de cada provador e da equipe sensorial, para cada atributo, por amostra. Por esta tabela, pode-se avaliar a concordância de cada provador com o julgamento da equipe. Verifica-se que todos os provadores apresentaram consenso em relação à equipe. A deficiência em discriminação, apresentada pelos provadores 7 e 14, foi decisiva na eliminação destes da equipe final de avaliação das amostras.

Desta forma, prosseguiu-se a análise sensorial das amostras de filés de cação, com uma equipe de doze provadores, avaliando 7 atributos.

Algumas deficiências discriminatórias e de repetibilidade dos indivíduos com relação a alguns atributos sensoriais são indesejáveis, porém de ocorrência regular em testes sensoriais. Assim, estabelecer a proporção de atributos que o provador deve discriminar dentre o total dos julgados, de forma que ele/ela possa ser selecionado para compor a equipe sensorial final, tem sido uma problemática abordada por vários pesquisadores (Fischman *et al.*, 1987).

Stone *et al.* (1974) revelaram que qualquer provador com valor de F significativo a $p \leq 0,50$ contribui para a discriminação entre amostras, porém não indicam quantos atributos, do total dos que são avaliados no estudo, devem ser utilizados para a seleção.

Segundo Powers *et al.* (1984), o nível mínimo de significância para F amostra depende, em cada caso, das características do produto, do objetivo do teste e em alguns casos até do número de provadores disponíveis.

TABELA 8 - Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial (ES) e médias individuais de cada um dos quatorze provadores, em cada atributo, no teste de seleção da equipe.

			PROVADORES													
Atributo	A	ES	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Cor	1	7,47 ^a	7,83	8,33	7,86	8,23	8,46	5,66	4,93	8,40	7,86	7,86	7,03	7,30	8,66	6,30
	2	4,33 ^b	4,53	4,50	4,40	3,93	3,53	4,56	2,90	6,06	3,43	4,76	4,00	2,76	4,26	2,56
	3	0,37 ^c	0,33	0,30	0,70	0,10	0,10	0,96	0,70	0,56	0,23	0,13	0,23	0,56	0,10	0,30
MAVE	1	0,67 ^c	0,40	0,20	0,70	0,33	0,10	0,40	1,16	0,86	0,26	0,10	0,60	1,53	0,13	2,63
	2	2,37 ^b	0,86	2,06	1,56	2,63	1,63	0,86	2,43	2,60	3,30	0,63	4,00	4,03	0,18	6,53
	3	8,05 ^a	7,06	7,00	7,06	8,80	8,80	7,36	8,00	7,86	8,73	8,80	8,10	8,13	8,36	8,66
BRIL	1	7,08 ^a	6,23	7,13	7,60	7,86	8,50	5,83	4,03	8,33	7,73	8,23	7,40	5,76	8,76	5,76
	2	2,96 ^b	2,93	2,60	3,43	3,96	0,23	4,53	3,56	4,56	3,03	3,60	1,86	1,43	4,30	1,50
	3	0,80 ^c	1,03	1,00	1,00	0,36	0,10	1,50	1,63	1,80	0,20	0,30	0,23	0,86	0,93	0,26
ASUM	1	7,30 ^a	7,03	8,06	7,33	5,86	8,63	6,03	6,76	8,13	8,23	8,53	7,26	5,86	8,76	5,86
	2	3,16 ^b	3,70	4,00	3,70	1,90	0,36	4,70	3,90	4,40	3,70	4,06	2,36	1,83	3,60	2,06
	3	0,63 ^c	0,50	0,60	0,76	0,10	0,10	1,46	1,56	1,30	0,23	0,23	0,33	0,93	0,40	0,33
PEFR	1	7,31 ^a	7,16	8,36	7,83	8,13	8,63	5,63	6,83	8,10	8,46	7,23	6,83	4,60	8,80	5,86
	2	3,87 ^b	5,03	5,50	5,66	4,53	2,73	5,10	3,83	4,50	4,03	2,43	3,30	1,56	3,80	2,20
	3	0,35 ^c	0,83	0,53	0,60	0,10	0,10	0,30	0,63	0,56	0,23	0,10	0,26	0,33	0,10	0,26
AMON	1	0,93 ^c	0,16	0,33	0,96	0,16	0,10	0,66	1,40	0,93	0,23	0,10	1,83	3,46	0,10	2,60
	2	2,66 ^b	0,23	1,87	2,03	1,10	1,16	0,73	3,23	2,86	3,56	2,30	4,26	5,13	2,40	6,46
	3	8,13 ^a	6,70	7,40	7,00	8,80	8,80	6,90	7,70	8,30	8,80	8,70	8,70	8,60	8,73	8,73
FIRM	1	3,52 ^b	2,33	1,66	3,20	6,06	8,80	3,56	4,40	1,16	1,56	1,53	1,33	4,83	1,40	7,53
	2	4,47 ^b	4,26	4,90	4,50	4,96	2,63	4,46	3,86	5,00	3,33	3,33	5,26	6,60	4,00	5,50
	3	7,00 ^a	7,30	8,50	8,23	0,80	8,80	6,93	5,63	8,43	7,66	7,86	8,16	7,76	8,73	3,26

Legenda:

A: amostras.

COR: cor característica

MAVE: manchas amarelo-esverdeadas.

BRIL: brilho

FIRM: firmeza

ASUM: aspecto úmido

PEFR: aroma de peixe fresco

AMON: aroma de amônia

5.3.3. Perfil sensorial das amostras

Os perfis sensoriais de cada uma das amostras de filés de cação estão expressos graficamente através da FIGURA 7, conforme dados fornecidos pela Análise Descritiva Quantitativa das amostras. O centro da Figura representa o ponto zero da escala de atributo, enquanto a intensidade aumenta do centro para a periferia. A média de cada atributo em cada produto é marcada no eixo correspondente e o perfil sensorial é traçado pela conexão dos pontos. Os resultados da FIGURA 7 são complementados pela TABELA 9, que apresenta as médias obtidas pelas amostras em cada atributo e os resultados do teste de Tukey. A amostra 1 tratava-se de filés de cação fresco (armazenado a 0°C por 1-4 dias), a amostra 2 era composta por filés de cação em grau intermediário de frescor (armazenado a 0°C por 4-6 dias), enquanto que, a amostra 3 era constituída por filés de cação em fim de vida útil (armazenado a 10°C por 2-3 dias). Através da FIGURA 7 e dos dados listados na TABELA 9 verifica-se que a amostra 1 (filés de cação fresco) distinguiu-se das demais amostras, por apresentar maior intensidade de cor característica, menor intensidade de manchas amarelo - esverdeadas, brilho mais intenso, aspecto mais úmido, aroma mais intenso de peixe fresco, aroma menos intenso de amônia e menor firmeza. A amostra 3 (filés de cação em fim de vida útil), por sua vez, caracterizou-se por apresentar cor menos característica, maior intensidade de manchas amarelo – esverdeadas, brilho menos intenso, aspecto menos úmido, aroma menos intenso de peixe fresco, aroma mais intenso de amônia e maior firmeza que as demais amostras. A amostra 2 (filés de cação em grau intermediário de frescor) apresentou características sensoriais intermediárias entre as amostras 1 e 3.

A maior intensidade de cor característica, menor intensidade de manchas amarelo – esverdeadas, brilho mais intenso, aspecto mais úmido, aroma mais intenso de peixe fresco, aroma menos intenso de amônia e menor firmeza, apontada pelos provadores, revelou que os filés de cação armazenados a 0°C mantêm suas características sensoriais. Portanto, o armazenamento dos filés a 0°C, por aproximadamente 6-8 dias, permite obter filés de boa qualidade sensorial.

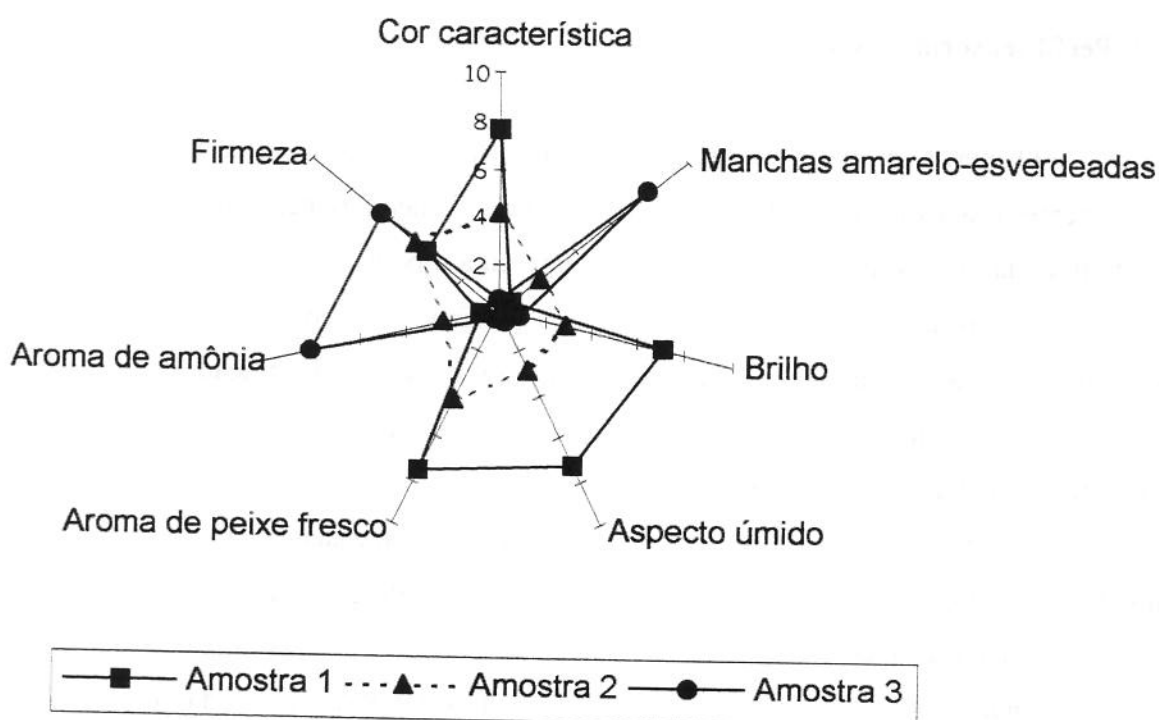


FIGURA 7 – Perfil sensorial das amostras de filés de cação

Amostra 1: Filés de cação fresco

Amostra 2: Filés de cação em grau intermediário de frescor

Amostra 3: Filés de cação em fim de vida útil

TABELA 9 – Atributos sensoriais que caracterizam as amostras de filés de cação (valores médios)

Atributo	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Cor característica	7,56 ^a	4,15 ^b	0,47 ^c
Manchas amarelo-esverdeadas	0,57 ^c	2,19 ^b	7,99 ^a
Brilho	7,09 ^a	2,86 ^b	0,82 ^c
Aspecto úmido	7,26 ^a	2,83 ^b	0,53 ^c
Aroma de peixe fresco	7,51 ^a	4,22 ^b	0,37 ^c
Aroma de amônia	0,73 ^c	2,24 ^b	8,02 ^a
Firmeza	3,91 ^b	4,51 ^b	6,44 ^a

Médias com a mesma letra nas linhas não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Amostra 1: Filé de cação fresco

Amostra 2: Filé de cação em grau intermediário de frescor

Amostra 3: Filé de cação em fim de vida útil.

A menor intensidade de cor característica, maior intensidade de manchas amarelo-esverdeadas, brilho menos intenso, aspecto menos úmido, aroma menos intenso de peixe fresco, aroma mais intenso de amônia e maior firmeza, apontada pelos provadores, mostrou que o armazenamento dos filés de cação a 10°C produz mudanças indesejáveis nas características sensoriais do produto, produzindo a deterioração dos filés, durante o armazenamento a 10°C por 2-3 dias.

5.4. Caracterização da microbiota produtora de urease em filés de cação armazenados sob refrigeração (4°C) e em temperatura de abuso (10°C) e avaliação de seu potencial deteriorador

5.4.1. Identificação de culturas produtoras de urease

A identificação das culturas produtoras de urease, isoladas de filés de cação, revelou a predominância de cepas de *Flavobacterium odoratum* (40%), *Shewanella putrefaciens* (20%) e *Pseudomonas diminuta* (15%).

Dentre os microrganismos presentes na microbiota natural do pescado e derivados destacam-se *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Moraxella/Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Shewanella*, *Micrococcus*, corineformes, vibrios e clostrídios. (Liston, 1980b; Liston, 1982; Hobbs, 1983; Gram *et al.*, 1987; Sofos, 1994 Sikorski, *et al.*, 1994; Ashie *et al.*, 1996; Gram & Huss, 1996; Jay, 1996).

Yap (1979), em estudos realizados com amostras de cação (*Galeorhinus australis*) estocado sob gelo, verificou a prevalência de *Pseudomonas spp.* (40%) seguido de *Micrococcus spp.* (30%) e *Moraxella spp.* (15%). Leitão *et al.* (1979) estudaram a microbiota de amostras de cação dos gêneros *Sphyrna* e *Carcharhinus*, constatando a predominância de *Moraxella spp.* (87,9%), seguido de *Proteus* (10,3%) e *Flavobacterium spp.* (1,8%).

Portanto, os resultados obtidos nesta pesquisa revelam que as bactérias identificadas em cação (*Prionace glauca*) estão incluídas em gêneros comumente descritos

na literatura como de ampla ocorrência nessas espécies, bem como em outras espécies de pescado de origem marinha. É evidente que fatores como espécie em estudo, diferentes condições de captura, manuseio e estocagem e principalmente a temperatura das águas seriam aspectos fundamentais na diversidade da microbiota contaminante.

5.4.2. Avaliação do potencial deteriorador das culturas produtoras de urease

a) Variação do pH em extratos de músculo de cação, durante incubação a 4° e 10°C

A FIGURA 8 e TABELA 1A apresentam dados da variação do pH em extratos de músculo de cação inoculados com as bactérias em estudo, durante incubação a 4° e 10°C.

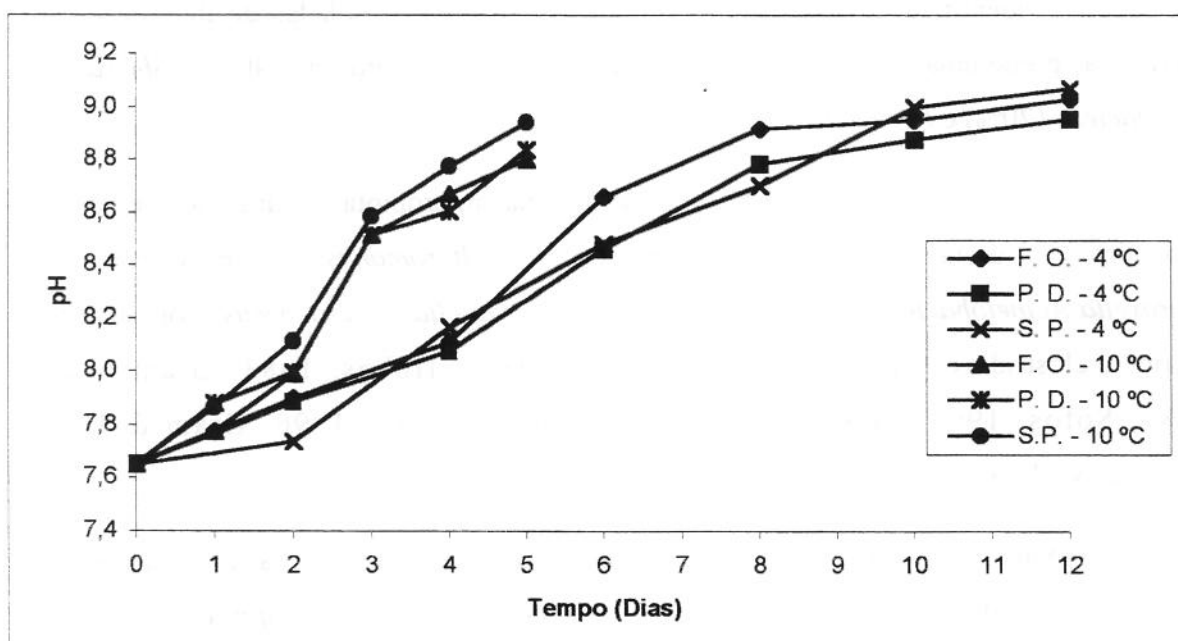


FIGURA 8 – pH em extratos de músculo de cação inoculados com as culturas bacterianas, durante incubação a 4° e 10°C

F.O. – 4°C: *F. odoratum* a 4°C

P.D. – 4°C: *P. diminuta* a 4°C

S.P. – 4°C: *S. putrefaciens* a 4°C

F.O. – 10°C: *F. odoratum* a 10°C

P.D. – 10°C: *P. diminuta* a 10°C

S.P. – 10°C: *S. putrefaciens* a 10°C

A 4°C no extrato inoculado com *F. odoratum*, observaram-se aumentos moderados do pH no decorrer da incubação. Não houve diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 4º dia. No extrato inoculado com *P. diminuta*, observaram-se aumentos moderados do pH ao longo da incubação, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) apenas no 4º, 6º e 8º dia. Já no extrato inoculado com *S. putrefaciens*, observaram-se aumentos moderados do pH no decorrer da incubação, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) apenas no 0, 10º e 12º dia. A 4°C, nos extratos inoculados com *S. putrefaciens* e *F. odoratum* observaram-se aumentos maiores do pH ao longo da incubação, em relação ao extrato inoculado com *P. diminuta*.

A 10°C, nos extratos inoculados com *F. odoratum* e *P. diminuta*, observaram-se aumentos moderados do pH ao longo da incubação, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 2º dia. No extrato inoculado com *S. putrefaciens*, observaram-se aumentos moderados do pH no decorrer da incubação, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) apenas no 0, 10º e 12º dia.

A 10°C, no extrato inoculado com *S. putrefaciens*, observaram-se aumentos maiores do pH ao longo da incubação, em relação aos extratos inoculados com *F. odoratum* e *P. diminuta*.

Nas temperaturas de 4º e 10°C não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os valores de pH dos extratos inoculados com *F. odoratum*, *P. diminuta* e *S. putrefaciens*. Isto é, provavelmente, devido à capacidade de utilização de compostos nitrogenados não protéicos, atividade proteolítica e lipolítica semelhantes apresentadas pelas bactérias em estudo e ao efeito tamponante do músculo de pescado.

O aumento de pH no músculo de pescado pode ser devido ao acúmulo de produtos de natureza básica, como trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA), amônia, indol, escatol e algumas bases orgânicas como a putrescina e a cadaverina, produzidos pela hidrólise bacteriana de compostos nitrogenados (Pedrosa-Menabrito & Regenstein, 1988; Sikorski *et al.*, 1994). O aumento moderado do pH observado ao longo da incubação pode ser devido ao efeito tamponante do músculo de pescado e à atividade lipolítica de bactérias psicrotróficas produzindo ácidos graxos livres.

Em peixes cartilaginosos como os cações, que possuem elevado teor de uréia no músculo, sangue e órgãos, a degradação da uréia a amônia ocorre pela ação de bactérias produtoras de urease o que produz um aumento acentuado do pH no músculo (James & Olley, 1971; Vincke, 1978; Waller, 1980).

A microbiota do pescado apresenta, entre outras características, a prevalência de bactérias psicrotróficas, Gram negativas, capazes de utilizar uma ampla variedade de compostos orgânicos nitrogenados, evidenciando também atividades proteolítica e lipolítica (Leitão *et al.*, 1984).

O efeito tamponante do músculo de pescado é atribuído à presença de proteínas solúveis, peptídeos, aminoácidos, amônia, trimetilamina e substâncias nitrogenadas solúveis de baixo peso molecular. Estes compostos são responsáveis pelo aumento do pH, mas também podem mascarar as mudanças do mesmo (Amanajás, 1985; Sikorski *et al.*, 1994).

b) Variação do teor de uréia em extratos de músculo de cação, durante incubação a 4° e 10°C

A FIGURA 9 e TABELA 2A apresentam dados da variação do teor de uréia em extratos de músculo de cação, inoculados com as bactérias em estudo, durante incubação a 4° e 10°C.

A 4°C, no extrato inoculado com *F. odoratum*, observaram-se decréscimos acentuados do teor de uréia ao longo da incubação, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 4° dia. No extrato inoculado com *P. diminuta* observaram-se decréscimos acentuados do teor de uréia no decorrer da incubação, havendo diferenças significativas entre os dias de incubação, exceto no 2° e 6° dia. Finalmente, no extrato inoculado com *S. putrefaciens* observaram-se decréscimos muito acentuados do teor de uréia ao longo da incubação, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 10° dia.

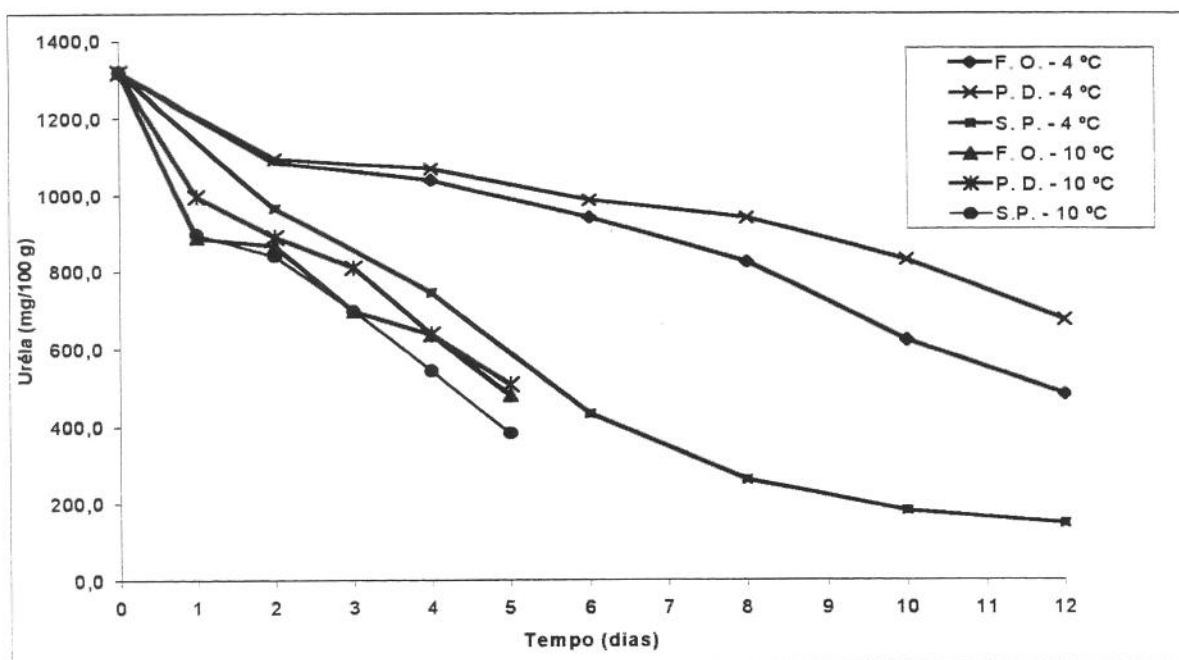


FIGURA 9 – Uréia em extratos de músculo de cação inoculados com as culturas bacterianas, durante incubação a 4° e 10°C

F.O. – 4°C: *F. odoratum* a 4°C F.O. – 10°C: *F. odoratum* a 10°C

P.D. – 4°C: *P. diminuta* a 4°C P.D. – 10°C: *P. diminuta* a 10°C

S.P. – 4°C: *S. putrefaciens* a 4°C S.P. – 10°C: *S. putrefaciens* a 10°C

A 10°C, no extrato inoculado com *F. odoratum*, observaram-se decréscimos acentuados do teor de uréia ao longo do período de incubação, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 1° e 3° dia. Já no extrato inoculado com *P. diminuta* observaram-se decréscimos acentuados do teor de uréia no decorrer da incubação, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação. Finalmente, no extrato inoculado com *S. putrefaciens*, observaram-se decréscimos muito acentuados do teor de uréia ao longo da incubação, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 1° dia.

A 4° e 10°C, no extrato inoculado com *S. putrefaciens*, observaram-se decréscimos mais acentuados do teor de uréia no decorrer da incubação, em relação aos extratos inoculados com *F. odoratum* e *P. diminuta*.

Na incubação a 4° e 10°C foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os teores de uréia dos extratos inoculados com *F. odoratum*, *P. diminuta* e *S.*

putrefaciens. Isto é, provavelmente, devido à diferente atividade produtora de urease apresentada pelas bactérias em estudo.

O elevado teor de uréia presente no músculo, sangue e órgãos de cação, aproximadamente 2,5% do peso, favorece o desenvolvimento de bactérias produtoras de urease responsáveis pela degradação da uréia a amônia (James & Olley, 1971; Vincke, 1978; Waller, 1980).

c) Avaliação da multiplicação das culturas inoculadas em extratos de músculo de cação, durante incubação a 4° e 10°C

A FIGURA 10 e TABELA 3A apresentam dados da variação das contagens das culturas inoculadas em extratos de músculo de cação, durante incubação a 4° e 10°C.

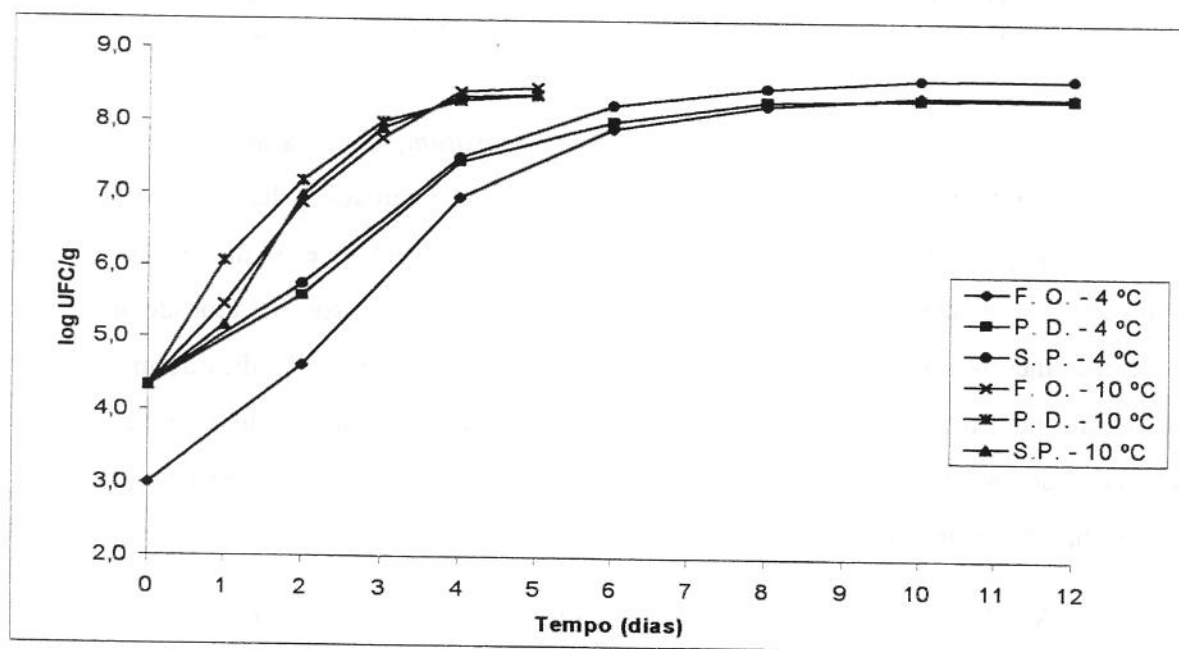


FIGURA 10 – Contagens das culturas bacterianas (log UFC/g) inoculadas em extratos de músculo de cação, durante incubação a 4° e 10°C.

F.O. – 4°C: *F. odoratum* a 4°C

F.O. – 10°C: *F. odoratum* a 10°C

P.D. – 4°C: *P. diminuta* a 4°C

P.D. – 10°C: *P. diminuta* a 10°C

S.P. – 4°C: *S. putrefaciens* a 4°C

S.P. – 10°C: *S. putrefaciens* a 10°C

A 4°C, nos extratos inoculados com *F. odoratum*, *P. diminuta* e *S. putrefaciens*, observaram-se aumentos acentuados nas contagens até o 4º dia de incubação, seguido de aumentos menos acentuados a partir do 4º e até o 12º dia, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 2º dia.

A 4°C, as culturas bacterianas evidenciaram uma fase lag mais prolongada, provavelmente por serem culturas originariamente mesófilas ou adaptadas a desenvolvimento em temperaturas elevadas.

A 4°C, no extrato inoculado com *S. putrefaciens*, observaram-se aumentos maiores nas contagens ao longo da incubação, em relação aos extratos inoculados com *F. odoratum* e *P. diminuta*.

A 10°C, no extrato inoculado com *F. odoratum*, observaram-se aumentos acentuados nas contagens até o 3º dia de incubação, seguido de aumentos menos acentuados a partir do 3º e até o 5º dia, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação. Já nos extratos inoculados com *P. diminuta* e *S. putrefaciens*, observaram-se aumentos acentuados nas contagens até o 3º dia de incubação, seguido de aumentos menos acentuados a partir do 3º e até o 5º dia, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de incubação, exceto no 3º, 4º e 5º dia.

A 10°C as culturas bacterianas evidenciaram uma fase lag mais reduzida, observando-se que após 24 horas de incubação a população microbiana aumentou abruptamente.

A 10°C, no extrato inoculado com *P. diminuta*, observaram-se aumentos maiores nas contagens no decorrer da incubação em relação aos extratos inoculados com *F. odoratum* e *S. putrefaciens*.

Na incubação a 4º e 10°C, não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre as contagens bacterianas dos extratos inoculados com *F. odoratum*, *P. diminuta* e *S. putrefaciens*. Isto é, provavelmente, devido à natureza psicrótrófica e à capacidade semelhante de utilização dos compostos nitrogenados não protéicos, evidenciada pelas bactérias em estudo. Cabe destacar que os cações apresentam elevado teor de compostos nitrogenados não proteicos no músculo, ao redor de 1.600 mg/100g, sendo a deterioração

destas espécies caracterizada pela degradação destes compostos principalmente uréia, aminoácidos, bases nitrogenadas e óxido de trimetilamina (Vincke, 1978; Waller, 1980). Além disso o crescimento de bactérias psicrotróficas é incrementado em condições de pH alto (>6,0) e presença de grandes quantidades de substâncias nitrogenadas não protéicas (Liston, 1982; Gram & Huss, 1996). Nestas condições, a vida útil desta matéria-prima armazenada sob refrigeração será, em grande parte, condicionada pela intensidade de contaminação destas bactérias deterioradoras.

5.5. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais em filés de cação armazenados sob refrigeração (0° e 4°C) e em temperatura de abuso (10°C)

5.5.1 Análises físico-químicas

a) Variação do pH em filés de cação estocados a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 11 e TABELA 4A apresentam dados da variação do pH em filés de cação durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

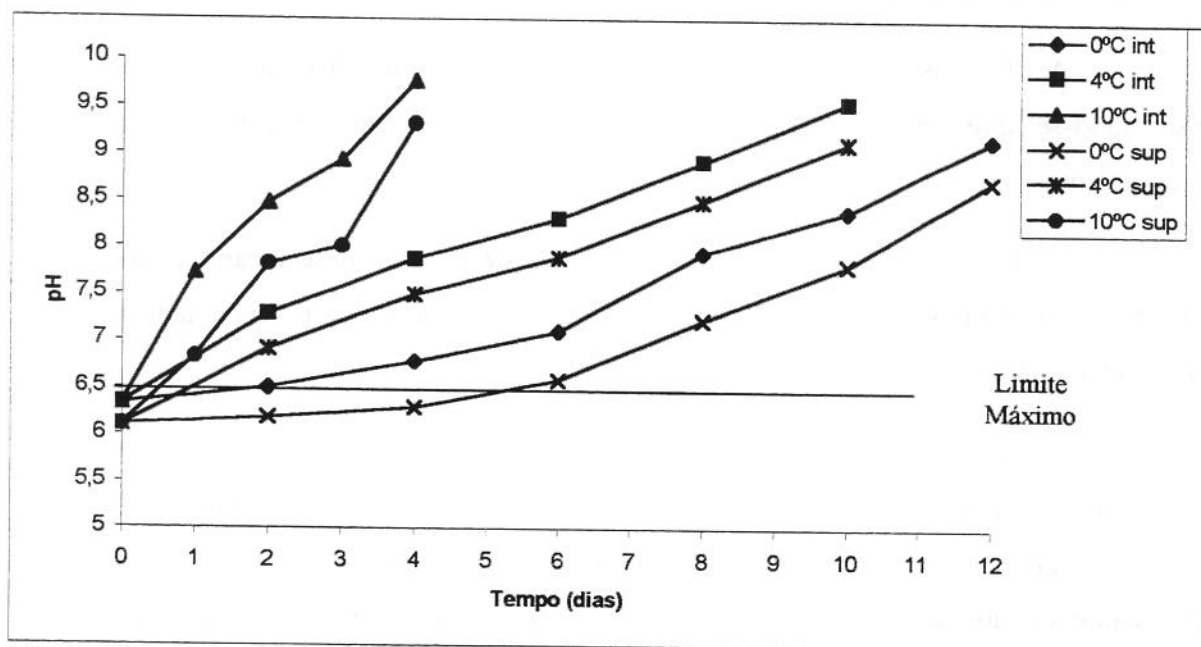


FIGURA 11 – pH em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

A 0°C, observaram-se aumentos moderados do pH interno e do pH na superfície dos filés ao longo da estocagem. Já a 4° e 10°C, observaram-se incrementos maiores do pH (interno e superficial) dos filés no decorrer da estocagem.

A 0°, 4° e 10°C observou-se que os valores de pH interno foram ligeiramente superiores aos do pH na superfície dos filés, sendo observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem. Observaram-se maiores valores de pH (interno e superficial) durante a estocagem a 10°C, comparativamente a 0° e 4°C.

Foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os valores de pH a 0°, 4° e 10°C. Isto é, provavelmente, devido à diferença na atividade metabólica das bactérias presentes nos filés de cação. Sabe-se que a microbiota do pescado apresenta entre outras características, a prevalência de bactérias psicrotróficas Gram negativas, muitas delas evidenciando atividades proteolítica e lipolítica (Leitão, 1977).

Vincke (1978) estudou as alterações físico-químicas e microbiológicas em raia *Raja clavata* L estocada sob refrigeração em gelo, constatando que o pH teve um aumento gradativo durante a estocagem, sugerindo que o limite de aceitação seria de valores entre 7,2 e 7,8 e que valores de pH maiores que 8 indicavam deterioração.

Waller (1980) estudou as alterações físicas, químicas e microbiológicas em cação *Galeorhinus australis* armazenado sob refrigeração em gelo, verificando que os valores de pH apresentaram um aumento gradativo ao longo da estocagem.

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (BRASIL, 1980) estabelece limites máximos de pH de 6,5 e 6,8 para pescado fresco nas regiões interna e externa da carne, respectivamente. Com base nos resultados obtidos, este critério não parece ser adequado para a avaliação da qualidade do cação, já que estes valores foram atingidos aos 4, 2 e 1 dias, durante a estocagem a 0°, 4° e 10°C, respectivamente, com os filés ainda sendo considerados aceitáveis pelo painel de provadores. De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, o pH apresentou incrementos contínuos no decorrer da estocagem, sugerindo a realização de estudos adicionais visando o estabelecimento de limites críticos mais adequados para esta espécie, com análises desde o momento da captura e ao longo do processamento, estocagem e

comercialização possibilitando, assim, a melhor definição do pH como índice de qualidade do cação.

b) Reações de Eber para amônia (NH₃) e gás sulfídrico (H₂S) em filés de cação durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A TABELA 10 apresenta os dados das reações de Eber para amônia (NH₃) e gás sulfídrico (H₂S) em filés de cação estocados a 0°, 4° e 10°C.

TABELA 10 – Reações de Eber para Amônia (NH₃) e gás sulfídrico (H₂S) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Determinação	Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)									
		0	1	2	3	4	6	8	10	12	
NH ₃	0	-	ne	-	ne	-	-	+	+	+	
	4	-	ne	-	ne	-	+	+	+		
	10	-	-	+	+	+					
H ₂ S	0	-	ne	-	ne	-	-	-	+	++	
	4	-	ne	-	ne	-	-	+	++		
	10	-	-	-	+	++					

* Valores médios de três repetições

+ = presença

- = ausência

ne = não efetuado

Estas reações são recomendadas pela legislação em vigor RIISPOA (BRASIL, 1980) como critérios de avaliação da qualidade dos produtos de origem animal e do pescado, em particular. Em caso de resultados positivos, elas indicam degradação das proteínas do alimento, com a liberação de amônia num estágio inicial e de gás sulfídrico, numa etapa mais avançada de deterioração.

No que se refere à produção de amônia, os resultados foram positivos após 2, 6 e 8 dias de estocagem a 10°, 4° e 0°C, respectivamente, coincidindo, portanto, com os critérios de aceitação/rejeição da avaliação sensorial. No entanto, este teste não pode ser considerado um bom índice de avaliação da qualidade do cação, devido a que estas espécies apresentam teores elevados de uréia a qual é degradada a amônia, pela ação dos microrganismos produtores de urease, podendo apresentar resultados positivos, mesmo em amostras que apresentam boa qualidade sensorial. Sabe-se que a produção de amônia pode ser decorrente da degradação do ATP e da decomposição de aminoácidos (Connell & Shewan, 1980); no entanto, no caso específico de cações, a atividade de bactérias produtoras de urease, atuando sobre a uréia é responsável pela elevada formação deste composto (James & Olley, 1971; Leitão *et al.*, 1979).

A reação de Eber para gás sulfídrico mostrou-se levemente positiva somente após 3, 8 e 10 dias de estocagem a 10°, 4° e 0°C, respectivamente, ocasião em que os filés já foram considerados inaceitáveis para o consumo pelo painel de provadores revelando, portanto, que este teste carece de adequada sensibilidade na avaliação da qualidade deste tipo de alimento. A produção de H₂S e outros compostos sulfurados (mercaptanas, metil e etil sulfetos) é, em grande parte, decorrente da atividade microbiana sobre aminoácidos sulfurados, principalmente na forma livre, como componentes do “pool” de substâncias nitrogenadas não protéicas – NNP, ou então liberados no substrato no estágio final da decomposição de proteínas. Sua presença é considerada um indicador definitivo de deterioração (Farber, 1965; Zaitsev *et al.*, 1969). No entanto, cabe destacar que a presença destes compostos será função principalmente dos teores de aminoácidos sulfurados presentes na matéria-prima. No caso específico do cação, parece que os níveis de produção deste composto não retratam adequadamente a intensidade do processo de deterioração não sendo, portanto, um bom indicador na avaliação da qualidade desta espécie.

c) Variação das bases nitrogenadas voláteis (BNV) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 12 e TABELA 5A apresentam dados da evolução das BNV em filés de cação, estocados a 0°, 4° e 10°C.

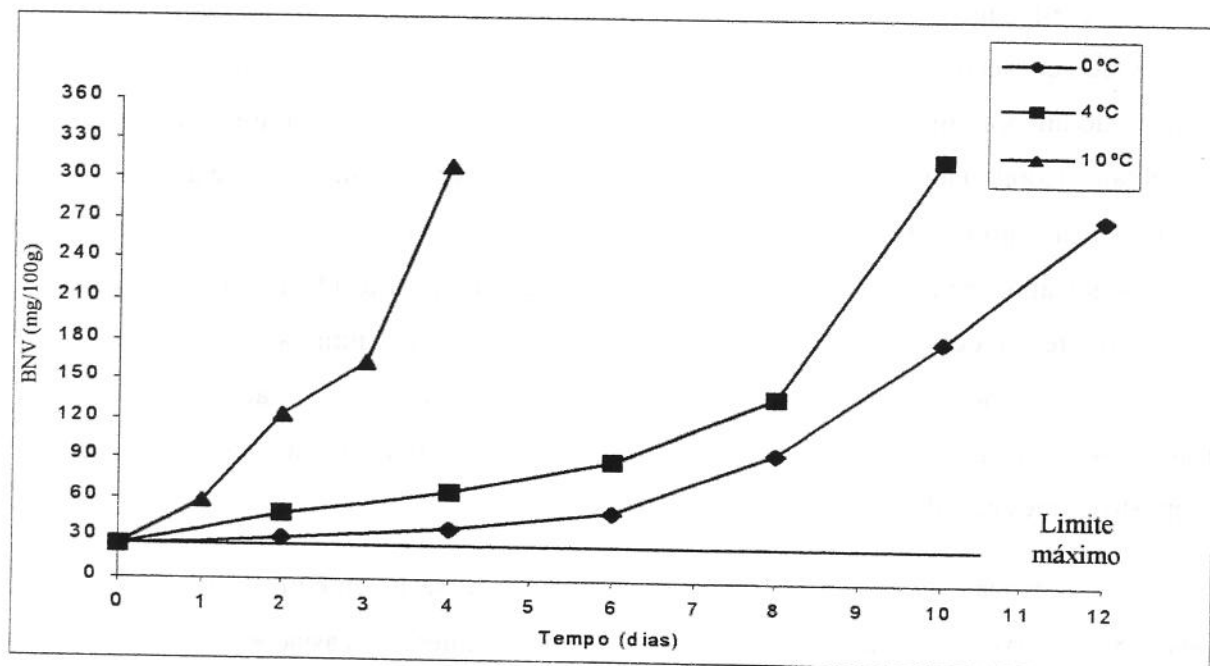


FIGURA 12 – Bases nitrogenadas voláteis (BNV) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

A 0° e 4°C observaram-se aumentos menores das BNV até o 6º dia, seguido de aumentos maiores a partir do 6º até o 12º dia, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem. Já a 10°C os aumentos foram constantes ao longo da estocagem, novamente com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de armazenamento.

Observaram-se maiores teores de BNV durante a estocagem a 10°C, comparativamente a 0° e 4°C, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os valores nas três temperaturas. Isto é, provavelmente, atribuído à diferente atividade metabólica apresentada pela microbiota presente nos filés de cação.

Dentro da denominação genérica de BNV, encontram-se diferentes substâncias como amônia, trimetilamina, dimetilamina, etilamina, monometilamina, putrescina, cadaverina e espermidina (Sikorski *et al.*, 1994), sendo que, quantitativamente, as maiores alterações químicas associadas com a deterioração são devidas à produção de trimetilamina e amônia.

Os métodos químicos que avaliam grupos de substâncias produzidas na deterioração representam melhor a condição geral do pescado, caso da determinação das BNV que permite quantificar uma ampla gama de metabólitos da atividade endógena (degradação autolítica) e exógena (degradação microbiana) (Amanajás, 1985).

O teor de bases nitrogenadas em músculo 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, particularmente no que se refere aos peixes de água-doce (Zaitsev *et al.*, 1969; Liston, 1982; Sikorski, *et al.*, 1994).

Ao longo da estocagem em gelo, o conteúdo das bases nitrogenadas voláteis aumenta progressivamente em função dos processos enzimáticos e microbianos sendo, assim, útil na avaliação do frescor e da deterioração do pescado (Shewan *et al.*, 1971).

A determinação de BNV em pescado, embora seja largamente utilizada é causa de controvérsia entre os pesquisadores, principalmente quanto ao estabelecimento de limites de aceitação do produto. Um valor próximo de 30 mg/100g tem-se mostrado compatível com outros parâmetros de avaliação, levando alguns países, como Alemanha, Austrália, Japão e Brasil a adotarem oficialmente este valor como limite máximo tolerável para a comercialização (Antonacopoulos, 1978; Cobb & Vanderzant, 1975; Kuaye, 1982, Sikorski *et al.*, 1994).

James & Olley (1971), estudando a deterioração de cação, verificaram que quando o teor de BNV atingia a 30 mg/100g, o pescado entrava em deterioração, ao passo que em níveis de 100mg/100g este já se encontrava em estado de putrefação; constataram, ainda, que o tempo máximo de estocagem foi de 10, 6 e 3,5 dias às temperaturas de 0°, 5° e 10°C, respectivamente. Torrano & Menezes (1977), caracterizando 4 espécies de cação,

dentre elas o (*Prionace glauca*), constataram valores de BNV em torno de 80mg/100g. Leitão *et al.* (1979), estudando o processo de deterioração de cações dos gêneros *Sphyrna* e *Carcharhinus* estocados sob refrigeração em gelo, encontraram valores de BNV próximos de 100mg/100g, após 7 dias de armazenamento. Já Montiel-Montoya (1990), avaliando o grau de frescor de cação (*Mustelus henlei*), encontrou valores de BNV de 83,42 mg/100g, após 15 dias de estocagem sob refrigeração em gelo.

Conforme anteriormente mencionado, o RIISPOA (BRASIL, 1980) estabelece o valor de 30 mg/100g, como limite máximo de BNV para pescado, determinado pelo método de microdifusão. No entanto, parece-nos problemático estender a adoção deste valor para todas as espécies de pescado, independente do conhecimento da sua composição. Assim, sabe-se que os cações apresentam teores elevados de substâncias nitrogenadas não proteicas – NNP, particularmente uréia e amônia resultante da sua decomposição. Nestas condições valores superiores ao limite de 30 mg/100g podem ser rapidamente alcançados, não significando, necessariamente, que o pescado esteja em processo avançado de deterioração. Na presente pesquisa, valores acima do limite foram atingidos após estocagem durante 1, 2 e 4 dias a 10°, 4° e 0°C, respectivamente, com os filés ainda sendo considerados aceitáveis para o consumo pelo painel de provadores, não havendo, portanto, uma correlação com outros parâmetros de avaliação, principalmente os de natureza sensorial.

d) Variação dos teores de uréia em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 13 e TABELA 6A apresentam dados da variação dos teores de uréia em filés de cação estocados a 0°, 4° e 10°C.

A 0°C observaram-se decréscimos acentuados dos teores de uréia ao longo da estocagem, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de armazenamento, exceto no 4°, 6° e 10° dia. A 4° e 10°C observaram-se decréscimos muito acentuados dos teores de uréia no decorrer da estocagem, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem.

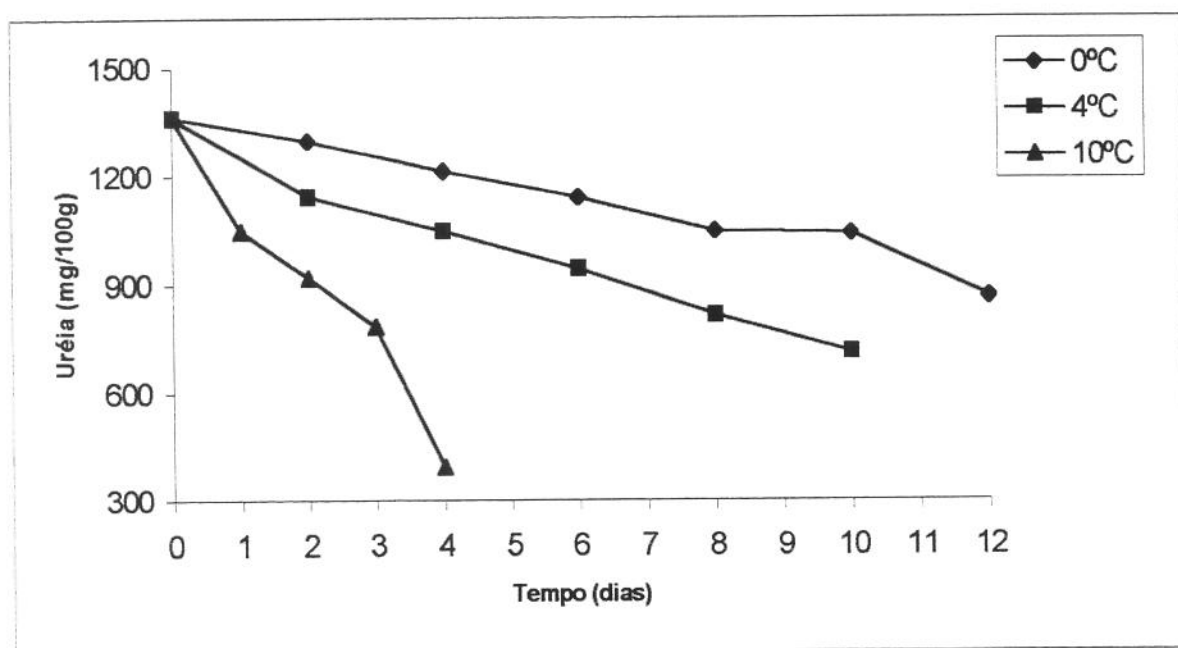


FIGURA 13 – Uréia em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

De uma maneira geral, observaram-se maiores decréscimos nos teores de uréia durante a estocagem a 10°C, comparativamente aos constatados a 0° e 4°C. É provável que a intensidade de multiplicação e a atividade metabólica diferenciada da microbiota contaminante produtora de urease nas diferentes temperaturas possam explicar as variações observadas. Sem dúvida, o elevado teor de uréia presente no músculo, sangue e órgãos dos cações (aproximadamente 2,5% do peso do músculo), favorece o desenvolvimento de bactérias produtoras de urease responsáveis pela degradação da uréia a amônia (James & Olley, 1971; Ronsivalli, 1978; Waller, 1980). Assim sendo, em peixes elasmobrânquios a deterioração é caracterizada pela degradação de compostos nitrogenados não protéicos, principalmente a uréia, seguido de aminoácidos, bases nitrogenadas, óxido de trimetilamina e ácido úrico. (Ronsivalli, 1978; Liston, 1980; Waller, 1980; Sikorski *et al.*, 1994).

A este respeito, Vincke (1978), estudando as alterações físicas, químicas e microbiológicas em raia *Raja clavata* L., estocada sob refrigeração em gelo, constatou decréscimos acentuados nos teores de uréia no decorrer da estocagem.

Leitão *et al.* (1979), estudando as alterações químicas e microbiológicas em cações dos gêneros *Sphyrna* e *Carcharhinus* estocados sob refrigeração em gelo, verificaram que o teor de uréia diminuía de 765,0 mg/100g para 565 mg/100g, após 7 dias de estocagem.

Waller (1980) estudou as alterações físicas, químicas e microbiológicas em cação *Galeorhinus australis*, armazenado sob refrigeração em gelo, verificando também quedas acentuadas nos teores de uréia ao longo da estocagem. Finalmente, Jhavery & Constantinides (1981), estudando as alterações físicas e químicas em cação *Squalus acanthias* armazenado sob refrigeração em gelo, constataram reduções acentuadas nos teores de uréia no decorrer da estocagem.

Embora de interesse na avaliação do processo de deterioração do cação, a determinação do teor de uréia não parece ser um índice a ser adotado no controle de qualidade, já que os teores inicialmente presentes variam em função da espécie, condições de captura, manuseio e processamento, detectando-se níveis de 642,99 – 1.360,33 mg/100g.

e) Variação dos teores de amônia em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 14 e TABELA 7A apresentam dados da variação dos teores de amônia durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

A 0°C, observaram-se aumentos moderados nos teores de amônia até o 8º dia, seguido de aumentos acentuados a partir do 8º e até o 12º dia, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem, exceto no 8º, 10º e 12º dia. A 4°C, observaram-se aumentos moderados nos teores de amônia até o 6º dia, seguido de aumentos acentuados a partir do 6º e até o 10º dia, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem exceto no 4º dia. Finalmente a 10°C, observaram-se aumentos maiores nos teores de amônia até o 3º dia, seguido de um acréscimo acentuado do 3º ao 4º dia, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem, exceto no 2º e 4º dia.

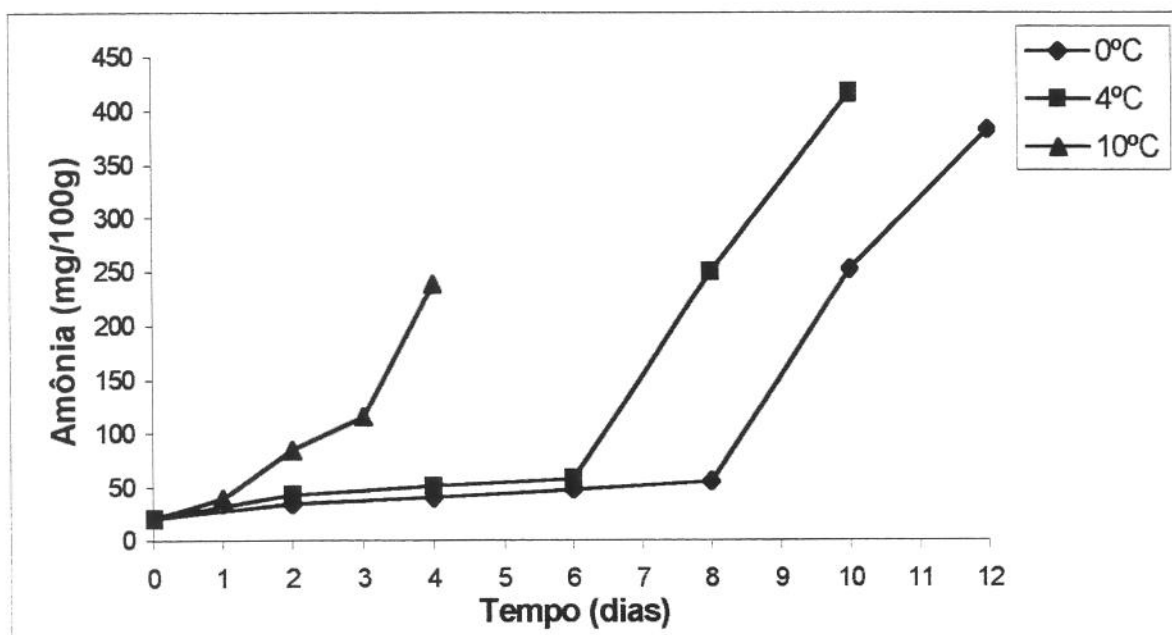


FIGURA 14 – Amônia em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

De uma maneira geral, a exemplo do relatado para a uréia, observaram-se maiores teores de amônia, durante a estocagem a 10°C comparativamente a 0°C e 4°C. Não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os teores de amônia a 0°, 4° e 10°C, exceto no 8° e 10° dia, durante a estocagem a 0° e 4°C, e no 4° dia, na estocagem a 4° e 10°C.

A degradação do ATP muscular, após a morte, leva à formação de amônia, bases purínicas livres, inosina e hipoxantina. A quantidade de amônia, produzida pela degradação dos nucleotídeos musculares, depende da extensão com que o ATP foi desaminado antes da morte dos peixes (Spinelli, 1971; Burt, 1977; Ikeda, 1980, Sikorski *et al.*, 1994; Jay, 1996). Sabe-se que o método de pesca utilizado na captura influencia na degradação do ATP, podendo acumular-se quantidades relativamente altas de amônia, mesmo em peixe de captura recente. Paralelamente, o ADP e AMP acumulados durante o esforço serão desaminados nos primeiros dias de estocagem, aumentando o teor de nitrogênio amoniacal abruptamente (Amanajás, 1985; Sikorski *et al.*, 1994; Jay, 1996).

A amônia derivada dos aminoácidos é produzida abundantemente nas últimas fases da deterioração do pescado (Liston, 1980; Sikorski *et al.*, 1994; Jay, 1996).

A amônia produzida inicialmente pela degradação de nucleotídeos eventualmente poderia ser reutilizada em certas reações de síntese, mantendo-se num nível estável ou ainda diminuindo (Neto, 1984; Amanajás, 1985; Sikorski *et al.*, 1994).

O curso e a natureza da degradação bacteriana de aminoácidos dependem da composição da microbiota e das condições de anaerobiose ou aerobiose a que o pescado está submetido. Entre os produtos finais da ação bacteriana sobre as proteínas, incluem-se substâncias como hidrogênio, dióxido de carbono e amônia, entre outros (Liston, 1980; Jay, 1996).

Vincke (1978) estudando as alterações físicas, químicas e microbiológicas em raia *Raja clavata L.*, estocada sob refrigeração em gelo, constatou que os teores de amônia apresentaram aumentos progressivos no decorrer da estocagem; verificou, ainda, que a determinação de amônia correlacionava-se com as avaliações sensoriais, representando um índice adequado para a avaliação da qualidade desta espécie. Este autor propôs um valor de 60 a 70mg de nitrogênio amoniacal por 100g de pescado, como limite de aceitação para esta espécie.

Waller (1980) estudou as alterações físicas, químicas e microbiológicas em cação *Galeorhinus australis*, armazenado sob refrigeração em gelo, verificando que os teores de amônia apresentaram incrementos gradativos ao longo da estocagem.

Os resultados desta pesquisa evidenciaram uma variação acentuada e constante dos teores de amônia ao longo do armazenamento, apresentando níveis elevados após 2, 8 e 10 dias de estocagem a 10°, 4° e 0°C, respectivamente, coincidindo com os critérios de aceitação/rejeição da avaliação sensorial sugerindo, portanto, a validade deste parâmetro como critério de avaliação da qualidade do cação armazenado sob refrigeração, sempre em correlação com avaliações sensoriais.

f) Variação dos teores de trimetilamina (TMA) em filés de cação durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 15 e TABELA 8A apresentam dados da variação dos teores de TMA durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

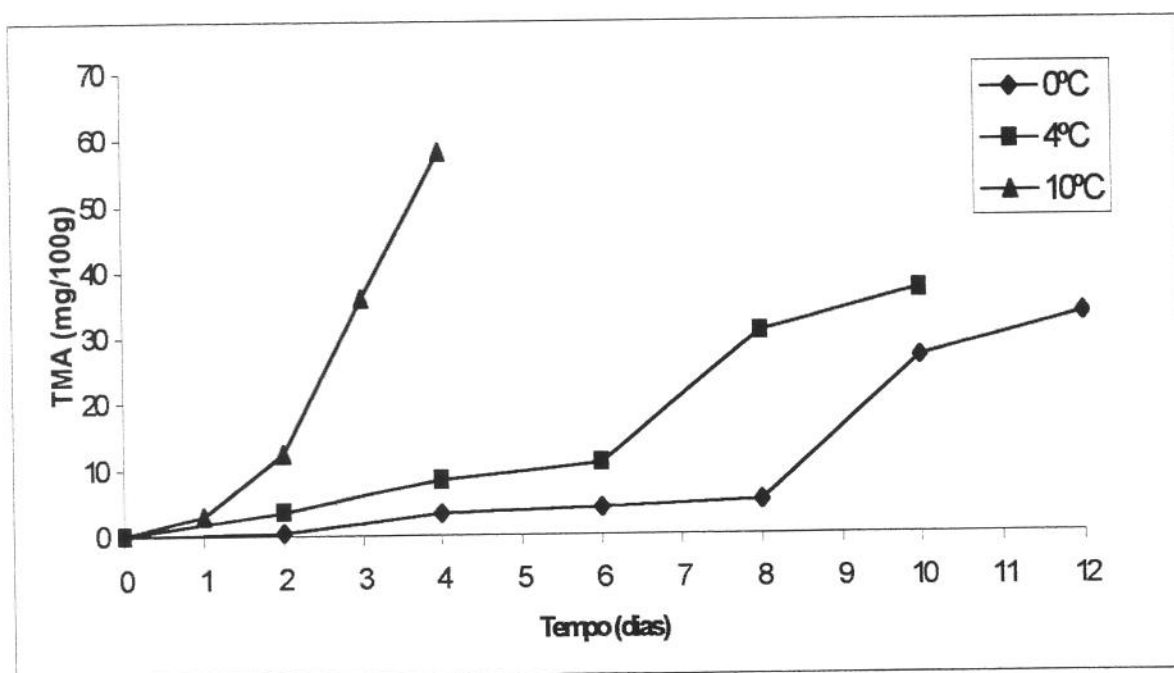


FIGURA 15 – Trimetilamina (TMA) em filés de cação durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

A 0°C, observaram-se aumentos menores nos teores de TMA até o 8º dia, seguido de aumentos maiores a partir do 8º e até o 12º dia, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem, exceto no 10º dia. A 4°C, observaram-se aumentos menores nos teores de TMA até o 6º dia, seguido de aumentos maiores a partir do 6º e até o 10º dia, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem, exceto no 10º dia. Finalmente, a 10°C, observou-se um aumento menor no teor de TMA no 1º dia, seguido de aumentos maiores a partir do 1º e até o 4º dia, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem. A exemplo das outras determinações, observaram-se maiores valores de TMA, durante a estocagem a 10°C comparativamente a 0° e 4°C, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os teores de TMA a 0°, 4° e 10°C,

exceto no 2º dia. É provável que a composição da microbiota contaminante do cação e principalmente a variação na sua atividade metabólica expliquem estas variações.

A formação de aminas no músculo de pescado ocorre mais pela ação de bactérias presentes no músculo do que pela ação das enzimas do próprio tecido (Liston, 1980b; Sikorski *et al.*, 1994; Jay, 1996). Dentre essas aminas voláteis, a trimetilamina (TMA), produto da redução do óxido de trimetilamina (OTMA) é uma das mais estudadas, por estar intimamente associada com a deterioração do pescado (Farber, 1965; Pedrosa – Menabrito & Regenstein, 1990, Botta, 1995).

O OTMA é encontrado no músculo de diferentes espécies de teleósteos em quantidades variáveis de 100 a 1.080 mg/100g e, em cartilagosos, de 250-1.500 mg/100g (Ikeda, 1980; Pedrosa-Menabrito & Regenstein, 1988; Sikorski *et al.*, 1994). Há evidências de que a produção de TMA correlaciona-se bem com o aumento da população bacteriana no músculo de pescado (Liston, 1980b, Sikorski *et al.*, 1994), sendo um dos principais compostos responsáveis pelo odor de pescado refrigerado deteriorado (Sikorski *et al.*, 1994).

A formação de TMA não é função direta da microbiota contaminante total, mas sim da proporção de bactérias redutoras e não-redutoras de OTMA. Os principais grupos de bactérias envolvidos na redução do OTMA para TMA pertencem aos gêneros *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Vibrio* e *Acinetobacter* como Gram negativas e *Micrococcus* e *Bacillus* como Gram positivas, todas elas psicrófilas (Liston, 1980b), sendo que *Shewanella putrefaciens* é uma das bactérias mais representativas da produção de TMA a partir de OTMA (Ringo *et al.*, 1984).

Em pescado de carne clara, os teores de TMA evoluem lentamente nos períodos iniciais de armazenamento (2º ao 7º dia), após os quais há um aumento abrupto nos níveis desta substância (Morga, 1975). Leitão *et al.* (1979) estudando as transformações químicas e microbiológicas em cações dos gêneros *Sphyrna* e *Carcharhinus*, verificaram que os teores de TMA evoluíram de 6,6 mg/100g para 91,0 mg/100g, após 7 dias de armazenamento sob refrigeração em gelo. Montiel-Montoya (1990), por sua vez avaliando o grau de frescor de cação (*Mustelus henlei*) armazenado sob refrigeração em gelo, verificou que os teores de TMA apresentaram um aumento progressivo durante a

estocagem, propondo que a determinação de TMA poderia ser utilizada como índice de avaliação da qualidade desta espécie.

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, os teores de TMA apresentaram aumentos progressivos no decorrer da estocagem, principalmente a 10°C, apresentando níveis elevados após 3, 8 e 10 dias de estocagem a 10°, 4° e 0°C, respectivamente, ocasião em que os filés já foram considerados inaceitáveis para o consumo pelo painel de provadores. Esta constatação leva à sugestão do emprego desse parâmetro químico como índice de avaliação da qualidade do cação, sempre em correlação com avaliações sensoriais. Deve-se estabelecer limites críticos de TMA, passíveis de não serem ultrapassados sob boas condições de processamento.

g) Variação dos teores de Nitrogênio não protéico (NNP) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 16 e TABELA 9A, apresentam dados da variação do NNP a 0°, 4° e 10°C.

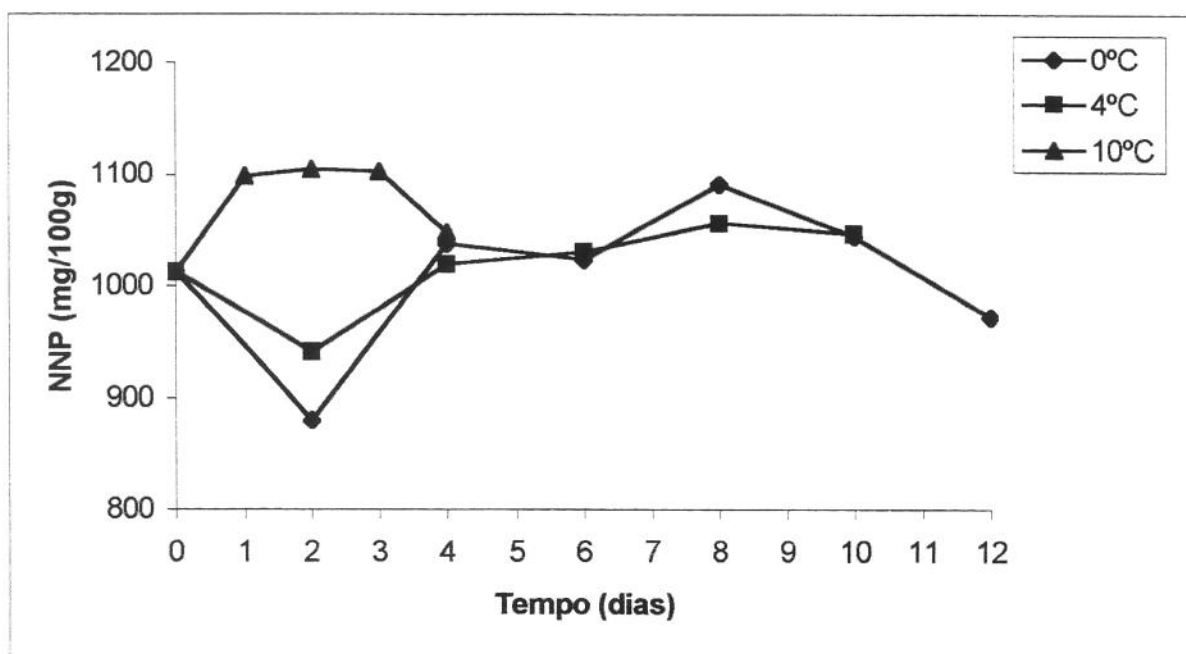


FIGURA 16 – Nitrogênio não protéico (NNP) em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Nas três temperaturas, a evolução do NNP apresentou um comportamento irregular, observando-se variações acentuadas (aumentos e decréscimos) ao longo da estocagem, não havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias, nem entre as temperaturas de estocagem.

Os compostos nitrogenados não protéicos (NNP), nos músculos de pescado, estão dissolvidos nas células do plasma e no fluido intercelular. Eles são passíveis de pronta extração se os músculos forem tratados com água. Neste grupo de substâncias estão incluídas: bases nitrogenadas, aminoácidos livres, amidas, uréia e derivados guanidínicos, imidazólicos e purínicos (Zaitsev *et al.*, 1969; Ludorff & Meyer, 1978; Sikorski *et al.*, 1994), sendo que os peixes elasmobrânquios ou cartilaginosos (cações e raias) apresentam teores elevados de NNP, aproximadamente 1.280 mg/100g (Vincke, 1978; Waller, 1980; Konosu & Yamaguchi, 1982).

O comportamento do NNP depende da espécie, isto é, da sua capacidade de autólise, seja por possuir um potencial proteolítico endógeno elevado ou pelas suas próprias características anatômicas (Ludorff & Meyer, 1978; Sikorski *et al.*, 1994).

Sabe-se, também, que os teores de NNP variam ao longo da estocagem sob gelo. Existem controvérsias sobre o destino das substâncias constituintes do NNP durante a estocagem e sobre a validade desta determinação como índice de frescor. Por este motivo, o NNP tem sido pouco utilizado como fator determinante da qualidade de pescado fresco e refrigerado (Farber, 1965; Connell, 1978; Pedrosa-Menabrito & Regenstein, 1988). Esta fração é a primeira a ser utilizada pelos microrganismos contaminantes, servindo como fonte de energia para os mesmos. De acordo com Sikorski *et al.* (1994), o metabolismo destes compostos é o principal responsável pela perda gradual de frescor e da evidência de sinais de deterioração, particularmente pela decomposição de alguns componentes que afetam fortemente o aroma do pescado fresco, e com formação de compostos voláteis. Muitos compostos aromáticos são também formados a partir do “pool” de aminoácidos livres e a partir de aminoácidos liberados pela proteólise enzimática e bacteriana e ainda por outras reações não conhecidas totalmente.

Pelos resultados obtidos nesta pesquisa, o teor de NNP teve um comportamento muito irregular ao longo da estocagem, apresentando variações acentuadas (aumentos e decréscimos), não sendo portanto adequado como índice de avaliação da qualidade de cação. Uma provável explicação para estas variações seria a ocorrência simultânea de utilização das substâncias componentes do “pool” de NNP, causando sua redução, ao lado da geração e reposição de muitos dos compostos constituintes, em decorrência de reações autolíticas e atividade proteolítica dos microrganismos contaminantes.

5.5.2. Análises microbiológicas

a) Variação das contagens de bactérias psicrotróficas em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 17 e TABELA 10A apresentam dados da variação das contagens de psicrotróficos a 0°, 4° e 10°C.

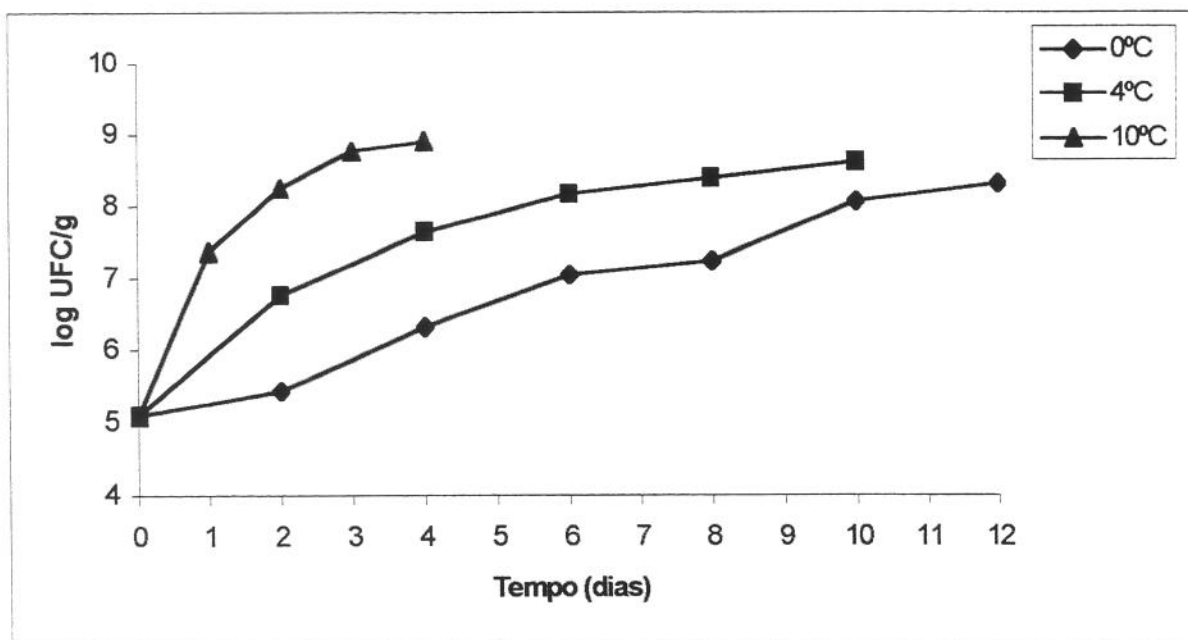


FIGURA 17 – Bactérias psicrotróficas em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Os resultados obtidos revelaram a maior velocidade de multiplicação dos psicrotróficos a 10°C, comparativamente a 4° e 0°C, sendo observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) nas contagens nas três temperaturas.

A microbiota do pescado de origem marinha apresenta entre outras características, a prevalência de bactérias psicrotróficas, Gram negativas, capazes de utilizar uma ampla variedade de compostos orgânicos nitrogenados, evidenciando também atividades proteolítica e lipolítica, levando a uma série de reações bioquímicas indesejáveis, provocando a total decomposição do pescado (Leitão, 1984; Kai & Morais, 1988). Entre as espécies predominantes destacam-se as dos gêneros *Shewanella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Photobacterium*, etc. (Liston, 1980 a, b; Hobbs, 1983; Sikorski *et al.*, 1994; Jay, 1996). Nesta atividade, os microrganismos utilizam como substrato inicial e principal as substâncias nitrogenadas não protéicas. (Liston, 1980a, b; Sikorski *et al.*, 1994, Ashie *et al.*, 1996). Além do elevado potencial deteriorador, estas bactérias, em função de seu comportamento psicrotrófico, apresentam lag fase reduzida em condições de refrigeração, revelando, portanto, elevada velocidade de multiplicação, acelerando, assim, o processo de deterioração do pescado e sendo o principal responsável pela redução da sua vida útil.

A legislação brasileira (Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação, 1989) e a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), citada por Huss, (1988) estabelecem limites máximos recomendáveis de contagem de mesófilos de 10^6 UFC/g ou cm^2 para pescado fresco, refrigerado ou congelado, não existindo nenhuma recomendação legal para se utilizar a contagem de microrganismos psicrotróficos, como índice de avaliação da qualidade do pescado fresco, refrigerado ou congelado. No entanto, a utilização isolada da contagem microbiana como critério de avaliação nos parece temerária. É importante, para cada tipo de pescado e condições de estocagem correlacionar-se esta contagem com parâmetros organolépticos e químicos, procurando definir-se assim valores de contagem mais compatíveis com as características do produto. Na presente pesquisa, contagens acima de 10^6 UFC/g foram atingidas após estocagem durante 1, 2 e 4 dias a 10°, 4° e 0°C, respectivamente, com os filés ainda sendo considerados aceitáveis para o consumo pelo painel de provadores não havendo, portanto,

uma correlação com outros parâmetros de avaliação, principalmente os de natureza sensorial.

b) Variação das contagens de bactérias produtoras de urease em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

A FIGURA 18 e TABELA 11A apresentam dados da variação das contagens de bactérias produtoras de urease a 0°, 4° e 10°C.

A exemplo do relatado para a contagem de psicrotróficos, observaram-se maiores contagens a 10°C, comparativamente a 0° e 4°C, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) nessas contagens. Isto é atribuído, provavelmente, à diferente atividade da microbiota produtora de urease originalmente presente no músculo de cação, com maior velocidade de multiplicação em temperaturas de abuso.

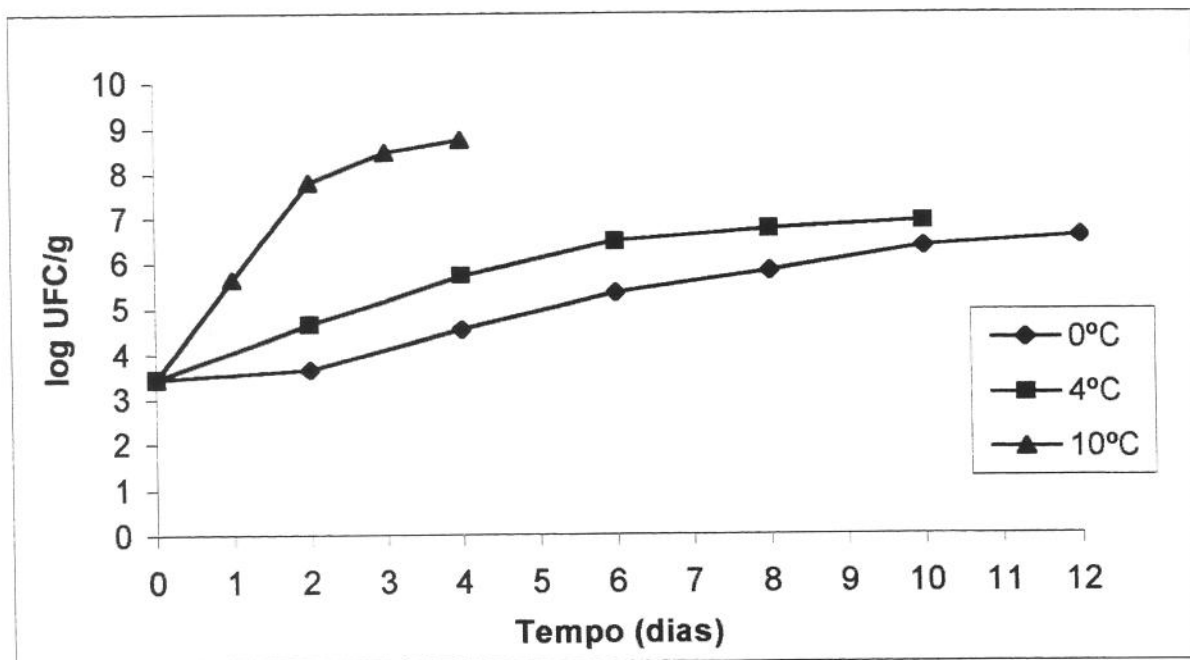


FIGURA 18 – Bactérias produtoras de urease em filés de cação, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Conforme já relatado, em peixes elasmobrânquios, como os cações, que apresentam elevados teores de uréia no músculo, sangue e órgãos, a degradação da uréia a amônia ocorre exclusivamente pela ação de bactérias produtoras de urease presentes no músculo (James & Olley, 1971, Ronsivalli, 1978; Leitão *et al.*, 1979; Waller, 1980). A este respeito, foi relatado que em raias, as bactérias produtoras de urease, aumentaram significativamente de 20 até 44% da microbiota total, após 12 dias de estocagem sob refrigeração em gelo (Vincke, 1978). Yap (1979) estudando a microbiota do cação *Galeorhinus australis*, armazenado sob refrigeração em gelo, constatou que a microbiota produtora de urease aumentou significativamente durante a deterioração, verificando que 30% das bactérias isoladas a partir do gelo, eram produtoras de urease. Leitão *et al.* (1979) estudaram a microbiota em cações dos gêneros *Sphyrna* e *Carcharhinus*, verificando que a microbiota produtora de urease constituía uma porcentagem elevada da população contaminante do cação, aumentando significativamente durante a estocagem e atingindo populações ao redor de 4×10^6 UFC/g, após 8 dias de armazenamento sob refrigeração em gelo. Finalmente, Waller (1980) estudando as alterações físicas, químicas e microbiológicas em cação *Galeorhinus australis*, estocado sob refrigeração em gelo, constatou que a microbiota produtora de urease representava uma porcentagem significativa da população bacteriana do cação, com aumentos significativos durante a sua estocagem.

Os resultados obtidos nesta pesquisa confirmaram as observações destes autores. Assim sendo, parece válida e recomendável a introdução da técnica de contagem de microrganismos produtores de urease como parâmetro de avaliação da qualidade do cação e outras espécies cartilaginosas ricas em uréia durante o armazenamento sob refrigeração. A metodologia recomendada (contagem em ágar TEU) é simples e confiável, fornecendo maiores informações sobre a qualidade e vida útil do que o método de contagem total que inclui outros microrganismos não deterioradores na avaliação. No entanto, antes da proposição de limites de contagens, seria importante uma melhor e mais completa avaliação da correlação com outros parâmetros, particularmente a análise sensorial, e determinação dos teores de BNV e amônia, em particular.

5.5.3. Análise Sensorial

As TABELAS 11, 12 e 13 apresentam as notas (médias) dos atributos julgados para o perfil sensorial de filés de cação durante o armazenamento a 0°, 4° e 10°C. Os resultados mostram que os atributos sensoriais apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) no decorrer da estocagem nas três temperaturas.

Durante o armazenamento dos filés nas temperaturas citadas, houve uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$) da intensidade de cor característica, do brilho, do aspecto úmido e do aroma de peixe fresco. Por outro lado, observou-se um aumento significativo ($p \leq 0,05$) da presença de manchas amarelo-esverdeadas, da intensidade de aroma de amônia e firmeza. Nota-se que os atributos cor característica, presença de manchas amarelo-esverdeadas, brilho, aspecto úmido, aroma de peixe fresco, aroma de amônia e firmeza foram os que melhor contribuíram para a discriminação das amostras, devido à grande variação de intensidade destes atributos entre elas (TABELAS 11, 12 e 13).

De acordo com Zottola (1988), a carne é considerada deteriorada quando se apresenta sensorialmente (cor, odor e presença aparente de microrganismos.) inaceitável para o consumidor, alertando para o fato de que o aceitável para um indivíduo pode não o ser para outro. Varga (1971) fornece uma boa explicação dos mecanismos para o estabelecimento de graus de qualidade de peixe fresco e dos procedimentos necessários para o treinamento dos provadores. Graus de qualidade para peixe estocado sob condições controladas são elaborados a partir de informações obtidas sobre um determinado estágio de frescor, em função de índices bioquímicos de qualidade e de termos descritivos para sabor, odor, textura e aparência.

O painel sensorial detectou a presença de um líquido leitoso esverdeado na superfície dos filés, após a estocagem por 3, 8 e 10 dias, a 10°, 4° e 0°C, respectivamente. Nestes períodos, os filés já foram considerados inaceitáveis para o consumo pela avaliação sensorial. Este resultado pode ser esperado, considerando-se que nestes períodos, as contagens bacterianas estavam acima do limite de 10^6 a 10^7 UFC/g, sugerido por Zottola (1988) como população microbiana necessária para causar alterações na cor de carnes.

TABELA 11 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação* durante o armazenamento a 0° C.

Atributos	Tempo de Armazenamento (dias)					
	0	2	6	8	10	12
Aparência:						
Cor característica	8,72 ^a	8,26 ^b	7,41 ^c	6,32 ^d	2,91 ^e	0,82 ^f
Manchas amarelo-esverdeadas	0,06 ^d	0,19 ^d	0,57 ^d	1,84 ^e	4,67 ^b	7,45 ^a
Brilho	8,67 ^a	8,26 ^a	7,35 ^b	6,06 ^c	4,78 ^d	1,83 ^c
Aspecto úmido	8,74 ^a	8,21 ^b	7,62 ^c	5,93 ^d	4,44 ^e	1,22 ^f
Aroma:						
Peixe fresco	8,75 ^a	8,30 ^b	7,74 ^c	6,02 ^d	2,72 ^e	0,64 ^f
Amônia	0,07 ^e	0,25 ^{de}	0,67 ^d	2,23 ^c	4,69 ^b	8,16 ^a
Textura:						
Firmeza	0,32 ^e	0,63 ^e	1,77 ^c	3,08 ^c	4,55 ^b	7,26 ^a

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Significado da escala: 0 = nenhum/fraco

9 = muito/forte

TABELA 12 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação* durante o armazenamento a 4° C.

Atributos	Tempo de Armazenamento (dias)				
	0	2	6	8	10
Aparência:					
Cor característica	8,72 ^a	8,06 ^b	5,30 ^c	2,64 ^d	0,80 ^e
Manchas amarelo-esverdeadas	0,06 ^d	0,08 ^d	2,24 ^c	5,96 ^b	8,17 ^a
Brilho	8,67 ^a	7,93 ^b	4,92 ^c	2,94 ^d	0,87 ^e
Aspecto úmido	8,74 ^a	7,84 ^b	4,94 ^c	3,02 ^d	0,87 ^e
Aroma:					
Peixe fresco	8,75 ^a	8,12 ^b	5,24 ^c	1,07 ^d	0,14 ^e
Amônia	0,07 ^e	0,07 ^d	0,82 ^d	6,07 ^b	8,19 ^a
Textura:					
Firmeza	0,32 ^e	1,67 ^d	3,01 ^c	6,43 ^b	8,06 ^a

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Significado da escala: 0 = nenhum/fraco

9 = muito/forte

TABELA 13 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação* durante o armazenamento a 10°C.

Atributos	Tempo de Armazenamento (dias)			
	0	1	2	3
Aparência:				
Cor característica	8,72 ^a	8,17 ^b	5,68 ^c	2,08 ^d
Manchas amarelo-esverdeadas	0,06 ^c	0,26 ^c	2,67 ^b	6,47 ^a
Brilho	8,67 ^a	8,10 ^b	5,51 ^c	2,25 ^d
Aspecto úmido	8,74 ^a	8,11 ^b	5,57 ^c	1,81 ^d
Aroma:				
Peixe fresco	8,75 ^a	8,29 ^b	5,23 ^c	1,07 ^d
Amônia	0,07 ^c	0,26 ^c	1,60 ^b	6,17 ^a
Textura:				
Firmeza	0,32 ^c	0,58 ^c	1,94 ^b	5,54 ^a

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Significado da escala: 0 = nenhum/fraco

9 = muito/forte

Os atributos aroma de peixe fresco e aroma de amônia apresentaram variação significativa ($p \leq 0,05$) durante a estocagem nas três temperaturas, mostrando serem bons indicadores da qualidade dos filés, além de facilmente perceptíveis pelo painel de provadores.

Os escores de firmeza apresentaram aumentos significativos ($p \leq 0,05$) no decorrer da estocagem nas três temperaturas, indicando um aumento na rigidez do músculo, isto é devido, provavelmente, a que espécies cartilaginosas como o cação possuem em torno de 10% de tecido conectivo constituído principalmente por colágeno, o qual contribui a conferir firmeza aos músculos, sendo que a localização deste nos filés exerce influência sobre as propriedades reológicas e funcionais do músculo.

A textura do músculo de pescado é afetado por diversos fatores, entre outros a espécie, composição química, idade, tamanho, condições de manuseio, processamento e estocagem, bem como pela estrutura das junções entre as fibras musculares e os tecidos conectivos (Dunajski, 1979).

O cação (*Prionace glauca*) apresenta teores elevados de umidade o que confere ao músculo uma consistência gelatinosa, apresentando uma grande exsudação de fluidos o qual afeta as propriedades reológicas e funcionais (Hense, 1990).

- **Correlações entre os resultados das análises físicas, químicas e microbiológicas e os atributos sensoriais dos filés de cação.**

A TABELA 14 mostra os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os parâmetros físico-químicos e microbiológicos e os atributos sensoriais dos filés de cação. Através dos dados apresentados nessa Tabela, observam-se altas correlações positivas entre pH superficial, e os teores de TMA, BNV e amônia, em relação ao atributo sensorial “manchas amarelo-esverdeadas”, com valores de $r = 0,92$, $r = 0,97$, $r = 0,94$ e $r = 0,90$, respectivamente. Observam-se, também, altas correlações positivas entre os teores de BNV, TMA e amônia e o atributo sensorial “aroma de amônia”. Os diferentes níveis de BNV, TMA e amônia nos filés, permitiram a diferenciação entre eles, tanto em termos químicos quanto em sensoriais, tornando possível a alta correlação encontrada entre as duas medidas.

TABELA 14 – Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre atributos sensoriais e os resultados de análises físico-químicas e microbiológicas de filés de cação armazenados a 0°, 4°, 10°C. Números entre parênteses representam nível de significância r.

	COR	MAVE	BRIL	ASUM	PEFRE	AMON	FIRM
pH int.	-0,92 (0,0)	-0,90 (0,0)	-0,94 (0,0)	-0,93 (0,0)	-0,92 (0,0)	0,85 (0,0)	0,90 (0,0)
pH sup.	-0,94 (0,0)	0,92 (0,0)	-0,95 (0,0)	-0,95 (0,0)	-0,94 (0,0)	0,88 (0,0)	0,93 (0,0)
BNV	-0,94 (0,0)	0,94 (0,0)	-0,92 (0,0)	-0,92 (0,0)	-0,91 (0,0)	0,93 (0,0)	0,92 (0,0)
URE	0,83 (0,0)	-0,81 (0,0)	0,87 (0,0)	0,86 (0,0)	0,84 (0,0)	-0,76 (0,0)	-0,81 (0,0)
AMON	-0,89 (0,0)	0,90 (0,0)	-0,85 (0,0)	-0,85 (0,0)	-0,87 (0,0)	0,92 (0,0)	0,91 (0,0)
TMA	-0,96 (0,0)	0,97 (0,0)	-0,95 (0,0)	-0,95 (0,0)	-0,97 (0,0)	0,95 (0,0)	0,94 (0,0)
NNP	-0,09 (26,11)	0,10 (0,25)	-0,11 (22,38)	-0,10 (24,20)	-0,10 (24,12)	0,06 (33,31)	0,07 (31,97)
CP	-0,82 (0,0)	0,78 (0,0)	-0,84 (0,0)	-0,84 (0,0)	-0,82 (0,0)	0,71 (0,0)	0,78 (0,0)
CUP	-0,78 (0,0)	0,75 (0,0)	-0,81 (0,0)	-0,81 (0,0)	-0,79 (0,0)	0,67 (0,0)	0,71 (0,0)

Legenda:

COR: cor característica
PEFR: aroma de peixe fresco
ASUM: aspecto úmido
FIRM: firmeza

BRIL: brilho
MAVE: manchas amarelo-esverdeadas
AMON: aroma de amônia

pH int: pH interno
pH sup: pH superficial
BNV: bases nitrogenadas voláteis
CUP: bactérias produtoras de urease
AMON: amônia

NNP: Nitrogênio não protéico
CP: contagem de psicotróficos
URE: uréia
TMA: trimetilamina

5.6. Estudo das alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais em filés de cação submetidos a tratamento prévio de redução do teor de uréia e armazenados sob refrigeração (0°C) e em temperatura de abuso (10°C)

5.6.1. Análises físico-químicas

- Variação dos teores de uréia em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C

A FIGURA 19 e TABELA 12A apresentam dados da variação dos teores de uréia em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) e estocados a 0° e 10°C.

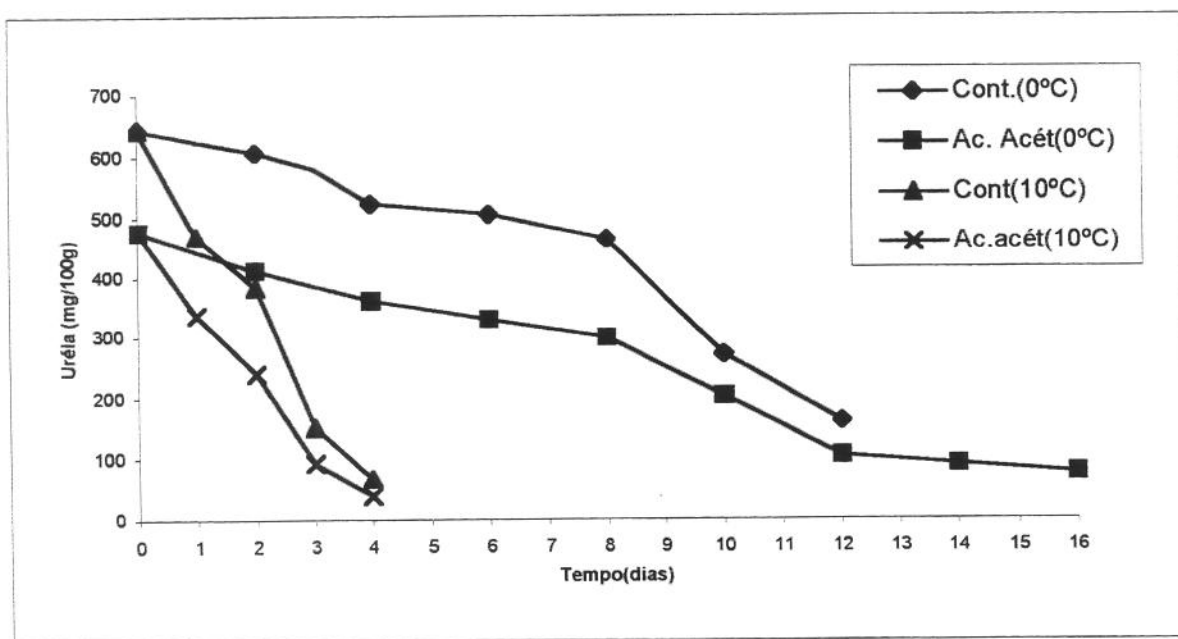


FIGURA 19 – Ureia em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.

A 0°C observaram-se decréscimos moderados dos teores de uréia nos filés tratados e controle, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre todos os dias de estocagem e entre os tratamentos. A 10°C observaram-se decréscimos acentuados dos teores de uréia nos filés

tratados e controle, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre todos os dias de estocagem e entre os tratamentos.

De uma maneira geral, observaram-se menores teores de uréia nos filés tratados com ácido acético 1%, comparativamente aos filés controle, durante a estocagem nas duas temperaturas, havendo diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. Estas variações observadas podem ser atribuídas, provavelmente, ao efeito exercido pelo ácido acético na redução dos níveis de uréia dos filés. Também é provável que a intensidade de multiplicação e atividades metabólicas diferenciadas da microbiota contaminante produtora de urease nas diferentes temperaturas possam explicar as variações ocorridas.

De acordo com os resultados da avaliação sensorial, os filés de cação tratados com ácido acético 1% tiveram um aumento de vida útil de 1 dia e 4 dias, durante a estocagem a 10° e 0°C, respectivamente. Isto é atribuído, provavelmente, à inibição do crescimento microbiano e à redução dos níveis de uréia produzidos pela ação do ácido acético.

Os resultados obtidos nesta pesquisa revelaram que o tratamento dos filés com ácido acético 1% por 3 horas à temperatura de 5°C mostrou-se eficiente na redução dos níveis de uréia. Isto está de acordo com Torrano & Menezes (1977) e Torrano (1978), os quais constataram que o tratamento de filés de cação, com ácido acético 1% por 3-4 horas à temperatura de 5°C revelou-se como o mais eficiente na redução dos teores de uréia.

5.6.2. Análises microbiológicas

- **Variação das contagens de bactérias psicrotróficas em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C**

A FIGURA 20 e TABELA 13A apresentam dados da variação das contagens de psicrotróficos em filés de cação tratados com ácido acético 1% e controle estocados a 0° e 10°C.

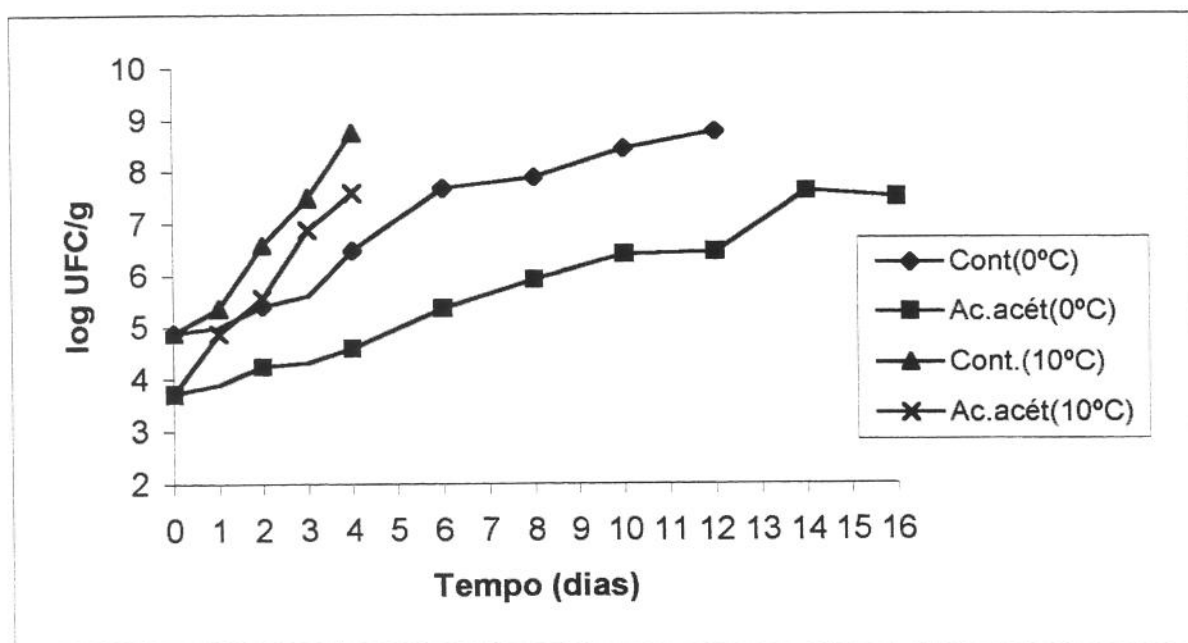


FIGURA 20 – Bactérias psicotróficas em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.

A 0°C observaram-se aumentos moderados nas contagens de psicotróficos nos filés tratados e controle, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem e entre os tratamentos. Já a 10°C observaram-se aumentos acentuados nas contagens dos filés tratados e controle, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem e entre os tratamentos.

A 0° e 10°C observaram-se menores contagens nos filés tratados, comparativamente aos filés controle. Isto é atribuído, provavelmente, ao efeito inibitório do crescimento de bactérias psicotróficas produzido pela ação do ácido acético presente nos filés.

A aplicação superficial de ácidos orgânicos é um tratamento usual de descontaminação da carne e tem por objetivo, principalmente, a redução drástica de microrganismos deterioradores e patogênicos potenciais, naturalmente presentes (Marel *et al.*, 1988; Koos, 1993). Sabe-se que a eficiência de um ácido orgânico como agente antimicrobiano, em qualquer alimento, é afetada por condições como: atividade de água,

pH, potencial de óxido-redução, disponibilidade de substrato, teor de gordura, entre outros (Jarvis & Burkem, 1977, citados por Sillicker, 1980).

- **Variação das contagens de bactérias produtoras de urease em filés de cação tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C**

A FIGURA 21 e TABELA 14A apresentam dados da variação das contagens de bactérias produtoras de urease em filés de cação tratados com ácido acético 1% e filés controle estocados a 0° e 10°C.

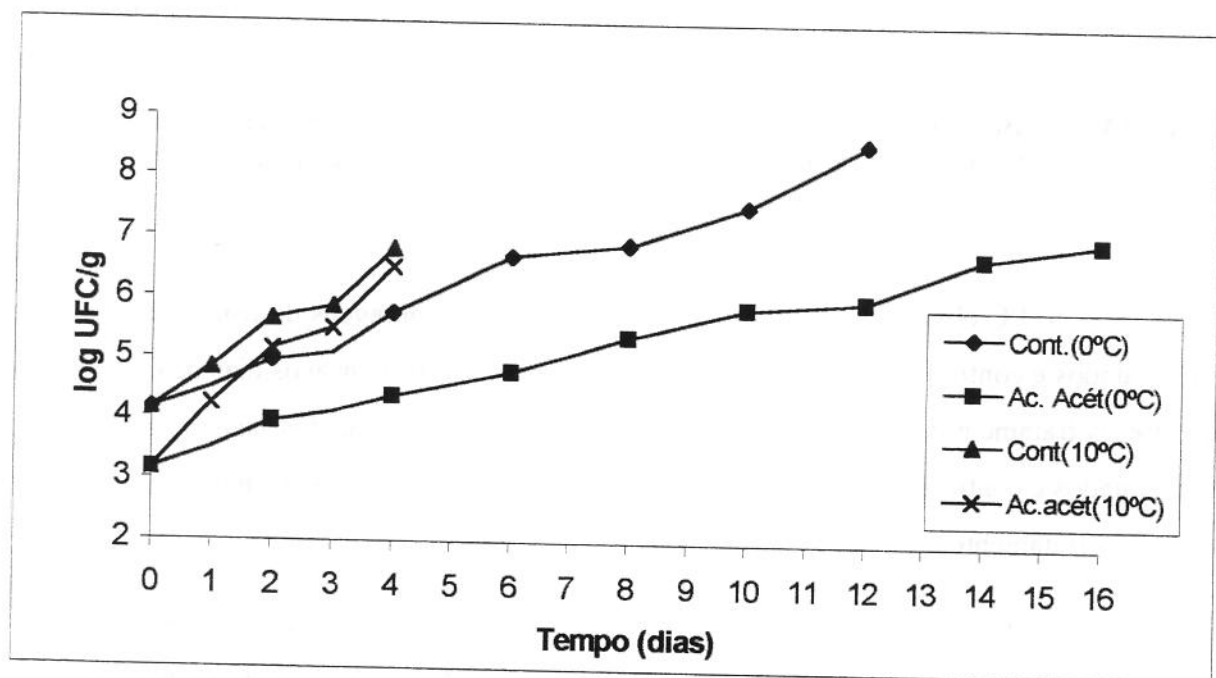


FIGURA 21 – Bactérias produtoras de urease em filés de cação, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.

Nas duas temperaturas observaram-se aumentos moderados nas contagens de bactérias produtoras de urease dos filés tratados e controle, com diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os dias de estocagem e entre os tratamentos.

A 0° e 10°C, a exemplo do relatado para a contagem de psicrotóxicos, observaram-se menores contagens nos filés tratados, comparativamente aos filés controle. Isto é devido, provavelmente, à redução do teor de uréia nos filés e à atividade antimicrobiana do ácido acético presente nesses filés.

O ácido acético e seus sais são bastante eficientes e largamente usados como acidulantes e conservadores em alimentos. Sua ação antimicrobiana é atribuída à queda de pH provocada no meio, iniciando-se em concentrações superiores a 0,5% (Pardi *et al.*, 1994). A presença de 1 a 2% de ácido não dissociado na carne, peixes e produtos vegetais é geralmente suficiente para a inibição bacteriana, desde que boas condições de higiene sejam mantidas.

Segundo Smulders *et al.* (1986), a ação antimicrobiana dos ácidos láctico e acético é devida à capacidade de suas moléculas, lipofílicas e não-dissociadas, de penetrar na membrana plasmática bacteriana. No citoplasma, onde o pH é mais alto, o ácido se dissocia e rompe a força proton-motriz da membrana, alterando o rendimento energético e o transporte dependente de energia dentro da célula. Portanto, o efeito antimicrobiano de um ácido vai depender dos seus valores de pKa e do pH do meio externo.

5.6.3. Análise Sensorial

- **Variação dos escores dos atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com água destilada (controle), durante estocagem a 0° e 10°C**

As TABELAS 15 e 16 apresentam as notas (médias) dos atributos julgados para o perfil sensorial de filés de cação tratados com água destilada (controle) estocados a 0° e 10°C. Os resultados mostram que os atributos sensoriais apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) ao longo da estocagem nas duas temperaturas.

TABELA 15 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação* tratados com água destilada (controle), durante armazenamento a 0°C.

Atributos	Tempo de armazenamento (dias)					
	0	2	4	8	10	12
Aparência:						
Cor característica	8,69 ^a	8,19 ^b	7,18 ^c	5,72 ^d	5,72 ^d	1,72 ^e
Manchas amarelo-esverdeadas	0,0 ^c	0,10 ^c	0,20 ^c	1,84 ^b	1,84 ^b	7,22 ^a
Brilho	8,47 ^a	8,24 ^a	7,17 ^b	5,80 ^c	5,80 ^c	2,71 ^d
Aspecto úmido	8,57 ^a	8,25 ^a	7,36 ^b	5,66 ^c	5,66 ^c	1,73 ^d
Aroma:						
Peixe fresco	8,74 ^a	8,30 ^b	7,23 ^c	5,62 ^d	5,62 ^d	0,54 ^e
Amônia	0,0 ^c	0,12 ^c	0,35 ^c	1,96 ^b	1,96 ^b	8,20 ^a
Textura:						
Firmeza	0,31 ^c	0,74 ^c	0,88 ^c	2,01 ^b	2,01 ^b	5,86 ^a

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Significado da escala: 0 = nenhum/fraco

9 = muito/forte

TABELA 16 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com água destilada (controle), durante armazenamento a 10°C.

Atributos	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	1	2	3	4
Aparência:					
Cor característica	8,69 ^a	7,93 ^b	6,45 ^c	1,78 ^d	0,54 ^e
Manchas amarelo-esverdeadas	0,0 ^d	0,23 ^d	1,09 ^c	6,64 ^b	7,46 ^a
Brilho	8,47 ^a	7,94 ^b	7,07 ^c	2,33 ^d	0,58 ^e
Aspecto úmido	8,57 ^a	7,95 ^b	6,82 ^c	1,78 ^d	0,49 ^e
Aroma:					
Peixe fresco	8,74 ^a	8,08 ^b	6,25 ^c	1,13 ^d	0,24 ^e
Amônia	0,0 ^d	0,27 ^d	1,37 ^c	6,12 ^b	8,25 ^a
Textura:					
Firmeza	0,31 ^e	0,80 ^d	1,97 ^c	5,44 ^b	7,02 ^a

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Significado da escala: 0 = nenhum/fraco

9 = muito/forte

A exemplo do relatado no estudo das alterações físico-químicas, sensoriais e microbiológicas, durante o armazenamento dos filés nas temperaturas citadas, houve uma diminuição significativa ($p \leq 0,05$) da intensidade da cor característica, do brilho, do aspecto úmido e do aroma de peixe fresco. Por outro lado, observou-se um aumento significativo ($p \leq 0,05$) da presença de manchas amarelo-esverdeadas, da intensidade do aroma de amônia e firmeza. Nota-se que os atributos cor característica, presença de manchas amarelo-esverdeadas, aroma de peixe fresco, aroma de amônia e firmeza foram os que melhor contribuíram para a discriminação das amostras, devido à grande variação de intensidade destes atributos entre as mesmas.

AS TABELAS 17 e 18 apresentam as notas (médias) dos atributos julgados para o perfil sensorial de filés de cação submetidos a tratamento com ácido acético 1% e estocados a 0° e 10°C. Os resultados mostram que os atributos sensoriais apresentaram pouca variação ($p \leq 0,05$) ao longo da estocagem nas duas temperaturas. Isto é devido, provavelmente, à redução dos teores de uréia e ao efeito inibitório do crescimento microbiano produzido pela ação do ácido acético sobre os filés.

Nota-se que os atributos aroma de amônia e presença de manchas amarelo esverdeadas apresentaram baixos escores mesmo com os filés em fim de vida útil, evidenciando-se, desta forma, o efeito do ácido acético sobre os filés. Por outro lado, observou-se variações na cor característica dos filés, com o aparecimento de uma cor esbranquiçada na superfície dos mesmos. Também observaram-se mudanças no aspecto úmido e na textura dos filés, o que poderia ser atribuído à desnaturação proteica e modificações produzidas na capacidade de retenção de água por efeito do ácido acético sobre os filés.

Durante a estocagem a 0° e 10° C observaram-se aumentos menores nos escores de firmeza nos filés tratados com ácido acético 1%, comparativamente aos filés tratados com água destilada (controle), isto é devido, provavelmente, ao efeito do ácido acético sobre os filés produzindo a diminuição do pH destes, podendo levar a maiores perdas de exsudado, pelo fato de haver menor capacidade de retenção de água das proteínas em faixas de pH muito baixas, próximas ao ponto isoelétrico das mesmas, afetando a textura dos filés.

De acordo com Forrest *et al.* (1975), a queda do pH do músculo de carnes diminui a sua capacidade de retenção de água. Segundo Sgarbieri (1996), é incomum que a degradação de proteínas ocorra pela ação dos ácidos quando o pH está acima de 4,0, mas pode haver perda de solubilidade daquelas cujos pontos isoelétricos se encontrem nas faixas de pH ligeiramente ácido, como é o caso das proteínas da carne.

De acordo com os resultados da avaliação sensorial, os filés submetidos a tratamento com ácido acético foram considerados inaceitáveis para o consumo após os períodos de 3 e 12 dias, durante a estocagem a 10° e 0°C, respectivamente.

TABELA 17 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com ácido acético 1%, durante estocagem a 0°C.

Atributos	Tempo de armazenamento (dias)						
	0	2	4	8	10	14	16
Aparência:							
Cor característica	8,78 ^a	8,63 ^a	8,07 ^b	7,53 ^c	6,06 ^d	2,62 ^e	1,44 ^f
Manchas amarelo-esverdeadas	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c	0,01 ^c	0,16 ^c	1,74 ^b	3,16 ^a
Brilho	8,72 ^a	8,58 ^a	8,08 ^b	7,60 ^c	6,08 ^d	2,48 ^e	1,44 ^f
Aspecto úmido	8,74 ^a	8,61 ^a	8,06 ^b	7,57 ^c	6,24 ^d	3,03 ^e	1,53 ^f
Aroma:							
Peixe fresco	8,78 ^a	8,66 ^a	8,06 ^b	7,58 ^c	6,09 ^d	1,61 ^e	0,95 ^f
Amônia	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c	0,03 ^{bc}	0,28 ^{bc}	0,63 ^b	1,50 ^a
Textura:							
Firmeza	0,27 ^c	0,38 ^e	0,59 ^{de}	1,10 ^{cd}	1,52 ^c	3,44 ^b	4,72 ^a

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Significado da escala: 0 = nenhum/fraco

9 = muito/forte

TABELA 18 – Notas (médias) atribuídas pela equipe sensorial para os atributos de aparência, aroma e textura de filés de cação tratados com ácido acético, durante estocagem a 10°C.

Atributos	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	1	2	3	4
Aparência:					
Cor característica	8,78 ^a	8,37 ^a	8,14 ^b	6,64 ^c	2,94 ^d
Manchas amarelo-esverdeadas	0,0 ^b	0,01 ^b	0,04 ^b	0,14 ^b	0,95 ^a
Brilho	8,72 ^a	8,33 ^a	8,14 ^a	6,75 ^b	3,36 ^c
Aspecto úmido	8,74 ^a	8,38 ^a	8,15 ^b	6,63 ^c	3,60 ^d
Aroma:					
Peixe fresco	8,78 ^a	8,43 ^a	8,15 ^b	6,68 ^c	1,22 ^d
Amônia	0,0 ^b	0,0 ^b	0,01 ^b	0,01 ^b	0,98 ^a
Textura:					
Firmeza	0,27 ^c	1,06 ^b	1,61 ^b	1,36 ^b	3,07 ^a

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Significado da escala: 0 = nenhum/fraco

9 = muito/forte

6. CONCLUSÕES

Os trabalhos experimentais desenvolvidos e os resultados obtidos, possibilitaram alcançar as seguintes conclusões:

6.1. O ágar triptona-extrato de levedura-uréia (ágar TEU), contendo uma concentração de KH_2PO_4 de 10 g/l, utilizado com a técnica de espalhamento superficial e incubação das placas a 20°C por um período máximo de 4-5 dias, evidenciou o melhor desempenho na contagem e diferenciação de culturas produtoras de urease.

6.2. Foi desenvolvida a terminologia descritiva e os perfis sensoriais de filés de cação refrigerados, através da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ). Os atributos mais importantes para discriminar os filés, em função dos estágios de frescor foram: cor característica, presença de manchas amarelo-esverdeadas, brilho, aspecto úmido, aroma de peixe fresco, aroma de amônia e firmeza.

6.3. Constatou-se a prevalência de bactérias psicrotróficas Gram negativas na microbiota produtora de urease do cação, principalmente *Flavobacterium odoratum* (40%), *Shewanella putrefaciens* (20%) e *Pseudomonas diminuta* (15%). Através de testes de incubação demonstrou-se a capacidade de multiplicação destas bactérias em temperaturas de refrigeração (4°C) e em temperaturas de abuso (10°C), bem como a adequacidade do extrato muscular do cação como substrato para a multiplicação dos contaminantes.

6.4. As reações de Eber para amônia e gás sulfídrico, e determinações de: pH, bases nitrogenadas voláteis (BNV), uréia, Nitrogênio não protéico (NNP) e a contagem de bactérias psicrotróficas não se mostraram adequadas como índices de avaliação da qualidade de filés de cação. Por outro lado, as determinações de amônia e trimetilamina (TMA) e a contagem de bactérias produtoras de urease mostraram-se promissoras para serem utilizadas como critérios de avaliação da qualidade dos filés, sempre em correlação com avaliações sensoriais. A vida útil dos filés de cação foi de aproximadamente 2, 6 e 8 dias, durante a estocagem a 10°, 4° e 0°C, respectivamente.

6.5. O tratamento dos filés de cação com ácido acético 1% por 3 horas a 5°C, mostrou-se eficiente na redução dos teores de uréia. A vida útil dos filés de cação submetidos a esse tratamento foi de aproximadamente 3 e 12 dias, durante a estocagem a 10° e 0°C, respectivamente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMS, M. R., HALL, C. I. Growth inhibition of food-borne pathogens by lactic and acetic acids and their mixtures. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 23, n. 3, p. 287-292, 1988.
2. ADLER-NISSEN, J. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 27, n. 6, p. 1256-1262, 1979.
3. AMANAJÁS, C.C. **Determinação dos compostos básicos totais do pescado e o seu potencial para avaliação do frescor**. Campinas : UNICAMP, 1985. 110p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, 1985.
4. AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Guidelines for the selection and training of sensory panel members**. Philadelphia, 1981. 35 p.
5. ANTONACOPOULOS, N. Reconocimiento químico-bromatológico y calificación del pescado y sus productos. In: LUDORFF, W., MEYER, V. **El pescado y los productos de la pesca**. 2. ed. Zaragoza : Ed. Acirbia, 1978. p. 201-230.
6. ASHIE, I.N.A., SMITH, J.P., SIMPSON, B.K. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.36, n.182, p. 87-121, 1996.
7. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DA ALIMENTAÇÃO - ABIA. **Compêndio da legislação de alimentos: consolidação das normas e padrões de alimentos : atos do Ministério da Saúde**. São Paulo, 1989. v.1.
8. BERAQUET, N. J., OKADA, M., FERREIRA, V. L., MENEZES, H. Um processo rápido de salga e secagem. I. Aspectos de processamento e estabilidade. **Coletânea do ITAL**, v.6, p.37-50, 1975.
9. BERBERIAN, A., SABOYA, T. R. Identificação da reação de sardinha (*Sardinella aurita*), imersa em salmoura contendo ácido láctico. **Boletim do ITAL**, Campinas, v. 22, p. 43-54, 1970.
10. BLIGH, E. G., DYER, W. J. A method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911, 1959.
11. BOTTA, J. R. **Chemical methods of evaluating freshness quality**. Evaluation of seafood freshness quality. New York: VCH, 1995. p. 9-33.

12. BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília, DF, 1980. 166p.
13. BRASIL. Decreto nº 55.871, de março de 1965. Modifica o decreto nº 50.040 / 61 referente às normas reguladoras de emprego de aditivos em alimentos, alterado pelo Decreto nº 691/ 62. **Diário Oficial** (da República Federativa do Brasil), Brasília, DF, 9 de abril de 1965, Retificado pelo de 20 de abril de 1965.
14. BURT, J. R. Hipoxantine: a biochemical index of fish quality. **Process Biochemistry**, v. 12, n.1, p. 32-35, 1977.
15. CARVAJAL, J. C. L. **Desenvolvimento da tecnologia de processamento de sopas desidratadas a base de cação (*Rhizoprionodon porosus*)**. João Pessoa : UFPB, 1989. 89 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal da Paraíba, 1989.
16. COBB III, B. F., VANDERZANT, C. Development of a chemical test for shrimp quality. **Journal of Food Science**, v.40, p. 121-124, 1975.
17. CONNELL, J. J. **Control of fish quality**. Surrey : Fishing News Books, 1978. 179 p.
18. CONNELL, J.J., SHEWAN, J.M. Past, present and future of fish science. In: CONNELL, J.J. (Ed.). **Advances in fish science and technology**. Surrey: Fishing News Books, 1980. p. 56-65.
19. DAMÁSIO, M.H., COSTELL, E. Analisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.31, n. 2, p. 165-178, 1991.
20. DUNAJSKI, E. Texture of fish muscle. **Journal of Texture Studies**, v. 10, n. 4, p. 301-318, 1979.
21. FARBER, L. Freshness tests. In: BORGSTROM, G. (Ed.). **Fish as food**. New York: Academic Press, 1965. v. 4, p. 65-126.
22. FERREIRA, M. V. **Pesca e aproveitamento econômico dos tubarões no Nordeste brasileiro**. Recife: SUDEPE, 1986. 110 p. (Série estudos de pesca, 4).
23. FISCHMAN, E., SHINHOLSER, K. J., POWERS, J. J. Examining methods to test factor patterns to concordance. **Journal of Food Science**, v.52, n. 2, p. 448-454, 1987.
24. FORREST, J. C., ABERLE, E. D., HENDRICK, H. B., JUDGE, M. D., MERKEL, R. A. Properties of fresh meat. In: FORREST, J. C., ABERLE, E. D., HENDRICK, H. B., JUDGE, M. D., MERKEL, R. A. **Principles of meat science**. San Francisco: W.H. Freeman, 1975. p. 174-189.

25. FRAZIER, W. C. , WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1978. Cap. 14, p. 239-251.
26. FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – FIBGE. **Pesquisa nacional sobre saúde e nutrição**. Brasília, DF, 1990. 150 p.
27. GHAZALA, S. New packaging technology for seafood preservation shelf-life extension and pathogen control. In: MARTIN, A. M. (Ed.). **Fisheries processing: biotechnological application**. London: Chapman & Hall, 1994. p. 82-110.
28. GILL, C. O. Meat spoilage and evaluation of the potential storage life of fresh meat. **Journal of Food Protection**, v. 46, n.5, p. 444-452, 1983.
29. GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 11 ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 466p.
30. GORDIEVSKAYA, V. S. **Shark flesh in the industry**: Israel program for scientific translations, Jerusalem. Springfield : Available from U. S. Dept. of Commerce, National Technical Information Service, 1973.
31. GRAM, L., HUSS, H. H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, n. 1, p. 121-137, 1996.
32. GRAM, L., TROLLE, G., HUSS, H. H. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 4, n. 1, p. 65-72, 1987.
33. GRAM, L., WEDELL-NEERGAARD, C., HUSS, H. H. The bacteriology of fresh fish and spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). **International Journal of Food Microbiology**, v. 10, p. 303-316, 1990.
34. HENSE, H. **Avaliação dos parâmetros termofísicos e cinética de congelamento de cação**. Campinas : UNICAMP, 1990. 167 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, 1990.
35. HOBBS, G. Microbial spoilage of fish. In: ROBERTS, T., SKINNER, E. A. (Eds.). **Food microbiology: advances and prospects**. London: Academic Press, 1983. p. 217-229.
36. HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 13° ed., Washington D. C., A.O.A.C. 1980.
37. HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Torry Research Station**. Aberdeen, TD 564, Appendix 4, 1976.
38. HUSS, H. H. **El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad**. Rome: FAO, 1988. 132p (FAO Pesca pap., 293).

39. IKEDA, S. Other organic components and inorganic components. In: CONNELL, J. J. (Ed.). **Advances in fish science and technology**. Surrey : Fishing News Book, 1980. p.111-123.
40. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo, 1985. v.1.
41. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microorganisms in foods. I. Their significance and methods of enumeration**. 2. ed. Toronto: University of Toronto Press, 1978. 434p.
42. JAMES, D. G., OLLEY, J. Spoilage of shark. **Australian Fisheries**, v.30, n.4, p. 11-13, 1971.
43. JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 5. ed. New York: Chapman & Hall, 1996. p. 118-127. 661p.
44. JHAVERY, S. N., CONSTANTINIDES, S. M. Chemical composition and shelf-life study of Gray fish (*Squalus acanthias*). **Journal of Food Science**, v. 47, n. 5, p. 188-192, 1981.
45. JORGE, J. C. M. **Desenvolvimento de um produto desidratado combinando pescado salgado com uma base proteica obtida de farinhas de soja e trigo**. Campinas : UNICAMP, 1985. 146 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, 1985.
46. KAI, M., MORAIS, C. Vias de deterioração do pescado. In: KAI, M., RUIVO, U. E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 13-20.
47. KINSELLA, J. E. Fish and seafoods: nutritional implications and quality issues. **Food Technology**, v.42, n. 5, p. 146-150, 160, 1988.
48. KONOSU, S., YAMAGUSHI, K. The flavor components in fish and shellfish. In: MARTIN, R.E. (Ed.). **Chemistry and biochemistry of marine food products**. Westport: AVI, 1982. 360p.
49. KOOS, I. J. T. A natural way to improve quality and safety of meat and poultry products: sodium lactate. **Fleischerei**, v. 44, n. 1, p. 10-13, 1993.
50. KREUTZER, R., AHMED, R. **Shark utilization and marketing**. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1978. 180 p.
51. KRIEG, N. R., HOLT, J. G. (Eds.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. v. 1.

52. KUAYE, A. Y. **Comparação dos métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis em pescado: parâmetros críticos e modificações.** Campinas, UNICAMP, 1982. 95p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas.
53. LEITÃO, M. F. F. Microbiologia do pescado e controle sanitário no processamento. **Boletim do ITAL**, v. 14, n. 50, p. 1-38, 1977.
54. LEITÃO, M. F. F. Deterioração microbiana do pescado e sua importância em saúde pública. **Higiene Alimentar**, v. 3, n. 3/4, p. 143-152, 1984.
55. LEITÃO, M. F. F., GERALDINI, A. M., DRAETTA, I., KAI, M. Transformações químicas e microbiológicas e avaliação da microflora urease positiva em cação armazenado sob refrigeração. **Coletânea do ITAL**, v. 10, p. 15-31, 1979.
56. LIMA, M. F. V., ZAPATA, J. F. F. Efeito do ácido lático e do lactato de sódio sobre as características físicas, químicas e sensoriais de filés frescos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). In : [CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS,] 16, 1998, Rio de Janeiro. **Anais . . .** Rio de Janeiro : SBCTA, 1998. p.739-742.
57. LISTON, J. Fish and shellfish and their products. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS – ICMSF. **Microbial ecology of foods : food commodities.** New York: Academic Press, 1980 a. v. 2, p. 567-605.
58. LISTON, J. Microbiology in fishery sciences. In: CONNELL, J.J. (Ed.). **Advances in fish science and tecnologia.** Surrey: Fishing News Books, 1980 b. p. 138-157.
59. LISTON, J. Recent advances in the chemistry of iced fish spoilage. In: MARTIN, R.E. (Ed.). **Chemistry and biochemistry of marine food products.** Wesport: AVI, 1982. p. 27-37.
60. LUDORFF, W., MEYER, V. **El pescado y los productos de la pesca.** 2. ed. Zaragoza : Ed. Acríbia, 1978. 342p.
61. LUNA, Z., BURGOS, P. **Pesquisas tecnológicas sobre a industrialização de tubarões:** subsídios técnicos para o planejamento de instalações beneficiadoras. Recife: SUDEPE, 1978. 98p. (Série estudos de pesca, 7).
62. MAC FADDIN, J. F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria.** 2.ed. Baltimore: Wiliams & Wilkins, 1970. 380p.
63. MADRID, R. M. **O uso do coletor solar com complementação de resistencia elétrica na prática de secagem de cação.** Campinas: UNICAMP, 1982, 89 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Estadual de Campinas, 1982.

64. MAREL, G. M., LOGTESTEIN, J. G., MOSSEL, D. A. A. Bacteriological quality of broiler carcasses as affected by in-plant lactic acid decontamination. **International Journal of Food Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 31-42, 1988.
65. MARTIN, R. E., GRAY, R. J. H., PIERSON, M. O. Quality assesment of fresh fish and the role of the naturally occurring microflora. **Food Technology**, v.32, n.5, p.188-198, 1978.
66. MONTIEL-MONTOYA, J. Freshness evaluation in 10 species of iced fish. In: SPIESS, W.E. L., SCHUBERT, H. (Ed.). **Engeneering and food**. New York: Elsevier Applied Science, 1990. v. 2, p. 519-521.
67. MORGA, A. A. **Avaliação do índice de frescor da pescada fogete (*Macrodon ancylodon*) conservada em gelo**. Campinas : UNICAMP, 1975. 80 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 1975.
68. MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods**. Westport: Food & Nutrition Press, 1983. 605 p.
69. MURRAY, C. K. , GIBSON, D. M. An investigation of the method of determining trimethylamine in fish muscle extracts by the formation of its picrat salt. Part I. **Journal of Food and Technology**, v. 7, n. 1, p. 35-46, 1972.
70. NETO, F. M. **Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo**. Campinas: UNICAMP, 1984, 79 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, 1984.
71. OGAWA, M., MENEZES, J. W., BESERRA, F. J. Sobre a industrialização de cações no Nordeste brasileiro: aproveitamento da carne e barbatanas. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 13, n.2, p. 91-97, 1973 a.
72. OGAWA, M., KOMARI, T., NUNES, M. L. Sobre a industrialização de cações no nordeste brasileiro. III. Aproveitamento do óleo vitaminado do fígado. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 13, n.2, p.105-107, 1973 b.
73. OLIVEIRA, J. S., PARMELEE, C. E. Rapid enumeration of psychrotrophyc bacteria in raw and pasteurized milk. **Journal of Milk Food Technology**, v. 39, n. 4, p. 269-272, 1976.
74. PARDI, M. C., SANTOS, I. F., SOUZA, E. R., PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da carne e subprodutos**. Goiânia : CEGRAF-UFG, 1994. v.2, p. 638-675.
75. PEDRAJA, R. R. Quality aspects of refrigerated and frozen fishery products. **Journal ASHRAE**, v. 5, n. 3, p. 101-108, 1972.

76. PEDROSA-MENABRITO, A., REGENSTEIN, J.M. Shelf-life extension of fresh fish. A review. Spoilage of fish. **Journal of Food Quality**, v. 2, n. 2, p. 117-127, 1988.
77. POWERS, J. J., CENCIARELLI, S., SHINHOLSER, K. El uso de programas estadísticos generales en la evaluación de los resultados sensoriales. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v. 24, n. 4, p. 469-484, 1984.
78. RINGO, E., STEMBERG, E., STROM, A. R. Aminoacid and lactate catabolism in trimethylamine oxide respiration of *Alteromonas putrefaciens*. **Applied Enviromental Microbiology**, v. 47, n. 5, p. 1804-1809, 1984.
79. RONSIVALLI, J. L. Shark and their utilization. **Marine Fisheries Review**, v.40, n.2, p.1-13, 1978
80. RUIVO, U. E. Comprar de un fornecedor idôneo, com prestígio no mercado e inspecionado pelo sistema oficial, já é um fator de garantia da qualidade. **Higiene Alimentar**, v. 8, n. 32, p. 7-8, 1994.
81. SANTOS, C. A. L. dos. The storage of tropical fish in ice. A review. **Tropical Science**, v. 23, n. 8, p. 97-127, 1981.
82. SGARBIERI, W. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo : Livraria Varela, 1996. 516 p.
83. SHENOY, A. S., DEY V. K. Shark and its utility. **Seafood Export Journal**, v. 1, p. 5-11, 1984.
84. SHEWAN, J. M. The biochemistry and microbiology of low temperature spoilage. **Food Technology in Austrália**, v.8 , p. 409-410, 1976.
85. SHEWAN, J. M., GIBSON, D. M., MURRAY, C. K. The estimation of trimethylamine in fish muscle. In: KREUZER, R. (Ed.). **Fish inspection and quality control**. London: Fishing News, 1972. p. 183-186.
86. SIKORSKI, Z. E., KOLAKOWSKA, A., BURT, J. R. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura. In: SIKORSKI, Z.E. (Ed.). **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación**. Zaragoza: Acribia, 1994. Cap. 4, p. 73-101.
87. SILLIKER, J. H. **Microbial ecology of foods**. New York : Academic Press, 1980. v. 1.
88. SMULDERS, F. J. M., BARENDSEN, P., LOGTESTIJN, J. C., MOSSEL, D.A.A., MAREL, G. M. Lactic acid: considerations in flavor of its acceptance as a meat decontaminant. **Journal of Food Technology**, v. 21, n. 4, p. 419-436, 1986.

89. SOFOS, J. N. Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. In: PEARSON, A.M., DUTSON, T.R. (Eds.). **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products**. Great Britain: Blackie Academic & Professional, 1994. p. 359-403. (v. 9: Advances in meat research series).
90. SPINELLI, J. Biochemical basis of fish freshness. **Process Biochemistry**, v. 6, n. 5, p. 3-6, 1971.
91. STONE, H., SIDEL, J. L., OLIVER, S., WOOLSEY, A., SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v. 28, n. 11, p. 24-34, 1974.
92. SUPERINTENDÊNCIA DE DESENVOLVIMENTO DE PESCA - SUDEPE. **Documento da divisão de pesca e piscicultura da Diretoria Regional do DNOCS**. Recife, 1987, 52 p.
93. SUZUKI, T. **Fish and krill protein-processing technology**. London : Applied Science, 1981. 260 p.
94. TEIXEIRA, C. G. Produtos alimentícios da atividade pesqueira. **Higiene Alimentar**, v. 7, n. 28, p. 24-26, 1993.
95. TISHIN, V. E. Processing shark meat human consumption. **Rybnoe-Khozyaistvo**, v.46, p.58-61, 1970 (Food Sci. Technol. Abs. 2 : 9R 313).
96. TORRANO, A. D. M. **Methods for removing urea and preventing discoloration during processing of dehydrated salted shark**. Lousiana : Faculty of the Lousiana State University and Agricultural and Mechanical College, 1978. 102 p. Tese (Doutorado em Filosofia) – University of Lousiana State, 1978.
97. TORRANO, A. D., MENEZES, H. C. Caracterização do cação como matéria-prima para processamento. **Coletânea do ITAL**, v. 8, p. 199-215, 1977.
98. VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington D.C.: APHA, 1992. 1219p.
99. VARGA, S. Training and evaluation of trainees for the organoleptic assesment of fishery products. In: KREUTZER, R.(Ed.). **Fish inspection and quality control**. London: Fishing News, 1971. 290 p.
100. VENUGOPAL, V. , SHAHIDI, F. Value-added products from underutilized fish species. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, n.5, p.431-453, 1995.
101. VINCKE, W. Determination of ammonia in dressed thornback ray (*Raja Clavata L.*) as a quality test. **Journal of Food Technology**, v. 13, n. 1, p. 37-44, 1978.

102. WALLER, P. F. Spoilage and spoilage indicators in shark held in ice. **Food Technology in Australia**, v. 32, n. 3, p. 161-166, 1980.
103. WILLIAMS, S. K., RODRICK, G. E., WEST, R. L. Sodium lactate affects shelf-life and consumer acceptance of fresh catfish (*Ictalurus nebulosus*, *marmoratus*) fillets under simulated retail conditions. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 3, p. 636-639, 1995.
104. WORLD FISHERY PRODUCTION 1980-1993. Roma: FAO, v.76, 1995. (Suppl. to the FAO Yearbook of Fishery Statistics, 1993).
105. YAP, A. S. J. Microbiological considerations in shark handling. **Food Technology in Australia**, v. 31, n. 7, p. 297-300, 1979.
106. YEARBOOK FISHERY STATISTICS. Roma : FAO, v. 98, 1997.
107. ZAITSEV, V., KIZEVETTER, I. , LAGUNOV, L., MAKAROVA, T., MINDER, L., PODSEVALOV, V. Characteristics of fish as a raw material for industry. In: ZAITSEV, V. **Fish curing and processing**. Moscow : MIR, 1969.
108. ZOTTOLA, E. **Introduction to meat microbiology**. Washington, D.C. : American Meat Institute, [1988]. v.1.

ANEXOS

TABELA 1A – pH em extratos de músculo de cação inoculados com as bactérias em estudo*, durante incubação a 4° e 10°C.

Temperatura de incubação	TEMPO (dias)						
	0	2	4	6	8	10	12
<i>F. odoratum</i>	7,65 ^{bA}	7,90 ^{bA}	8,11 ^{bA}	8,66 ^{aA}	8,91 ^{Aa}	8,95 ^{aA}	9,03 ^{aA}
<i>P. diminuta</i>	7,65 ^{dA}	7,88 ^{dA}	8,07 ^{cdA}	8,46 ^{bcA}	8,78 ^{abA}	8,87 ^{abA}	8,95 ^{Aa}
<i>S. putrefaciens</i>	7,65 ^{eA}	7,73 ^{deA}	8,16 ^{cdA}	8,48 ^{bcA}	8,70 ^{abA}	9,00 ^{aA}	9,07 ^{aA}
10°C	0	1	2	3	4	5	
<i>F. odoratum</i>	7,65 ^{bA}	7,77 ^{bA}	7,99 ^{bA}	8,51 ^{aA}	8,67 ^{aA}	8,80 ^{aA}	
<i>P. diminuta</i>	7,65 ^{bA}	7,88 ^{bA}	8,00 ^{bA}	8,52 ^{aA}	8,60 ^{aA}	8,83 ^{aA}	
<i>S. putrefaciens</i>	7,65 ^{cA}	7,86 ^{cA}	8,11 ^{bcA}	8,58 ^{abA}	8,77 ^{aA}	8,94 ^{aA}	

* Valores médios de três repetições
Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

TABELA 2A – Uréia (mg/100g) em extratos de músculo de cação inoculados com as bactérias em estudo*, durante incubação a 4° e 10°C.

Temperatura de incubação	TEMPO (dias)						
	0	2	4	6	8	10	12
<i>F. odoratum</i>	1318,03 ^{aA}	1085,99 ^{bA}	1041,35 ^{bA}	942,58 ^{cA}	825,76 ^{dB}	624,34 ^{cB}	484,78 ^{IB}
<i>P. diminuta</i>	1318,03 ^{aA}	1095,25 ^{bA}	1070,78 ^{bA}	989,05 ^{cA}	941,82 ^{cA}	831,64 ^{dA}	675,65 ^{eA}
<i>S. putrefaciens</i>	1318,03 ^{aA}	966,19 ^{bB}	745,95 ^{cB}	434,18 ^{dB}	261,57 ^{eC}	181,99 ^{fC}	148,53 ^{fC}
10°C	0	1	2	3	4	5	
<i>F. odoratum</i>	1318,03 ^{aA}	887,96 ^{bb}	866,50 ^{bA}	696,98 ^{bB}	637,26 ^{cA}	481,43 ^{dA}	
<i>P. diminuta</i>	1318,03 ^{aA}	997,22 ^{bA}	890,32 ^{cA}	810,48 ^{dA}	639,50 ^{eA}	509,65 ^{fA}	
<i>S. putrefaciens</i>	1318,03 ^{aA}	896,94 ^{bB}	840,49 ^{bA}	698,61 ^{cB}	545,18 ^{dB}	383,58 ^{eB}	

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

TABELA 3A – Contagens das culturas bacterianas (log UFC/g) inoculadas em extratos de músculo de cação*, durante incubação a 4° e 10°C.

Temperatura de incubação	TEMPO (dias)						
	0	2	4	6	8	10	12
<i>F. odoratum</i>	3,00 ^{bA}	4,62 ^{bA}	6,96 ^{aA}	7,92 ^{aA}	8,25 ^{aA}	8,38 ^{aA}	8,38 ^{Aa}
<i>P. diminuta</i>	3,00 ^{bA}	4,62 ^{bA}	7,01 ^{aA}	7,73 ^{aA}	8,10 ^{aA}	8,16 ^{aA}	8,18 ^{aA}
<i>S. putrefaciens</i>	3,00 ^{bA}	4,82 ^{bA}	7,08 ^{aA}	8,02 ^{aA}	8,34 ^{aA}	8,51 ^{aA}	8,53 ^{aA}
10°C	0	1	2	3	4	5	
<i>F. odoratum</i>	3,00 ^{eA}	4,45 ^{dAB}	6,26 ^{cA}	7,41 ^{bA}	8,25 ^{abA}	8,33 ^{aA}	
<i>P. diminuta</i>	3,00 ^{dA}	5,23 ^{cA}	6,66 ^{bA}	7,71 ^{aA}	8,08 ^{aA}	8,19 ^{aA}	
<i>S. putrefaciens</i>	3,00 ^{dA}	4,07 ^{cB}	6,39 ^{bA}	7,59 ^{aA}	8,15 ^{aA}	8,20 ^{aA}	

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

TABELA 4A – pH em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Determinação	Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)									
		0	1	2	3	4	6	8	10	12	
pH interno	0	6,33 ^{IA}	ne	6,50 ^{eIBC}	ne	6,78 ^{deBC}	7,10 ^{dB}	7,94 ^{cB}	8,39 ^{bB}	9,16 ^a	
	4	6,33 ^{IA}	ne	7,28 ^{eAB}	ne	7,87 ^{dAB}	8,31 ^{cA}	8,92 ^{bA}	9,55 ^{aA}		
	10	6,33 ^{eA}	7,72 ^d	8,47 ^{cA}	8,93 ^b	9,76 ^{aA}					
pH na superfície	0	6,10 ^{eA}	ne	6,18 ^{eBC}	ne	6,29 ^{deBC}	6,58 ^{dB}	7,22 ^{cB}	7,81 ^{bB}	8,71 ^a	
	4	6,10 ^{IA}	ne	6,91 ^{eAb}	ne	7,49 ^{dAb}	7,89 ^{cA}	8,50 ^{bA}	9,12 ^{aA}		
	10	6,10 ^{dA}	6,83 ^c	7,81 ^{bA}	8,01 ^b	9,32 ^{aA}					

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 5A – Bases nitrogenadas voláteis (mg/100g) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)											
	0	1	2	3	4	6	8	10	12			
0	25,12 ^{eA}	ne	29,91 ^{eBC}	ne	38,06 ^{deBC}	51,08 ^{dB}	96,00 ^{cB}	181,23 ^{bB}	273,21 ^a			
4	25,12 ^{eA}	ne	48,24 ^{dAB}	ne	65,24 ^{dAB}	89,54 ^{cA}	137,09 ^{Ba}	316,18 ^{aA}				
10	25,12 ^{eA}	57,95 ^d	122,16 ^{cA}	163,12 ^b	308,54 ^{aA}							

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 6A – Uréia (mg/100g) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)										
	0	1	2	3	4	6	8	10	12		
0	1360,33 ^{aA}	ne	1296,65 ^{abAA}	ne	1212,61 ^{abAA}	1139,21 ^{abA}	1046,95 ^{bcA}	1040,27 ^{bcA}	866,00 ^c		
4	1360,33 ^{aA}	ne	1142,27 ^{abAA}	ne	1045,42 ^{bBA}	942,97 ^{bcB}	816,04 ^{cdB}	712,98 ^{dB}			
10	1360,33 ^{aA}	1045,92 ^b	918,50 ^{bcBB}	784,95 ^c	392,25 ^{dB}						

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, (p ≤ 0,05) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 7A – Amônia (mg/100g) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C

Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)										
	0	1	2	3	4	6	8	10	12		
0	20,88 ^{La}	ne	34,10 ^{cAB}	ne	39,85 ^{cAB}	47,68 ^{Ca}	55,42 ^{cb}	252,34 ^{bb}	383,52 ^a		
4	20,88 ^{da}	ne	43,07 ^{cdAB}	ne	50,94 ^{cdAB}	57,81 ^{cA}	250,60 ^{bA}	417,68 ^{aA}			
10	20,88 ^{cA}	39,02 ^c	84,43 ^{bBA}	116,16 ^b	238,42 ^{aA}						

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, (p ≤ 0,05) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 8A – Trimetilamina (mg/100g) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)											
	0	1	2	3	4	6	8	10	12			
0	0,15 ^{bA}	ne	0,41 ^{bAB}	ne	3,26 ^{bBC}	4,04 ^{bB}	5,08 ^{bB}	26,68 ^{aB}	33,28 ^a			
4	0,15 ^{dA}	ne	3,55 ^{cdAB}	ne	8,31 ^{bcAB}	10,77 ^{bA}	30,68 ^{aA}	36,96 ^{aA}				
10	0,15 ^{dA}	2,92 ^{cd}	12,31 ^{cdA}	35,78 ^b	57,91 ^{aA}							

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 9A – Nitrogênio não protéico (mg/100g) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)											
	0	1	2	3	4	6	8	10	12			
0	1012,83 ^{aA}	ne	880,45 ^{aAA}	ne	1037,84 ^{aAA}	1023,76 ^{aA}	1091,12 ^{aA}	1044,48 ^{aA}	972,05 ^a			
4	1012,83 ^{aA}	ne	940,90 ^{aAA}	ne	1019,71 ^{aAA}	1030,08 ^{aA}	1056,06 ^{aA}	1046,71 ^{aA}				
10	1012,83 ^{aA}	1098,56 ^a	1104,71 ^{aA}	1102,65 ^a	1047,89 ^{aA}							

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, (p ≤ 0,05) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 10A – Bactérias psicrotróficas (logUFC/g) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)									
	0	1	2	3	4	6	8	10	12	
0	5,10 ^{dA}	ne	5,43 ^{dB}	ne	6,32 ^{cBC}	7,05 ^{bb}	7,24 ^{bb}	8,06 ^{aA}	8,31 ^a	
4	5,10 ^{cA}	ne	6,77 ^{bAB}	ne	7,64 ^{abAB}	8,16 ^{aA}	8,39 ^{aA}	8,61 ^{aA}		
10	5,10 ^{dA}	7,37 ^c	8,25 ^{bA}	8,76 ^{ab}	8,91 ^{aA}					

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 11A – Bactérias produtoras de urease (logUFC/g) em filés de cação*, durante estocagem a 0°, 4° e 10°C.

Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo de armazenamento (dias)											
	0	1	2	3	4	6	8	10	12			
0	3,45 ^{ea}	ne	3,65 ^{ebc}	ne	4,53 ^{dbc}	5,34 ^{cb}	5,82 ^{bb}	6,35 ^{ab}	6,58 ^a			
4	3,45 ^{da}	ne	4,66 ^{cab}	ne	5,53 ^{bab}	6,48 ^{aa}	6,75 ^{aa}	6,91 ^{aa}				
10	3,45 ^{da}	5,64 ^c	7,80 ^{bba}	8,47 ^a	8,75 ^{aa}							

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas, não diferem significativamente entre si, ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

ne = não efetuado

TABELA 12A – Uréia (mg/100g) em filés de cação*, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.

Condições do ensaio	Temperatura de estocagem (°C)	Tempo de estocagem (dias)								
		0	2	4	6	8	10	12	14	16
Controle	0	642,99 ^{aA}	605,27 ^{abA}	523,84 ^{cdA}	505,04 ^{bcA}	463,66 ^{dA}	271,13 ^{eA}	160,99 ^{fA}		
Ácido acético 1%	0	476,82 ^{aB}	410,88 ^{bB}	360,67 ^{bcB}	329,43 ^{cdB}	298,16 ^{dB}	202,62 ^{eB}	104,34 ^{fB}	90,2 ^f	76,51 ^f
Controle	10	642,99 ^{aA}	469,53 ^{bA}	382,94 ^{cA}	152,68 ^{dA}	67,49 ^{eA}				
Ácido acético 1%	10	476,82 ^{aB}	336,49 ^{bB}	239,58 ^{cB}	92,85 ^{dB}	39,27 ^{dB}				

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

TABELA 13A – Bactérias psicrotróficas (log UFC/g) em filés de cação*, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.

Condições do ensaio	Temperatura de estocagem (°C)	Tempo de estocagem (dias)									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	
Controle	0	4,89 ^{da}	5,40 ^{da}	6,48 ^{ea}	7,68 ^{ba}	7,88 ^{ba}	8,45 ^{abA}	8,79 ^{aA}			
Ácido acético 1%	0	3,72 ^{eb}	4,23 ^{eb}	4,59 ^{deB}	5,36 ^{edB}	5,92 ^{bcB}	6,41 ^{bbB}	6,45 ^{bbB}	7,62 ^a	7,50 ^a	
		0	1	2	3	4					
Controle	10	4,89 ^{ea}	5,35 ^{da}	6,58 ^{ea}	7,49 ^{ba}	8,76 ^{aA}					
Ácido acético 1%	10	3,72 ^{eb}	4,87 ^{dB}	5,56 ^{eb}	6,88 ^{bbB}	7,59 ^{aB}					

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

TABELA 14A – Bactérias produtoras de urease (log UFC/g) em filés de cação*, tratados com ácido acético 1% e tratados com água destilada (controle) durante estocagem a 0° e 10°C.

Condições do ensaio	Temperatura de estocagem (°C)	Tempo de estocagem (dias)									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	
Controle	0	4,15 ^{IA}	4,95 ^{EA}	5,75 ^{EA}	6,68 ^{EA}	6,89 ^{EA}	7,53 ^{BA}	8,57 ^{EA}			
Ácido acético 1%	0	3,15 ^{IB}	3,95 ^{EB}	4,38 ^{DEB}	4,79 ^{IB}	5,38 ^{EB}	5,87 ^{BB}	6,00 ^{BB}	6,72 ^A	7,00 ^A	
		0	1	2	3	4					
Controle	10	4,15 ^{IA}	4,83 ^{EA}	5,65 ^{BA}	5,86 ^{BA}	6,79 ^{EA}					
Ácido acético 1%	10	3,15 ^{EB}	4,23 ^{DB}	5,15 ^{EB}	5,58 ^{BB}	6,79 ^{EA}					

* Valores médios de três repetições

Médias com a mesma letra minúscula nas linhas e maiúsculas nas colunas, não diferem significativamente ($p \leq 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.