



**CAMPUS ITAQUI**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FILÉS DE PIAVA (*Leporinus obtusidens*) ARMAZENADOS SOB CONGELAMENTO**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**Lauren Andrade Vieira**

**Itaqui, RS, Brasil**  
**2013**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais).

V658c      Vieira, Lauren Andrade

Caracterização Físico-Química de Filés de Piava (*Leporinus Obtusidens*)  
Armazenados sob Congelamento / Lauren Andrade Vieira.

52 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade Federal do Pampa,  
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2013.

"Orientação: Graciela Salete Centenaro".

1. Pescado. 2. Avaliador de Frescor. 3. Oxidação Lipídica. 4. Vida Útil. I. Título.

LAUREN ANDRADE VIEIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FILÉS DE PIAVA (*Leporinus obtusidens*) ARMAZENADOS SOB CONGELAMENTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos**.

Orientadora: Graciela Salete Centenaro

Itaqui, RS, Brasil

2013

LAUREN ANDRADE VIEIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FILÉS DE PIAVA (*Leporinus obtusidens*) ARMAZENADOS SOB CONGELAMENTO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos**.

Orientadora: Graciela Salete Centenaro

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: 23 de setembro de 2013

Banca examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Graciela Salete Centenaro

Orientadora

Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos – UNIPAMPA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Angelita Machado Leitão

Avaliadora

Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos – UNIPAMPA

---

Prof. Dr. Valcenir Júnior Mendes Furlan

Avaliador

Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos – UNIPAMPA

## **AGRADECIMENTOS**

A minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Graciela Salete Centenaro pelo apoio, paciência e conhecimentos passados ao longo de sua orientação.

Aos meus pais e meu irmão pelo apoio incondicional e pela paciência dedicados a mim, jamais saberei expressar a gratidão que sinto.

As minhas colegas do grupo de pesquisa, pelo companheirismo, trabalho, pelas horas descontraídas no laboratório e pela ajuda fundamental na realização deste trabalho.

A minha primeira orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Paula Rossini Augusti por ter me iniciado no contexto da pesquisa e pelos ensinamentos científicos e pessoais que me possibilitou durante sua orientação.

Aos professores do curso de Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa pelos conhecimentos transmitidos.

Os meus colegas de turma, especialmente aos meus gêmeos queridos, pelas horas divertidas passadas em sala de aula e pela amizade maravilhosa que me proporcionam.

Aos técnicos dos laboratórios de química e processamento de alimentos pela sempre valiosa ajuda, especialmente a Adriane, Letícia, Jefferson e Bárbara

“Crê em ti mesmo, age e verá os resultados. Quando te esforças a vida também se esforça para te ajudar.”

Chico Xavier

## RESUMO

### CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE FILÉS DE PIAVA (*Leporinus obtusidens*) ARMAZENADOS SOB CONGELAMENTO

Autor: Lauren Andrade Vieira

Orientadora: Graciela Salete Centenaro

Itaqui, 23 de setembro de 2013

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar físico-quimicamente filés de Piava (*Leporinus obtusidens*) bem como avaliar sua vida útil quando armazenados sob congelamento. As Piavas foram adquiridas no município de Itaqui/RS e as análises realizadas no laboratório da Unipampa. Os exemplares foram filetados e seus filés utilizados para as análises físico-químicas e de vida útil. Os filés foram avaliados no dia da captura (tempo 0) e após 30 dias de armazenamento congelado (tempo 1). Os filés foram acomodados em bandejas de poliestireno, cobertos com filme de polietileno e armazenados a  $-18^{\circ}\text{C}$ . No tempo 0 foram realizadas determinações da composição química dos filés, e rendimento. Nos dois tempos (0 e 1), foram realizadas determinações de, pH, atividade de água ( $A_w$ ), cor, dienos conjugados, peróxidos, TBARS e BVT. Os filés de Piava apresentaram rendimento médio de 47,17%. Para umidade, proteínas, cinzas e lipídios, no tempo 0, foram obtidos valores de 71,29, 19,41, 1,03, 6,06%, respectivamente. O pH decresceu entre o tempo 0 (6,89) e tempo 1 (6,49) e a  $A_w$  manteve-se estável entre os dois tempos (0,9941 para tempo 0 e 0,9946 para tempo 1). Os níveis de BVT não diferiram significativamente a 95% de probabilidade (14,00 tempo 0 e 13,00 mg N/100g<sup>-1</sup> tempo 1), assim como os níveis de peróxidos (0,025 e 0,024 mEq/mg lipídio). TBARS e dienos conjugados apresentaram diferença significativa entre o tempo 0 e o tempo 1 (0,004 e 0,006 nmol/mg prot.; 1,46 e 0,46 mg lipídio/ml ciclohexano, respectivamente). Os parâmetros de cor apresentaram valores de  $L^*$  48,00 e 50,56;  $a^*$  -0,92 e -0,73 e  $b^*$  7,64 e 7,52 para os tempos 0 e 1, respectivamente. A Piava demonstrou ser uma boa fonte de proteínas e gordura, com boa estabilidade oxidativa, de degradação lenta, sendo uma espécie com potencial de utilização tecnológica e altamente nutritiva.

Palavras-chave: oxidação lipídica, pescado, vida útil.

## ABSTRACT

### PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF PIAVA'S (*Leporinus obtusidens*) FILLETS DURING FROZEN STORAGE

Author: Lauren Andrade Vieira

Tutor: Graciela Salete Centenaro

Itaqui, September 23<sup>th</sup>, 2013

This study aimed to characterize physicochemically fillets of Piava (*Leporinus obtusidens*) and to evaluate their shelf-life under frozen storage. The piavas were acquired in Itaqui/RS and the analysis performed in the laboratory of Unipampa. Specimens were filleted and their fillets used for physico-chemical and shelf-life analysis. The fillets were evaluated on the day of capture (time 0) and after 30 days of frozen storage (time 1). The fillets were packed in polystyrene trays, covered with plastic wrap and stored at -18°C. At time 0, analysis were made to determinate the chemical composition of the fillets, and income. In the two times (0 and 1), analysis for pH, water activity ( $A_w$ ), color, conjugated dienes, peroxides, TBARS and BVT were made. The fillets of Piava showed average yield of 47.17%. For moisture, protein, ash and lipids were obtained values of 71.29, 19.41, 1.03 and 6.06%, respectively. The pH decreased between time 0 (6.89) and time one (6.49) and  $A_w$  remained stable between the two times (0.9941 to 0 and 0.9946 time 1). BVT levels did not differ significantly (time 0 14.00 and 13.00 mg N/100g<sup>-1</sup> time 1), as well as the levels of peroxide (0.025 and 0.024 mEq/mg lipid). TBARS and conjugated dienes showed significant difference between time 0 and time 1 (0.004 and 0.006 nmol/mg prot.; 1.46 and 0.46 mg lipid/ml ciclohexane, respectively). The color parameters showed values for parameter L \* 48.00 and 50.56; for parameter a \* -0.92 and -0.73 and 7.64 and 7.52 for parameter b\* for the times 0 and 1, respectively. The Piava proved to be a good source of protein and fat, with good oxidative stability, slow degradation, being a suitable specie of technological and nutritional potential.

Keywords: fish, lipid oxidation, shelf-life.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema das principais reações ocorridas durante o processo de peroxidação lipídica.....	23
--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características físicas e rendimento da Piava ( <i>Leporinus obtusidens</i> ).....	35
Tabela 2: Composição química proximal de filés de Piava (( <i>Leporinus obtusidens</i> ).....	36
Tabela 3: Valores de pH e Aw de filés de Piava ( <i>Leporinus obtusidens</i> ).....	37
Tabela 4: Valores de BVT, TBARs, dienos conjugados e peróxidos de filés de Piava recém capturadas e após 30 dias de armazenamento sob congelamento.....	39
Tabela 5: Parâmetros de cor em filés de Piava ( <i>Leporinus obtusidens</i> ).....	40

## ABREVIATURAS

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura

FAO- Food and Agriculture Organization

RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal

LN – Lipídios neutros

LP – Lipídios Polares

AGPI – Ácidos graxos poli-insaturados

EPA – Ácido eicopentaenóico

DHA – Ácido docohexanóico

ATP – Adenosina trifosfato

EROS – Espécies reativas de oxigênio

LPO – Peroxidação lipídica

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

RNS – Substâncias reativas de nitrogênio

DC – Dienos Conjugados

BVT – Bases voláteis totais

DMA – Dimetilamina

TMA – Trimetilamina

MMA – Monometilamina

OTMA – Óxido de trimeilamina

TBA – Ácido tiobarbitúrico

TCA – Ácido tricloroacético

MDA – Aldeído malônico

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	15
2.1 Pescado.....	15
2.1.1 Composição química do pescado .....	16
2.2 Deterioração do pescado .....	19
2.2.1 Alterações post-mortem no pescado .....	20
2.2.2 Oxidação de lipídios .....	21
2.2.3 Bases voláteis totais (BVT) .....	25
2.2.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	26
2.3 Conservação do pescado.....	28
2.3.1 Resfriamento .....	28
2.3.2 Congelamento .....	28
2.4 Potencial hidrogeniônico (pH) .....	29
2.5 Atividade de água (Aw) .....	30
2.6 Cor .....	30
2.7 Piava ( <i>Leporinus obtusidens</i> ).....	31
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Obtenção da matéria-prima.....	32
3.2 Determinação da composição química dos filés .....	32
3.3 Determinação da vida útil sob congelamento.....	32
3.4 Determinação de pH .....	32
3.5 Determinação de bases voláteis totais (BVT).....	33
3.6 Determinação da oxidação de lipídios.....	33
3.6.1 Determinação de TBARS .....	33
3.6.2 Determinação de Dienos conjugados (DC) .....	33
3.6.3 Determinação do índice de peróxidos .....	34
3.7 Determinação de Cor .....	34
3.8 Determinação da atividade de água (Aw).....	34
3.9 Análise estatística .....	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35

4.1 Características físicas da Piava .....	35
4.2 Composição química da Piava .....	36
4.3 Oxidação lipídica e bases voláteis totais (BVT).....	38
4.4 Cor instrumental .....	40
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	42
6 REFERÊNCIAS.....	44

## 1 INTRODUÇÃO

Os últimos dados estatísticos divulgados apontaram que o Brasil produziu em 2011 cerca de 1,25 milhões de toneladas de pescado, sendo 38% cultivados. Esta atividade gerou um PIB de R\$ 5 bilhões, mobilizando 800 mil profissionais entre pescadores e aquicultores e proporcionando 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos. Observa-se que o potencial brasileiro é enorme e o País pode se tornar um dos maiores produtores mundiais de pescado (MPA, 2011).

Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura, em 2010 essa atividade já apresentou significativo crescimento, passando de 278 mil toneladas em 2003 para 415 mil em 2009, o que equivale a 35% de incremento em menos de uma década. Já a produção da piscicultura atingiu 60,2% de crescimento apenas entre 2007 e 2009. Isoladamente a produção de espécies como a tilápia aumentou 105% em apenas sete anos (2003-2009). Em conjunto, a aquicultura cresceu 43,8%, entre 2007 e 2009, tornando a produção de pescado a que mais cresceu no mercado nacional de carnes no período.

O pescado é considerado um dos alimentos mais completos pela quantidade e qualidade de seus nutrientes, sendo que em média 100 gramas deste alimento correspondem a mais de 50% da ingestão diária de proteínas recomendada pela Food and Agriculture Organization (FAO), sendo estas de alto valor biológico e com uma digestibilidade de 80% (CÓRSER et al., 2000). Os peixes de água doce são importantes fontes de vitaminas lipossolúveis A, D, E e K e minerais essenciais como cálcio, fósforo, ferro, cobre, selênio, molibdênio e cobalto. O pescado também é um alimento naturalmente rico em ácidos graxos poliinsaturados do tipo ômega 3 e apresentam baixos níveis de colesterol (KUBOTA e EMANUELLI, 2004).

A Piava (*Leporinus obtusidens*) é uma espécie de água doce encontrada ao longo do sistema hidrográfico do Rio da Prata e nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (HARTZ et al., 2000). Na região da Fronteira Oeste do Rio Grande do Sul esta espécie é de grande importância, sendo muito apreciada devido à alta qualidade de sua carne, pelo seu tamanho e sabor (COSTA, 2004). Embora a Piava seja muito aceita e consumida, na literatura atual se encontram poucos estudos sobre sua composição química e vida útil, seja conservada sob refrigeração ou sob congelamento. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar a composição química da Piava, bem como avaliar sua vida útil armazenada sob congelamento.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Pescado

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA) Decreto nº 30.691, artigo 438, de 1952, o termo pescado abrange peixes, crustáceos, moluscos, anfíbios e quelônios, habitantes dos meios aquáticos, de água doce ou salgada, destinados à alimentação humana (BRASIL, 1997).

O Ministério da Pesca e Aquicultura, através de Boletim Estatístico, divulgou que a produção de pescado no Brasil em 2010 foi de 1.264.765 toneladas. A pesca extrativa marinha continuou sendo a principal fonte de produção de pescado nacional, sendo responsável por 536.455 toneladas do total produzido no país (cerca de 42,4% de pescado), seguida pela aquicultura continental, que apresentou um valor de 394.340 toneladas de pescado, cerca de 31,2% da produção nacional, da pesca extrativa continental, com 248.911 toneladas de pescado (19,7%) e da aquicultura marinha com 85.057 toneladas (6,7%). No ano de 2010 foi observada uma redução de 8,4% na produção de pescado advinda da pesca extrativa marinha em relação a 2009, resultando em um decréscimo de 49.217 toneladas. Entretanto, a produção da pesca extrativa continental e da aquicultura continental e marinha obtiveram um aumento de produção em relação a 2009, de 3,9, 16,9 e 9%, respectivamente.

Os peixes são compostos basicamente por água, lipídeos e proteínas, podendo estes componentes variar de acordo com a espécie, sendo a fração lipídica a que apresenta maior variabilidade. A quantidade de lipídeos pode variar ao longo do ciclo de vida de uma mesma espécie e chegar a valores mínimos durante o período de ovulação. Já a fração de carboidratos em pescado é mínima, e é comum nos músculos estriados, onde se apresenta como glicogênio e como constituinte dos nucleotídeos (ABABOUC, 2005).

Do ponto de vista nutricional, considera-se o pescado um alimento que reduz o risco de doenças crônicas e é fonte de nutrientes indispensáveis (SCHAAF SMA, 2008). Além da presença de ácidos graxo ômega-3, o pescado apresenta baixo teor de gorduras saturadas, elevado conteúdo de proteínas de alta qualidade e

digestibilidade, baixo teor calórico e outros nutrientes essenciais como as vitaminas lipossolúveis, especialmente o calciferol (vitamina D) e tocoferol (vitamina E) e minerais como o selênio, iodo, magnésio e zinco (HEALTH CANADA, 2009).

### **2.1.1 Composição química do pescado**

A água é o principal componente do pescado, chegando a constituir até 80% de sua porção comestível. Cerca de 15 à 25% da umidade da carne do pescado encontra-se ligada à proteínas e carboidratos, denominando-se água de constituição, a outra fração, chamada de água livre, é aquela que está envolvida na estrutura da rede do músculo e do tecido conectivo. (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; OGAWA, 1999).

Quanto as proteínas do pescado, a maioria dos componentes nitrogenados está ligada a elas, porém o tecido muscular contém de forma igualitária compostos nitrogenados não proteicos (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). O pescado apresenta uma concentração de proteína de 11-27% de proteínas em sua composição total. Em comparação a outras carnes, como a bovina e a de frango, o pescado apresenta aproximadamente a mesma quantidade de proteínas, porém com elevada quantidade de aminoácidos essenciais, dentre eles lisina e metionina. Dessa forma, a digestibilidade da carne de pescado é elevada, fazendo com que ela apresente um valor biológico superior ao de outras fontes animais (KUBOTA E EMANUELLI, 2004). A alta digestibilidade é atribuída à maior fração miofibrilar cuja digestibilidade é superior à das proteínas do tecido conjuntivo. Outro fator citado é o menor comprimento da fibra muscular do pescado, que resulta em uma maior área de atuação das enzimas digestivas (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). Dependendo da solubilidade, as proteínas podem ser divididas em: sarcoplasmáticas (20 a 30% da carne de pescado), as quais são solúveis em água e a maioria tem atividade enzimática e miofibrilares (65 a 75% da carne), que são importantes do ponto de vista nutritivo e tecnológico. Quando a carne de pescado é processada a qualidade proteica é mantida, porém quando congelada, deve-se ter cuidado, pois um descongelamento errôneo pode levar à extração de boa parte das proteínas (OETTERER, 2012).

O conteúdo lipídico do pescado pode sofrer variações significativas dependendo da época do ano, alimentação, temperatura da água, salinidade, espécie, parte do corpo analisada, entre outras. As variações lipídicas entre indivíduos da mesma espécie são acentuadas, bem como entre as espécies. Os lipídios nos peixes podem abranger dois grandes grupos: o grupo dos lipídios neutros (LN) e o grupo dos lipídios polares (LP). Os LN são constituídos de triacilgliceróis, hidrocarbonetos, carotenóides, vitaminas, esteróis, alquil e alquenilesteres de diacilgliceróis, álcoois graxos e ceras, sendo a principal forma de estocagem de energia. Os LP compreendem os glicolipídios, fosfolipídios e colesterol e são os componentes principais da parede celular, mitocôndria e outras estruturas subcelulares (OGAWA, 1999).

Os lipídios são moléculas orgânicas compostas por ácidos graxos e ácidos carboxílicos, com longas cadeias não-ramificadas formadas por inúmeros pares de átomos de carbono unidos por ligações simples ou duplas (TORRINHAS, 2009). Em muitas espécies de pescado, os lipídios são o segundo maior componente bioquímico após a proteína e o peixe é uma opção única quando comparado a outras carnes quando se refere ao seu perfil lipídico, apresentando quantidades reduzidas de gorduras saturadas e elevada quantidade de ácidos graxos poli-insaturados (FALCH, 2010).

Os ácidos graxos que se encontram em maior concentração no pescado são os ácidos graxos poli-insaturados (AGPI). As famílias de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 consistem de ácidos graxos contendo de 18 a 22 carbonos. A designação ômega tem relação com a posição da primeira dupla ligação, contando a partir do grupo metílico final da molécula do ácido graxo. Os ácidos graxos ômega-3 tem a primeira dupla ligação entre o terceiro e o quarto átomo de carbono e os ômega-6 têm a primeira dupla ligação entre o sexto e o sétimo átomo de carbono (WILEY, 1979). Os principais ácidos graxos ômega-3 são o ácido linolênico, o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA). Os principais ômega-6 são o ácido linoléico e o ácido araquidônico (KINSELLA, 1990; MAYSER et al., 1998). Apesar das características benéficas à saúde, nem todos os peixes são iguais e suas qualidades nutritivas variam, principalmente em relação à gordura. A composição total de lipídeos, bem como os ácidos graxos, pode encontrar-se em diferentes proporções nos tecidos (GUILLOU et. al., 1995).

A síntese de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, como o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), a partir do ácido ômega-linolênico utiliza algumas vias que incluem os estágios de alongamento de cadeias. Esse alongamento é realizado pelas enzimas elongases e de dessaturação, moduladas pelas deltassaturases. A dessaturação insere ligações duplas em pontos específicos da cadeia, sendo que as deltadessaturases limitam a velocidade na via de alongamento do ácido graxo essencial original. Por isso os ácidos graxos ômega-linolênico e linoleico competem pelas mesmas elongases e dessaturases (TORRINHAS, 2009).

O ácido ômega-linolênico (18:3 ômega-3) não pode ser sintetizado no organismo humano, sendo considerado essencial, pois é obtido somente através da dieta. Sua deficiência pode causar sintomas neurológicos, redução da acuidade visual, lesões na pele, retardo no crescimento, diminuição da capacidade de aprendizado e eletrorretinograma anormal (TORRINHAS, 2009).

Quando o ômega-6 (ácido linoleico) prevalece na dieta, o metabolismo do ácido araquidônico predomina e a conversão do ômega-3 em EPA e DHA tende a ser limitada. A alta ingestão dietética de EPA e DHA diminui a concentração de ácido araquidônico e aumenta as concentrações de EPA e DHA, resultando em mudanças no equilíbrio dos eicosanoides, mediadores inflamatórios de origem lipídica, sintetizados a partir dos ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 (CALDER, 2004). Os eicosanoides provenientes do ácido graxo ômega-3 desempenham importantes funções no equilíbrio do sistema imune e atuam como cofatores enzimáticos e componentes celulares, garantindo a manutenção da fluidez e das funções da membrana e dos fosfolípidos plasmáticos (TORRINHAS, 2009).

Uma elevada relação de ômega-6 em relação ao ômega-3 poderá inibir a conversão do ácido linolênico à DHA. Já uma baixa relação inibirá a conversão do ácido linoleico à ácido araquidônico. A garantia para uma boa utilização dos AGPI exige uma proporção entre ômega-6 e ômega-3 entre 5:1 à 10:1, sendo sua relação importante na dieta. As principais fontes de ômega-3 são óleos vegetais como soja e linhaça, pescado e principalmente óleo de peixe, fornecedores de uma mistura de EPA e DHA, sendo peixes com elevado teor de gordura e água fria as principais fontes alimentares destes ácidos graxos. (FAO, 1994).

Os minerais representam 1,5% da composição química bruta do pescado e são influenciados pela qualidade da água ambiente e alimentação. A maioria dos minerais está contida no músculo do peixe, sendo Na, K, Ca, Mg, P, Cl e S normalmente majoritários e Cu, Fe, Mn, Co, Al, Ni, Zn, I e Br minoritários. Dentre esses elementos Na, K, Ca, e Cl encontram-se presentes no estado inorgânico e ligados a proteínas, lipídios e açúcares (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994). Segundo Ababouch (2005), a carne de pescado possui baixo teor de sódio, tornando-o opção viável em dietas restritivas para este mineral.

Segundo Machado (1984), o conteúdo de carboidratos no peixe é baixo, cerca de 0,3 a 1%. Caula (2008), em estudo realizado com diferentes espécies marinhas e de água doce, demonstrou que o conteúdo de carboidratos para pargo, tilápia e sardinha foi de 0,5, 0,6 e 0,3%, respectivamente.

O pescado de água doce é considerado fonte importante de vitaminas do complexo B, vitaminas lipossolúveis A, D, E e K e minerais essenciais como cálcio, fósforo, ferro, cobre, selênio, molibdênio e cobalto (KUBOTA e EMANUELLI, 2004).

## **2.2 Deterioração de pescado**

O termo deterioração refere-se às alterações que ocorrem no alimento, tornando-o menos palatável ou até mesmo impróprio para consumo. Essas alterações, geralmente, se caracterizam por mudanças no sabor, odor, aparência ou textura. Os peixes apresentam grande tendência à deterioração devido à atividade de enzimas autolíticas, ação de micro-organismos presentes em sua superfície e no trato gastrointestinal, facilitada pelo pH final elevado da carne, disponibilidade de substratos nitrogenados não protéicos, e à oxidação de lipídios, facilitada pelos seus ácidos graxos poli-insaturados. Sendo assim, é necessário adotar cuidados especiais na sua conservação (KUBOTA e EMANUELLI, 2004).

A deterioração do pescado pode ocorrer por três principais vias: atividade microbiana, deterioração química não relacionada à micro-organismos e ataque de insetos e outros animais. O músculo do peixe vivo geralmente é estéril, mas as bactérias presentes nas vísceras e na pele podem penetrar nos músculos após o abate (KUBOTA e EMANUELLI, 2004).

### 2.2.1 Alterações post-mortem no pescado

Após a morte do animal, o músculo não se converte instantaneamente em carne. Uma reserva limitada de nutrientes, na forma de glicogênio muscular, segue possibilitando a síntese de Adenosina trifosfato (ATP), que não cessa logo após o abate, perdurando por certo período de tempo para a manutenção das funções musculares. A falência do sistema circulatório provoca alterações no mecanismo de utilização da energia, uma vez que o oxigênio disponível para o metabolismo aeróbio não existe mais (HAARD, 2002; ORDÓÑEZ, 2005).

De acordo com o grau de utilização do ATP remanescente no músculo post mortem e o grau de contração muscular resultante desta utilização, o período em que essas alterações aparecem, normalmente, se distribui em três etapas: pré-rigor mortis, rigor mortis e pós-rigor mortis. A fase de pré-rigor é compreendida entre a morte do animal e o início da contração muscular. Nesta fase o músculo ainda se encontra flexível e responde a estímulos elétricos do cérebro. A duração desta fase é dependente das reservas de ATP e glicogênio no momento do abate. Qualquer situação que as possa reduzir, diminuirá o período de pré-rigor, o que afetará proporcionalmente a duração do período de rigor mortis (ORDÓÑEZ, 2005; OGAWA, 1999).

O rigor mortis está associado aos estágios iniciais de deterioração do pescado e pode ser considerado como uma contração muscular irreversível (TAVARES, 1988). A fase de rigor mortis é caracterizada pelo desenvolvimento de uma condição de rigidez e inflexibilidade no músculo, o que ocorre quando o pH do músculo cai, estando associado à formação do complexo actomiosina no músculo do peixe (KOBELITZ, 2010). Peixes geralmente apresentam um período de rigor mortis entre 1 e 7 horas após o abate. Se o peixe é retirado rapidamente da água e logo é sacrificado, o rigor demora mais tempo a aparecer, ao contrário de animais mortos por asfixia (PEREDA et al., 2005).

Na fase de pós-rigor, a carne torna-se gradualmente mais macia e sensorialmente aceitável durante o progresso da maturação, porém é nesta fase que começam a aparecer sinais de deterioração, seja de origem bacteriana ou química (KOBELITZ, 2010). Durante a deterioração, pode-se desenvolver odores desagradáveis na carne. No início desta fase o sabor pode ser ligeiramente

avinagrado, frutado, ou até mesmo ligeiramente amargo principalmente no caso dos peixes gordos. Com o avançar do tempo, torna-se enjoativo, adquire sabor amoniacal, sulfuroso e começa-se a desenvolver um cheiro a ranço. A textura torna-se mole e aquosa ou seca e dura (HUSS, 1995).

### **2.2.2 Oxidação de lipídios**

A oxidação lipídica é o principal fator que limita a vida útil do pescado e seus produtos congelados. Quanto mais baixa for a temperatura de armazenagem maior será o tempo que o produto se conservará, pois a baixa temperatura retarda o processo de oxidação. Assim, pescado armazenado no congelador de refrigeradores comuns, apresentarão menor vida útil que aqueles congelados em congeladores com temperatura à  $-18^{\circ}\text{C}$ . O congelamento aumenta consideravelmente a vida útil dos peixes (KUBOTA e EMANUELLI, 2004)

As reações de oxidação em lipídios estão entre as mais frequentes em alimentos. Podem ser causadas pelo oxigênio atmosférico e em menor grau pelo ozônio, peróxido, metais e outros agentes oxidantes. As reações de oxidação ocorrem quando elétrons são removidos de um átomo ou grupos de átomos, e para cada reação de oxidação há uma reação de redução correspondente envolvendo a adição de elétrons a um átomo ou grupo de átomos. Resumidamente, a oxidação pode ser definida como o processo no qual o oxigênio é adicionado ou o hidrogênio é removido. O componente que é reduzido e ganha elétrons é o oxidante. Em alimentos, o oxidante mais comum é o oxigênio. No pescado, a oxidação é acentuada imediatamente após o abate e durante o processamento, pela decorrência da destruição da integridade das membranas celulares, e pelo corte do músculo, o que facilita a propagação das reações oxidativas (MORRISSEY et al., 1998).

No músculo do pescado, a oxidação da gordura pode ser causada por compostos químicos ou espécies reativas ao oxigênio (EROS), que provocam a quebra das ligações duplas nas frações fosfolipídicas das membranas celulares, que no caso dos peixes são mais suscetíveis a essas reações pois possuem maior grau de insaturação (RUFF et al., 2004). A oxidação prejudica a fluidez das membranas e altera sua função como barreira semipermeável devido à perda de ácidos graxos

poli-insaturados essenciais como o ômega-3 e à formação de hidroperóxidos, aldeídos e outros produtos tóxicos secundários (SASAKI et al., 2001).

As reações de oxidação resultam na formação de hidroperóxidos instáveis que se decompõe em radicais peróxi ou alcóxi. Esta fase inicial do evento é conhecida como peroxidação lipídica (LPO). Os peróxidos, por sua vez, oxidam os lipídios ou se convertem em compostos carbonílicos, mais estáveis. O principal composto que se origina é o ácido malônico. Esses compostos carbonílicos formados são genericamente denominados substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O ácido malônico é capaz de interagir com outros compostos como aminas, nucleosídeos, ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos e outros aldeídos que também são produtos finais da oxidação lipídica (SHINMOTO et al., 1992).

A peroxidação lipídica pode ser definida como uma série de eventos bioquímicos resultantes da ação dos radicais livres sobre lipídios insaturados, formando principalmente  $L^{\bullet}$  (radical lipídico),  $LO^{\bullet}$  (radical peroxila) e  $LOO^{\bullet}$  (hidroperóxido lipídico), levando a destruição de sua estrutura, falência dos mecanismos de troca de metabólitos e, em uma condição extrema, a morte celular (BENZIE, 1996).

A peroxidação lipídica (LPO) consiste, basicamente, na incorporação de oxigênio molecular a um ácido graxo poli-insaturado para produzir hidroperóxidos lipídicos (LOOH) como produto primário de iniciação. Em sistemas biológicos a LPO pode ocorrer por via enzimática e não-enzimática. Na via enzimática ocorre oxigenação dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) pela ação das ciclooxigenases e lipoxigenases. A via não enzimática de peroxidação envolve a participação de EROS, espécies reativas de nitrogênio (RNS), metais de transição entre outros RL (PORTER et al., 1995). A LPO é um fenômeno inevitável e está intimamente ligada à rancidez, sendo capaz de propagar-se através de uma reação em cadeia, também chamada autooxidação. Essa reação necessita de um catalisador que converta o oxigênio tripleto em singleto. Isto pode ocorrer via radiações, ou por agentes redutores, enzimáticos ou não. Os produtos da reação catalisarão novas reações, geralmente descritas como reações de iniciação, propagação e terminação. (SIMEONIDOU et al., 1998).

Na iniciação ocorre a subtração de um átomo de hidrogênio de um grupo metilênico (LH) entre duas duplas ligações cis de um ácido graxo insaturado, com a formação de um radical alílico estável com deslocamento de elétrons ao longo de três átomos de carbono. Na fase de propagação, o radical lipídico (L<sup>•</sup>) formado na iniciação reage com oxigênio molecular para formar radicais peroxila (LOO<sup>•</sup>) que, por sua vez, reagem com as cadeias laterais de outras moléculas de ácidos graxos poliinsaturados, formando hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e radicais lipídicos (L<sup>•</sup>), estes últimos sofrendo uma estabilização de ressonância que resulta numa mistura de hidroperóxidos isoméricos contendo grupos de dienos conjugados (DC) (KUBOW, 1992)

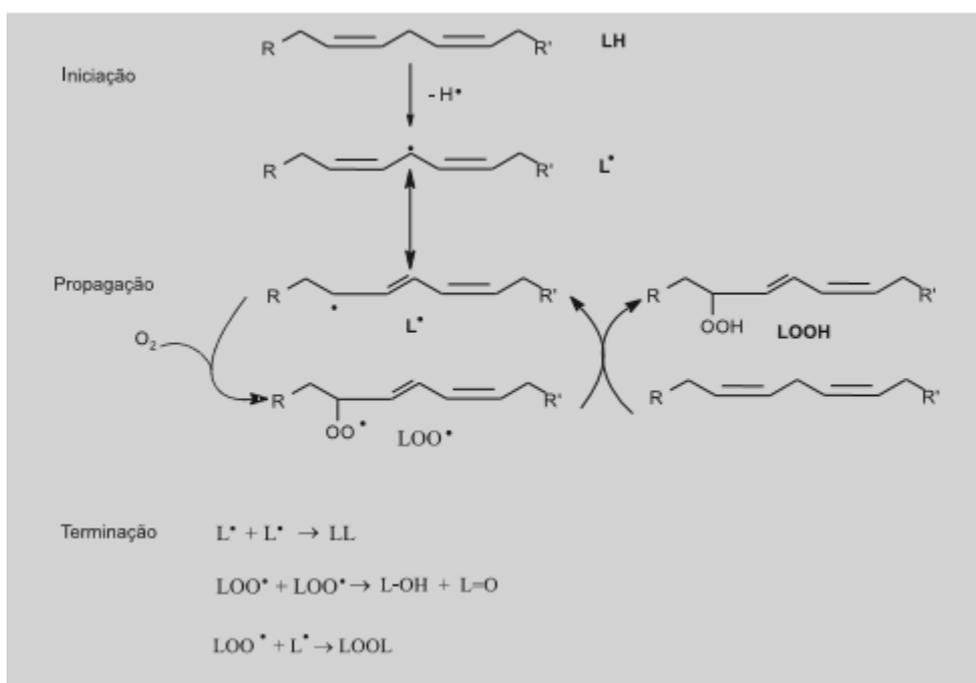
A fase de iniciação representa o início da peroxidação, onde o AGPI sofre ataque de uma espécie que é suficientemente reativa para subtrair um átomo de hidrogênio de um grupo metileno (CH<sub>2</sub>) com a formação de um radical de carbono. Esse radical é estabilizado por um rearranjo molecular e forma um dieno conjugado (DC), ou seja, duplas ligações intercaladas por uma ligação simples (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

Veeck (2013), em estudo realizado com filés de dourado (*Salminus brasiliensis*) armazenados sob congelamento durante 12 meses observou um aumento no nível de DC em 6 meses de armazenamento e, após, um decréscimo nestes níveis. Esse aumento foi explicado devido à taxa mais rápida de formação de DC do que sua degradação em produtos secundários durante os primeiros meses de armazenamento congelado. Porém o decréscimo dos níveis de DC após 6 meses de armazenamento pode refletir a sua alta degradação em produtos secundários

Em meio aeróbio, o radical alquila formado na iniciação reage com oxigênio molecular e forma radicais peroxila, o qual pode reagir com as cadeias laterais de outras moléculas de ácidos graxos poli-insaturados, abstraindo um hidrogênio e formando outros radicais de carbono, dando início à etapa de propagação. Nesta fase são formados hidroperóxidos lipídicos e radicais lipídicos. A abstração de átomos de hidrogênio por radicais peroxila é o passo mais lento e limitante da propagação (KUBOW, 1992). Íons de metais de transição (Fe<sup>+</sup> e Cu<sup>+</sup>) podem participar do processo e catalisar a formação de radicais lipídicos como a alcóxila, peroxila e hidroxila a partir dos hidroperóxidos formados (LIMA, 2001).

A terceira e última fase da reação é a terminação. Nessa fase ocorre a aniquilação dos radicais formados originando produtos não radicalares, seja pela combinação de radicais formando polímeros não-radicalares ou pela presença de hidrogênio ou outro doador de elétrons (KUBOW, 1992). Os radicais peroxila e alcoxila podem sofrer dismutação ou quebra formando aldeídos, ligação covalente com resíduos de aminoácidos ou ainda sofrer um rearranjo formando produtos secundários de LPO (SPITELLER, 1998).

Figura 1 - Esquema das principais reações ocorridas durante o processo de peroxidação lipídica.



Fonte: Lima, 2011.

O principal produto secundário da oxidação lipídica é o malondialdeído (TBA). Esse composto é considerado potencialmente cancerígeno e mutagênico. O colesterol também pode ser concomitantemente oxidado e formar óxidos com propriedades citotóxicas, aterogênicas, cancerígenas e mutagênicas. A oxidação do colesterol é melhor observada no processamento e estocagem (PEREIRA, 2005).

### 2.2.3 Bases voláteis totais (BVT)

Quando armazenado sob refrigeração, o pescado pode ser deteriorado por ação enzimática e bacteriana o que causa a formação de compostos nitrogenados como a dimetilamina (DMA), trimetilamina (TMA), amônia, putrescina, cadaverina e espermidina (WHITTLE e WOOD, 1992). As BVT são formadas pela amônia, TMA, DMA e pela monometilamina (MMA), sendo que o composto mais proeminente é a amônia, produzida principalmente pelas enzimas endógenas e de origem bacteriana (SIKORSKI et al., 1990).

Na carne de pescado magro, o nível de BVT é resultante de um processo autolítico que age na hidrólise das proteínas, no desdobramento enzimático endógeno da creatinina e do óxido de trimetilamina (OTMA). As enzimas endógenas são as principais responsáveis pela perda do frescor nos primeiros momentos post-mortem, além do baixo conteúdo de glicogênio no tecido muscular, que leva o músculo a um valor de pH próximo à neutralidade. Após, o principal responsável pela perda do frescor são as enzimas bacterianas. Em peixes de água doce espera-se um nível de BVT usualmente baixo, pois o OTMA não está presente no músculo. Nesse caso, o principal responsável pelo aumento do pH vem da deterioração conduzida por ação de enzimas exógenas de bactérias deteriorantes (HUSS, 1997; KYRANA, 2002).

De acordo com Contreras-Guzman (1994), pescado marinho e de água doce apresentam evolução no teor de BVT diferentes quando armazenados. Espécies de água doce dificilmente alcançam o limite de aceitação de BVT no pescado (CONNEL, 1995). No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece o valor de 30 mg/N.100 g<sup>-1</sup> como limite máximo de BVT para pescado fresco (BRASIL, 1997).

O teor de BVT pode ser indicativo de grau de conservação do pescado, pois está diretamente ligado à deterioração do produto. O método quantifica, além das BVT já presentes no pescado fresco, produtos da degradação microbiológica ou autolítica de compostos nitrogenados (TAVARES, 2005).

O pH do músculo encontra-se, geralmente, em condições neutras (7-7,5). Sob tais condições, estes compostos estão em sua forma iônica e são completamente solúveis em água. O método de determinação de BVT baseia-se na elevação do pH

para levar os compostos nitrogenados à sua forma não-iônica, ou seja, volátil. No método realizado por destilação, o pH da solução deve ser de, no mínimo, 10,6 para que as bases estejam 99% livres, o que se consegue com adição de solução de hidróxido de sódio ao extrato de músculo de pescado em ácido tricloroacético (GIANNINI, 2003).

As BVT ocorrem no músculo dos peixes devido ao desdobramento das proteínas por ação enzimática e bacteriana resultando em produtos finais aminas e situando-se entre estas, substâncias voláteis simples. Estas aminas aumentam progressivamente com a deterioração, sendo determinadas no tecido muscular sob a forma de Base Nitrogenada Volátil Total (MORGA, 1975). Peixes considerados em excelente estado de frescor apresentam teor de BVT entre 5 a 10 mg N/100g<sup>-1</sup> de músculo, peixes considerados razoavelmente frescos podem atingir entre 15 a 25 mg N/100 g<sup>-1</sup>. No início da putrefação, os teores de BVT podem atingir de 30 a 40 mg N/100 g<sup>-1</sup>. Quando muito deteriorado o pescado, tal conteúdo pode encontrar-se acima de 50 mg N/100 g<sup>-1</sup> (OGAWA et al.1999).

Almeida (1998), em trabalho realizado com tambaqui de cultivo armazenado em gelo por 30 dias, obteve níveis de BVT entre 5,85 a 36,63 mg N/100g<sup>-1</sup>. Estudo realizado com o matrinxã (*Brycon cephalus*) apresentaram resultados de 19,57 mg N/100g<sup>-1</sup> no músculo após 16 dias de armazenamento sob congelamento e 33,33 mg N/100g<sup>-1</sup> após 29 dias de armazenamento sob congelamento (BATISTA, 2002).

#### **2.2.4 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Um dos parâmetros mais utilizados para verificar qualidade de pescado é o índice de ácido tiobarbitúrico (TBA). Diferentemente do conteúdo de BVT, não há para valores de TBARS limites estabelecidos pela legislação, acima dos quais o pescado está oxidado sob o ponto de vista lipídico ou impróprio para consumo. Entretanto, a análise de TBARS é vastamente utilizada para avaliar peroxidação lipídica em produtos cárneos frescos e congelados. Essas substâncias são produzidas em quantidades consideráveis a partir de ácidos graxos contendo três ou mais insaturações (GUILLÉN-SANS, 1998). Mesmo com as limitações inerentes, a determinação de TBARS é a mais empregada em estudo de pescado, tanto pela simplicidade quanto pela eficiência com que se relaciona com os eventos da

oxidação lipídica. O fundamento teórico do método baseia-se na formação de um cromógeno róseo a partir da condensação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) com uma de aldeído malônico (WILKINSON et al., 2001), ainda que possa haver a formação de cromógenos alaranjados ou amarelos por interferência de outros compostos presentes no meio (GUILLÉN-SANS, 1998).

Dentre os diversos protocolos propostos para aplicação do método, a extração da amostra é feita em ácido tricloroacético (TCA) anteriormente à reação com TBA. Essa metodologia é adequada pois evita a exposição da matriz cárnea diretamente ao tratamento térmico posterior. O tempo de aquecimento do reagente e da amostra varia entre 5 e 60 minutos (BENZIE, 1996). O teste de TBARS quantifica o aldeído malônico (MDA) que é um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de AGPI formado durante o processo oxidativo. (CECCHI, 1999).

A reação ocorre em meio ácido (pH 1-2) e alta temperatura (cerca de 100°C) visando a aumentar sua velocidade e sensibilidade. Alguns aldeídos não provenientes da degradação lipídica, como acetaldeído e produtos de reações de Maillard, podem reagir com o TBA, especialmente quando a concentração de aldeído malônico é pequena. Sacarose e glicose e alguns outros açúcares podem apresentar sinergismo na formação de TBARS, superestimando o resultado do teste. Além disto, o aldeído malônico pode não reagir com o TBA estando complexado com outros compostos (SILVA et al., 1999).

Especialmente para produtos cárneos, pescados e derivados, a informação do número de TBARS é muito importante. Processos envolvidos na elaboração de produtos cárneos que incluam moagem, mistura e cozimento, favorecem a formação de aldeído malônico, sendo esta análise fundamental para avaliação da qualidade do produto final (RAHARJO, 1993). Particularmente para pescados e produtos à base de peixe, o teste é um dos mais adequados na predição da rancidez, apesar da reação não ser específica e estar sujeita à ação de interferentes (ALDOMÁS et al., 1986).

## **2.3 Conservação do pescado**

### **2.3.1 Resfriamento**

O resfriamento é a medida de controle mais importante para a qualidade do pescado fresco, incluindo a segurança microbiológica. Quando se reduz a temperatura imediatamente a 0°C após a despesca e mantendo-se a cadeia de frio, pode-se controlar os processos enzimáticos e a deterioração bacteriana por até 14 dias (HARVIE, 1998; HEDGES, 2000; HUSS, 1995). A chave para conservação do pescado é o imediato resfriamento, ou seja, no momento da captura, para uma temperatura ligeiramente acima do ponto de congelamento e a manutenção desta temperatura até posterior processamento. O resfriamento tradicional do pescado e os métodos para sua preservação incluem gelo, misturas de água e gelo, água do mar refrigerada e água do mar resfriada (WANG, 2003).

Usualmente, o gelo é usado no pré-resfriamento do pescado. Um bom contato entre o gelo e o pescado que permita a boa transferência de calor para o gelo e o derretimento ao redor do gelo são algumas das exigências para este procedimento. Uma desvantagem do gelo é sua utilização trabalhosa, sendo que o contato com o gelo para pescado em caixas pode não ser o ideal (HEDGES, 2000). É possível o resfriamento rápido com gelo, capaz de manter a aparência do pescado brilhante e atraente, impedindo a perda de umidade e o congelamento parcial, já que o gelo mantém o pescado numa temperatura ligeiramente acima do ponto de congelamento (HARVIE, 1998).

### **2.3.2 Congelamento**

O objetivo do armazenamento congelado do pescado é prolongar a vida útil e limitar a atividade enzimática e microbiana, retardando sua deterioração (TSIRONI, 2009). A temperatura média do ar normalmente recomendada para armazenamento do pescado congelado é de -18°C a -30°C. A ação de micro-organismos cessa abaixo de aproximadamente -10°C, mas as reações químicas que levam a alterações irreversíveis no odor, sabor e aparência continuam lentamente (GORMLEY, 1999). No Código de Prática para o Peixe e Produtos da Pesca (FAO,

2009), a instalação do armazenamento sob congelamento deve ser capaz de manter a temperatura do pescado em valores de  $-18^{\circ}\text{C}$  e com oscilações mínimas de temperatura.

O processo de congelamento deve ser realizado em equipamentos adequados, de tal forma que a temperatura de cristalização máxima passe rapidamente. Os métodos de congelamento tem um efeito importante sobre o conteúdo de água no pescado e o congelamento rápido produz uma qualidade melhor na medida que induz a formação de pequenos cristais de gelo, distribuídos no músculo enquanto o congelamento lento produz grandes e danosos cristais de gelo (JOHNSON, 1994).

No congelamento lento há produção de grandes cristais de gelo nas células do pescado, podendo romper as paredes celulares e o aumento na concentração de sais e compostos químicos durante o congelamento, fatores que podem acelerar a autólise. Em temperaturas próximas de  $0^{\circ}\text{C}$  alguns tipos de bactérias podem se desenvolver e deteriorar o produto. No produto congelado lentamente há maior perda de fluido, ou seja, maior exsudação durante o descongelamento (CARNEIRO, 1999). Já no congelamento rápido, cristais muito pequenos são formados dentro e fora da estrutura celular e poucas mudanças são observadas na estrutura do músculo. A desnaturação é limitada e ao retornar para temperatura ambiente o tecido muscular encontra-se em estado próximo ao original. Oscilações da temperatura de estocagem favorecem o crescimento de cristais de gelo e a aceleração de reações que reduzem a qualidade do produto, além de provocar maior liberação de líquidos (NEVES FILHO, 1992)

No padrão de temperatura de armazenamento congelado ( $-25^{\circ}\text{C}$ ), as mudanças no sabor e textura, desnaturação proteica, oxidação lipídica, alterações sensoriais e alterações por desidratação do pescado congelado serão notadas após alguns meses de armazenamento, porém estas mudanças são muito mais lentas que no pescado armazenado sob refrigeração (HARVIE, 1998; JOHNSON, 1994).

## **2.4 Potencial hidrogeniônico (pH)**

A determinação do pH é um importante dado na avaliação da qualidade de diversos alimentos. A concentração de íons hidrogênio é geralmente alterada

quando se processa a decomposição hidrolítica, oxidativa ou fermentativa de seu músculo. Dessa forma, quanto mais elevado o pH, maior a atividade bacteriana (NOLLET, 2010; SAKUMA, 2005; TAVARES, 2005). De acordo com o RIISPOA, a faixa ideal de pH que o pescado deve apresentar para ser considerado próprio para consumo varia entre 6,5 a 6,8.

Enquanto a deterioração bacteriana avança no músculo do pescado, há acúmulo de produtos de natureza básica, como TMA, DMA, amônia e algumas bases orgânicas. Dessa forma, os valores de pH do músculo do pescado aumentam de forma lenta no início, e rapidamente no final da deterioração (SIQUEIRA, 2001).

ALMEIDA et al., (2006), estudaram as alterações post-mortem em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo e, através da análise de pH, observaram valores médios que variaram entre 6,07 a 6,66 durante 49 dias de estocagem. No início do experimento, o pH apresentou pequenas variações. No período de estocagem, entre 19 a 43 dias, foi observado aumento do pH, coincidindo com os dados da avaliação sensorial das características físicas que mostraram, nesse período, uma acentuada perda da qualidade, passando o pescado da “qualidade B” para a “qualidade C”.

## **2.5 Atividade de água (Aw)**

O conhecimento da atividade de água (Aw) é um dos fatores determinantes para garantir a qualidade do alimento. O limite máximo de água disponível para o desenvolvimento microbiano é dependente da Aw do alimento, sendo que o limite mais baixo para o crescimento de micro-organismos está em torno de 0,60. Em uma escala entre um e 0,60 de Aw, podem crescer um número elevado de micro-organismos, incluindo alguns patógenos (RAHMAN et al., 2004).

## **2.6 Cor**

A cor instrumental pode ser utilizada como parâmetro para estabelecimento de padrão de qualidade de um produto *in natura* ou processado (GIMENO et al., 2000), ou ainda como fator de qualidade determinante da vida útil de um produto, quando se estuda a sua variação com o tempo de estocagem (GONZÁLES et al.,

1999). O máximo valor de  $L^*$  (luminosidade) é 100, e representa uma perfeita reflexão difusa, enquanto que o valor mínimo é zero e constitui o preto. Os eixos  $a^*$  e  $b^*$  não apresentam limites numéricos específicos. A coordenada  $a^*$  varia do vermelho (positivo) ao verde (negativo), e a coordenada  $b^*$  do amarelo (positivo) ao azul (negativo). Esses parâmetros são frequentemente utilizados no controle de qualidade e ajustes de formulação (HUNTERLAB, 1996).

## 2.7 Piava (*Leporinus obtusidens*)

A Piava é uma espécie de pescado pertencente à família Anostomidae e é encontrada ao longo do sistema hidrográfico do Rio da Prata e nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (HARTZ et. al., 2000). A família Anostomidae se encontra dentro da ordem dos Characiformes e compreende um grupo de 12 gêneros, apresentando uma ampla distribuição na América do Sul e Central, com representantes em todas as bacias hidrográficas brasileiras (GÉRY, 1977).

No baixo rio Uruguai, a Piava é uma espécie de importância comercial e recreativa. A alimentação de juvenis e adultos é diversificada e são considerados onívoros de amplo espectro, alimentando-se de insetos, restos de peixes e vegetais, o que proporciona vantagem no aproveitamento dos alimentos (ANDRIAN et al., 1994; SANTOS, 2000; RIBEIRO et al., 2001)

Segundo alguns autores, a piava (*Leporinus obtusidens*) é considerada como uma espécie que possui considerável teor de gordura. Em estudo realizado por Pivoto et al., (2011) a composição química de filés de Piava, apresentou em torno de 49,9% de proteína bruta, 40,5% de gordura, 32,8% de matéria seca total 28,6% de matéria orgânica e 3,1% de cinzas em sua composição.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Obtenção da matéria-prima**

As Piavas utilizadas neste trabalho foram capturadas na encosta do Rio Ibicuí, no município de Itaqui-RS, com varas e anzóis no mês de julho de 2013. Após a captura, os exemplares de Piava foram armazenados em caixa térmica e conduzidos até as dependências da Universidade Federal do Pampa Campus Itaqui. Após a morte por hipotermia, os exemplares foram filetados e seus filés foram acomodados em bandejas de poliestireno, cobertos com filme de polietileno e utilizados para as análises físico-químicas e de vida útil.

#### **3.2 Determinação da composição química dos filés**

A determinação da composição química foi realizada no dia da captura. O conteúdo de umidade, cinzas e proteínas foi determinado conforme metodologias descritas pela AOAC (1995). O teor de lipídeos foi quantificado segundo Bligh e Dyer (1959).

#### **3.3 Determinação da vida útil sob congelamento**

Os filés foram avaliados no dia da captura (tempo 0) e posteriormente armazenados sob congelamento por 30 dias (tempo 1) em bandejas de poliestireno, cobertos com filme plástico, a  $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ . No dia da captura e após 30 dias de armazenamento sob congelamento, foram realizadas as seguintes determinações analíticas para avaliar o frescor do pescado: dienos conjugados (DC), peróxidos, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e bases voláteis totais (BVT).

#### **3.4 Determinação de pH**

Para a determinação de pH, o músculo da Piava, previamente triturado, foi homogeneizado com água destilada (1:1) e a medida foi realizada com o auxílio de

um pHmetro digital, seguindo a metodologia descrita por Pastoriza e Sampedro (1994).

### **3.5 Determinação de bases Voláteis Totais (BVT)**

A quantificação das bases voláteis totais foi realizada através de metodologia proposta por Furuichi et al., (1997). Primeiramente a amostra foi pesada e homogeneizada em TCA 5% (5:1). A solução foi deixada em repouso por cerca de 10 minutos e então filtrada em papel filtro. A seguir, o filtrado foi transferido para um tubo de Kjeldahl contendo óxido de magnésio e homogeneizado. A amostra foi então submetida à processo de destilação e posteriormente titulada com ácido sulfúrico 0,1N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Os valores de BVT foram expressos em mg N/100g<sup>-1</sup>.

### **3.6 Determinação de oxidação de lipídeos**

#### **3.6.1 Determinação de TBARS**

Os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram quantificados de acordo com a metodologia proposta por Buege e Aust (1978). A amostra foi pesada, adicionada de cloreto de potássio (KCL) 1,5% e homogeneizada em Ultra-Turrax (IKA Labortechnik, Staufen, Alemanha) até dispersão máxima das partículas. Após, o homogeneizado foi submetido à centrifugação (4.000 rpm) e retirou-se uma alíquota e adicionou-se TCA 40%, TBA 0,67% e água. A solução foi submetida à aquecimento, seguida de resfriamento e centrifugação. Após foi realizada leitura da absorbância do sobrenadante a 535 nm em espectrofotômetro UV-Vis Femto 800 XI.

#### **3.6.2 Determinação de dienos conjugados (DC)**

Os dienos conjugados foram quantificados através de metodologia proposta por Recknagel e Glende (1984), onde uma alíquota de gordura previamente extraída foi submetida à evaporação e, posteriormente, adicionada de ciclohexano. A leitura da absorbância foi realizada a 250 nm em espectrofotômetro UV-Vis Femto 800 XI.

### **3.6.3 Determinação de peróxidos**

Os níveis de peróxidos foram determinados seguindo a metodologia proposta por Chapman e Mackay (1949). Uma alíquota de gordura previamente evaporada foi adicionada de tolueno-metanol, tiocianato de amônio e cloreto ferroso. A solução foi submetida à aquecimento, resfriada à temperatura ambiente e a leitura da absorbância foi realizada a 520 nm em espectrofotômetro UV-Vis Femto 800 XI.

### **3.7 Determinação de cor**

A análise de cor dos filés de Piava foi realizada em três repetições para cada parâmetro, utilizando-se um colorímetro modelo Minolta CR-300 e o sistema CIELab Color Scale. O colorímetro foi direcionado para a amostra analisada e as leituras foram realizadas em três lugares diferentes do filé.

### **3.8 Determinação da atividade de água (AW)**

A atividade de água dos filés foi determinada com auxílio do equipamento Aqualab, seguindo recomendações da AOAC (1995). Uma pequena parte da amostra foi colocada no equipamento e a leitura foi realizada de acordo com especificações descritas no manual de operação.

### **3.9 Análise estatística**

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Características físicas da Piava

Na Tabela 1 estão descritos os valores médios das características físicas quanto ao tamanho, peso total, peso dos filés, peso da carcaça e rendimento em percentual, dos exemplares de Piava utilizados neste trabalho.

**Tabela 1:** Características físicas e rendimento da Piava (*Leporinus obtusidens*)

Exemplar	Tamanho (cm)	Peixe inteiro (g)	Peso dos filés (g)	Peso da carcaça (g)	Rendimento (%)
P1	53	1965,5	897,1	971,5	50,57
P2	54	2059,0	545,2	1122,2	45,50
P3	50	1614,2	670,5	839,9	47,97
P4	54	2052,4	799,7	1128,0	45,04
P5	50	1693,2	716,6	901,3	46,77
<b>Média</b>	<b>52</b>	<b>1876,8</b>	<b>725,8</b>	<b>992,5</b>	<b>47,17</b>
<b><math>\sigma</math></b>	2,05	208,91	132,82	129,64	2,22

$\sigma$ = desvio padrão das amostras.

Quanto ao rendimento dos filés, observou-se valores similares para os 5 exemplares utilizados no trabalho, com média de rendimento de 47,17% de aproveitamento do peixe. Valores similares foram encontrados por Marengoni (2006), em estudo realizado com Piavuçu (*Leporinus Macrocephalus*) onde os valores médios dos filés obtidos variaram entre 40,05 a 50,19%. O rendimento do filé depende das características morfométricas e anatômicas da espécie utilizada e da eficiência e destreza do filetagem. Peixes maiores facilitam a filetagem, gerando maior aproveitamento das partes comestíveis e menor resíduo de processamento (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; RIBEIRO et al., 1998; SOUZA et al., 1999)

## 4.2 Composição química da Piava

O conhecimento da composição química do filé da Piava é importante para estimular o seu consumo, possibilitando a competição com outras fontes protéicas largamente utilizadas como a de carne bovina, suína e de aves.

Os valores para composição química de filés de Piava se encontram na Tabela 2.

**Tabela 2:** Composição química proximal de filés de Piava (*Leporinus obtusidens*)

<b>Componente</b>	<b>Média ± desvio padrão</b>
<b>Proteínas</b>	19,41±0,45
<b>Umidade</b>	71,29±1,84
<b>Cinzas</b>	1,03±0,04
<b>Lipídios</b>	6,06±0,49

OGAWA (1999) cita que o músculo do pescado pode conter de 60 a 85% de umidade, cerca de 20% de proteína, 1 a 2% de cinza e de 0,6 a 36% de lipídios. Este último componente apresenta uma maior variação em função do tipo de músculo corporal em uma mesma espécie, sexo, idade, época do ano, habitat e dieta entre outros fatores.

A água é o componente majoritário do pescado, podendo atingir até 85% em sua composição total. No presente estudo, encontrou-se um valor de 71,29% de umidade em filés de Piava. Estudos realizados por Beirão, et al., (2000), relacionando a composição química da parte comestível de peixes, crustáceos e moluscos, apresentaram teores de umidade que variaram entre 70 e 85%.

Bressan (2002) classifica pescados pelo percentual de gordura como gordos (>8,00%), semi-gordos (3,0-8,0%) e magros (2,0-3,0%). Dessa forma, pode-se considerar a Piava como um peixe semi-gordo por apresentar neste estudo conteúdo de gordura de 6,06%. Guinazi et al., (2006), em estudo realizado com peixes de água doce encontrou valores de gordura para carpa de 2,92%, pacu, 14,0%, piauçu 7,96% e tilápia-do-Nilo de 0,49%.

Segundo Stansby (1967) pescado com teores de proteína menores que 15% são considerados de baixo valor protéico, enquanto pescado que apresenta um valor acima de 15% é considerado de alto valor protéico. Os teores de proteína encontrados para Piava neste estudo estão acima dos encontrados por outros autores que estudaram espécies de água doce. Fajmonová et al., (2003), em estudo com a carpa comum quantificou o teor de proteína desta espécie de 15,73%. Bechara et al. (2005), encontraram para o pacu um conteúdo de proteína de 16,43%, valor semelhante ao encontrado por Soccol (2002) para tilápia-do-Nilo (16,87%). Córser et al (2000), para filés de tilápia, encontraram valores de proteína mais elevados (18,34%). Da mesma maneira para a mesma espécie, Justi et al. (2003) e Nogueira (2007), encontraram valores mais elevados 18,2% e 20,65%, respectivamente.

Contreras-Guzmán (1994) relata que a fração de cinzas em peixes de água doce apresenta variações em quantidades que variam de 0,90 a 3,39%. Este resultado é compatível ao conteúdo de cinzas encontrado neste estudo e similar ao relatado por FILHO (2008) em filés de Pintado ( $1,01 \pm 0,03$ ).

Na Tabela 3 estão apresentados os valores médios de pH e Aw de filés de Piava.

**Tabela 3:** Valores de pH e Aw de filés de Piava (*Leporinus obtusidens*)

	Tempo de armazenamento	
	0	1
<b>pH</b>	6,89±0,00 <sup>b</sup>	6,49±0,04 <sup>a</sup>
<b>Aw</b>	0,9951±0,00 <sup>a</sup>	0,9974±0,00 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Tempo 0 = dia da captura; tempo 1 = 30 dias de armazenamento sob congelamento.

Os valores de pH apresentaram diferenças significativas entre o tempo 0 ( $6,89 \pm 0,00$ ) e o tempo 1 ( $6,49 \pm 0,04$ ) de armazenamento congelado. Esse decréscimo pode ser devido ao congelamento que promove uma proteção à estrutura do filé, diminuindo sua degradação protéica durante o período de 30 dias. Os valores de pH podem apresentar variações conforme a espécie, método de captura, manuseio e posterior armazenamento e sofrem alterações durante a

decomposição do produto. A degradação protéica que ocorre nos pescados e em seus derivados pode gerar produtos como amônia e aminas, dentre outras substâncias, as quais resultam no aumento do valor de pH (OGAWA e MAIA, 1999). Dessa forma, embora a medida de pH não seja segura para indicar a decomposição quando usada isoladamente, ela é um dos indicativos de qualidade e da conservação da carne de pescado.

Os valores de  $A_w$  dos filés de Piava observados neste estudo não apresentaram mudanças significativas durante o armazenamento, resultando em valores acima de 0,99 no período de armazenamento. Segundo Souza (2003), o valor de atividade da água é importante para determinar o desenvolvimento das reações bioquímicas, químicas e sobre a evolução microbiológica da amostra. Um produto cárnico com  $A_w$  acima de 0,95 e pH maior que 5,2, deverá ser armazenado a uma temperatura menor ou igual a 5°C, por ser considerado um produto de fácil degradação ou deterioração.

#### **4.3 Oxidação lipídica e Bases voláteis totais (BVT)**

Com relação aos resultados de BVT, os filés de Piava não apresentaram diferenças significativas ao longo de 30 dias de armazenamento congelado, de acordo com a Tabela 4. Os resultados confirmam alguns estudos divulgados na literatura onde nos peixes de água doce, o teor de BVT varia pouco, não alcançando o valor de 30 mg N/100g<sup>-1</sup> (SCHERER et al., 2006).

**Tabela 4:** Valores de BVT, TBARs, dienos conjugados e peróxidos de filés de Piava recém capturada e após 30 dias de armazenamento sob congelamento.

	Tempo de armazenamento	
	0	1
<b>BVT (mg N/100g<sup>-1</sup>)</b>	14,00±1,03 <sup>a</sup>	13,00±1,44 <sup>a</sup>
<b>TBARS (nmol/mg prot.)</b>	0,004±0,00 <sup>a</sup>	0,006±0,00 <sup>b</sup>
<b>Dienos Conjugados (mg lipídio/ml ciclohexano)</b>	1,46±0,35 <sup>a</sup>	0,46±0,68 <sup>b</sup>
<b>Peróxidos (mEq/mg lipídio)</b>	0,025±0,00 <sup>a</sup>	0,024±0,00 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Tempo 0 = dia da captura; tempo 1 = 30 dias de armazenamento sob congelamento.

Os resultados encontrados neste estudo estão abaixo do limite máximo de 30 mg N/100g<sup>-1</sup> de BVT preconizado pela legislação (BRASIL, 1997).

Segundo OGAWA et al. (1999), peixes considerados em excelente estado de frescor apresentam teor de BVT entre 5 a 10 mg N/100g<sup>-1</sup> de músculo, peixes considerados razoavelmente frescos podem atingir entre 15 a 25 mg N/100 g<sup>-1</sup> e no início da putrefação, os teores de BVT podem alcançar de 30 a 40 mg N/100 g<sup>-1</sup>. Dessa forma, os filés avaliados podem ser considerados razoavelmente frescos pelo teor de BVT encontrados.

Chytiri et al. (2004), avaliaram filés de truta (*Onchorhynchus mykiss*) estocada em gelo e encontraram valores de BVT entre 18,11 e 26,06 mg N/100g<sup>-1</sup>, resultados estes acima dos encontrados em nosso estudo.

Albuquerque et al. (2004), avaliaram parâmetros de qualidade de tilápias abatidas por hipotermia armazenadas em gelo e concluíram que os valores de N-BVT variaram de 18,38 a 21,40mg N-BVT/100g durante 18 dias de estocagem, e, apesar das alterações sensoriais observadas, todos os valores se apresentaram abaixo do estabelecido pela legislação brasileira, indicando que esta análise é pouco sensível para o pescado de água doce.

Quanto aos níveis de TBARS encontrados, observou-se uma variação significativa nos teores entre o tempo 0 e o tempo 1 de armazenamento congelado (0,004 e 0,006, respectivamente). Esse aumento dos valores de TBARS indica que

os filés de Piava encontram-se no início da fase de terminação da peroxidação lipídica, pois este método de avaliação quantifica principalmente o ácido malônico, característico da fase de terminação. Os valores de TBARS são um importante indicativo de oxidação lipídica do ponto de vista que quantifica um dos produtos majoritários da peroxidação lipídica, o ácido malônico. De acordo com Al-Kahtani et al. (1996), produtos cárneos podem ser considerados em um bom estado de conservação, considerando as mudanças oxidativas, quando possuem menos de 3 mg MDA/kg, como observado neste estudo.

Os dienos conjugados apresentaram uma diminuição no seu valor entre o tempo 0 e o tempo 1 de armazenamento. Tal diminuição deve-se ao fato destes compostos se decomporem em moléculas menores, formando produtos secundários de oxidação, como o ácido malônico. (AUBOURG et al., 1998). Os níveis de peróxido quantificados para filés de Piava, não apresentaram diferenças significativas durante o período de avaliação, resultando em valores de  $0,025 \pm 0,00$  para o tempo 0 e  $0,024 \pm 0,00$  para tempo 1.

#### 4.4 Cor instrumental

Na Tabela 5 estão apresentadas as médias de três repetições dos parâmetros de cor de filés de Piava.

**Tabela 5:** Parâmetros de cor em filés de Piava (*Leporinus obtusidens*)

	Parâmetros de Cor		
	L	a	b
<b>Tempo de armazenamento</b>			
0	48,00±1,61 <sup>a</sup>	-0,92±0,12 <sup>a</sup>	7,64±0,52 <sup>a</sup>
1	50,56±1,67 <sup>a</sup>	-0,73±0,11 <sup>a</sup>	7,52±0,94 <sup>a</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Tempo 0 = dia da captura; tempo 1 = 30 dias de armazenamento sob congelamento.

A partir dos resultados apresentados na Tabela 5, verificou-se que o armazenamento sob congelamento não afetou os parâmetros de cor dos filés

quando comparado ao tempo 0. Considerando o fator  $L^*$  (luminosidade), os filés de Piava estudados apresentaram valores de  $48,00 \pm 1,61$  e  $50,56 \pm 1,67$  para os tempos 0 e 1 mês de armazenamento, respectivamente. Observou-se uma tendência negativa de cor para o parâmetro  $a^*$  tanto no tempo 0 ( $-0,92 \pm 0,12$ ) quanto no tempo 1 ( $-0,73 \pm 0,11$ ), o que corresponde à uma coloração menos avermelhada, corroborando com os resultados obtidos para o fator  $L^*$  que demonstra um teor maior de luminosidade. Os valores para o parâmetro  $b^*$  indicam que os filés de Piava apresentam coloração mais amarelada para os valores obtidos no tempo 0 ( $7,64 \pm 0,52$ ), porém não apresentou diferença significativa no valor deste parâmetro após 30 dias congelamento ( $7,52 \pm 0,94$ ), o que é típico para carnes brancas. Segundo Amaral (2012) em carnes, as diferenças no parâmetro  $L^*$  tem sido associadas com mudanças no teor de água e seu movimento em direção à superfície do produto, além de pH, aditivos, estrutura muscular, quantidade intramuscular de gordura e capacidade de retenção de água. Quando o produto contém um elevado teor de sal em sua composição, o parâmetro  $a^*$  pode ter seus valores aumentados. O parâmetro  $b^*$  pode ser alterado devido à oxidação dos pigmentos de cor, seja pela maturação ou deterioração do alimento. Dessa forma, a análise de cor pode ser relacionada a exudação do alimento, alteração de pH, variações de composição e qualidade do alimento.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- Quanto ao rendimento dos filés, observou-se valores similares para os exemplares utilizados no trabalho, com média de rendimento de 47,17%
- Com relação a composição química proximal dos filés, a umidade apresentou valores médios de 71,29, proteínas 19,41, lipídios 6,06 e cinzas 1,03%.
- Os valores de pH apresentaram diferenças significativas entre os dois tempos estudados, apresentando valores de 6,89 para o tempo 0 (dia do abate) e 6,49 para tempo 1 (30 dias de armazenamento congelado).
- Os valores de Aw não apresentaram diferenças significativas durante o armazenamento, com valores de 0,09951 para o tempo 0 e 0,9974 para o tempo 1.
- Com relação aos resultados de BVT, os filés de Piava não apresentaram diferenças significativas ao longo de 30 dias de armazenamento congelado, com valores obtidos de 14,00 mg N/100g<sup>-1</sup> para o tempo 0 e 13,00 mg N/100g<sup>-1</sup>.
- Quanto aos níveis de TBARS encontrados, observou-se uma variação significativa nos teores entre o tempo 0 e o tempo 1 de armazenamento congelado (0,004 nmol/mg prot. e 0,006 nmol/mg prot., respectivamente).
- Os dienos conjugados apresentaram uma diminuição no seu valor entre o tempo 0 (1,46 mg lipídio/mL de ciclohexano) e tempo 1 de armazenamento congelado (0,46 mg lipídio/mL de ciclohexano).
- Os níveis de peróxidos quantificados para filés de Piava não apresentaram diferenças significativas durante o período de avaliação, resultando em valores de 0,025 mEq/mg lipídio para o tempo 0 e 0,024 mEq/mg lipídio para tempo 1.
- Quanto à cor instrumental, para o fator L\*, os filés de Piava estudados apresentaram valores de 48,00 para o tempo 0 e 50,56 para o tempo 1. Observou-se uma tendência negativa para o parâmetro a\* tanto no tempo 0 (-0,92) quanto no tempo 1 (-0,73). Os valores obtidos para o parâmetro b\* no tempo 0 foram de 7,64 e no tempo 1 de 7,52.

- Os resultados obtidos indicam, assim, que é possível o armazenamento de filés de Piava durante um período de trinta dias, sem alterações nas suas características físico-químicas e de frescor.

## 6 REFERÊNCIAS

- ABABOUC, L. **Fisheries and Aquaculture topics. Composition of fish. Topics Fact Sheets.** In: FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome: FAO, 2005. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/topic/12318/en>>
- ALBUQUERQUE, W. F.; ZAPATA, J. F. F.; ALMEIDA, R. S. **Estado de frescor, textura e composição muscular da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) abatida com dióxido de carbono e armazenada em gelo.** Revista Ciência Agronômica, n. 35, p. 264-271. 2004
- ALDOMÁS, M. E.; GIANNINI, D. H.; CIARLO, A. S.; BOERI, R. L. **Journal of Science and Food Agriculture.** p.37- 54. 1986.
- AL-KAHTANI, H. A. et al. **Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel.** Journal of Food Science, v.91, p.729-733. 1996.
- AMARAL, M. T.; VIANA, C. E.; ARANHA, B. C.; EPPING, N. C.; PRESTES, O. D.; AUGUSTI, P. R. **Sistema Cielab para avaliação da cor de produtos cárneos.** In: Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v.4, n.1. 2012.
- ALMEIDA, N. **Alterações post-mortem em *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), procedente da piscicultura e conservado em gelo.** Manaus:INPA/UA, 1998.
- ANDRIAN, I. F.; DORIA, C. C.; TORRENTE, G.; FERRETI, C. M. L. **Espectro alimentar e similaridade na composição de quatro espécies de *Leporinus* (*Characiformes*, *Anostomidae*) do Rio Paraná, Brasil.** Revista Unimar, v.16, p.97-106. 1994.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 16 ed. Washington, DC, 1995. 1141p.
- AUBOURG, S. P.; MEDINA, I.; GALLARDO, J. M. **Quality Assesment of Blue Whiting (*Micromesistius poutassou*) during Chilled Storage by Monitoring Lipid Damages.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.46, n.9, p.3662-3666,1998.
- BATISTA, G. M.. **Alterações bioquímicas post-mortem de matrinxã *Brycon cephalus* (GUNTHER, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo.** Manaus:Universidade Federal do Amazonas, 2002. 111p.
- BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E.; MEINERT, E. M.; SANTO, M. L. P. E. **Processamento e industrialização de moluscos.** In: Seminário e workshop “Tecnologia para aproveitamento integral do pescado” Campinas, p.38-84. 2000

BENZIE, I. F. F. **Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, Measurement and dietary influences.** Int. J. Food and Science Nutrition. London, v. 47 p.233-261. 1996.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, v.37, p.911-917. 1959.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA. **Boletim estatístico da Pesca e Aquicultura 2010.** Brasília, 2012.

BRASIL. Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997. O Ministério da Agricultura e do Abastecimento aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). Brasília: **Diário Oficial da União**, n.93, Seção 1, p.10.282-3. 1997.

BRASIL, Decreto nº30.691/52. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. **Diário Oficial da União**, 1952, Seção 1, Página 10785.

BRESSAN, M.C. **Processamento de pescado de água doce.** In: Anais da II Feira da Pequena Agroindústria. Serra Negra, 2002. p 59-85.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. **Microsomal lipid peroxidation.** Methods in Enzymology, v.52, p.302-309. 1978.

CALDER, P. C. **N-3 fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored.** Clinical Science. v.107, p.1-11. 2004.

CARNEIRO, M. J. M. **Congelamento de filés de sardinha por imersão e avaliação física e sensorial de sua qualidade durante a estocagem.** Campinas. Dissertação (Doutorado), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1999.135p.

CAULA, F. C. B.; OLIVEIRA, M. P.; MAIA, E. L. **Teor de colesterol e composição centesimal de algumas espécies de peixes do estado do Ceará.** Food Science and Technology. Campinas, v.28, n.4. 2008.

CECCHI H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** Campinas: Editora da Unicamp, 1999. 212p.

CHAPMAN, R. A.; MACKAY, K. **The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method.** The Journal of the American Oil Chemists' Society, v.26, p.360-363. 1949.

CHYTIRI, S.; CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M.G. **Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout.** Food Microbiology, v.21, n.2, p.157-165. 2004.

CONNELL, J. J. **Control of fish quality**. London: Fishing News Books Limited. 1995. 245p.

CONTRERAS-GUZMAN, E. **Bioquímica do pescado e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409 p.

CÓRSER, P. I.; FERRARI, G. T.; MARTÍNEZ, Y. B.; SALAS, E. M.; CAGNASSO, M. A. **Análises proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales em doce espécies de escado de importância comercial em Venezuela**. Caracas:Archivos Latinoamericanos de Nutrición – ALAN, v.50, n.2. 2000.

COSTA, S. C. **Avaliação da qualidade de *Leporinus obtusidens* (piava) comercializada no mercado público de Porto Alegre através de metais-traço advindas do lago guaíba, RS**. Porto Alegre:Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004. 66p.

DI MASCIIO, P.; MEDEIROS, M. H. G.; BECHARA, E. J. H.; CATALANI, L. H. **Singlet molecular oxygen: Generation, reactivity, identification and biological effects**. Ciência e Cultura., v.47, p.297-311. 1995.

FAJMONOVÁ, E. et al. **Effect of sex, growth intensity and heat treatment on fatty acid composition of common carp (*Cyprinus carpio*) fillets**. Czech Journal of Animal Science., v.48, n.2, p.85-92. 2003.

FALCH, E.; OVERREIN, I.; SOLBERG, C. SLIZYTE, R. **Composition and Calories**. In: NOLLET, L. M. L.; TOLDRÁ, F. **Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis**. Boca Raton, FL: CRC Press – Taylor & Francis Group, 2010. p.257-285.

FAO/WHO - Food and Agricultural Organization/ World Health Organization. **General conclusions and recommendations of the consultation**. In: **Fats and Oils in Human Nutrition**. Rome: FAO, p.3-7.1994.

FAO/WHO - Food and Agricultural Organization/ World Health Organization. **Code of Practice for fish and fishery products**. 1 ed. Rome: Codex Alimentarius Commission, 2009. 144p.

FURUICHI, Y., TANIGUCHI, J., MURABAYASHI, J. **A rapid and convenient method for the determination of the determination of amide nitrogen in food proteins**. Journal of Japanese Society for Bioscience Biotechnology and Agrochemistry, n.71, p.395-401. 1997.

GÉRY, J. **Characoids of the world**. Neptune City, New Jersey:T. F. H. Publications, 1977.

GIANNINI, D. H. **Determinación de nitrógeno básico volátil (NBV) em pescado.Consideraciones generales**. Madrid: Alimentaria, v.40, n.343, p.49-54. 2003.

GIMENO, O.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. **Characterization of Chorizo de Pamplona: Instrumental Measurements of Colour and Texture.** Food Chemistry, v.69, p.195- 200. 2000.

GONZALES, A. P.; BURIN, L.; BUENA, M. P. **Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color.** Food Research International, v. 32, p. 185-191, 1999.

GORMLEY, T. R. **Developments in fish freezing in Europe with emphasis on cryoprotectants.** In: OLIVEIRA, F. A. R.; OLIVEIRA, J. C.; HENDRICKX, M. E.; KORK, D.; GORRIS, L. G. M. **Processing Foods – quality optimization and process assessment.** Boca Raton, FL: CRC Press LCL, 1999. 415p.

GUILLÉN-SANS, R.; GUZMÁN-CHOZAS, M. **The thiobarbituric acid (TBARS) reaction in foods: a review.** Crit. Rev. Food and Science Nutrition, v.38, p.315-330. 1998.

GUILLOU, A; SOUCY, P; KHALIL, M. et al. **Effects of dietary vegetable and marine lipid on growth, muscle fatty acid composition and organoleptic quality of flesh of brook charr *Salvelinus fontinalis*.** Aquaculture, v.136, p.351-362. 1995.

GUINAZI, M.; MOREIRA, A. P. B.; SALARO, A. L.; CASTRO, F. A. F. DADALTO, M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. **Composição química de peixes de água doce frescos e estocados sob congelamento.** Acta Scientiarum Technology, v.28, n.2. 2006.

HAARD, N. **The role of enzymes in determining seafood color, flavor and texture.** In: BREEMER, H.Á. **Safety and quality issues in fish processing.** Cambridge: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LCL, 2002. 520p.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M.C. **Free radicals in biology and medicine.** 2 ed. Oxford:Clarendon, 1989. 469p.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine.** 3.ed. New York: Oxford University, 1999. 936p.

HARTZ, M. et al. **Alimentação da piava (*Leporinus obtusidens*) no Lago Guaíba, Porto Alegre, RS, Brasil.** Pesquisa Agropecuária Gaúcha, v.6, n.1, p.145-150. 2000.

HARVIE, R. **Fish for Food.** New Zealand:Seafood Industry Training Organization (Seafood ITO), 1998. 68p.

HEALTH CANADA. **Prenatal Nutrition Guidelines for Health Professionals. Fish and Omega-3 fatty acids.** Canada, 2009.

HEDGES, N. **The selection and pre-treatment of fish.** Cap. 6, p.95-110. In: KENNEDY, C. J. **Managing frozen foods.** 1 ed. Boca Raton: CRC Press LLC, 2000. 286p.

- HSIEH, R. J.; KINSELLA, J. E. **Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish.** Advances in Food and Nutrition Research, v.33, p.233-341.1989.
- HUNTERLAB. **Applications note: CIE L\* a\* b\* color scale.** Virginia, v.8, n.7. 1996.
- HUSS, H. H. **Quality and quality changes in fresh fish.** Rome: FAO – UN. FAO Fisheries Technical Paper, n.348, 1995. 126p.
- HUSS, H. H. **Asseguramiento de la calidad de los productos pesquero.** FAO Documento Técnico da Pesca, n.334, 1997. 174p.
- JOHNSON, W. A.; NICHOLSON, F. J.; ROGER, A.; STROND, G.D. **Freezing and refrigerated storage in fisheries.** Rome: FAO. Fisheries Technical Paper, n.340, 1994. 109p.
- JUSTI, K. C.; HAYASHI, C.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. **The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids.** Food Chemistry, v.80, p.489-493. 2003.
- KINSELLA, J.E. **Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms.** American Journal of Clinical Nutrition, v.52, p.1-28. 1990.
- KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de alimentos. Teoria e aplicações práticas.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
- KUBOTA, E. H.; EMANUELLI T. **Processamento do pescado.** In: BALDISSEROTTO, B; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá.** Santa Maria: UFSM, cap. 11, p. 201-222. 2004.
- KUBOW, S. **Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods.** New York, Free Radical Biology and Medicine., v.12, p.63-81. 1992.
- KYRANA, V. R.; LOUGOVOIS, V. P. **Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European sea bass ( *Dicentrarchus labrax* ) stored in melting ice.** International Journal of Food Science and Technology, n.37, p.319–328. 2002.
- LIMA, É. S.; ABDALLA, D. S. P. **Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.37, n.3. 2001.
- MACHADO, L. **Tecnologia de recursos pesqueiros: parâmetros, processos, produtos.** Recife: SUDENE-DRN-Div. Recursos Pesqueiros, 1984. 277 p.

MARENGONI, N. G.; SANTOS, R. S. **Rendimento e composição de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e Piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) cultivados em pesque-pagues.** Archivos de Zootecnia, v.55, n.211, p.227-238. 2006.

MAYSER, P. et al. **Omega-3 fatty acid-based lipid infusion in patients with chronic plaque psoriasis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial.** Journal of the American Academy of Dermatology, v.38, 1998. 421p.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA. **Participação da aquicultura no setor pesqueiro nacional.** Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/aquiculturampa/informacoes/producao>> Acessado em 20 de agosto de 2013.

MORGA, A. **Avaliação do índice de frescor da Pescada Foguete, *Macrodon ancylodon*, conservada em gelo.** Campinas: Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, 1975. 80 p.

MORRISSEY, P. A. et al. **Lipid in meat and meat product.** Meat Science, v.49, n.1, p.73-86. 1998.

NEVES FILHO, L.C. **Refrigeração na indústria de alimentos.** Campinas: UNICAMP, 1992. 176 p.

NOGUEIRA, A. C.; RODRIGUES, T. **Criação de tilápias em tanques-rede.** Salvador: Sebrae Bahia, 2007. 23 p.

NOLLET, L. M. L.; TOLDRÁ, F. **Handbook of Seafood and Seafood products analysis.** Boca Raton: CRC Press- Taylor e Francis Group, 2010. 910p.

OETTERER, M. **Proteínas do pescado.** Universidade de São Paulo. Acessado em 24 out 2012. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Proteinas%20pescado.pdf>>

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia do Pescado**, Vol I. São Paulo: Varela. 1999.

ORDOÑEZ, J. Á. **Tecnologia de Alimentos, Vol 2. Alimentos de origem animal.** Porto Alegre (RS): ARTMED Editora, 2005. 280p.

PASTORIZA, L., SAMPEDRO, G., **Influence of ice storage on Ray (*Raja clavata*) wing muscle.** Journal of the Science of Food and Agriculture, n.64, p.9-18, 1994.

PEREDA, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos: Alimentos de origem animal.** v.2. São Paulo: Editora Artmed, 2005. 279p.

- PEREIRA, A. A. F.; TENUTA-FILHO, A. **Avaliação de condições de consumo da sardinha (*Sardinella brasiliensis*)**. Campinas: Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.25, n.4, p.720-725. 2005.
- PIVOTO, C. C.; NUNES, P. R. A.; GERALDO, A. M. R.; QUINTANA, M. B.; NEIS, A. S. K. **Análises bromatológicas de filé de Piava (*Leporinus obtusidens*)**. In: Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v.3, n.2, 2011.
- PORTER, N. A.; CALDWELL, S.E.; MILLS, K. A. **Mechanism of free radical oxidation of unsaturated lipids**. Lipids, v.30, n.4, p.277-290. 1995.
- RAHARJO, S; SOFOS, J. N. **Methodology for measuring malonaldehyde as a product of lipid peroxidation in muscle tissues: A review**. Meat Science, v.35, p.145–169.1993.
- RAHMAN, M. M.; ROBERTS, H. I.; SARJAN, M.; ASGARI, S.; SCHMIDT, O. **Induction and transmission of *Bacillus tburingensis* tolerance in the flour moth *Epibestia kubniella***. Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA, n.101, 2004. p.2696.
- RAMOS-FILHO, M. M.; RAMOS, M. I. L.; HIANE, P. A.; SOUZA, E. M. T. **Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira do Mato Grosso do Sul**. Campinas: Ciência e Tecnologia, v.28, n.2, p.361-365. 2008.
- RECKNAGEL, R. O., GLENDE, J. R. E. A. **Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. Methods in Enzymology**. Academic Press, n.105, p.331-337.1984.
- RIBEIRO, L. P.; LIMA, L. C.; TURRA, E. M.; QUEIROZ, B. M.; RIBEIRO, T. G.; MIRANDA, M. O. T. 1998. **Efeito do peso e do operador sobre o rendimento de filé em tilápia vermelha (*Oreochromis sp.*)**. In: Simpósio Brasileiro de Aqüicultura, 10, 2000, Recife. Anais... Recife: ABRAq. p. 773-778. 1998.
- RIBEIRO, R.P. et al. **Hábito e seletividade alimentar de pós-larvas de piavuçu, *Leporinus macrocephalus*, submetidos a diferentes dietas em cultivos experimentais**. Acta Scientiarum, v.23, n.4, p.829-834. 2001.
- RUFF, N. et al. **Distribution of  $\alpha$ -tocopherol in fillets of turbot (*scophthalmus maximus* and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), following dietary  $\alpha$ -tocopheryl acetate supplementation**. Aquaculture Nutrition, v. 10, p. 75-81, 2004.
- SANTOS, G. O. **Aspectos importantes para a piscicultura do gênero *Leporinus Spix, 1829* – uma revisão**. Pesquisa Agropecuária Gaúcha, v.6, n.1, p.151-156. 2000.
- SASAKI, J. E.; SANTOS, M. G. **O papel do exercício aeróbico sobre a função endotelial e sobre os fatores de risco cardiovasculares**. Revista Atualização Clínica. Arquivos Brasileiros de Cardiologia. n. 87. p. 227-233. 2006.

- SAKUMA, A. M. et al. **Procedimentos e determinações gerais**. In: Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. Brasília: ANVISA, cap. 4, p.103-105. 2005.
- SCHAAFSMA, G. **Introduction to Part II: health benefits of seafood**. In: BORRESEN, T. **Improving seafood products for the consumer**. Boca Raton, FL: CRC Press LLC and Woodhead Publishing Ltd, p.113-115. 2008.
- SCHERER, R.; AUGUSTI, P. R.; BOCHI, V. C.; STEFFENS, C.; FRIES, L. L. M.; DANIEL, A. P.; KUBOTA, E. H.; NETO, J. R.; EMANUELLI, T. **Chemical and microbiological quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) slaughtered by different methods**. Food Chemistry, v.99, n.1, p.136-142. 2006.
- SIKORSKI, E. **Seafood: resources, nutritional, composition and preservation**. Boca Raton, USA: CRC Press Inc., 1990. 248 p.
- SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A.; **Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante**. São Paulo: Quím. Nova, v.22, n.1, p.94-103. 1999.
- SIMEONIDOU, S.; GOVARIS, A.; VARELTZIS, K. **Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice**. Food Research International. Kidlington, v.30, n.7, p.479-484. 1998.
- SIQUEIRA, A.A. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. São Paulo: Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001. 137p.
- SOCCOL, M. C. R. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. São Paulo: Dissertação (Mestrado), Escola Superior da Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo – USP. 2002.
- SOUZA, M. L. R.; Macedo, V.; KRONKA, S. N. **Influência do método de filetagem e categorias de peso sobre o rendimento de carcaça, filé e pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Revista Brasileira de Zootecnia, v.28, p.1-6. 1999.
- SHINMOTO, H.; DOSAKO, S.; NAKAJIMA, I. **Anti-oxidant activity of bovine lactoferrin on iron/ascorbate induced lipid peroxidation**. Biosci Biotechnol Biochem. Tokyo, v.56, n.12, p.2079-2080.1992
- SPITELLER, P.; SPITELLER, G. **Strong dependence of lipid peroxidation product spectrum whether Fe<sup>2+</sup>/O<sub>2</sub> or Fe<sup>3+</sup>/ O<sub>2</sub> is used as oxidant**. Biochim. Biophys. Acta, v.1392, p.23-40. 1998.
- STANSBY, M. E.; OLCOTT, H. S. **Composición del pescado**. In: STANSBY, M.E.; DASSOW, J. A. **Tecnología de la Indústria Pesquera**. Zaragoza: Acribia, 1967. p.391-402.

SOUZA, M. L. R. **Processamento do filé e da pele da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): aspectos tecnológicos, composição centesimal, rendimento, vida útil do filé defumado e testes de resistência da pele curtida.** Jaboticabal: Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, 2003.

TAVARES, M.; MORENO, R. B. **Pescado e derivados.** In: Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4 ed. Brasília: ANVISA, cap.18, p.633-643. 2005.

TAVARES, M.; AVED, S.; BACETTI, L. B.; ZAMBONI, C. Q. **Métodos sensoriais, físicos e químicos para análise de pescado.** In: KAI, M.; RUIVO, V. E. **Controle de qualidade de pescado.** 1988.

TORRINHAS, R.; CAMPOS, L.; WAITZBERG, D. **Gorduras.** In: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica.** 4 ed. São Paulo: Atheneu, p.121-148. 2009.

TSIRONI, T.; DERMESONLOUOGLU, E.; GIANNAKOUROU, M. TAOUKIS, P. **Shelf life modeling of frozen shrimp at variable temperature conditions.** LWT – Food Science and Technology, n.42, p.664-671. 2009.

VEECK, A. P. L.; E, ANUELLI, T. **Effect of erva-mate (*Ilex paraguariensis*) extract on lipid and colour changes of dourado (*Salminus brasiliensis*) fillets during frozen storage.** Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. 2008.

WAITZBERG, D. L. **Ômega-3: o que existe de concreto?** Nutrilite, 2010. Disponível em: <<http://www.nutritotal.com.br>>

WANG, M.J.; GOLDSTEIN, V. **Ice slurry: Advanced Fish Chilling and Preservation Technology.** American Fisheries Society Symposium, v.38, p.379-386. 2005.

WHITTLE, G. P.; WOOD, C. D. **Utilization of pelagic fish for human consumption.** In: BURT, J. R.; HARDY, R.; WHITTLE, K. J. **Pelagic fish.** London: Fishing News Book, p.238-253. 1992.

WILEY, J. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products.** In: SWERN, D. **Structure and composition of fats and oils,** v.1, 1979. 841p.

WILKINSON, A. L.; SUN, Q.; SENEAL, A.; FAUSTMAN, C. **Antioxidant effects on TBARS and fluorescence measurements in freeze-dried meats.** Chicago: Journal of Food Science, v.66, n.1, p.20-24. 2001.