



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**MÉTODOS DE ABATE E QUALIDADE DA  
TILÁPIA DO NILO**

**ELAINE CRISTINA BATISTA DOS SANTOS**

Engenheira de Pesca

Jaboticabal, SP  
2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**MÉTODOS DE ABATE E QUALIDADE DA**  
**TILÁPIA DO NILO**

**ELAINE CRISTINA BATISTA DOS SANTOS**  
**ORIENTADORA: Profa. Dra. ELISABETE MARIA MACEDO VIEGAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, CAUNESP – como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora.

Jaboticabal, SP  
2013

O mundo está nas mãos daqueles que tem coragem de sonhar, e correr o risco de viver seus sonhos.

Paulo Coelho

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Elisabete Maria Macedo Viegas, pela orientação, ensinamentos e paciência em todos os momentos do doutorado;

Aos colegas da FZEA, Paulo, Mariene (Bitoca), Rodrigo (Bisteca), João de Paula, Julio, Laura, Fabio, Pâmela e Nayra (Mãezona) pelo auxílio na execução do experimento e análises laboratoriais, além da amizade e os poucos, mas, bons momentos de diversão;

À família Vargas por não me deixar esquecer o que é ter uma família, especialmente à Sheyla Vargas pelas necessárias puxadas de orelha, que graças a ela cheguei ao final dessa jornada;

Aos técnicos da piscicultura da FZEA, Apolinário e Daflim pelo apoio e trabalho em todas as etapas da pesquisa, sem eles tudo seria muito mais difícil;

Às Amigas Dagmar e Cristina Tchorny pela amizade, confiança e carinho.

Aos meus irmãos de fé pela amizade, carinho e muitos momentos de diversão, muito asè.

À secretaria do CAUNESP, em nome da Veralice e David, pela ajuda nas dúvidas acadêmicas.

Ao Prof. Sobral pela disponibilização do laboratório e a Mônica pela ajuda na realização das análises;

Ao CNPq pela concessão da bolsa e do auxílio financeiro para realização dessa pesquisa;

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte dessa etapa da minha vida.

# SUMÁRIO

---

	PAGINA
<b>LISTA DE TABELAS</b>	I
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	II
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>	IV
<b>RESUMO GERAL</b>	10
<b>GENERAL ABSTRACT</b>	11
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b>	12
1.1. Aquicultura no mundo e Brasil	12
1.2. Panorama da tilapicultura no Brasil	13
1.3. Segurança alimentar e qualidade do pescado	14
1.4. Bem estar e estresse em peixes	15
1.5. Métodos de abate	16
1.6. Indicadores físico-químicos de qualidade do pescado	21
1.7. Rigor mortis	22
1.8. Alterações do pH	22
1.9. Bases nitrogenadas voláteis e nitrogênio não proteico	23
1.10. Degradação do ATP e seus catabolitos	25
1.11. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico - TBARS	27
1.12. Textura instrumental	28
1.13. <i>Drip loss</i> (perda de água no descongelamento)	29
1.14. <i>Cooking loss</i> (perda de água por cozimento) e capacidade de retenção de água-CRA	29
1.15. Análise da desnaturação protéica por calorimetria de varredura – DSC	31
1.16. Avaliação sensorial	31
1.17. Cor instrumental	32
<b>2. OBJETIVO GERAL</b>	33
2.1. Objetivos específicos	33
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	34

**CAPITULO I**  
**EFEITO DE TRÊS MÉTODOS DE ABATE SOBRE OS INDICADORES DE**  
**QUALIDADE DA TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) RESFRIADA**

<b>RESUMO</b>	43
<b>ABSTRACT</b>	44
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	45
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>	46
2.1. Peixe e métodos de abate	46
2.2. Amostragem	47
2.3. Métodos analíticos	47
2.4. Delineamento experimental e análise estatística	48
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	48
<b>4. CONCLUSÕES</b>	55
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	56

**CAPÍTULO II**  
**AVALIAÇÃO DE VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DA**  
**TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDA A DIFERENTES MÉTODOS DE**  
**ABATE**

<b>RESUMO</b>	60
<b>ABSTRACT</b>	61
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	62
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>	63
2.1. Peixe e métodos de abate	63
2.2. Amostragem	64
2.3. Métodos analíticos	64
2.3.1. BNV e NNP	64
2.4. Métodos instrumentais	65
2.4.1. Cor instrumental	65
2.4.2. Textura instrumental	65
2.4.3. Índice de contração muscular	65
2.3. Avaliação sensorial	66
2.4. Delineamento experimental e análise estatística	66
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	66
3.1. BNV e NNP	66
3.2. Textura instrumental	70
3.3. Índice de contração muscular	71
3.4. Cor instrumental	72
3.5. Avaliação sensorial	73

<b>4. CONCLUSÕES</b>	74
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	75

### **CAPITULO III**

#### **ESTABILIDADE DE FILÉS CONGELADOS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDOS À DIFERENTES MÉTODOS DE ABATE**

<b>RESUMO</b>	79
<b>ABSTRACT</b>	80
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	81
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>	82
2.1. Peixes e métodos de abate	82
2.2. Amostragem	83
2.3. Análises físico-químicas	83
2.3.1. Potencial hidrogeniônico (pH), Bases Nitrogenadas Volateis (BNV) e Substancias Reativas ao Ácido Tionarbitúrico (TBARS)	83
2.3.1. Desnaturação proteica – DSC	84
2.3.3. Cor e textura instrumental	84
2.3.4. Perda de água por cozimento ( <i>cooking loss</i> ) e descongelamento ( <i>drip loss</i> ) e capacidade de retenção de água	85
2.3.5. Delineamento experimental e análise estatística	85
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	86
3.1. Análises físico-químicas	86
3.1.1. pH, BNV e TBARS	86
3.1.2. Desnaturação proteica – DSC	88
3.1.3. Cor instrumental	89
3.1.4. Textura instrumental	91
3.1.5. Perda de água por cozimento, por descongelamento e capacidade de retenção de água –CRA	92
<b>4. CONCLUSÃO</b>	94
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	94

## LISTA DE TABELAS

	<b>Capítulo I</b>	<b>Página</b>
<b>TABELA 1.</b>	Tempo total de abate e parâmetros de qualidade da água durante a aplicação dos três métodos de abate.	49
<b>TABELA 2.</b>	Medidas de pH muscular da tilápia do Nilo resfriada, submetida e diferentes métodos de abate.	54
	<b>Capítulo II</b>	
<b>TABELA 1.</b>	Força de compressão aplicada aos filés de tilápia resfriada submetida a três métodos de abate.	70
	<b>Capítulo III</b>	
<b>TABELA 1.</b>	Valores médios e desvio padrão das análises de pH e BNV dos filés de tilápia congelados, submetidos a três métodos de abate	86
<b>TABELA 2.</b>	Temperaturas (°C) e entalpia de desnaturação (Hd) (j/g) proteica dos filés de tilápia do Nilo abatidos por eletronarcode (ChE), mistura gasosa (CO <sub>2</sub> N) e hipotermia (AG)	89

## LISTA DE FIGURAS

<b>Introdução geral</b>		<b>Página</b>
<b>FIGURA 1.</b>	Evolução da produção nacional de tilápia.	14
<b>Capítulo I</b>		
<b>FIGURA 1.</b>	Dinâmica do Índice de <i>Rigor Mortis</i> em tilápias abatidas por choque elétrico (ChE), mistura de gases (CO <sub>2</sub> N) e hipotermia (AG), e mantidas resfriadas	50
<b>FIGURA 2.</b>	Relação ATP x Índice de <i>Rigor Mortis</i> em tilápias submetidas ao abate por eletronarcose, mistura gasosa e hipotermia	51
<b>FIGURA 3.</b>	Degradação do ATP (A) e seus catabolitos AMP(B), IMP(C), INO(D), HX (E) e K (F), no abate da tilápia por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO <sub>2</sub> N) e hipotermia (AG)	53
<b>Capítulo II</b>		
<b>FIGURA 1.</b>	Teores de BNV (Bases Nitrogenadas Voláteis) em tilápia resfriada submetidas a diferentes métodos de abate	67
<b>FIGURA 2.</b>	Níveis de Nitrogênio Não Proteico nos abates por eletronarcose, mistura gasosa e hipotermia durante o armazenamento	69
<b>FIGURA 3.</b>	Percentual de encolhimento e expansão do filé de tilápia abatido por eletronarcose, mistura gasosa e hipotermia	71
<b>FIGURA 4.</b>	Valores médios de a* (A), b* (B) e L* (C) da tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO <sub>2</sub> N) e hipotermia (AG), resfriado	72
<b>FIGURA 5.</b>	Avaliação sensorial da tilápia submetida e diferentes métodos de abate segundo o esquema da União Europeia. (Esquema baseado no Regulamento do CEE 103/76 e modificado pelo Regulamento EU 2406/96)	74

### Capítulo III

- FIGURA 1.** Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído/kg de amostra) em filés de tilápia do Nilo congelados e estocados a -18°C submetidos a três métodos de abate 87
- FIGURA 2.** Valores médios de L\* (**A**), a\* (**B**) e b\* (**C**) de filés de tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), congelados e estocados por 180 dias 90
- FIGURA 3.** Valores médios de força de compressão dos filés de tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), congelados e estocados por 180 dias 91
- FIGURA 4.** Percentual de perda de água no cozimento (*cooking loss*), **B**- perda de água por descongelamento (*drip loss*) e **C**- capacidade de retenção de água (CRA) dos filés de tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), congelados e estocados a -18°C por 180 dias. 94

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>A</b>	Ampère
<b>a*</b>	Intensidade de vermelho na amostra
<b>AG</b>	Abate por hipotermia (água+gelo)
<b>AMP</b>	Adenosina monofosfato
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>ATP</b>	Adenosina trifosfato
<b>b*</b>	Intensidade de amarelo na amostra
<b>BNV</b>	Bases nitrogenadas voláteis
<b>ChE</b>	Abate por choque elétrico
<b>CO<sub>2</sub></b>	Gás carbônico
<b>CO<sub>2</sub>N</b>	Abate por mistura gasosa (gás carbônico e nitrogênio)
<b>CRA</b>	Capacidade de retenção de água
<b>Cm</b>	Centímetro
<b>DSC</b>	Calorimetria Diferencial de Varredura
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization
<b>G</b>	Grama (peso)
<b>HPLC</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência
<b>Hx</b>	Hipoxantina
<b>IMP</b>	Inosina monofosfato
<b>K</b>	Índice de qualidade e frescor
<b>L*</b>	Luminosidade da amostra
<b>Mg</b>	Miligrama
<b>Min</b>	Minuto
<b>mL</b>	Mililitro
<b>MPA</b>	Ministério da Pesca e Aquicultura
<b>N</b>	Nitrogênio
<b>NNP</b>	Nitrogênio não proteico
<b>nº</b>	Número
<b>OD</b>	Oxigênio dissolvido
<b>°C</b>	Grau centígrado
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico

<b>R</b>	Coeficiente de correlação
<b>R<sup>2</sup></b>	Coeficiente determinístico
<b>T</b>	Temperatura
<b>TBARS</b>	Substâncias Reativas ao ÁcidoTiobarbitúrico
<b>UNESP</b>	Universidade Estadual Paulista
<b>V</b>	Volts

## RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido para avaliar a eficiência de três métodos de abate da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre a qualidade de filés congelados. Esta pesquisa foi executada em duas etapas que consistiram na aplicação dos métodos de abate por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG). Na primeira etapa foi analisado o peixe inteiro resfriado, avaliados índices de *rigor mortis*, degradação de ATP, pH, BNV, NNP, contração muscular, cor e textura instrumental e avaliação sensorial. Os peixes abatidos por ChE apresentaram um retardamento no tempo de entrada em *rigor mortis*, este mesmo tratamento apresentou R<sup>2</sup> de 0,92 na interação entre a degradação de ATP e *rigor mortis*. O pH foi afetado pelos tratamentos e pelo tempo. Os maiores valores de BNV ocorreram no abate por ChE. O abate por AG apresentou 452 mg NNP/100g. O tempo de estocagem causou uma leve diminuição na textura instrumental no abate por ChE. A L\* aumentou com o tempo para os abates por ChE e CO<sub>2</sub>N. A análise sensorial mostrou um R<sup>2</sup> de 0,94; 0,98 e 0,96 para os abates por ChE, CO<sub>2</sub>N e AG, respectivamente. Na segunda etapa foram aplicados os mesmo métodos de abate da primeira, seguido da filetagem e análises dos filés congelados. Avaliados índices físicos e químicos de qualidade como BNV, TBARS, DSC, CRA, perda de água por cozimento e descongelamento, textura e cor instrumental. Não houve diferença para os valores de BNV. A maior variação de pH ocorreu no abate por AG. Os valores de TBARS foram crescentes ao longo do tempo. O método de abate influenciou a temperatura de desnaturação da actina. A cor L\* para o abate por ChE se mantiveram superiores. Ocorreu uma redução significativa na textura. As perdas de água por cozimento e descongelamento e a CRA apresentaram diferença no abate por AG. A partir desses resultados é possível concluir que do ponto de vista humanitário e da qualidade do pescado, há viabilidade de utilização do choque elétrico como método eficaz de abate, por provocar uma morte rápida e segura.

Palavras chave: *Oreochromis niloticus*, choque elétrico, mistura gasosa, hipotermia, qualidade, frescor.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the efficacy of three methods of slaughter of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and the quality of frozen fillets. This research was performed in two steps consisting in applying the methods of killing by electric shock (ChE), gas mixture (CO<sub>2</sub>N) and hypothermia (AG). The first step was analyzed whole fish cold, evaluated indices of rigor mortis, degradation of ATP, pH, N-BVT NNP, muscle contraction, and texture instrumental color and sensory evaluation. Fish killed by ChE showed a delay in the time of entry into rigor mortis, this same treatment showed R<sup>2</sup> 0.92 in the interaction between the degradation of ATP and rigor. The pH was affected (p> 0.05) by treatments and time. The highest values occurred in the BNV slaughter by ChE. Slaughter presented by AG 452 mg NNP/100g. The storage time caused a slight decrease in instrumental texture slaughter by ChE. A L\* increased with time for slaughter for ChE and CO<sub>2</sub>N. Sensory analysis showed an R<sup>2</sup> 0.94, 0.98 and 0.96 for withdrawals by ChE, CO<sub>2</sub>N and AG, respectively. In the second step we applied the same methods of killing the first, followed by filleting and analysis of frozen fillets. Indices evaluated physical and chemical quality as N-BVT, TBARS, DSC, WRC, cooking and drip loss, texture and instrumental color. There was no difference in the values of N-BVT. The biggest change occurred in pH slaughter by AG. TBARS values were increased over time. The method of killing influence the denaturation temperature of actin. The color L \* for slaughter by ChE remained higher. There was a significant reduction in texture. The analysis of cooking and drip loss and WRC differ (p>0.05) at slaughter by mainly AG. From these results it is concluded that is possible in humanitarian point of view and the quality of the fish, there are feasibility of using electric shock as an effective method of killing, by causing a death fast and safe.

Keywords: *Oreochromis niloticus*, electric shock, gas mixture, hypothermia, quality, freshness

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

## 1.1. Aquicultura no mundo e no Brasil

Aquicultura é a produção de organismos aquáticos em condições controladas, que se destina a produzir alimentos de alto valor nutritivo (MACEDO-VIEGAS; SOUZA, 2004). É a atividade com maior potencial para fornecimento de produtos de origem animal. Segundo a FAO (2011) a produção mundial de pescado foi de 145,1 mil toneladas, com a aquicultura contribuindo com 55,1 mil toneladas em 2009. A China é o maior produtor mundial de pescado, responsável por 62% da produção. O Brasil se destaca como um dos países com capacidade para a expansão da aquicultura, pois apresenta diversos fatores favoráveis, como, potencial hídrico, diversidade em espécies nativas, microclimas e áreas adequadas ao desenvolvimento da atividade, além de condições favoráveis do mercado consumidor interno e externo (BORGHETTI; OSTRENSKY, 1999).

A aquicultura brasileira apresentou significativo crescimento nos últimos anos, 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 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 (MPA, 2011).

No período 1970-2008, a produção mundial de peixes provenientes da aquicultura aumentou a uma taxa média anual de 8,3 %, enquanto a população mundial cresceu a uma média de 1,6 % ao ano. O consumo de peixe no mundo alcançou níveis históricos, conforme relatório da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO, 2011), que contabilizou em 2010, média de 17 quilos por pessoa/ano. Esse aumento se deve basicamente à elevação da produção pela aquicultura, que cresce a taxa anual próxima de 7%.

Estima-se que para manter o atual nível de consumo per capita, a produção de pescado mundial terá de chegar a 80 milhões de toneladas até 2050. Apesar da maior parte da produção ser proveniente da pesca, globalmente, a produção de pescado pela captura está em declínio, pois as principais zonas de

pesca atingiram o patamar máximo de exploração. Assim esta produção não será capaz de satisfazer a demanda pelo pescado, que terá que ser compensada pela aquicultura, que tem potencial para uma contribuição significativa (FAO, 2011).

Com o aumento na produção de pescado, cresceram as exigências do mercado consumidor, que englobaram no conceito de qualidade, segurança alimentar e sabor, além de alguns aspectos que envolvem a produção, tais como, sustentabilidade, impacto ambiental e o bem estar animal (VAN DE VIS; KESTING; ROBB; et al, 2003).

## **1.2. Panorama da tilapicultura no Brasil**

As maiores produtividades aquícolas estão nas regiões nordeste e sul, e dentre as espécies cultivadas, destaca-se a tilápia, *Oreochromis spp.*, pertencente à família *Cichlidae*, e que compõe o grupo de peixes que mais cresce em termos de comercialização mundial. É o segundo grupo mais produzido mundialmente, e apesar das imprecisões estatísticas, estima-se ser o gênero mais produzido no Brasil (ZIMMERMANN; FITZSIMMONS, 2004).

A espécie é originalmente nativa da África, mas encontrou no Brasil condições ambientais ideais para se propagar, e apesar de ser exótica, atualmente a tilápia pode ser capturada em ambientes naturais, em praticamente todas as regiões brasileiras (BORGHETTI; OSTRENSKY, 1999). Sua ampla produção se deve a características, como rusticidade, crescimento rápido, fácil adaptação, boa aceitação no mercado consumidor, carne com características organolépticas e nutricionais desejáveis, tais como baixo teor de gordura e ausência de espinhos em forma de “Y”, sendo esta característica interessante para a produção de filés (BORGHETTI; OSTRENSKY, 1999; STEVANATO et al., 2005).

Em 2009, a produção nacional de tilápias foi de 132,957 mil toneladas, tendo crescido 16,4% em relação ao ano anterior (MPA, 2011). Parte significativa dessa produção é comercializada diretamente para os consumidores finais, pelos próprios produtores (NOGUEIRA; RODRIGUES, 2007), mas a produção também é destinada aos pesque-pague, e para frigoríficos, com a finalidade de produzir filés ou peixes inteiros eviscerados (SEBRAE, 2008). Atualmente a filetagem é a

principal forma de processamento de pescado no Brasil (BOMBARDELLI; SYPPERRECK; SANCHES, 2005), e no caso da tilápia, os filés congelados ou in natura são os produtos mais populares (SEBRAE, 2008).



Fonte: MPA, 2012

**FIGURA 1.** Evolução da produção nacional de tilápia.

### 1.3. Segurança alimentar e qualidade do pescado

O pescado é um alimento de alto valor nutritivo, constituindo uma das mais importantes fontes protéicas de alto valor biológico, além de sua composição rica em lipídios insaturados, vitaminas e sais minerais. Uma preocupação recente está relacionada à qualidade do pescado, onde se procura atingir um padrão para garantir a comercialização, tornando-se necessário a adoção de medidas tanto na produção quanto na pós-colheita (MACEDO-VIEGAS; SOUZA, 2004).

Para alcançar a segurança alimentar é necessário que existam três fatores: disponibilidade, acesso e qualidade (SEBRAE, 2008). Assim, é preciso melhorar a segurança do alimento, reduzir as perdas pós-colheita e para a aquicultura, aumentar a porcentagem dos peixes utilizados para o consumo humano direto.

O controle de qualidade do pescado e a segurança do alimento são fundamentais, pois é a *commodity* alimentar mais comercializada internacionalmente (HUSS, 2003). Mas a qualidade dos peixes também deve abranger aspectos éticos durante a produção (LAMBOOIJ; KLOOSTERBOER; GERRITZEN, et al., 2006). Para peixes, o bem-estar animal começou a ser

discutido recentemente (LAMBOOIJ; VAN DER VIS, KLOOSTERBOER, et al., 2002), entretanto na indústria de abate de aves e mamíferos já se tem utilizado o bem-estar animal como forma de melhorar o produto final (LAMBOOIJ; KLOOSTERBOER, GERRITZEN, et al., 2006). Além de fatores como o abate, as próprias características químicas e estruturais da carne de pescado provocam aceleradas alterações, que proporcionam deterioração do pescado (MELO FRANCO; LANDGRAF, 1996).

#### **1.4. Bem estar e estresse em peixes**

A definição de estresse é bastante ampla, mas de maneira geral, é um conjunto de respostas do organismo animal diante de estímulos desagradáveis, agressivos e ameaçadores (URBINATI; CARNEIRO, 2004). Segundo Bonga (1997), estresse é uma condição causada por estímulos intrínsecos, denominados estressores, que apresentam ação dupla, tanto produzindo efeitos que ameaçam ou perturbam o equilíbrio homeostático, como desencadeando um conjunto coordenado de respostas fisiológicas e comportamentais com o fim compensatório ou adaptativo para a sobrevivência animal.

As respostas ao estresse funcionam como um mecanismo que permite aos peixes preservar a saúde frente às ameaças dos estressores. A resposta com finalidade adaptativa apresenta como aspecto central a realocação da energia metabólica de atividades de investimento, como o crescimento e a reprodução, para atividades de restabelecimento da homeostase, como a respiração, locomoção, regulação osmótica e reparação tecidual (BONGA, 1997).

A atenção e preocupação com o estresse na piscicultura têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, por ser uma questão importante no bem-estar dos peixes (ASHLEY, 2007), e também pelos efeitos negativos na produção (URBINATI; CARNEIRO, 2004) e na alteração dos atributos de qualidade da carne (LAMBOOIJ; VAN DER; KLOOSTERBOER, et al., 2002). O grau em que os atributos de qualidade da carne são afetados pelo estresse depende diretamente da severidade, duração e velocidade do estressor.

O estresse pode ocorrer pelo manejo da produção, densidade de estocagem, transporte e pelo abate (LAMBOOIJ; VAN DER; KLOOSTERBOER,

et al., 2002). Os problemas ocasionados pela produção intensiva em conjunto com a demanda dos consumidores por produtos de melhor qualidade estão modificando o interesse dos produtores por uma produção sustentável, pois a qualidade dos peixes também abrange aspectos éticos durante a produção (LAMBOOIJ; KLOOSTERBOER, GERRITZEN, et al., 2006). LAMBOOIJ et al., (2006), mencionou a deficiência nas regulamentações específicas de abate e para proteção aos peixes, apesar das preocupações governamentais, dos consumidores e de associações de proteção aos animais (LAMBOOIJ; VAN DER; KLOOSTERBOER, et al., 2002), e até o momento, este cenário ainda permanece deficiente.

As questões de bem-estar associados ao abate de peixes provenientes da piscicultura foi comentado por Van de Vis, Kestin, Oehlenschlager, et al., (2003), e aqueles ligados à pesca marinha por Gregory (1998). Houve uma controvérsia entre os cientistas quanto à possibilidade dos peixes sentirem dor. Alguns consideram que o peixe provavelmente não pode sentir dor (ROSE, 2002), enquanto outros consideram que os elasmobrânquios têm essa capacidade diminuída, mas provavelmente há essa possibilidade em peixes teleósteos (SNEDDON; BRAITHWAITE; GENTIL, 2003). Assim como a maior parte dos processos zootécnicos, a piscicultura emprega sistemas que visam produzir o máximo ao menor custo. Porém, é cada vez mais reconhecido que a alta produtividade deve estar relacionada com cuidados apropriados aos peixes.

Um fator limitante do bem-estar de peixes no Brasil é a falta de informação sobre abate humanitário para o pescado. Até mesmo a Instrução Normativa nº 3, de 17 de janeiro de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, que aprova o regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue, inclui somente mamíferos, aves domésticas e animais silvestres criados em cativeiro, não fazendo nenhuma menção aos peixes.

### **1.5. Métodos de abate**

As técnicas de abate de peixes têm sido alvo de inúmeros estudos, com vários objetivos, entre os quais os de promover o controle de qualidade, a eficiência e a segurança dos procedimentos (CONTE, 2004). As técnicas de abate

de peixes são diversas, e as espécies apresentam variação nas respostas aos diferentes métodos (ASHLEY, 2007), sendo assim, a escolha apropriada do método de abate é um passo importante para assegurar a qualidade do pescado (SCHERER; SCHORR, 2005).

Uma grande variedade de métodos de abates é utilizada na aquicultura podendo induzir a diversos níveis de estresse. Alguns desses métodos são utilizados comercialmente, como por exemplo, a asfixia no ar e imersão em solução de água salgada e gelo, envolvendo períodos prolongados de consciência antes da morte (ASHLEY, 2007); (POLI; PARISI; SCAPPIN; ZAMPACAVALLLO, 2005) e (VAN DE VIS; KESTIN; ROBBIN, et. al., 2003). Métodos de abate, como a utilização de dióxido de carbono e atordoamento elétrico foram usados em peixes marinhos, porém ambos têm sido considerados desumanos causando diminuição do pH da carne ou aceleração do início do estado de *rigor mortis* (EFSA, 2009) ; KNOWLES; BROWN; WARRIS, et al., 2007); e (POLI; PARISI; SCAPPINI; et al., 2005).

Um dos métodos de abate mais usual é a imersão do peixe em água gelada (ASHLEY, 2007). Este método consiste em submergir os peixes em água gelada, em temperatura em torno de 1°C, até a morte. Existem questionamentos em termos de bem-estar ao se utilizar este método, entretanto a hipotermia causa insensibilização nos animais, sendo aplicado em trabalhos que avaliam tanto questões de bem-estar, como sua relação com a qualidade do produto final (BAGNI; CIVITAREALE; PRIORI, et al., 2007); (LAMBOOIJ; KLOOSTERBOER, GERRITZEN, et al., 2006); e (SCHERER; SCHOOR, 2005).

O método de abate por sangria é realizado por perfuração das brânquias, e posteriormente o peixe é submerso em água gelada, em temperatura de 1°C (OLSEN, 2008). Para a garantia do bem-estar animal., a sangria é realizada em conjunto com prévia insensibilização, com CO<sub>2</sub> (ROTH; TORRISEN; SLINDE, 2005), estimulação elétrica (LAMBOOIJ; GERRITZEN; REIMERT, et al., 2008; LAMBOOIJ; KLOOSTERBOER; GERRITZEN, et al., 2006; ROTH; TORRISEN, 2007) e hipotermia (LAMBOOIJ; KLOOSTERBOER; GERRITZEN, et al., 2006). Já a asfixia é considerada como um dos mais estressantes métodos de abate, em comparação como, por exemplo, sangria (ERIKSON; SIGHOLT; RUSTAD, et al.,

1997); (OTTERA; ROTH; TORRISSEN, 2001), refrigeração, narcose por CO<sub>2</sub> ou por descarga elétrica (SEBASTIO; AMBROGGI. BALDRATI, 1996).

É importante obter informações sobre como o manejo habitual poderiam afetar o bem-estar e a qualidade dos peixes cultivados e propor procedimentos alternativos. Alguns estudos sobre os métodos de abate de peixes (ROBB; KESTIN; WARRIS, 2000) abordam questões sobre a possibilidade de considerações éticas nos procedimentos industriais para abate (LAMBOOIJ; VAN DER VIS; KLOOSTERBOER, et al., 2002). Vários métodos de insensibilização atendem a essa demanda, não afetando negativamente a qualidade final dos peixes (RIBAS; FLOS; REGIS, et al., 2007).

A morte por asfixia e o choque térmico não são considerados aceitáveis por Robb, Kestin e Warris, (2000) e Conte (2004) sob a perspectiva do bem-estar de peixes, pois causam sofrimento intenso e prolongado, embora, ainda sejam os mais utilizados nas indústrias de beneficiamento de pescado, devido principalmente a facilidade de aplicação do método e por este oferecer resultados positivos de qualidade.

Sabe-se que os métodos aplicados nas indústrias visam provocar insensibilização, inicialmente, e são seguidos de métodos complementares que provocam a morte dos peixes, como por exemplo: pancada na cabeça (comumente utilizado em peixes de grande porte proveniente da pesca extrativa), perfuração cerebral por pistola de ar comprimido ou por objeto perfuro cortante. Estes métodos são considerados complementares e somente são utilizados quando se pretende comercializar o peixe em filés ou postas, já que causam deformações na cabeça, tornando a aparência desagradável.

Alguns métodos de atordoamento que são utilizados por indústrias européias para o abate de truta e salmão, são considerados onerosos se aplicados a espécies de baixo valor comercial. Estes métodos consistem em atordoamento por choque elétrico ou por adição de gases em misturas de água gelo, visando um abate mais eficiente, que aumente a vida de prateleira do produto final (SCHERER; SCHORR, 2005).

Em alguns países, pistolas elétricas estão sendo substituídas por unidades de gás para o abate de bovinos, suínos e aves. O atordoamento com gás está sendo bastante aplicado, pois resulta em menos manchas de sangue na carne e hemorragias na superfície da carcaça. Cinco métodos de atordoamento a gás estão sendo usados comercialmente e que diferem na composição do gás. Dois métodos são usados no Reino Unido; argônio 60% + 30% CO<sub>2</sub> e menos de 2% de O<sub>2</sub>. O método de abate por anóxia (menos de 2% de O<sub>2</sub>) está caindo em desuso, por causar convulsões e pelo alto do custo dos gases (GREGORY, 2005). Na Europa, usa-se uma mistura de 40% de CO<sub>2</sub> + 30% de O<sub>2</sub> e 30% de N<sub>2</sub> para indução de inconsciência, seguido do uso de uma mistura de 80% de CO<sub>2</sub> + N<sub>2</sub> 20% para provocar a morte (GREGORY, 2005).

Ribas, Flos, Reig, et al., (2007) descreveram a eficácia e os benefícios do abate por CO<sub>2</sub> na qualidade do músculo, na análise sensorial e nos efeitos sobre indicadores de estresse fisiológico na “solla” do Senegal. Os dados mostraram que os peixes atordoados com CO<sub>2</sub> na dose de 1 mL/L, apresentou-se como um método eficiente, garantindo um produto de boa qualidade para o mercado. Esses resultados para o atordoamento com CO<sub>2</sub> também pode ser aplicável a outras espécies hipóxico-resistente usados na produção.

O dióxido de carbono tem sido utilizado como um método de atordoamento para auxiliá-los durante a captura de peixes. Robb; Kestin e Warriss (2002) relataram que a resposta de salmão ao ambiente ácido e o atordoamento causado por hipóxia com CO<sub>2</sub> levou a um estresse agudo e reação de fuga. O uso do atordoamento por CO<sub>2</sub> pode provocar um início mais precoce de rigor mortis e amolecimento da textura muscular (ROTH; TORRISEN e SLINDE, 2005). Wills; Zampacavallo; Poli, et al., (2006) relataram que o nitrogênio pode ser utilizados para o atordoamento de truta arco-íris, causando menos atividade muscular durante o abate quando comparado com o abate por asfixia no ar. A utilização de outros gases e misturas de gases para atordoamento de peixes pode ser uma área promissora para estudos adicionais.

A aplicação de choque elétrico imediatamente após a colheita é visto como um método indicado para melhorar o bem-estar do peixe no momento do abate por induzir uma inconsciência imediata que permanece até a morte. O

atordoamento elétrico é amplamente utilizado no abate de mamíferos domésticos e aves, por estar, geralmente associado à promoção do bem-estar. Nordgreen et al., (2008) testaram varias correlações entre força de corrente elétrica e tempo para atordoamento do arenque, observando que o uso da eletricidade foi eficiente, com um campo elétrico 33 V / m por 1s levando a um estado de inconsciência. A Correlação entre e força da corrente elétrica e o tempo de exposição a esta corrente revelou que a duração do estado de inconsciência depende diretamente da duração de aplicação da corrente elétrica (NORDGREEN; SLINDE; MOLLER, et al., 2008).

Em termos de uso comercial, o atordoamento elétrico pode ser uma alternativa viável para algumas espécies. A princípio, um campo elétrico pode ser gerado em redes de cerco, bombas ou tanques, para que seja possível atordoar os peixes sistematicamente, sem afetar a eficiência da colheita. Nordgreen, Slinde, Moller, et al., (2008), concluiu que o atordoamento elétrico é um método muito eficiente para o arenque do Atlântico e pode ser facilmente adaptada para uso em embarcações pesqueiras, mas que os prejuízos causados no filé pelo atordoamento elétrico não seria bem recebido pela indústria.

Robb, Ocallaghan, Lines (2002a); Robb, Wotton, Van de Vis (2002b) e Lambooij; Kloosterboer; Gerritzen, et al., (2002), testaram a eficácia do eletro choque no abate da enguia (*Anguilla anguilla*) e concluíram que uma corrente com 0,64 amp/s foi satisfatório para promover um atordoamento que, aliado ao método de abate por acondicionamento em sal triturado, garantiu que as enguias abatidas dessa forma, apresentassem uma carne menos propensa à rancidez oxidativa, de textura mais firme e cor mais avermelhada. A Silsoe Research Institute desenvolveu uma linha semi-automática de unidade elétrica rotativa para promover o atordoamento em peixes (LINES; ROBB; KESTIN, et al., 2003).

Técnicas de abate na aquicultura são diversas e as espécies de peixes têm respostas variadas frente aos diferentes métodos. O principal efeito de estresse severo no abate e pré-abate é observado nas propriedades físicas da carne, com a exaustão da energia muscular, produzindo mais ácido láctico, reduzindo o pH muscular e aumentando a velocidade de entrada no *rigor mortis*. Pode-se observar também amolecimento muscular não desejável, tornando-a mais

susceptível ao “gaping” (ÖZOGUL & ÖZOGUL, 2004); (POLI; PARISI, SCAPPINI, et al., 2005).

Os efeitos do estresse do abate sobre a evolução do metabolismo pós-morte determinam importantes reduções da qualidade do produto, piorando as características da carne (ERIKSON; SIGHOLT; RUSTAD, et al., 1997). O aspecto do peixe ou do filé (cor), a consistência, o aroma, a capacidade de manter as características de frescor e a vida de prateleira (ROBB; KESTIN; WARRISS 2000), são somente algumas das características que são significativamente influenciadas pelo método de atordoamento/morte adotada para os peixes.

### **1.6. Indicadores físico-químicos de qualidade do pescado**

Para Contreras-Guzmán (1988), qualidade como um todo envolve a soma dos atributos físicos, sensoriais, químicos e microbiológicos dos alimentos. No pescado a qualidade está estreitamente ligada com o estado de frescor. Além de fatores como o abate, as próprias características químicas e estruturais da carne de pescado provocam rápidas alterações, que causam deterioração (MELO FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Sabe-se que o manejo inadequado antes do abate pode levar à deterioração mais rápida carne (LOWE; RYDER; CARRAGHER, et al., 1993). SIGHOLT; ERIKSON; RUSTAD, et al., 1997). Os métodos de captura e abate tem influência sobre a degradação muscular pós-morte da carne, provocando modificações no início e resolução rigor mortis, diminuição do pH muscular, perda da capacidade de retenção de água, desnaturação de proteínas, oxidação lipídica e aumento da flora microbiana (TORNBERG; WALGREN; BRONDUM, et al., 2000).

Para avaliar a qualidade no peixe fresco, vários indicadores têm sido utilizados por diferentes autores (PARISI; FRANCI; POLI, 2002); (LOUGOVOIS, 2003). Dentre os indicadores bioquímicos, alguns estão mais relacionados à deterioração da carne, tais como as concentrações de aminas, amônia, trimetilamina, dimetilamina e compostos de peroxidação lipídica. Um bom indicador de frescor é a degradação dos nucleotídeos ou o conteúdo de ATP (HUSS; ROESPSTORFF; KARL, et al., 1992).

### **1.7. Rigor mortis**

O aparecimento e desenvolvimento do *rigor mortis* é influenciado por vários fatores como, espécie, idade e tamanho da amostra, pelos procedimentos pré-abate (LOWE et al., 1993; BERG et al., 1997; NAKAYAMA et al., 1992; SIGHOLT et al., 1997) e, por último mas não menos importante, pelos métodos de abate (MOCHIZUKI e SATO, 1994; OTTERA et al., 2001). O desenvolvimento do rigor mortis é amplamente utilizado como indicador de estresse (NAKAYAMA et al. 1992; LOWE; RYDER; CARRARA, et al., 1993), estando associado ao processo de acidificação causada pela produção de ácido láctico no tecido muscular durante o pré-abate. A resolução do rigor se deve principalmente à ação endógena de enzimas proteolíticas (catepsinas), bem como enzimas microbianas, o que resultam na quebra de proteínas miofibrilares (SEBASTIO; AMBROGGI; BALDRATI, et al., 1996).

Acerete; Reig; Alvarez, et al., 2009, testando três métodos de abate, verificaram que o início do rigor foi semelhante para os três grupos (CO<sub>2</sub>, hipotermia e asfixia em gelo). No entanto, o início de rigor em alguns indivíduos do grupo de asfixia em gelo começou antes do grupo de CO<sub>2</sub>. Isso pode estar relacionado a movimentos bruscos e tentativas de fuga dos peixes, causando, portanto, maior consumo de ATP antes da morte neste grupo (BAGNI; CIVITAREALE; PRIORI, et al., 2007).

### **1.8. Alterações do pH**

A análise do pH, também é comumente utilizada como parametro de frescor. A redução do pH é devido à geração de íons H<sup>+</sup> associada à produção de ácido láctico, bem como o colapso das reservas de ATP. Essa diminuição geralmente provoca danos a textura da carne e queda na qualidade do filé, como observado no “linguado”, *Paralichthys olivaceus* (IWAMOTO; YAMAHA; WATABE, et al., 1987), no esturjão, *Acipenser sturio* (IZQUIREDO-PULIDO; HATAE; HAARD, 1992), em carpas, *Ciprinus carpio* (NAKAYAMA; LUI; OOI, 1992) e também em salmonídeos (SIGHOLT; ERIKSON; RUSTAD, et al., 1997).

O aumento do valor de pH é provavelmente relacionado ao acúmulo de substâncias de base, como amônia e trimetilamina, produzidos pelo

desenvolvimento de microorganismos nos peixes (HUSS, 1988). Albuquerque; Zapata e Almeida (2004) encontraram medidas do pH do músculo da tilápia do Nilo de 6,18 a 6,77. Esses resultados foram similares aos encontrados por Carvalho et al. (2002) no músculo da tilápia-do-Nilo abatidas sob estresse e por Morkore; Hansen; Unander, et al., (2002) no músculo da truta arco-íris insensibilizada com CO<sub>2</sub>.

### **1.9. Bases Nitrogenadas Voláteis e Nitrogênio Não Proteico**

Outros métodos desenvolvidos para avaliar a qualidade do pescado, são: as determinações de bases voláteis totais (BVT), hipoxantina (Hx) e análises sensorial e microbiológica (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001). As bases voláteis totais compreende um grupo de compostos nitrogenados, como a amônia e a trimetilamina, formados quando o peixe está em fase de deterioração. Vários países, como Brasil, Alemanha, Argentina e Austrália, adotaram este parâmetro como critério de frescor. Porém, a utilização deste parâmetro para peixes de água doce é questionada, pois estes possuem quantidades mínimas de óxido de trimetilamina, que por ação microbiana origina trimetilamina. Assim, diferente dos peixes de água salgada, os peixes de água doce geralmente apresentam baixos valores de BVT (BERAQUET; LINDO, 1985).

Muitos índices químicos para controle de qualidade de peixes, moluscos e crustáceos estão baseados nas alterações quantitativas ou qualitativas de compostos da fração nitrogenada não protéica do músculo. Esta fração engloba substâncias de baixo peso molecular de diversas origens. A atividade enzimática pode causar alteração na concentração destes compostos ou originar outros diferentes. A detecção de alterações progressivas destas substâncias no músculo do pescado durante o armazenamento é o primeiro requisito para considerar tais substâncias como potenciais índices de frescor (LAPA-GUIMARÃES, 2005).

O teor de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (amônia, trimetilamina e dimetilamina) e o teor de trimetilamina têm sido empregados como índices de frescor para pescado (RUIZ-CAPILLAS e MORAL, 2001). Entretanto, existem controvérsias sobre a efetividade destes parâmetros, uma vez que em algumas espécies de pescado, alterações significativas nos teores destes compostos

somente ocorrem quando os sinais de deterioração já são perceptíveis sensorialmente (LAPA-GUIMARÃES, 2005).

Para Morga (1975), as bases voláteis nitrogenadas ocorrem no músculo dos peixes devido ao desdobramento das proteínas por ação enzimática e bacteriana dando como produto final., aminas; 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 (SAVAY DA SILVA; RIGGO; MARTNS, et al., 2008).

Tomé, Iglesias, Kodaira, et al., (2000), analisando os índices de BNVT em tilápias (*Oreochromis spp*) conservadas em gelo, encontraram valores inferiores a 30mg N/100g, no peixe deteriorado. A análise de BNVT foi considerado um bom índice para avaliar a deterioração de peixes marinhos, como a pescada (*Merluccius merluccius*), (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001), *Mahi-Mahi Coryphaena (hippurus)* (ANTOINE; WEI; OTWELL, et al., 2002) conservados em gelo.

De acordo com Ogawa e Maia (1999), para peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNVT atinge 5 a 10 mg N.100 g<sup>-1</sup> de carne; peixes com frescor razoável podem atingir até 15 a 25 mg N.100 g<sup>-1</sup>. No início da putrefação, este teor pode variar de 30 a 40 mg N.100 g<sup>-1</sup> e, quando bastante deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50 mg N.100 g<sup>-1</sup>. 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 BNVT para pescado fresco, exceto para elasmobrânquios (BRASIL, 2001).

Análise de NNP (nitrogênio não protéico) também é utilizado como parâmetro de frescor, embora esta não seja padronizada pelo Ministério da Agricultura. O termo NNP (nitrogênio não protéico) deriva dos componentes nitrogenados não protéicos, tais como amônia, trimetilamina, uréia, taurina, aminoácidos livres e peptídeos, que não precipitam com ácido tricloroacético a 10%. Essa fração pode representar de 0,5 a 10% da parte comestível do pescado. O NNP é utilizado para determinação do frescor, por ser a primeira fração a ser utilizada pelos microorganismos, servindo de fonte de energia para os mesmos (SIKORSKI; KALAKOWSKA, 1994).

Albuquerque; Zapata e Almeida, (2004) analisaram os níveis de NNP em filés de tilápia e observaram que não houve formação ou desaparecimento significativo de formas nitrogenadas no pescado durante os 17 dias de armazenamento em gelo. O mesmo aconteceu no trabalho realizado por Socol (2002), onde os valores de NNP de filés de tilápia minimamente processados não foram afetados significativamente pelos tratamentos durante um período de 20 dias de armazenamento em gelo. De acordo com Netto (1984), a tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) apresentou, no estado fresco, 494 mg NNP/100g. Biato et al., (2003), encontraram o teor de 577,85 mg/100g, para a mesma espécie resfriada. Contreras-Guzmán (1994) obteve resultado semelhante ao analisar o filé de tilápia que após 16 dias de armazenamento apresentou uma queda de 344mg/100g para 258mg/100g. Netto (1984) também observou diminuição do NNP em tilápias durante a estocagem em gelo por 20 dias, com valores iniciais de 294mg/100g e 208mg/100g após os 20 dias em gelo e essa diminuição foi atribuída à lixiviação. Valores entre 1000 e 1333mg/100g foram encontrados em filés de tilápia por 20 e 30 dias de armazenamento a 0,5 a 1,0°C, respectivamente (SIQUEIRA, 2001). Socol et al., (2005) observaram valores de NNP variando de 534 a 568mg/100g, em tilápias armazenadas por 20 dias a 1°C, e não observaram diferenças no tempo de armazenamento. Albuquerque; Zapata; Almeida (2004) analisaram teores de NNP em tilápias armazenadas em gelo por 17 dias também não encontraram diferenças ao longo do período de armazenamento.

### **1.10. Degradação de ATP e seus catabolitos**

O estresse do pré abate combinado com métodos de abate que envolve maior atividade física antes da morte, leva ao maior consumo de glicogênio e da reserva de energia, produzindo ATP, ao mesmo tempo em que a produção de ácido láctico ocorre no músculo. (THOMAS; PANKHURST; BREMNER, 1999). Sabe-se que o estabelecimento do *rigor mortis* é consequência direta da concentração de ATP. Convém mencionar que, quando a concentração de ATP é menor que  $10^{-4} \mu\text{mol g}^{-1}$ , todas as reservas de ATP e de fosfato de creatina tem

se esgotado, o que produz uma rigidez das fibras musculares, com o conseqüente aparecimento do *rigor mortis* (RABELO, 1988).

Nambudiri e Gopakumar (1988) observaram que o fenômeno de “cold shock” difere do *rigor-mortis* em função do conteúdo de ATP no músculo do pescado. Estes autores afirmaram que, em peixes tropicais, o fenômeno de “cold shock”, ocorreu quando ainda havia 40% do ATP nos músculos dos peixes. Perez et al. (2001) relataram que o híbrido de “cachama” cultivado e sacrificado em gelo (0°C) sofreu uma contração violenta conhecida como “cold shock” e que, nesse momento, o conteúdo de ATP foi de  $0,50\mu\text{mol/g}^{-1}$  no músculo. Observaram também que o valor de K que é utilizado para medir o frescor do peixe baseado nas alterações autolíticas, relacionando a concentração de inosina e hipoxantina e o conteúdo total de compostos obtidos da degradação de ATP, não ultrapassou 20% até o 14º dia de estocagem em gelo.

Tsuchimoto et al., (1986) afirmaram que peixes de águas tropicais mostram menores mudanças no valor k do que peixes de águas temperadas. Okuma et al., (1992) classificaram o pescado que apresenta valor K inferior a 20% como altamente frescos aptos para o consumo cru, com valores entre 20-40% como frescos, devendo ser cozidos para consumo e pescado com valores acima de 40% como não frescos e impróprios para o consumo humano. Ryder et al., (1984) estudaram o “Jack mackerel” (*Trachurus novaezelandiae*) peixe marinho, estocado em gelo e observaram que ocorreu uma variação do valor K de 2% a 60%, alcançando 20% após 7 dias de estocagem em gelo, tempo em que a análise sensorial também indicou o final do tempo de vida útil. Estes autores concluíram que o valor K pode ser usado como indicador de qualidade para o consumo do peixe na forma de “sashimi” (peixe cru) e como índice de frescor durante o tempo de vida útil. Hattula & Kiesvaara (1993) estudaram o “whitefish” (*Coregonus wartmanni*) que foi considerado aceitável, quando apresentou valor K acima de 80% e um valor mínimo de IMP de 1,0 mmol/g. Valls et al., (1994) estudaram a sardinha (*Sardinella aurita*), inteira e eviscerada e conservada em gelo. Observaram que o valor K inicial foi semelhante para sardinha inteira e eviscerada e alcançaram valores finais de 70 e 73%,

O valor de K tem sido considerado como um meio útil de avaliação da qualidade do pescado e o aumento desses valores tem sido correlacionados com a perda do frescor em muitas espécies de peixes (ÖZOGUL & ÖZOGUL, 2004). Os compostos formados entre a captura e o fim do *rigor-mortis* são de origem autolítica e não podem ser evitados. Já os compostos formados no pós-*rigor*, que compreende a fase de mudanças na qualidade, são produtos de atividade microbiana que podem ser controladas até certo limite, por emprego de processos tecnológicos (CONTRERAS-GUZMÁN, 2002).

### **1.11. Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico - TBARS**

Um dos métodos mais utilizados, em produtos cárneos, para se avaliar a extensão da estabilidade lipídica é a determinação do TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) ou TBARS (substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico). A fração lipídica de peixes tem como característica a presença de ácidos graxos insaturados, que embora seja uma característica nutricional positiva é preocupante industrialmente, pois quanto mais insaturado o lipídio maior a possibilidade de peroxidação dos mesmos (LUZIA; SAMPAIO; CASTELLUCCI, et al., 2000).

Os valores do TBARS são utilizados como indicador do grau de oxidação lipídica, quantificando o malonaldeído, que é um dos principais produtos formados durante o processo oxidativo. Al-Kahtani; Abu-Tarboush e Bajaber (1996) atestam que o pescado pode ser considerado em bom estado de consumo quando apresentar valores abaixo de 3 mg de malonaldeído/kg de amostra. Segundo Schormuller, (1969) os limites de malonaldeído no pescado aptos para consumo estão entre 7-8 mg / kg. A estocagem sob congelamento não interrompe completamente todas as possíveis alterações na qualidade. As reações que induzem as alterações oxidativas continuam a ocorrer mesmo em baixas temperaturas (NEIVA, 2003). Essas alterações oxidativas podem ser detectadas pela avaliação do teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (OGAWA; MAIA, 2005).

Não há na legislação brasileira um valor máximo permitido de TBARS para pescado. No entanto, em pescado que se apresenta oxidado, ou seja, com

valores altos de TBARS pode haver a formação de compostos tóxicos e cancerígenos como cetonas, aldeídos, alcoóis, ácidos e hidrocarbonetos (OLIVO, 2006), além de formação de sabores desagradáveis (ranço) que comprometem a aceitação do produto. Tempo de armazenamento e temperatura são os principais fatores que afetam a taxa de perda de qualidade e a vida de prateleira do peixe (WHITTLE, 1997). Durante a estocagem congelada e descongelamento os fatores que afetam a qualidade são a desidratação, perda por gotejamento, desnaturação de proteínas e descoloração (GARTHWAITE, 1992). Assim, os produtos devem chegar ao consumidor o mais rápido possível, sejam eles produtos frescos ou refrigerados para uma obtenção de máxima qualidade. Apesar de reduzir certos parâmetros de qualidade, o congelamento é aceito como uma forma eficaz de preservação de peixes.

#### **1.12. Textura instrumental**

A medição da textura instrumental é uma análise importante para medir o frescor do peixe e qualidade da carne. As variações de textura podem ser monitoradas sensorialmente. No entanto, foram desenvolvidas técnicas reológicas objetivas que conseguem reproduzir a avaliação de um painel de peritos (SANTOS, 2008). As diferentes técnicas desenvolvidas baseiam-se em princípios reológicos como a compressão, punção ou força de cisalhamento. Os instrumentos utilizados são denominados texturômetros, acompanhados por uma grande variedade de acessórios, que permitem realizar diferentes tipos de análises.

Na literatura, a perda de textura durante o armazenamento do pescado tem sido relatada por Sato et al., (1991). Embora vários pesquisadores tenham associado a queda do pH muscular com textura dura e uma elevada perda de água no descongelamento (DE VIDO, PAREDI & CRUPKIN, 2001), outros sugerem o envolvimento de várias enzimas na degradação da textura durante o armazenamento (SATO; OHASHI; OHTUKI, et al., 1991). Estudos sobre o assunto, principalmente com salmonídeos, tendem a mostrar que os peixes expostos ao estresse e alta manipulação no abate apresentam textura mais suave e curta vida de prateleira (BAHUAUD; MØRKØRE; ØSTBYE, et al., 2010); (LEFÈVRE; BUGEON; AUPERIN, et al., 2008). A textura é uma característica

complexa, dependendo de uma variedade de fatores, tais como celularidade muscular, pH, componentes da matriz extracelular, como por exemplo, colágeno e proteoglicanos (PERIAGO; AYALA; LOPEZ-ALBORS, et al., 2005); (TINGBØ; KOLSET; OFSTAD, et al., 2005).

### **1.13. *Drip loss* (perda de água no descongelamento)**

O *drip loss* é inicialmente interpretado como um resultado de dano celular, e este ainda é válido na medida em que os exsudatos resultantes de congelamento e descongelamento estão em produção. A posterior liberação de água é interpretada como um sinal de desidratação das proteínas musculares devido a desnaturação proteica. Em casos extremos, a contração do músculo pode provocar perdas de água ainda maiores. A quantidade de água do tecido muscular é de grande importância em vários aspectos. Em primeiro lugar, constitui uma perda econômica significativa, seja ao vendedor, a empresa ou o consumidor, dependendo do processamento utilizado. Em segundo lugar, a perda do fluido resulta em um produto mais endurecido e seco quando submetido ao cozimento. O valor nutritivo do músculo diminuiu porque as proteínas e minerais são perdidas pelo descongelamento (SUTTON, 1969).

Os peixes inteiros congelados em estado de pré-rigor tendem a ter uma maior perda por gotejamento do que os congelados em rigor pleno ou pós rigor. A menos que sejam tomadas precauções, os files retirados de um peixe antes de entrar em rigor vai encolher, a forma do filé fica distorcida e a superfície do filé assume uma aparência enrugada. Essas distorções continuam ao longo do congelamento e posterior descongelamento. O congelamento também reduz a qualidade de filés quando estes são retirados no momento de pré-rigor. Sørensen et al., 1997 relataram que o congelamento de filés de peixes branco filetados em pré rigor apresentou um aumento na perda de água no descongelamento em relação ao peixe filetado em estado de pós-rigor.

### **1.14. *Cooking loss* (perda de água no cozimento) e Capacidade de retenção Água - CRA**

As perdas por cocção são as que ocorrem durante o processo de preparo da carne para o consumo, calculadas pela diferença entre o peso inicial e final

das amostras. A perda de água aumenta ao elevar a temperatura entre 20 e 45 °C, depois diminui na faixa de 45-50 °C e permanece constante ao elevar-se a temperatura acima desta faixa (OFSTAD; KIDMAN; MYKLEBUST, et al., 1995). Alterações conformacionais nas proteínas miofibrilares causadas pelo aquecimento promovem um aumento de volume protéico e maior retenção de água em uma determinada faixa de temperatura (WILDING, HEDGES E LILLFORD, 1986). Durante a cocção, ocorrem perdas de líquido (*drip*) que contêm vitaminas e minerais, o que resulta em uma perda no valor nutritivo e de qualidade sensorial., tornando os produtos secos e rígidos (GONÇALVES, 2004).

Entre as propriedades físico-químicas fundamentais para a agregação de valor através da conservação e processamento está a capacidade em reter água que a carne apresentará durante a sua industrialização e venda no varejo. Esta propriedade, conhecida como capacidade de retenção de água (CRA) está diretamente relacionada à maciez dos produtos processados e a diminuição de tamanho e suculência quando há perdas de água no armazenamento e cozimento do produto (CASTRO, 2007).

As perdas de água, sejam pela exsudação durante o resfriamento, pela pressão sob os tecidos durante a estocagem ou pela desnaturação das proteínas durante o cozimento, acabam conferindo ao produto características sensoriais indesejadas, como diminuição da suculência e perda de peso (LAKSHMANAN; ANTONY; GOPAKUMAR, 2007). Já foi demonstrado que há relação entre a CRA e as mudanças teciduais específicas que ocorrem durante o aquecimento da carne de salmão (OFSTAD; KIDMAN; MYKLEBUST, et al., 1993). Lakshmanan et al., (2007) definem CRA como a habilidade do músculo de resistir a perda de água, isso é importante tanto do ponto de vista comercial quanto do consumidor. A água é encontrada na forma livre e ligada na carne, sendo que cerca 90% da água ligada está difundida no tecido por capilaridade principalmente nos espaços intracelulares (OFFER & TRINICK, 1983).

É importante ressaltar que a capacidade de retenção de água e a perda de água no cozimento não são parâmetros objetivos e sim uma tendência, pois não existe um valor real para esta propriedade (HONIKEL & HAMM, 1994). Isto porque é um processo dinâmico onde pode ocorrer mudança na configuração

protéica em decorrência da exposição a fatores externos como congelamento, cozimento e acidez do meio (CASTRO, 2007).

### **1.15. Análise da desnaturação protéica por calorimetria de varredura – DSC**

A desnaturação das proteínas é também responsável por mudanças nas propriedades funcionais dos alimentos, sendo que o aquecimento causa melhora na textura e nas propriedades nutricionais de digestibilidade e valor biológico (SGARBIERI, 1996). A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma técnica usada na determinação de dados termodinâmicos, energia e temperatura de desnaturação das proteínas de alimentos sob alguma condição de processamento industrial.

Em estudo avaliando a temperatura de desnaturação da miosina da carne de pescado, Chan et al., (1992) encontraram temperaturas de 46°C para a carne de bacalhau, 47°C para a carne de “silver hake”, 53°C para carne de arenque. Park e Lanier (1988) em estudo com tilápia (*Oreochromis aureus*) observaram valores mais altos de desnaturação da miosina 58,3°C e da actina 78,6°C. Em estudo com o músculo de tilápia do Nilo, Monterrey-Quintero e Sobral (1998) encontraram valores de desnaturação da miosina (54,4°C) e da actina (75,9°C)

### **1.16. Avaliação sensorial**

Segundo o IFT (Institute of Food Science and Technology) a análise sensorial é usada para provocar, medir, analisar e interpretar as reações produzidas pelas características dos alimentos e materiais, como elas são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

Na avaliação da perecibilidade de alimentos, a análise sensorial é ferramenta interessante por avaliar modificações de parâmetros de qualidade em relação a vida de prateleira. Essa análise deve ser complementada por controles microbiológicos e físico-químicos realizados paralelamente, dentro de especificações técnicas e sanitárias que caracterizem o produto (DE PENNA,

1999). As informações obtidas sensorialmente devem ser interpretadas em conjunto com as derivadas das análises físico-químicas e microbiológicas.

Segundo Chambers IV & Robel (1993), apud Pimentel & Panetta (2003), a importância da textura e do sabor está muito bem estabelecida, e a aceitação pelo consumidor depende das características sensoriais do pescado. Apesar das características de sabor serem relevantes, no caso dos que não consomem peixe com frequência, o fator mais importante é a textura. Essas informações apontam para a relevância da análise sensorial na avaliação da qualidade do pescado. Como estabelece a Legislação Brasileira, Portaria no 185/97 (BRASIL, 1997), a análise sensorial deve ser realizada no peixe fresco, observando-se critérios gerais de aparência, cor, odor e sabor característicos da espécie considerada. A indústria de alimentos sempre se preocupou com a qualidade sensorial de seus produtos, entretanto, os métodos utilizados para medi-la variaram em função do estágio de evolução tecnológica da indústria.

#### **1.17. Cor instrumental**

A cor pode ser utilizada como um índice de transformações naturais de alimentos frescos ou de mudanças ocorridas durante o processamento industrial., sendo assim um importante parâmetro de qualidade. Instrumentalmente, a intensidade da cor é representada por  $a^*$  e  $b^*$ , ao passo que  $L^*$  indica a luminosidade da amostra. Os consumidores freqüentemente avaliam os produtos de peixe, principalmente com base em uma cor só, portanto, o parâmetro de cor apoiaria escolha de pescado de qualidade (SKJERVOLD et AL., 2001).

As alterações autolíticas e microbiológicas que ocorrem durante a degradação provocam alteração da cor. Outros fatores que podem levar a alteração da cor de um produto de pescado são as condições de criação, no caso de animais provenientes de aquicultura (HALLIER et al., 2007), as condições de armazenamento e o tipo de manuseio a que estão sujeitos. Outro fator de variação a considerar são as diferentes condições biológicas e alimentação de cada animal (ERIKSON; MISIMI, 2008).

## **2. OBJETIVO GERAL**

Avaliar o efeito de três diferentes métodos de abate sobre as alterações *pós-morte* e a qualidade da carne da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), e suas consequências sobre a qualidade dos filés congelados.

### **2.1. Objetivos Específicos**

- Monitorar as mudanças de frescor e de qualidade, indicando parâmetros físicos, bioquímicos e sensoriais para cada método.
- Identificar os efeitos que as principais alterações pós-captura podem ter nos processos de transformação industrial., notadamente no congelamento dos filés da tilápia do Nilo.

## 6. REFERÊNCIAS

- ACERETE, L., REIG, L., ALVAREZ, D., FLOS, R., TORT, L.,. Comparison of two stunning/ slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 287, p.139 – 144, 2009.
- 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**, Vol. 35, Número Especial., out., 2004: 264 – 271
- AL-KAHTANI, H.A.; ABU-TARBOUSH, H.M.; BAJABER, A.S. Chemical changes after irradiation an post-irradiation storage in tilápia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, 1996, p. 729-733.
- ANTOINE, E. R., WEI, C. I., OTWELL, W. S., SIMS, C. A., LITTELL, R. C., HOGLE, A. D., et al. (2002). TVB-N correlation with odor evaluation and aerobic plate count in mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*). **Journal of Food Science**, 67(9), 3210–3214.
- ASHLEY, P. J. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, 2007.
- BAGNI,M., CIVITAREALE, C., PRIORI, A., BALLERINI, A., FINOIA,M., BRAMBILLA, G.,MARINO, G., 2007. Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture** 263, 52–60.
- BAHUAUD, D., MØRKØRE, T., ØSTBYE, T.-K., VEISETH-KENT, E., THOMASSEN, M.S., OFSTAD, R.,VEISETH-KENT, E., THOMASSEN, M.S., OFSTAD, R., 2010. Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) pre- and post-rigor fillets exposed to short and long-term crowding stress. **Food Chemistry**. 118, 602–615.
- BERAQUET, N.J.; LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas “post mortem” em pescado. São Paulo: **Boletim ITAL.**, 1985.v.22, p. 169-192.
- BERG T, ERIKSON U, NORDVEDT TS. 1997. Rigor mortis assessment of Atlantic salmon (*Salmo salar*) and effects of stress. **J Food Sci** 62(3):439-446.
- BOMBARDELLI, R. A.; SYPPERRECK, M. A.; SANCHES, E. A. Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado. **Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia**, Umuarama, n. 2, p. 181-195, 2005.
- BONGA, S.E.W. **The Stress Response in Fish**. Physiological Reviews, Boston, v. 77, n. 3, p. 591-625, 1997.
- BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. Pesca e aquicultura de água doce no Brasil. In: REBOUÇAS, A. C; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. São Paulo: Escrituras, 1999.

CASTRO, D. A. **PERDAS DE ÁGUA EM FILÉ DE PESCADO DO PANTANAL.**, Campo Grande, 2007, 50p. (Mestrado em Ciência Animal) FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA.

CHAN, J.K.; GILL, T.A.; PAULSON, A.T. The dynamics of thermal denaturation of fish myosins. **Food Research International.**, v.25, p.117-123, 1992.

CONTE, F.S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v.86, p.205-223, 2004.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. Métodos químicos para análise de pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U. E. (Coord.). **Controle de qualidade de pescado: seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado.** Santos: Loyola, 1988. 303 p.

DE PENNA, E.W. **Métodos sensoriales y sus aplicaciones.** In **Avanços em análise sensorial.** 1.ed. (T.C.A. Almeida, G. Hough, M.H. Damásio & M.A.A.P. Da Silva ed.). São Paulo: Livraria Varela, p.13-22. 1999.

DE VIDO, D. M. N., PAREDI, M. E., & CRUPKIN, M. Postmortem changes in the adductor muscle of scallop (*Chlamys tehuelchus*) in chilled and frozen storage. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, 10(3), 49–59. 2001.

ERIKSON, U., SIGHOLT, T., RUSTAD, T., JOHANSEN, S., NORDTVEDT, T., SELAND, A., 1997. Handling stress and the temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). **J. Food Science** 62, 868–872.

ERIKSON, U., MISIMI, E.; Atlantic Salmon Skin and Fillet Color Changes Effected by *Perimortem* Handling Stress, *Rigor Mortis*, and Ice Storage. **Journal of Food Science: Food Chemistry**, v. 73, p. 50 –59, 2008.

FAO. **Yearbooks of fishery statistics:** summary tables. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/fi/STAT/summary/default.htm#aqua>>. Acesso em: 23 agosto. 2009.

GARTHWAITE, G.A., 1992. **Chilling and freezing of fish.** In: Hall, G.M. (Ed.), Fish Processing Technology. Blackie Academic Press, London, pp. 89–112.

GONÇALVES, A. A. Los fosfatos en el pescado: ¿fraude o mejora de la calidad? **Revista INFOPECA**, n.20, out/dez, p.19-28, 2004.

GREGORY, N. G. (1998). Animal welfare and meat science (298 pp.). UK: CABI.

GREGORY, N. G. (2005). Recent concerns about stunning and slaughter. **Meat Science**, 70, 481–491

HALLIER, A., CHEVALLIER, S., SEROT, T., PROST, C. **Influence of farming conditions on colour and texture of European catfish (*Silurus glanis*) flesh.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 87, p. 814 – 823, 2007.

HATTULA, T., & KIESVAARA, M. (1992). Patterns of adenosine triphosphate catabolism as freshness indicators in fish species from the Baltic Sea. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 58, 485–488.

HONIKEL, K.O.; HAMM, R. Measurement of water-holding capacity and juiciness. Eds: Pearson, A.M.; Dutson, T.R. Eds. Quality attributes and their measurement in meat, Poultry and fish products. **Adv. Meat Res.** 9, capitulo 5, p.125-159, 1994

HUSS, H.H., A. Roespstorff, H. Karl e B. Bloemasma, Handling and processing of herring infected with *Anisakis simplex*. In **Proceedings from 3<sup>rd</sup> World Congress on Foodborne Infections and Intoxications**. Inst. Of Vet. Med. Robert v. Ostertag Inst. Berlin, 388-394. 1992.

HUSS, H.H. El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. In: FAO. **Manual de Capacitación Preparado por el Programa de Capacitación FAO/DANIDA en Tecnología Pesquera y Control de Calidad**. Roma: FAO, 1988. V. 29.

HUSS, H.H.. **Assessment and management of sea food safety and quality**. Food Agriculture Organization (FAO). *Fisheries Technical Paper 444*. Rome; FAO. 2003.

IWAMOTO, M., YAMANKA, IWAMOTO, M., YAMANKA, H., WATABE, S., HASHIMOTO, K., Effect of storage temperature on rigor-mortis and ATP degradation in plaice (*Paralichthys olivaceus*) muscle. **J. Food Sci.** 52, 1514–1517. 1987.

IZQUIREDO-PULIDO, M.L., HATAE, K., HAARD, N.F., 1992. Nucleotide catabolism and changes in texture indices during ice storage of cultured sturgeon, *Acipenser transmontanus*. **J. Food Biochem.** 16, 173–192.

KNOWLES, T.G, BROWN, S.N., WARRISS, P.D., LINES, J., TINARWO, A., SENDON, M.; Effect of electrical stunning at slaughter on the quality of farmed turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1731-1738, 2008.

LAKSHMANAN, P.T.; ANTONY, P.D.; GOPAKUMAR, K. Nucleotide degradation and quality changes in mullet (*Lisa corsula*) and pears spot (*Etroplus suratensis*) in ice and at ambient temperatures. **Food Control**, v. 6, p. 277-283, 1996.

LAKSHMANAN, R.; PARKINSON, J. A.; PIGGOTT, J. R. High-pressure processing and water-holding capacity of fresh and cold-smoked salmon (*Salmo salar*). **Lebensmittel- Wissenschaft und- Technologie**, v. 40, p. 544 -551, 2007.

LAMBOOIJ, E., VAN DER VIS, J.W., KLOOSTERBOER, R.J., PIETERSE, C., Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla Anguilla* L.): neurological and behavioural assessment. **Aquaculture**, v. 210, p.159-169, 2002.

LAMBOOIJ, E., KLOOSTERBOER, R.J, GERRITZEN M.A., VAN DE VIS, J.W., Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility. **Aquaculture**, v. 254, p. 388–395, 2006.

LAMBOOIJ, B., GERRITZEN, M.A., REIMERT, H., BURGGRAAF, D., ANDRÉ, G., VAN DE VIS, H., 2008. Evaluation of electrical stunning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in seawater and killing by chilling: welfare aspects, product quality and possibilities for implementation. *Aquaculture Research* 39, 50–58.

- LAPA-GUIMARÃES, J. **Aminas biogênicas, aminas voláteis, triptofano livre e uréia como índices químicos de qualidade e frescor do pescado**. 2005. 125 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LEFÈVRE, F., BUGEON, J., AUPERIN, B., AUBIN, J., 2008. Rearing oxygen level and slaughter stress effects on rainbow trout flesh quality. **Aquaculture** 284, 81–89.
- LINES, J.A., ROBB, D.H., KESTIN, S. C., CROOK, S. C., BENSON, T., Electric stunning: a humane slaughter method for Trout, **Aquacultural Engineering**, v. 28 p.141 - 154, 2003
- LOWE, T.E., RYDER, J.M., CARRAGHER, J.F., WELLS, R.M.G., 1993. Flesh quality in Snapper, *Pagrus auratus*, affected by capture stress. **J. Food Sci.** 58 (4), 770–774.
- LOUGOVOIS, V. Comparison of selected methods of assessing freshness quality and remaining storage life of iced gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Research International.**, v.36, p.551–560, 2003.
- LUZIA, L.A.; SAMPAIO, G.R.; CASTELLUCCI, C.M.N.; TORRES, E.A.F.S. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chemistry**, v. 83, n. 1, p. 93-97, 2003.
- MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R. Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt. 2004. cap. 14, p. 405-480.
- MELO FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, Atheneu, 1996. 182 p.
- MOCHIZUKI, S., SATO, A., **Effects of Various Killing Procedures on Post mortem Changes in the Muscle of Horse Mackerel**. Bull Japan Society of Science in Fish.v.64, p.276 – 279, 1996.
- MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL., P.J.A. Preparo de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para a elaboração de biofilmes: solubilidade das proteínas em função do pH. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 16., 1998, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998. p.2086-2089.
- MORGA, A. **Avaliação do índice de frescor da Pescada Foguete, Macrodon ancylodon, conservada em gelo**. 1975. 80 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1975.
- MORKORE, T., HANSEN, A.A., UNANDER, E., EINEN, O., 2002. Composition, liquid leakage, and mechanical properties of farmed rainbow trout: variation between fillet sections and the impact of ice and frozen storage. **J. Food Sci.** 67, 1933–1938.

NAKAYAMA, T., LIU, D.-J., OOI, A. Tension change of stressed and unstressed carp muscles in isometric rigor contraction and resolution. **Nippon Suisan Gakkaishi** 58 (8), 1517–1522. 1992.

NAMBUDIRI, D.D., GOPAKUMAR, K. Cold Shock reactions in tropical fishes. **J. Food Sci. Technol.**, v.25, n.2, p.89-91, 1988.

NEIVA, C. R. P. **Obtenção e caracterização de minced fish de sardinha e sua estabilidade durante a estocagem sob congelamento**. São Paulo, 2003, 78p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

NETTO, F. M. **Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido da tilápia estocada em gelo**. 1984. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) -Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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

NORDGREEN, A.H., SLINDE, E., MOLLER, D., ROTH, B., Effect of Various Electric Field Strengths and Current Durations on Stunning and Spinal Injuries of Atlantic Herring. **Journal of Aquatic Animal Health**, v.20, p. 110–115, 2008.

OFFER, G.; TRINICK, J. On the Mechanism of Water Holding in Meat: The Swelling and Shrinking of Myofibrils. **Meat Science**, London, v.8, p.245-281, 1983.

OFSTAD, R., KIDMAN, S., MYKLEBUST, R., & HERMANSSON, A. M. (1993). Liquid holding capacity and structural changes during heating of fish muscle: cod (*Gadus morhua* L.) and salmon (*Salmo salar*). **Food Structure**, 12, 163–174.

OFSTAD, R., KIDMAN, S., & HERMANSSON, A. M. (1995). Ultramicroscopical Structures and Liquid Loss in Heated Cod (*Gadus morhua* L.) and Salmon (*Salmo salar*) Muscle. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 72, 337–347.

OGAWA, M.; MAIA, E. I. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. V.1. 430 p.

OKUMA, H. et al. Development of a system with double enzyme reactors for the determination of fish freshness. **Analytica Chimica Acta**, v.260, n.1, p.93-98, 1992.

OLIVO, R. **Alterações oxidativas em produtos cárneos**. In: SHIMOKOMAKI, M.; OLIVO, R.; TERRA, N.N.; FRANCO, B.D.G.M. Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes. São Paulo: Varela, 2006. p.155-163.

OLSEN S.H., SORENSEN N.K., LARSEN R., ELVEVOLL E.O., NILSEN H., **Impact of pre-slaughter stress on residual blood in fillet portions of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*) – Measured chemically and Visible and Near-infrared spectroscopy**. *Aquaculture*, Amsterdam, v.284, p.90 – 97, 2008.

OTTERA, H., ROTH, B., TORRISSEN, O.J. *Do killing methods affect the quality of Atlantic Salmon*. In: Kestin, S.C., Warriss, P.D. (Eds.), **Farmed Fish Quality**. **Blackwell Science Ltd**, Oxford, 2001, p.398–399.

ÖZOGUL Y., ÖZOGUL F. *Effects of slaughtering methods on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (Onchorynchus mykiss) stored in ice and MAP.* **European Food Research Technology.** 219, 2004, p.211–6.

PARISI, G.; FRANCI, O.; POLI, B. M.; Application of multivariate analysis to sensorial and instrumental parameters of freshness in refrigerated sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during shelf life. **Aquaculture**, v. 214, p. 153–167, 2002.

PARK JW, LANIER TC. Calorimetric changes during development of rigor mortis. **J Food Sci** 53(5):1312-1314. 1988.

PÉREZ, M. et al. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios *post-mortem* y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) cultivados. **Anales Venezolanos de Nutrición**, v.14, p. 53-59, 2001.

PERIAGO, M.J., AYALA, M.D., LOPEZ-ALBORS, O., ABDEL, I., MARTÍNEZ, C., GARCÍA-ALCAZAR, A., ROSA, G., GIL, F., 2005. Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture** 249, 175–188.

PIMENTEL, L.P.S.; PANETTA, J.C. Condições higiênicas do gelo utilizado na conservação de pescado comercializado em supermercados da Grande São Paulo. Parte 1, resultados microbiológicos. **Revista Higiene Alimentar.** 2003; 17(106): 56-57.

POLI, B. M.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; ZAMPACAVALLLO, G. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. **Aquaculture Internacional.**, 2005.

RABELO, A.M.A. **Métodos físicos para análise do pescado, seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado.** Santos, São Paulo : SBCTA/ITAL., 1988.

RIBAS, L., FLOS, R., REIG, L., MACKENZIE, S., BARTON, B.A., TORT, L.,. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, p. 250–258. 2007.

ROBB, D.H.F., KESTIN, S.C., WARRISS, P.D., Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. **Aquaculture**, v.182, 2000.

ROBB, D. H. F., OCALLAGHAN, M., LINES, J. A., & KESTIN, S. C.. Electrical stunning of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): factors that affect stun duration. **Aquaculture**, 205, 359–371. 2002a.

ROBB, D. H. F., WOTTON, S. B., & VAN DE VIS, J. W.. Preslaughter electrical stunning of eels. **Aquaculture Research**, 33, 37–42. 2002b.

ROSE, J.D. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. **Reviews in Fisheries Science**, v.10, n.1, p.1-38, 2002.

ROTH, B.; TORRISEN, O. J.; SLINDE, E. The effect of slaughtering procedures on blood spotting in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture, Amsterdam**, v. 250, p. 796-803, 2005.

ROTH, B. *et al.* Slaughter quality and rigor contraction in farmed turbot (*Scophthalmus maximus*); a comparison between different stunning methods. **Aquaculture, Amsterdam**, v. 272, p. 754-761, 2007.

RUÍZ-CAPILLAS, C., MORAL., A.; Correlation between chemical and sensory quality indices in hake stored in ice. **Food Research International**, v. 34, 441 – 447, 2001.

RYDER, J.M. *et al.* storage of New Zealand jack mackerel (*Trachurus novaezelandiae*) in ice: chemical., microbiological and sensory assessment. **Journal of Food Science**, v.49, p.1453-1477, 1984.

SANTOS, J. M. S.; **Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da qualidade física, química e microbiológica.**; Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto para obtenção do grau de Mestre em Controlo de Qualidade na área Científica Água e Alimentos.p.170, 2008.

SATO, K., OHASHI, C., OHTUKI, K., & KAWABATA, M. (1991). Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 39, 1222–1225.

SAVAY DA SILVA, L. K; RIGGO, R.; MARTINS, P..E.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Otimização e padronização do uso de metodologia para a determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarão *Xyphopeneaeus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, VII BMCFB. Preprint Series, n.20, p. 138-144, dez 2008.

SCHERER, R.; SCHOOR, A. Effect of slaughter method on postmortem changes of grass carp (*CtenopHaryngodon idella*) stored in ice. **Journal Food Science**, v. 70, p. C348-354, 2005.

SCHORMULLER, J. 1968. **Handbuch der lebensmittelchemie** (Band III/2). Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.

SEBASTIO, P., AMBROGGI, F., BALDRATI, G. Influence of slaughtering method on rainbow trout bred in captivity. 1. **Biochemical considerations**. *Ind. Conserve* 71, 37–49. 1996.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICROS E PEQUENAS EMPRESAS. **Aquicultura e pesca: tilápias: relatório completo: estudos de mercado** SEBRAE/ESPM. São Paulo. 160 p., 2008.

SIGHOLT, T., ERIKSON, U., RUSTAD, T., JOHANSEN, T.S.. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farm-raised Atlantic salmon. **Journal of Food Science**, 1997.

SIKORSKI, Z. E., & KOLAKOWSKA, A. (1994). Changes in proteins in frozen stored fish. In Z. E. Sikorski, B. Sun Pan, & F. Shahidi (Eds.), **Seafood proteins** (pp. 99–112). London, UK: Chapman & Hall.

SIQUEIRA, A.A.Z.C. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2001. 137f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SKJERVOLD P.O., RORA A.M.B., FJÆRA S.O., VEGUSDAL A, VORRE A, EINEN O., Effects of pre-, in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. **Aquaculture** 194:315–26. 2001.

SNEDDON. L.U.; BRAITHWAITE V.A. GENTLE M.A. Do fishes have nociceptors? Evidence for the evolution of a vertebrate sensory system. **Proceedings of the Royal Society Biological Science**, v. 270, p. 1115-1121, 2003.

SOCOL, M. C. H. **Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. 2002. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

SOCOL, M.C.H.; OETTERER, M.; GALLO, C.R.; SPOTO, M.H.F.; BIATO, D.O. Efeitos da atmosfera modificada e do vácuo sobre a vida útil de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 1, p. 7-15, 2005.

SORENSEN, T.L., MOLLER, J.V., NISSEN, P. Phosphoryl transfer and calcium ion occlusion in the calcium pump. **Science**, v.304:p. 1672–1675, 2004.

STEVANATO, F. B. et al. Aproveitamento dos resíduos de pescado. **Aquicultura & Pesca**, São Paulo, v. 14, p. 15-17, 2005.

SUTTON, A.H. **Polyphosphate treatment of Cod muscle**. In **Freezing and Irradiation**, (R. Kreuzer, ed.), 1969.

THOMAS, P.M., PANKHURST, N.W., BREMNER, H.A. The effect of stress and exercise on post-mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout. **J. Fish Biol.** 54, p.1177–1196, 1999.

TINGBØ, M.G., KOLSET, S.O., OFSTAD, R., ENERSEN, G., HANNESSON, K.O.,. Sulfated glycosaminoglycans in the extracellular matrix of muscle tissue in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Spotted wolffish (*Anarhichas minor*). **Comp. Biochem. Physiol.** 140B, 349–357, 2005.

TOMÉ, E., IGLESIAS, M., KODAIRA, M., & GONZALEZ, A. Effects of storage temperature on the onset of rigor mortis and stability of cultured tilapia (*Oreochromis*) spp. **Revista Científica-Facultad de Ciências Veterinárias**, 10(4), 339–345, 2000.

TORNBERG, E., WALGREN, M., BRØNDUM, J., ENGELSEN, S.B., 2000. Pre-rigor conditions in beef under varying temperature and pH falls studied with rigormeter NMR and NIR. **Food Chem.** 69, 407–418.

TSUCHIMOTO, M. et al. The speed of lowering in freshness of fishes in several waters and the effect of habitat temperature on the speed. **Bulletin Japan. Society of Science Fisheries**, v.52, p.1431-1441, 1986.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo, TecArt, 2004.

VALLS, J. et al. Determinación de amidas biógenas y nucleótidos por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) en muestras de sardinillas (*Sardinella aurita*). Tercera consulta de expertos sobre tecnología de productos pesqueros en América Latina. Roma, Itália : **FAO**, 1994. 145p. (**Inf de Pesca** n.538. Suplemento, Mar)

VAN DE VIS, H. KESTIN, S., ROBB, D., OEHLenschLAGER, J., LAMBOOIJ, B., MUNKNER, W., KUHLMANN, H., TEJADA, M., HUIDOBRO, A., OTTERA, H., ROTH, B. SORENSEN, N.K., AKSE, L., BYRNE, H. NESVADBA, P., Is humane slaughter of fish possible for industry? **Aquaculture Research**, v. 34, 2003.

WHITTLE, K.J., 1997. **Opportunities for improving the quality of fisheries products**. In: Lutten, J.B., Børresen, T.,

OEHLenschLAGER, J. (Eds.), *Seafood from Producer to Consumer, Integrated Approach to Quality*. Proceedings of the International Seafood Conference on the occasion of the 25th anniversary of the WEFTA, Netherlands, 13– 16 November, 1995. **Elsevier, Amsterdam**, pp. 549–560.

WENDELAAAR BONGA, S.E. The Stress Response in Fish. **Physiological Reviews, Boston**, v. 77, n. 3, p. 591-625, 1997.

WILDING, P.; HEDGES, N.; LILLFORD, P. Salt-induced swelling of meat: the effect of storage time, pH, ion-type and concentration. **Meat Science, Barking**, v.18, p. 55 – 75, 1986.

WILLS, C. C., ZAMPACAVALLO G., POLI, B. M, PROCTOR M.R.M., HENEHAN, G.T.M. Nitrogen stunning of rainbow trout, **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, p. 395–398, 2006.

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: José Eurico Possebon Cyrino, Elisabeth Criscuolo Urbinati, Débora Machado Fracalosi, Newton Castagnolli (Eds), **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**, São Paulo: TecArt, 2004.

## Capítulo 1

# **EFEITO DE TRÊS MÉTODOS DE ABATE SOBRE OS INDICADORES DE QUALIDADE DA TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) RESFRIADA**

## **RESUMO**

Este trabalho foi desenvolvido para avaliar o efeito de diferentes métodos de abate nos indicadores de qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriada. Foram aplicados três métodos de abate, choque elétrico (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), em 33 exemplares de tilápia para cada tratamento. Como indicadores físico-químicos de qualidade foram realizados a determinação índice de rigor mortis, (ATP) trifosfato de adenosina e seus produtos degradados e análise de pH. As amostragens ocorreram em um período de 26 dias correspondendo aos tempos 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas. O tempo de abate foi significativamente diferente entre os tratamentos, variando de 3 a 62 minutos. O abate por ChE retardou a entrada no rigor mortis, embora o tempo de resolução do rigor tenha sido semelhante em todos os tratamentos. O conteúdo de ATP e dos seus catabolitos encontrados neste estudo, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, embora o abate por CO<sub>2</sub>N tenha apresentado valores superiores a 5,46 mmol/g. Algumas variações foram observadas nos níveis de AMP e no valor de K para o abate por CO<sub>2</sub>N. Nas análises de correlação entre o índice de rigor e a degradação do ATP, o abate por ChE teve correlação linear com R<sup>2</sup> de 0,92. Este fato pode ser explicado pela rapidez com a qual o abate por ChE promove a morte, evitando assim um estresse excessivo. Os valores de pH diferiram significativamente entre os tratamentos e o tempo de conservação com queda de até 0,64; 0,42 e 0,84 para ChE, CO<sub>2</sub>N e AG respectivamente. As metodologias de abate utilizadas neste estudo mostraram-se eficientes para o abate da tilápia em relação à estabilidade do peixe mantido refrigerado. Do ponto de vista humanitário, observou-se a viabilidade de utilização do choque elétrico como método eficaz de abate, por provocar uma morte rápida e segura, sem promover sofrimento excessivo para o animal.

Palavras-chave: choque elétrico, ATP, rigor mortis.

# EFFECT OF THREE METHODS OF SLAUGHTER ON THE QUALITY INDICATORS (*Oreochromis niloticus*) REFRIGERATED

## ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of different slaughter methods on quality indicators of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cooled. We applied three methods of slaughter, electric shock (ChE), gas mixture (CO<sub>2</sub>N) and hypothermia (AG) in 33 specimens of tilapia for each treatment. Physico-chemical indicators of quality were conducted index of rigor mortis (ATP), adenosine triphosphate and its degraded products and pH analysis. The samples occur over a period of 26 days corresponding to times 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 and 624 hours. The time of slaughter was significantly different between treatments, ranging from 3 to 62 minutes. The slaughter by ChE delayed entry into the rigor mortis, although the time resolution of rigor was same in all treatments. The contents of ATP and its catabolites found in this study, no significant differences between treatments, although the slaughter by CO<sub>2</sub>N has presented values above 5.46 mmol / g. Some variations were observed in the levels of AMP and the value of K for the slaughter by Co<sub>2</sub>N. In the correlation index of rigor and degradation of ATP, the slaughter by ChE showed a linear correlation with R<sup>2</sup> 0.92. This fact can be explained by the rapidity with which the killing by ChE promotes death, thus avoiding excessive stress. The pH values differed significantly between treatments and storage time of a drop to 0.64; 0.42 and 0.84 for ChE, CO<sub>2</sub>N and AG respectively. The methods of slaughter used in this study were effective for the tilapia slaughter about the stability of the fish kept refrigerated. From a humanitarian perspective, we observed the feasibility of using electric shock as an effective method of slaughter, to cause a quick death and safe, without causing undue suffering of the animal.

Keywords: electric shock, ATP, rigor mortis.

# 1. INTRODUÇÃO

A tilápia, *Oreochromis niloticus* compõe o grupo de peixes que mais cresce em termos de comercialização mundial., é o segundo grupo mais produzido mundialmente, e apesar das imprecisões estatísticas, estima-se ser o gênero mais produzido no Brasil (ZIMMERMANN; FITZSIMMONS, 2004), estando seu cultivo concentrados em maiores proporções nas regiões nordeste e sul. Possui características organolépticas e nutricionais desejáveis, tais como baixo teor de gordura e ausência de espinhos em forma de “Y”, característica interessante para a produção de filés (BORGHETTI; OSTRENSKY, 1999; STEVANATO et al., 2005).

O controle de qualidade do pescado e a segurança do alimento são fundamentais, pois é a *commodity* alimentar mais comercializada internacionalmente (HUSS, 2003). Mas a qualidade dos peixes também deve abranger aspectos éticos durante a produção (LAMBOOIJ et al., 2006). Além de fatores como o abate, as próprias características químicas e estruturais da carne de pescado provocam aceleradas alterações, que proporcionam deterioração do pescado (MELO FRANCO; LANDGRAF, 1996). A atenção e preocupação com o estresse na piscicultura têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, por ser uma questão importante no bem-estar dos peixes (ASHLEY, 2007), e também pelos efeitos negativos na produção (URBINATI; CARNEIRO, 2004) e na alteração dos atributos de qualidade da carne (LAMBOOIJ et al., 2002).

Diferentes métodos de atordoamento e abate são comumente usados em peixes provenientes da pesca e da aquicultura. Estes métodos consistem em narcose por CO<sub>2</sub>, insensibilização por choque elétrico, percussão medular, asfixia, banho de sal., pela mistura do gelo mais água ou apenas gelo (POLI et al., 2005). Alguns desses métodos vêm sendo pesquisado visando desenvolver uma maneira de minimizar o sofrimento durante o abate, tornando os peixes menos sensíveis a procedimentos estressantes antes da morte. Além das considerações éticas para minimizar o sofrimento dos peixes, também há razões econômicas e comerciais, já que a qualidade da carne é reduzida em peixes submetidos ao estresse pré abate (ACERETE et al., 2009).

Para avaliar a qualidade no pescado fresco, vários indicadores têm sido utilizados por diferentes autores (PARISI et al., 2002;. LOUGOVOIS et al., 2003). Entre os indicadores bioquímicos, alguns estão mais relacionados à deterioração carne, tais como as concentrações de aminas, amônia, trimetilamina, dimetilamina, e compostos de peroxidação lipídica. Um bom indicador de frescor é a degradação dos nucleotídeos expressos como indicadores como o valor K (HUSS et al., 1992).

A manipulação inadequada do pescado no pré abate pode levar a carne a uma deterioração mais rápida (SIGHOLT et al., 1997), pois a captura e o método de insensibilização ou abate podem ter uma grande influência sobre a degradação muscular *pós-mortem* causando mudanças no início e resolução do *rigor mortis* (TORNBERG et al., 2000). O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes métodos de abate sobre a qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticos*) resfriada, utilizando como indicadores de qualidade, a dinâmica de início e resolução do rigor mortis, pH muscular, degradação de ATP e seus catabólitos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Peixe e métodos de abate**

Foram utilizados 99 exemplares de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio de  $535,1 \pm 121,36$  g e comprimento total médio de  $32,93 \pm 2,35$  cm, adquiridos em uma piscicultura situada na região de Pirassununga, SP. Os animais foram transportados vivos até o Laboratório de Aquicultura, estocados em viveiros de alvenaria com capacidade de 5000L de água com renovação contínua e mantidos em jejum por 48h até o momento do abate.

Três métodos de abate foram aplicados, utilizando 33 peixes para cada tratamento: a) *Eletronarcese (ChE)*: os peixes foram colocados em uma caixa plástica com capacidade total de 120L, preenchida com 80L de água da rede pública de abastecimento. Para ajuste da condutividade elétrica pré-estabelecida em  $700\mu\text{S}$ , foi adicionada salmoura supersaturada de cloreto de sódio atingindo a salinidade de 0,03%. Foi aplicada corrente elétrica de 154 V e 8,0 A, durante 120 segundos, tempo este suficiente para promover a morte dos animais.

b) *Asfixia gasosa (CO<sub>2</sub>N)*: utilizado caixa plástica com capacidade de 120L, preenchida com 80L de água em temperatura ambiente, na qual foi adicionada mistura de gases composta por 70% de CO<sub>2</sub> (gás carbônico) e 30% de N (nitrogênio) através de um difusor e pedra porosa. Os peixes permaneceram na caixa até a morte de todos os exemplares. c) *Hipotermia (AG)*: uma mistura de água e gelo na proporção de 2:1 foi adicionados em uma caixa plástica com capacidade de 120L, e volume da mistura de 80L onde foram colocados os peixes e mantidos até a morte.

Os parâmetros da água como oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, pH e temperatura, foram verificados antes e depois do abate utilizando um medidor multi-parâmetro (Horiba, modelo U-10). Para todos os tratamentos, o óbito foi constatado pela ausência de reflexos ao estímulo da linha lateral com utilização de alfinete e pela ausência de movimentos do opérculo, aplicados a uma amostra. Também foram registrados o tempo de morte e o comportamento dos peixes em cada tratamento.

## 2.2. Amostragem

A amostragem foi realizada em 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas após a morte, totalizando um período de 26 dias. Depois de constatada a morte, todos os peixes de cada tratamento foram medidos (comprimento total) e pesados utilizando ictiômetro e balança digital, identificados com etiquetas e submetidos à aferição do índice de *rigor mortis* inicial, com o propósito de identificar o momento da entrada do rigor, três peixes de cada tratamento foram submetidos à aferição do índice de rigor (IR) a cada 15 minutos, segundo a metodologia descrita por BITO et al., (1983). Os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas com camadas alternadas de gelo e mantidos durante todo o período de amostragem em câmara fria a 4,0° C. Três peixes por tratamento foram utilizados para cada um dos nove tempos de amostragem.

## 2.3. Métodos analíticos

O pH muscular foi medido diretamente no músculo dorsal esquerdo utilizando um peagâmetro de punção portátil (Sentron 1001, Integrated Sensor Technology). As concentrações de trifosfato de adenosina (ATP) e seus produtos degradados: monofosfato de adenosina (AMP), monofosfato de inosina (IMP),

inosina (HxR) e hipoxantina (Hx) foram determinadas por cromatografia líquida de alta precisão (High Precision Liquid Chromatography- HPLC) de acordo com Burns et al. (1985). Para a fase móvel foi utilizado uma solução de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,6M) com um fluxo de 1,4mL/min em coluna analítica de fase reversa (RP 8M PLC, dimensões: 4,6mm x 10cm, tamanho da partícula de 10 $\mu\text{m}$ , embutido em uma coluna protetora, 4,6mm x 3cm, tamanho da partícula de 10 $\mu\text{m}$ ). O valor K foi determinado pela razão entre a quantidade total de HxR e Hx e a quantidade total de ATP e seus produtos de degradação no músculo, segundo a equação descrita por SAITO et al (1959).

$$K(\%) = \frac{[HxR]}{[ATP]+[ADP]+[AMP]} + \frac{[Hx]}{[IMP]+[HxR]+[Hx]} \times 100 \quad [1]$$

#### 2.4. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e três repetições para cada tempo. As análises físico-químicas foram feitas em triplicata. Para atender as pressuposições de análise, a normalidade foi determinada pelo teste de Shapiro-wilk e D'Agostino-Pearson, e homocedasticidade das variâncias pelo teste de Cochran ( $p < 0,05$ ). Foi realizada análise de Variância (ANOVA) fatorial dois efeitos, ou seja, tratamento x tempo, com  $p < 0,05$ . Nos casos em que houveram diferenças significativas foram aplicados o teste de Tukey e o método não paramétrico de Friedman, a um nível de significância de 5%.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os métodos de abate diferenciaram principalmente no tempo decorrido até a constatação da morte dos animais, variando de 3 a 62 minutos. A condutividade elétrica pré-estabelecida em 700  $\mu\text{S}$  foi suficiente para conduzir de maneira uniforme a corrente elétrica no tratamento com choque elétrico. Lambooij et al., (2006) utilizaram uma condutividade superior de 876  $\mu\text{S}$  para o abate do bagre africano com diferentes voltagens. Os demais parâmetros de qualidade de água observados mantiveram-se sem alterações significativas (**TABELA 1**).

**TABELA 1.** Tempo total de abate e parâmetros de qualidade da água durante a aplicação dos três métodos de abate.

Tratamento	TA min	TEMP (°C)		OD (mg/L)		COND (µS)		pH	
		Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
ChE	3	25,0	21,7	5,45	6,15	700	722	5,02	6,14
CO <sub>2</sub> N	62	25,0	24,6	5,46	5,47	0	0	4,87	4,81
AG	21	1,5	0,8	17,00	19,00	0	0	5,22	5,95

TA= Tmpo decorrido desde a aplicação do método até a morte (minutos), TEMP= temperatura, OD=Oxigênio dissolvido e COND= Condutividade.

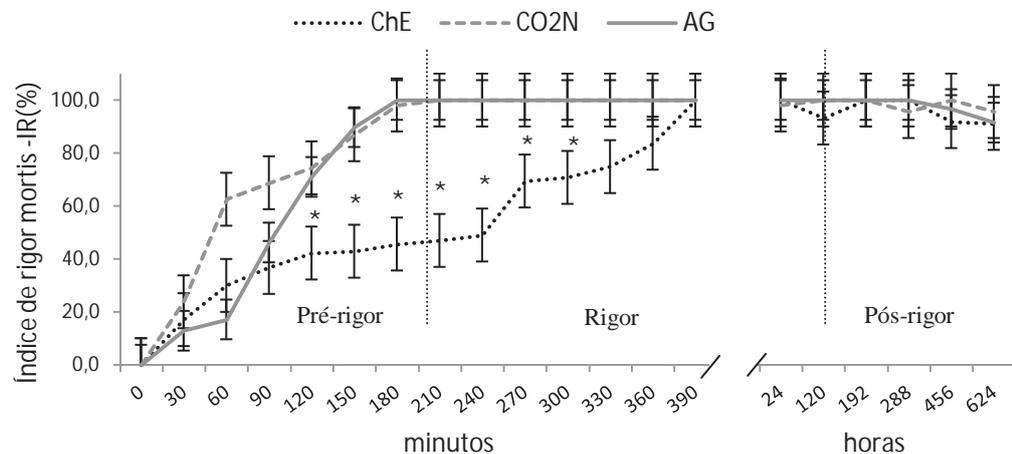
Foi observado que após 2 segundos os peixes submetidos à corrente elétrica não apresentavam mais movimentos. Baseado em pesquisa piloto, o tempo de exposição à corrente elétrica foi estendido visando garantir o abate. Roth et al., (2002), descrevem a eficiência da corrente elétrica como método de insensibilização do salmão do atlântico (*Salmo salar*), combinado com métodos complementares de abate como a perfuração branquial.

A quantidade de energia consumida no músculo do peixe durante o abate por choque elétrico depende do tipo de corrente elétrica utilizada: corrente contínua (CC), corrente alternada (CA), da força do campo elétrico (MITTON e MCDONALD, 1994; BARTON e GROSH 1996) e duração da corrente (CHIBA et al., 1990). Robb et al., (2000) mostraram que a estimulação elétrica da musculatura dos peixes acelerou o processo de rigor mortis. O abate por carga elétrica pode produzir movimentos bruscos causando quebra das vértebras e ruptura dos vasos sanguíneos (KESTIN et al., 1995), o que pode resultar em manchas de sangue (VAN DE VIS et al., 2003). Por outro lado Robb et al., (2003) recomendam eletricidade como melhor método de abate para o salmão quando comparado com o dióxido de carbono que causou uma resolução precoce do rigor.

Ao observar o comportamento dos peixes durante a aplicação dos métodos de abate, foi possível identificar o tempo exato em que os animais apresentaram-se atordoados ou insensibilizados. No tratamento com ChE a insensibilização foi instantânea, Lambooij et al., (2006) relataram insensibilização instantânea para o bagre africano com corrente de 226V. Nos tratamentos com CO<sub>2</sub>N e AG o tempo de insensibilização foi de 38 e 14 minutos, respectivamente, valores próximos aos encontrados por Acerete, (2009) durante a insensibilização do sea bass

(*Dicentrarchus labrax*) com tempos de 16 mim para hipotermia e 34 mim para narcose com CO<sub>2</sub>. Neste estudo, no tempo decorrido até a insensibilização aparente, as tilápias mostraram agitação, boquejamento e mudança na intensidade da coloração da linha lateral. No abate por hipotermia (AG), a água apresentou coloração avermelhada, sugerindo a ocorrência de sangramento branquial.

A utilização de métodos de abate de forma ética e que promovam o bem estar e a qualidade são questões importantes que devem ser aplicadas na aquicultura. Sabe-se que a resolução do *rigor mortis* está condicionada a degradação de ATP, estando o rigor pleno caracterizado pela diminuição dos valores desse metabolito. Neste estudo o início do *rigor mortis* apresentou diferença significativa para o tratamento com ChE, que ocorreu 3h e 30 minutos depois dos demais tratamentos. No entanto, o momento pós-rigor instalou-se de forma semelhante para os três métodos. Embora não tenha ocorrido diferença significativa entre os tratamentos no pós rigor ( $p < 0,05$ ), o abate por ChE nos tempos entre 120 e 300 minutos apresentou diferença em relação ao mesmo tempo para os demais tratamentos (**FIGURA 1**).

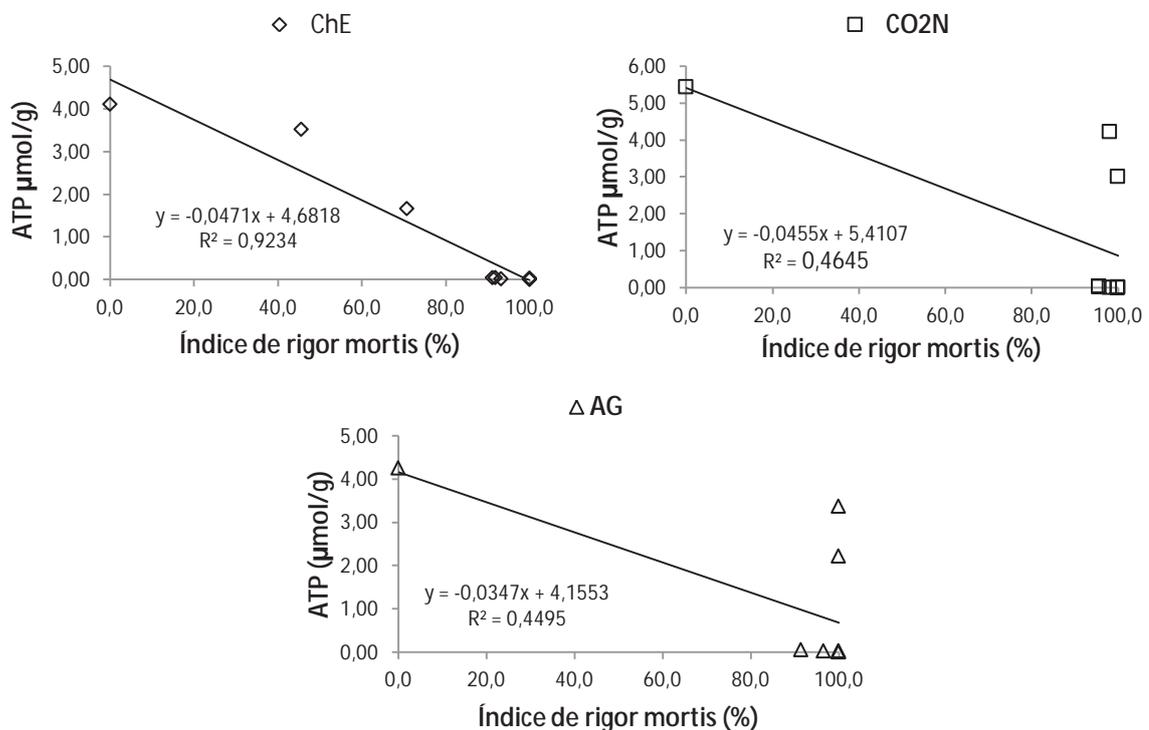


**FIGURA 1.** Dinâmica do Índice de *Rigor Mortis* em tilápias abatidas por choque elétrico (ChE), mistura de gases (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), mantidas resfriadas. \*Diferença significativa nos tempos entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Segundo Sebastio et al., (1996) a resolução do rigor se deve principalmente à ação endógena de enzimas proteolíticas e da ação microbiana, que resultam na deterioração das proteínas miofibrilares. Amlacher, (1961), relata que o rigor mortis pré determina decisivamente a vida de prateleira do pescado fresco. O *rigor mortis* pode ser definido como uma contração muscular lenta,

embora intensa e irreversível, que ocorre paralelamente à redução dos valores de ATP muscular a níveis inferiores a  $1,0 \mu\text{mol/g}$  (GREASER, 1986) ou com a degradação de 95% deste metabólito. Este fenômeno se instala quando os níveis de ATP estão exauridos de modo que os filamentos musculares perdem a capacidade de deslizar tornando o músculo rígido (KNOWLES et al., 2008).

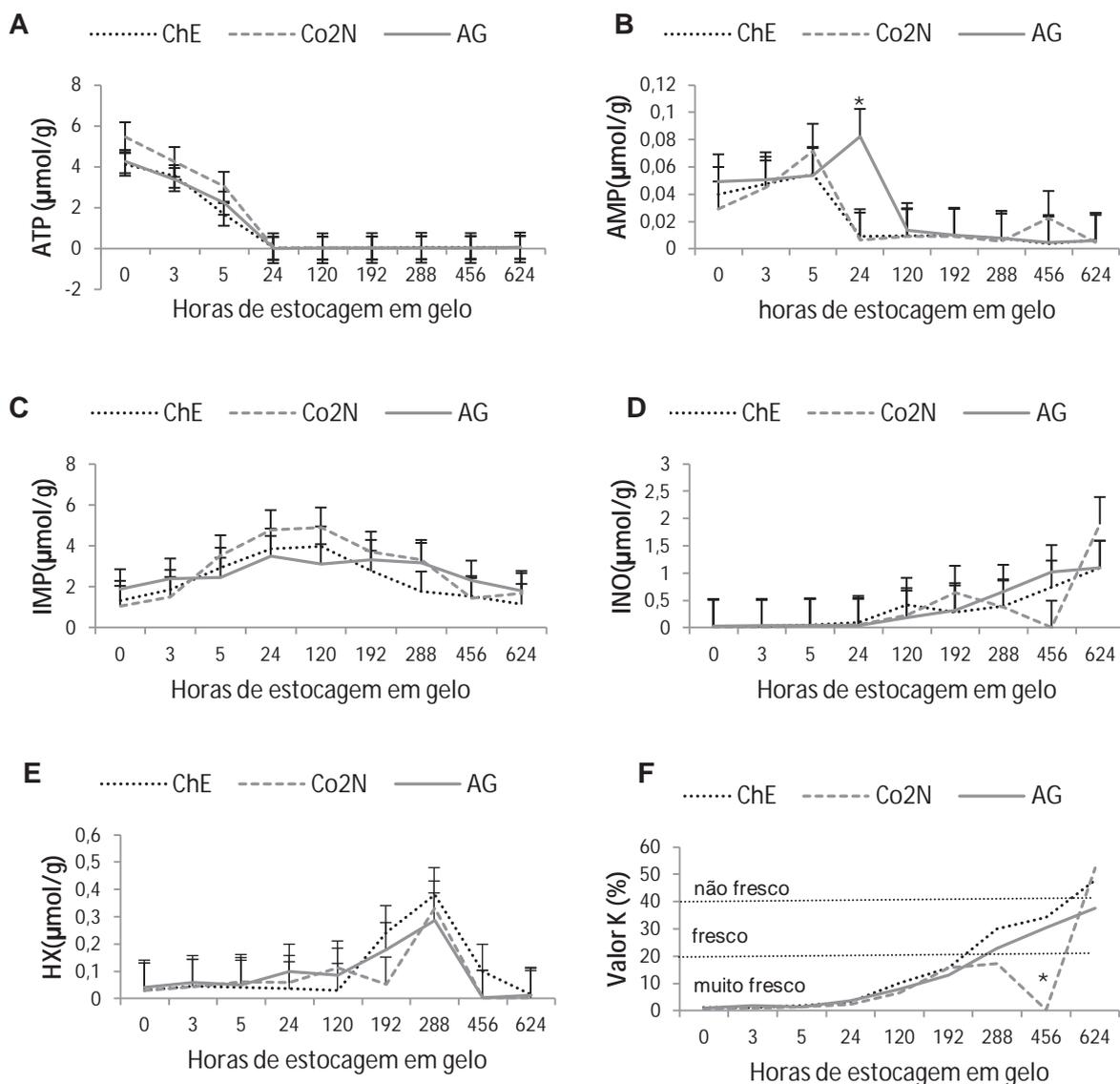
Neste estudo não foram observadas oscilações nas concentrações de ATP dentro do mesmo tratamento. Não houve diferença significativa entre os tratamentos, embora o abate por  $\text{CO}_2\text{N}$  tenha apresentado valores superiores quando comparados com os demais. Quando relacionados o índice de rigor mortis com os valores de degradação de ATP, pode-se observar uma tendência linear no abate por ChE (**FIGURA 2**), o que não ocorreu para os demais métodos. Este fato pode ser explicado pela rapidez com a qual o abate por ChE promove a morte, evitando assim um estresse excessivo. Nos abates por mistura gasosa e hipotermia o peixe entrou em rigor quando as reservas de ATP ainda estavam em  $3,03$  e  $2,22 \mu\text{mol/g}$ , respectivamente.



**FIGURA 2.** Relação ATP x Índice de *Rigor Mortis* em tilápias submetidas ao abate por eletronarcolese, mistura gasosa e hipotermia.

A ocorrência do *rigor mortis* está relacionada aos efeitos da temperatura de armazenamento. Um fato que pode ocorrer no peixe abatido por hipotermia e estocado em gelo, que ainda possuem reservas de ATP muscular é o fenômeno “cold shock”, termo usado para descrever um estado de rigidez muscular (PEREZ et al., 2001). Nambudiri e Gopakumar (1988) estudaram peixes tropicais e mostraram que há diferenças entre o cold shock e o *rigor mortis* principalmente no que se refere ao conteúdo de ATP presente no músculo no momento que o rigor é instalado e observaram que o estado de *cold shock* ocorreu quando 40% da concentração de ATP ainda estava presente no músculo (ALMEIDA et al., 2005).

O início do rigor ocorre quando o conteúdo de ATP do músculo diminui atingindo um nível crítico. Ao alcançar essa concentração, a actina e miosina das miofibrilas associam-se formando complexos de actomiosina, o qual promove a contração muscular irreversível, promovendo o *rigor mortis* (PATE e BROKAW 1980). Fraser et al., (1976) encontraram valor de ATP de 1,25mmol/g no início do *rigor mortis* do bacalhau. O conteúdo de ATP e dos seus catabolitos encontrados neste estudo, não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos. Algumas variações foram observadas nos níveis de AMP e no valor de K para o abate por mistura gasosa (**FIGURA 3**). Este fato pode estar ligado à dinâmica experimental., já que o modelo aplicado não permitiu que os mesmos exemplares fossem utilizados em todos os tempos de amostragem.



**FIGURA 3.** Degradação do ATP (**A**) e seus catabolitos AMP(**B**), IMP(**C**), INO(**D**), HX (**E**) e K (**F**), no abate da tilápia por eletronarcolese (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG).

O percentual de K aumentou de 2,2% nas 24h para 52,2% nas 624 horas para o abate por CO<sub>2</sub>N, sendo esta a maior variação entre os tratamentos. De acordo com os limites de K como indicador de frescor, apenas o abate por AG manteve-se dentro do limite considerado fresco até a 624<sup>a</sup> hora. Perez et al. (2001) observaram que o valor K em híbridos de cachara, armazenados a 0°C, não ultrapassou 20% até o 14<sup>o</sup> dia de estocagem em gelo. Ryder et al. (1984) estudaram o “jack mackerel” (*Trachurus novaezelandiae*), estocado em gelo e observaram que ocorreu uma variação do valor K de 2% a 60%. Hatula et al. (1993) estudaram o “whitefish” (*Coregonus wartmanni*) que foi considerado aceitável, quando apresentou valor K acima de 80%. Perez et al., (2001)

concluíram que o valor K pode ser usado como indicador de qualidade para o consumo do peixe na forma de “sashimi” (peixe cru) e como índice de frescor durante o tempo de vida útil.

Oehlenschläger e Sörensen (1997) afirmam que o pH de um peixe fresco é menor que 7, entretanto, a estudo do pH parece ser o método não muito eficiente para diferenciar as várias categorias de frescor do pescado (FONTES et al., 2007). Segundo Conde (1975), o pH do pescado fresco varia entre 6,6 e 6,8. Neste estudo, os valores de pH variaram de 5,83 a 7,02 (**TABELA 2**). Ainda segundo este mesmo autor, à medida que o pescado se deteriora os valores de pH aumentam, podendo atingir 7,2. Esta afirmativa difere dos resultados desta pesquisa, já que os valores de pH em todos os tratamentos diminuíram com o tempo e com a degradação do pescado. Lessi et al., (2005) descreveram uma queda inicial nos valores de pH pós morte do matrinxã, seguido de um aumento após seis dias de conservação em gelo.

**TABELA 2.** Medidas de pH muscular da tilápia do Nilo resfriada submetida e diferentes métodos de abate.

Tempo	pH - Tratamentos		
	ChE <sup>AB</sup>	CO <sub>2</sub> N <sup>A</sup>	AG <sup>B</sup>
0	6,86±0,30 <sup>b</sup>	6,60±0,11 <sup>c</sup>	7,02±0,03 <sup>b</sup>
3	6,46±0,09 <sup>ab</sup>	6,20±0,41 <sup>abc</sup>	6,52±0,22 <sup>ab</sup>
5	6,39±0,09 <sup>ab</sup>	6,29±0,16 <sup>abc</sup>	6,48±0,25 <sup>ab</sup>
24	6,33±0,64 <sup>ab</sup>	6,41±0,10 <sup>bc</sup>	6,34±0,02 <sup>a</sup>
120	5,93±0,03 <sup>a</sup>	6,03±0,07 <sup>ab</sup>	6,09±0,13 <sup>a</sup>
192	6,27±0,23 <sup>ab</sup>	6,00±0,11 <sup>ab</sup>	6,21±0,10 <sup>a</sup>
288	6,13±0,03 <sup>a</sup>	5,83±0,39 <sup>a</sup>	6,25±0,21 <sup>a</sup>
456	6,06±0,12 <sup>a</sup>	6,24±0,03 <sup>abc</sup>	6,23±0,23 <sup>a</sup>
624	6,22±0,02 <sup>a</sup>	6,18±0,13 <sup>abc</sup>	6,19±0,18 <sup>a</sup>

\*Letras maiúsculas indicam diferença estatística (p<0,05) entre os tratamentos. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tempos dentro do mesmo tratamento.

Os valores de pH foram afetados significativamente (p>0,05) pelos tratamentos e pelo tempo de armazenamento. Esses resultados foram similares aos encontrados por Carvalho et al., (2002) no músculo da tilápia do Nilo abatidas sob estresse, por Morkore et al., (2002) no músculo da truta arco-íris insensibilizada com CO<sub>2</sub> e por Huidobro et al., (2001) no músculo do peixe sea bream abatidos em gelo. Segundo Poli et al., (2005), as reações químicas derivadas do estresse no momento do abate faz com que os peixes entrem em

estado de rigor-mortis muito rapidamente. O sofrimento provoca ainda, uma redução das reservas de glicogênio muscular dos peixes e, conseqüentemente, menor acúmulo de ácido láctico. Isso faz com que o pH da carne fique próximo da neutralidade, acelerando a ação das enzimas musculares. Este estudo apresentou uma queda significativa de pH no abate por AG, variando de 7,02 a 6,19. Robb e Frost, (1999), evidenciam que a velocidade da queda do valor do pH após o abate pode influenciar na degradação do ATP interferindo assim no tempo de instalação do *rigor mortis*.

Scherer et al., (2006) relatam um aumento significativo do pH nos peixes abatidos por eletricidade a partir do segundo dia de armazenamto em gelo. O aumento do valor de pH está provavelmente relacionado com o acúmulo de substâncias básicas, tais como amoníaco e trimetilamina produzido pelo desenvolvimento de microorganismos nos peixes (HUSS, 1988). O pH de todos os tratamentos apresentaram valores inferiores a 6,8, o qual é apontada como um limite legal para o consumo de peixe fresco no Brasil (BRASIL, 2000). Embora os valores de pH tenham permanecidos dentro dos limites preconizados pela legislação, estes não foram capazes de indicar adequadamente a qualidade da tilapia após 26 dias de armazenamento em gelo. Outros pesquisadores também têm observado que o valor de pH é inadequado para avaliar o frescor de algumas espécies (ABABOUCHE et al., 1996; KYRANA e LOUGOVOIS, 2002).

#### **4. CONCLUSÕES**

O método de abate não influencia na qualidade final da tilapia refrigerada. É favorável a utilização do abate por eletronarcore por ter demonstrado uma interferência positiva na velocidade de entrada em *rigor mortis* e na degradação do ATP.

#### **5. AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa e pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABABOUC, L.H.; SOUIBRI, L.; RHALIBY, K.; OUAHDI, O.; BATTAL., M.; BUSTA, M.M. Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. **Food Microb.**, Sidcup, v. 13, p. 123-132, 1996

ACERETE, L., REIG, L., ALVAREZ, D., FLOS, R., TORT, L.,. Comparison of two stunning/ slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 287, p.139–144, 2009.

ALMEIDA, N.M. BATISTA , G.M.,KODAIRA, M., LESSI, A.L.V.E., Determinação do índice de rigor-mortis e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma macropomum*), de piscicultura e conservados em gelo, **Ciencia Rural.**, Santa Maria, v.35, n.3, mai-jun, 2005.

AMLACHER, E. **Rigor mortis in fish**. In: BORGSTROM , G. (Ed.) Fish as Food. New York: Academic Press, Cap 12, p.385-409, 1961.

ASHLEY, P. J. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, 2007.

BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. Pesca e aquicultura de água doce no Brasil. In: REBOUÇAS, A. C; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. **Águas doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. São Paulo: Escrituras, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº.3, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue**. S.D.A./M.A.A. Diário Oficial da União, Brasília, p.14-16, 24 de janeiro de 2000, Seção I. [online] [citado em 24 11 07] Disponível em: [www.agricultura.gov.br/das/dipoa/Anexo%20Abate.htm](http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/Anexo%20Abate.htm).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA 2001 Pescados e derivados, Capítulo VII. Brasília. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br) Acesso em: 13 maio. 2012.

CARTONILHO, M . M.; JESUS, R. S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.46, n.4, p.344-350, abr. 2011

CONDE, J.M.M. **Guia del inspector veterinário titular: 1- bromotologia sanitária**. Barcelona: Biblioteca Veterinária Aedos, 1975.

FONTES, M.C.; ESTEVES, A.; CALDEIRA, F.; SARAIVA, C.; VIEIRA-PINTO, M.; MARTINS, C.; Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal., **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1308-1315, 2007.

FRASER DI, DINGLE JR, HINES JA, NOWLAN SC, DYER J. 1967. Nucleotide degradation, monitored by thin-layer chromatography, and associated post-mortem changes in relaxed cod muscle. **J Fish Res Board Can** 24(8):1837-1841

- GREASER, M.L., Conversion of Muscle to Meat, In: BECHTEL, P.J. Muscle as **Food New York**: Academic Press, p.37-102, 1986.
- HATTULA, T., & KIESVAARA, M. (1992). Patterns of adenosine triphosphate catabolism as freshness indicators in fish species from the Baltic Sea. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 58, 485–488.
- HUIDOBRO, A., PASTOR, A., LÓPEZ-CABALLERO, M.E., TEJADA, M., 2001. Washing effect on the quality index method (QIM) developed for raw gilthead sea bream, *Sparus aurata*. **Eur. Food Res. Technol.** 212, 408–412.
- HUSS, H.H. El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. In: FAO. **Manual de Capacitación Preparado por el Programa de Capacitación FAO/DANIDA en Tecnología Pesquera y Control de Calidad**. Roma: FAO, 1988. V. 29.
- HUSS, H.H., A. ROESPSTORFF, H. KARL E B. BLOEMSMA, 1992. Handling and processing of herring infected with *Anisakis simplex*. In **Proceedings from 3<sup>rd</sup> World Congress on Foodborne Infections and Intoxications**. Inst. Of Vet. Med. Robert v. Ostertag Inst. Berlin, 388-394.
- HUSS, H.H. 2003. Assessment and management of sea food safety and quality. **Food Agriculture Organization (FAO)**. *Fisheries Technical Paper 444*. Rome; FAO.
- 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**, v.37, p.319-328, 2002.
- KNOWLES, T.G, BROWN, S.N., WARRISS, P.D., LINES, J., TINARWO, A., SENDON, M.; Effect of electrical stunning at slaughter on the quality of farmed turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1731-1738, 2008.
- LAMBOOIJ, E., VAN DER VIS, J.W., KLOOSTERBOER, R.J., PIETERSE, C., Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla Anguilla* L.): neurological and behavioural assessment. **Aquaculture**, v. 210, p.159-169, 2002.
- LAMBOOIJ, E., KLOOSTERBOER, R.J, GERRITZEN M.A., VAN DE VIS, J.W., Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility. **Aquaculture**, v. 254, p. 388–395, 2006.
- LESSI, E., BATISTA, G.M., KODAIRA, M., FALCÃO, P.T., Alterações bioquímicas *post-mortem* de matrinxã *Brycon cephalus* (günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24(4), p. 573-581, 2004.
- LOUGOVOIS, V. et al. Comparison of selected methods of assessing freshness quality and remaining storage life of iced gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Research International**, v.36, p.551–560, 2003.
- MELO FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, Atheneu, 1996. 182 p.

MITTON CJA, MCDONALD DG. 1994. Consequences of pulsed DC electrofishing and air exposure to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Can J Aquat Sci**51(8):1791-1798.

MORKORE, T., HANSEN, A.A., UNANDER, E., EINEN, O., 2002. Composition, liquid leakage, and mechanical properties of farmed rainbow trout: variation between fillet sections and the impact of ice and frozen storage. **J. Food Sci.** 67, 1933–1938.

NAMBUDIRI, D.D., GOPAKUMAR, K. Cold Shock reactions in tropical fishes. **J. Food Sci. Technol.**, v.25, n.2, p.89-91, 1988.

OEHLENSCHLÄGER, J.; SÖRENSEN, N.K. **Criteria of fish freshness and quality aspects.** In: THE FINAL MEETING OF THE CONCERTED ACTION – EVALUATION OF FISH FRESHNESS – 1997.

OSMAN KILINCCEKER, ISMAIL S. DOGAN, ERDOGAN KUCUKONER. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets **Food Science and Technology** 42 (2009) 868–873 SWISS.

PARISI, G.; FRANCI, O.; POLI, B. M; Application of multivariate analysis to sensorial and instrumental parameters of freshness in refrigerated sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during shelf life. **Aquaculture**, v. 214, p. 153–167, 2002.

PATE EF, Brokaw CJ. 1980. Cross-bridge behaviour in rigor muscle. **Biophys Struct Mech** 7(1):51-63

PÉREZ, M. et al. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios *post-mortem* y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) cultivados. **Anales Venezolanos de Nutrición**, v.14, p. 53-59, 2001.

POLI, B. M.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; ZAMPACAVALLLO, G. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. **Aquaculture Internacional.**, 2005.

ROBB, D.H.F., KESTIN, S.C., WARRISS, P.D., Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. **Aquaculture**, v.182, 2000.

ROBB, D.H.F., & ROTH B. Brain activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) following electrical stunning using various field strengths and pulse durations. **Aquaculture**, v. 216, 2003.

ROTH, B.; MOELLER, D., VELAND, J. O., IMSLAND, A. SLINDE, E. The effect of stunning methods on rigor mortis and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, 67, 1462-1466. 2002.

RYDER, J.M. et al. Storage of New Zealand jack mackerel (*Trachurus novaezelandiae*) in ice: chemical, microbiological and sensory assessment. **Journal of Food Science**, v.49, p.1453-1477, 1984.

SCHERER, R. et al. Effect of slaughter method on postmortem changes of grass carp (*CtenopHaryngodon idella*) stored in ice. **Journal Food Science**, v. 70, p. C348-354, 2005.

SEBASTIO, P., AMBROGGI, F., BALDRATI, G. Influence of slaughtering method on rainbow trout bred in captivity. 1. **Biochemical considerations. Ind. Conserve** 71, 37–49. 1996.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICROS E PEQUENAS EMPRESAS. **Aquicultura e pesca: tilápias: relatório completo: estudos de mercado** SEBRAE/ESPM. São Paulo. 160 p., 2008.

SHENDERYUK, V. I., & BYKOWSKI, P. Salting and marinating of fish. In Z. E. Sikorski (Ed.), **Seafood: Resources, nutritional composition and preservation**. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. 1989.

SIGURGISLADOTTIR, S., INGVARSDOTTIR, H., TORRISSEN, O. J., CARDINAL, M., & HAFSTEINSSON, H.. Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Research International.**, 33, 857–865. 2000.

SIGHOLT, T., ERIKSON, U., RUSTAD, T., JOHANSEN, T.S.. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farm-raised Atlantic salmon. **Journal of Food Science**, 1997.

SIKORSKI, Z. E., & KOLAKOWSKA, A. **Changes in proteins in frozen stored fish**. In Z. E. Sikorski, B. Sun Pan, & F. Shahidi (Eds.), **Seafood proteins** (pp. 99–112). London, UK: Chapman & Hall. 1994.

STEVANATO, F. B. et al. Aproveitamento dos resíduos de pescado. **Aquicultura & Pesca**, São Paulo, v. 14, p. 15-17, 2005.

TORNBERG, E., WALGREN, M., BRØNDUM, J., ENGELSEN, S.B. Pre-rigor conditions in beef under varying temperature and pH falls studied with rigormeter NMR and NIR. **Food Chem.** 69, 407–418. 2000.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P. *et. al.* **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo, TecArt, 2004.

VAN DE VIS, H. KESTIN, S., ROBB, D., OEHLENSCHLAGER, J., LAMBOOIJ, B., MUNKNER, W., KUHLMANN, H., TEJADA, M., HUIDOBRO, A., OTTERA, H., ROTH, B. SORENSEN, N.K., AKSE, L., BYRNE, H. NESVADBA, P., Is humane slaughter of fish possible for industry? **Aquaculture Research**, v. 34, 2003.

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: José Eurico Possebon Cyrino, Elisabeth Criscuolo Urbinati, Débora Machado Fracalosi, Newton Castagnolli (Eds), **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**, São Paulo: TecArt, 2004.

## Capítulo II

### **AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DA TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDA A DIFERENTES MÉTODOS DE ABATE**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes métodos de abate nas variáveis físico-químicas da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriada. Foram aplicados três métodos de abate, choque elétrico (ChE), mistura de gases (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), em 33 exemplares de tilápia para cada tratamento. Como indicadores físico-químicos de qualidade foram realizadas análises de BNV, NNP, textura e cor instrumental., índice de contração muscular e análise sensorial. As amostragens ocorreram em um período de 26 dias correspondendo aos tempos 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas. Os valores de BNV mantiveram-se abaixo do limite de 30mg/100g permitido pela legislação, quando o pescado já não se apresentava adequado para o consumo, a análise de NNP apresentou valores elevados de 452mg NNP/100g no abate por AG. A textura e cor instrumental apresentaram diferença significativa principalmente para o abate por ChE, o índice de contração apresentou maior perda irreversível de 8,74 % para o abate por CO<sub>2</sub>N. A análise sensorial confirmou a eficácia do método de abate por ChE, promovendo melhor qualidade da tilápia do Nilo conservada em gelo.

Palavras-chave: qualidade, textura, frescor, análise sensorial.

# EVALUATION OF PHYSICO-CHEMICAL AND SENSORIAL OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) UNDER DIFFERENT METHODS OF SLAUGHTER

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of different slaughter methods and the physico-chemical and sensory properties of tilapia (*Oreochromis Niloticus*) cooled. We applied three methods of slaughter, electric shock (ShE), gas mixture (CO<sub>2</sub>N) and hypothermia (IW) in 33 specimens of tilapia for each treatment. As indicators of physical and chemical quality analyzes were performed to BVN, NPN, texture and instrumental color index, muscle contraction and sensory analysis. The samples occur over a period of 26 days corresponding to times 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 and 624 hours. BVN values remained below the limit allowed by law 30mg/100g, when the fish is no longer fit for consumption presented, the analysis showed high levels of NPN 452mg NPN/100g slaughter for IW. The instrumental texture and color showed significant differences ( $p < 0.05$ ) primarily for slaughter for ShE, the rate of contraction showed greater irreversible loss of 8.74% for slaughter by CO<sub>2</sub>N. Sensory analysis confirmed the effectiveness of the method and slaughter by ShE, promoting a better quality of tilapia kept on ice.

Keywords: quality, texture, freshness, sensory analysis.

## 1. INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento de alto valor nutritivo, constituindo uma das mais importantes fontes proteicas de alto valor biológico, além de sua composição rica em lipídios insaturados, vitaminas e sais minerais. Uma preocupação recente é relativa à qualidade do pescado, em que se procura atingir um padrão para garantir a comercialização, tornando-se necessário a adoção de medidas tanto na produção quanto na pós-colheita (MACEDO-VIEGAS; SOUZA, 2004).

A tilápia, *Oreochromis niloticus* compõe o grupo de peixes que mais cresce em termos de comercialização mundial, é o segundo grupo mais produzido mundialmente, e apesar das imprecisões estatísticas, estima-se ser o gênero mais produzido no Brasil (ZIMMERMANN; FITZSIMMONS, 2004). Dentre os produtos de origem animal, os peixes são os mais suscetíveis a processos de deterioração. Tal perecibilidade do pescado fresco pode ser explicada devido à ação de enzimas autolíticas, ou seja, do próprio pescado, e pela relação menos ácida de sua carne, que favorece o crescimento microbiano.

Para Contreras-Guzmán (1988), qualidade como um todo, envolve a soma dos atributos físicos, sensoriais, químicos e microbiológicos dos alimentos. No pescado a qualidade está estreitamente ligada com o estado de frescor. Além de fatores como o abate, as próprias características químicas e estruturais da carne de pescado provocam rápidas alterações, que causam deterioração (MELO FRANCO; LANDGRAF, 1996). Embora haja a possibilidade de recorrer a metodologias objetivas (físicas e químicas) para avaliar o frescor do pescado, a análise sensorial continua a ser essencial, mesmo que se desenvolvam métodos instrumentais de fácil aplicação, pois fornece informação mais completa sobre o estado do pescado (NIELSON, 1997).

Para peixes, o bem-estar animal começou a ser discutido recentemente (LAMBOOIJ et al., 2002), entretanto na indústria de abate de aves e mamíferos já se tem utilizado o bem-estar animal como forma de melhorar o produto final (LAMBOOIJ et al., 2006). Em países europeus, diferentes métodos de atordoamento e abate são comumente usados em peixes provenientes da pesca e da aquicultura. Estes métodos consistem em narcose por CO<sub>2</sub>, insensibilização

por choque elétrico, percussão medular, asfixia, banho de sal., mistura do gelo e água ou apenas gelo (POLI et al., 2005). Além de fatores como o abate, as próprias características químicas e estruturais da carne de pescado provocam aceleradas alterações, que proporcionam deterioração do pescado (MELO FRANCO; LANDGRAF, 1996). O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes métodos de abate sobre a qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriada, utilizando como indicadores de qualidade os valores de BNV e NNP, além da avaliação sensorial e medidas físicas como cor e textura instrumental e índice de contração muscular.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Peixes e métodos de abate

Foram utilizados 99 exemplares de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio de  $535,1 \pm 121,36$  g e comprimento total médio de  $32,9 \pm 2,35$  cm, adquiridos em uma piscicultura comercial situada na região de Pirassununga, SP. Os animais foram transportados vivos até o Laboratório de Aquicultura, estocados em viveiros de alvenaria com capacidade de 5000L de água com renovação contínua e mantidos em jejum por 48h até o momento do abate.

Três métodos de abate foram aplicados, utilizando 33 peixes para cada tratamento:

a) *Eletronarcorese (ChE)*: os peixes foram colocados em uma caixa plástica com capacidade total de 120L, preenchida com 80L de água da rede pública de abastecimento. Para ajuste da condutividade elétrica pré-estabelecida em  $700\mu\text{S}$ , foi adicionado salmoura supersaturada de cloreto de sódio atingindo uma salinidade de 0,03%. Foi aplicada uma corrente elétrica de 154 V e 8,0 A, durante 120 segundos, tempo este suficiente para promover a morte dos animais.

b) *Mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N)*: utilizado caixa plástica com capacidade de 120L, preenchida com 80L de água em temperatura ambiente, na qual foi adicionada uma mistura de gases composta por 70% de CO<sub>2</sub> (gás carbônico) e 30% de N (nitrogênio) através de um difusor e pedra porosa. Os peixes permaneceram na caixa até a morte de todos os exemplares.

c) *Hipotermia (AG)*: uma mistura de água e gelo na proporção de 2:1 foi adicionado em uma caixa plástica com capacidade de 120L, e volume da mistura de 80L onde foram colocados os peixes e mantidos a até a morte.

Os parâmetros da água foram verificados antes e depois do abate utilizando um medidor multi-parâmetro (Horiba, modelo U-10). Para todos os tratamentos, o óbito foi constatado pela ausência de reflexos ao estímulo da linha lateral com utilização de alfinete e pela ausência de movimentos do opérculo. Também foram registrados o tempo de morte e o comportamento dos peixes em cada tratamento.

## **2.2. Amostragem**

A amostragem foi realizada em 0, 3, 5, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas após a morte, totalizando um período de 26 dias. Depois de constatado a morte, todos os peixes de cada tratamento foram medidos (comprimento total) e pesados utilizando ictiômetro e balança digital. Os peixes foram acondicionados em caixas isotérmicas com camadas alternadas de gelo e mantidos durante todo o período de amostragem em câmara fria a 4,0° C. Um total de três peixes por tratamento foi utilizado para cada um dos nove tempos de amostragem.

## **2.3. Métodos analíticos**

### **2.3.1. Bases Nitrogenadas Voláteis -BNV e Nitrogênio não Proteico-NNP**

A concentração de bases nitrogenadas voláteis (BNV) e nitrogênio não proteico (NNP), foram determinadas em três exemplares de cada tratamento, a partir de uma porção de 10g de músculo triturado, nos tempos 0, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas, de acordo com a metodologia de Howgat, (1976). As análises foram feitas em triplicatas. A concentração de BNV foi calculada através a fórmula:

$$\text{BNV (mg N/100 g)} = \frac{(\text{vol HCl (ml)} \times \text{N HCl} \times 14 \times \text{vol extr. TCA} \times 100)}{(\text{vol do filtrado} \times \text{peso da amostra})}$$

Onde:

vol HCL = volume de HCl utilizado para a titulação da amostra;

N HCL= normalidade do HCl utilizado na titulação;

vol extr. TCA = volume do extrato em TCA, obtido da soma de volume de solução TCA+volume de água contida na amostra.

Vol do filtrado= volume do filtrado submetido a destilação

O nitrogênio não protéico (NNP) foi determinado pelo método de Micro Kjeldahl no extrato obtido após precipitação da proteína com ácido tricloroacético (TCA) 10%. Os resultados foram expressos como (mg .100 g<sup>-1</sup>).

## **2.4. Métodos instrumentais**

### **2.4.1. Cor instrumental**

A medida de cor instrumental foi realizada em três filés da porção esquerda de cada peixe de cada tratamento após, 24, 120, 192, 288, 456 e 624 horas de armazenagem. Foi utilizado um colorímetro portátil (Miniscan XE, Hunterlab), previamente calibrado com padrão branco e preto antes de cada análise, operando com fonte de luz D65, abertura de célula de 30 mm e ângulo de observação de 10°. Os valores para a cor foram expressos utilizando os padrões de cor do sistema CIE L\* a\* b\* – “Comission Internationale de L’Eclairage”, onde: L\* (luminosidade), a\* (intensidade da cor vermelho-verde) e b\* (intensidade da cor amarela-azul).

### **2.4.2. Textura instrumental**

A análise de textura instrumental foi realizada na porção superior dorsal em três diferentes pontos, dos três filés de tilápia de cada tratamento, utilizando um texturômetro (TA-XT2i, Stable Micro Systems), previamente calibrado com peso padrão de 5 kg, com probe de alumínio (SMS P/20) com velocidade do pré-teste, teste e pós-teste de 2,0 mm/s e altura da plataforma de 20 mm. Foi analisada a força de compressão (g) utilizando uma altura de 40% do filé.

### **2.4.3. Índice de contração muscular**

A variação da contração do comprimento do filé foi realizada com o filé direito de três peixes de cada tratamento, utilizando um paquímetro digital (Starrett, 799<sup>a</sup> series), onde foram obtidas as medidas de comprimento e largura do filé. Os mesmos foram acondicionados em sacos plásticos individualmente e conservados a 4°C. A 1<sup>a</sup> aferição ocorreu imediatamente após o abate e as

demais durante todos os tempos de amostragem. Para determinar o índice de contração, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$\% \text{Contração} = 100 - (C \times 100 / C_0) ,$$

Onde:

C = comprimento final do filé.

C<sub>0</sub> = comprimento inicial do filé.

## **2.5. Avaliação sensorial**

A avaliação sensorial física foi realizada em todos os tratamentos por cinco julgadores treinados, de acordo com esquema oficial da União Europeia (Regulamento da União Europeia, CEE 103/76 modificado pelo Regulamento 2406/96), no qual estabelece quatro níveis de qualidade do pescado (E – extra (escore=3), A – fresco (escore=2), B – sem frescor, rançoso (escore=1), O – deteriorado (escore=0)) para todos os pontos de amostragem.

## **2.6. Delineamento experimental e análise estatística**

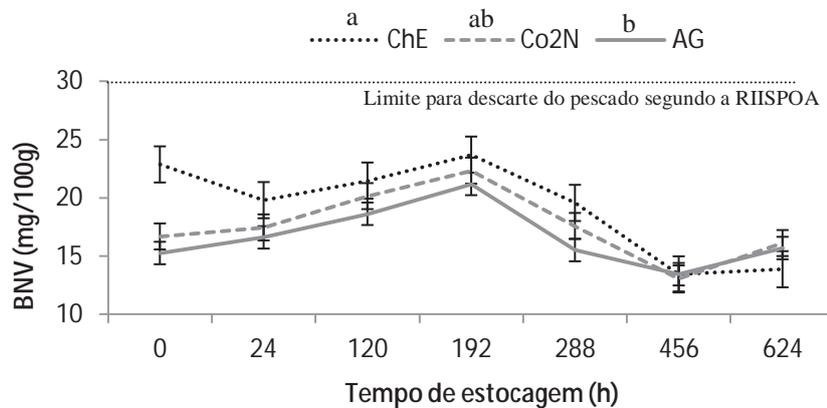
O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos e três repetições. As análises físico-químicas foram feitas em triplicata. Para atender as pressuposições de análise, a normalidade foi determinada pelo teste de Shapiro-wilk e D'Agostino-Pearson, e homocedasticidade das variâncias pelo teste de Cochran. Foi realizada análise de Variância (ANOVA) fatorial dois efeitos, ou seja, tratamento x tempo, com  $p < 0,05$ . Nos casos em que houveram diferenças significativas foram aplicados o teste de Tukey e o método não paramétrico de Friedman, a um nível de significância de 5%.

# **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **3.1. BNV E NNP**

Foi observada uma interação significativa entre os tratamentos e o período de estocagem nos valores de BNVs ( $p < 0,05$ ). O tratamento por ChE apresentou os maiores valores até o tempo de 456h, sendo este o único tempo no qual não foram observadas diferenças significativas (**FIGURA 1**). Em todos os tratamentos

os valores permaneceram abaixo do limite preconizado pela legislação, ou seja, 30 mg/100g (BRASIL 2012).



**FIGURA 1.** Teores de BNV (Bases Nitrogenadas Voláteis) em tilápias resfriadas submetidas a diferentes métodos de abate.

O teor de bases nitrogenadas voláteis totais (amônia, trimetilamina e dimetilamina) e o teor de trimetilamina têm sido empregados como índices de frescor para pescado (RUIZ-CAPILLAS e MORAL, 2001). Entretanto, existem controvérsias sobre a efetividade destes parâmetros, uma vez que em algumas espécies de pescado, alterações significativas nos teores destes compostos somente ocorrem quando os sinais de deterioração já são perceptíveis sensorialmente (LAPA-GUIMARÃES, 2005). Segundo Savay da Silva et al., (2008) os teores de bases nitrogenadas voláteis aumentam progressivamente com a deterioração, o que não ocorreu neste estudo, já que os valores diminuíram de acordo com o tempo de estocagem e com a diminuição do frescor.

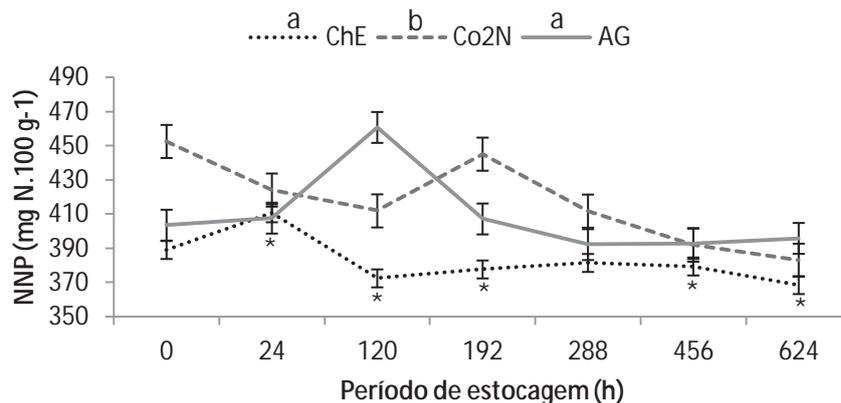
Lessi et al., 2004 relatam que alguns autores têm citado que esta determinação não se mostra um bom índice de avaliação da qualidade, pois apresenta inicialmente quantidades muito elevadas de BNV. No entanto, outros autores citam que isto está atribuído à ação enzimática que ocorre no músculo e, principalmente pela quantidade de bactérias presentes capazes de produzir compostos nitrogenados, como amônia e aminas voláteis, que levam à deterioração do pescado mais rapidamente.

De acordo com Ogawa et al., (1999), para peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNV atinge 5 a 10 mg N.100 g<sup>-1</sup> de carne; peixes com frescor razoável podem atingir até 15 a 25 mg N.100 g<sup>-1</sup>. No início da putrefação, este teor pode ir até 30 a 40 mg N.100 g<sup>-1</sup> e, quando bastante deteriorado, tal

conteúdo deve encontrar-se acima de 50 mg N.100 g<sup>-1</sup>. No entanto, de acordo com a Legislação Brasileira (BRASIL, 2000), a qual designa que o pescado fresco destinado para o consumo humano pode apresentar valor máximo de 30 mg/100g de BNV, neste estudo, todos os tratamentos analisados estiveram dentro do limite aceitável (<23,69 mg/100g). Tomé et al., (2000), analisando os índices de BNVT em tilápias (*Oreochromis spp*) conservadas em gelo, encontraram valores inferiores a 30mg N/100g, no peixe deteriorado. A análise de BNVT foi considerado um bom índice para avaliar a deterioração de peixes marinhos, como as anchovas (*Pomatomus saltator*) salgadas (HERNÁNDEZ-HERRERO et al., 1999), pescada (*Merluccius merluccius*), (RUIZ-CAPILLAS & MORAL, 2001), *Mahi-Mahi Coryphaena* (hippurus) (ANTOINE et al., 2002) conservados em gelo.

Lakshmanan, Antony & Gopakumar (1996), determinaram as variações na concentração de BVT em crómida verde (*Etroplus suratensis*), espécie de pescado de água doce, onde o limite de 30mg não foi atingido mesmo após 20 dias de armazenagem em gelo, sendo que no 12º dia, quando os peixes foram considerados impróprios para o consumo, o valor de BVT era de 18,6mg. Esses resultados são semelhantes aos observados neste estudo, tendo todos os tratamentos apresentado valores inferiores a 30mg/100g, mesmo sendo considerado impróprio para consumo pela análise sensorial.

Os valores de NNP apresentaram uma queda de até 15% e uma diferença significativa entre os tratamentos e na interação tratamento x período de estocagem ( $p < 0,05$ ) (**FIGURA 2**). O abate por AG apresentou um valor significativamente maior 452 mg NNP/100g (AG) em relação aos demais tratamentos 403 mg NNP/100g (CO<sub>2</sub>N) e 389 mg NNP/100g (ChE).



**FIGURA 2.** Níveis de Nitrogênio Não Proteico nos abates por eletronarcese, mistura gasosa e hipotermia durante o armazenamento. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ). \* Significa diferença entre os tempos dentro de um mesmo tratamento.

A análise de NNP (nitrogênio não proteico) também é utilizada como parâmetro de frescor, embora esta não seja padronizada pelo Ministério da Agricultura. Albuquerque et al., (2004) analisaram os níveis de NNP em filés de tilápia, e observaram que não houve formação ou desaparecimento significativo de formas nitrogenadas no pescado durante os 17 dias de armazenamento em gelo. O mesmo aconteceu no trabalho realizado por Socol (2002), onde os valores de NNP de filés de tilápia minimamente processados não foram afetados significativamente pelos tratamentos durante um período de 20 dias de armazenamento em gelo. De acordo com Netto (1984), a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) apresentou, no estado fresco, 494 mg NNP/100g. Biato et al (2003), encontraram o teor de 577,85 mg/100g, para a mesma espécie resfriada, corroborando com os valores encontrados neste estudo.

Contreras-Guzmán (1994) obteve resultado semelhante ao analisar o filé de tilápia que após 16 dias de armazenamento apresentou uma queda de 344mg/100g para 258mg/100g. Netto (1984) também observou diminuição do NNP em tilápias durante a estocagem em gelo por 20 dias, com valores iniciais de 294mg/100g e 208mg/100g após os 20 dias em gelo e essa diminuição foi atribuída à lixiviação. Valores entre 1000 e 1333mg/100g foram encontrados em filés de tilápia por 20 e 30 dias de armazenamento a 0,5 a 1,0°C, respectivamente (SIQUEIRA, 2001). Socol et al., (2005) observaram valores de NNP variando de 534 a 568mg/100g, em tilápias armazenadas por 20 dias a 1°C, e não observaram diferenças no tempo de armazenamento. Albuquerque et al., (2004)

analisaram teores de NNP em tilápias armazenadas em gelo por 17 dias também não encontraram diferenças ao longo do período de armazenamento.

### 3.2. Textura instrumental

O tempo de estocagem causou uma leve diminuição na força de compressão apenas no tratamento por ChE, enquanto que para os demais tratamentos os resultados obtidos mostraram uma oscilação. Não foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para a força de compressão dos filés de tilápia resfriada. Houve diferenças entre os tempos de estocagem dentro de um mesmo tratamento para o abate por CO<sub>2</sub>N e AG. (TABELA 1). O tratamento por AG apresentou os maiores valores e discrepâncias entre os tempos, variando de 33548,43 a 1358,54g.

**TABELA 1.** Força de compressão aplicada aos filés de tilápia resfriada submetida a três métodos de abate. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempos para o mesmo tratamento.

Tempo (h)	Tratamentos		
	ChE	CO <sub>2</sub> N ME±EP	AG
24	2274,92±554,01 <sup>ns</sup>	2321,25±1044,94 <sup>ab</sup>	3031,62±584,63 <sup>a</sup>
120	2532,37±608,48 <sup>ns</sup>	2067,57±416,33 <sup>b</sup>	2099,95±653,63 <sup>a</sup>
192	2607,58±1464,62 <sup>ns</sup>	2655,53±856,56 <sup>ab</sup>	3548,43±773,90 <sup>ab</sup>
288	1931,96±249,67 <sup>ns</sup>	1819,65±714,04 <sup>ab</sup>	1755,75±435,92 <sup>ab</sup>
456	1553,44±274,80 <sup>ns</sup>	3239,08±611,23 <sup>a</sup>	3356,84±1641,82 <sup>bc</sup>
624	2060,08±334,63 <sup>ns</sup>	2115,27±357,87 <sup>b</sup>	1358,54±160,04 <sup>c</sup>

Mediana±desvio padrão (n=9) para cada tempo.

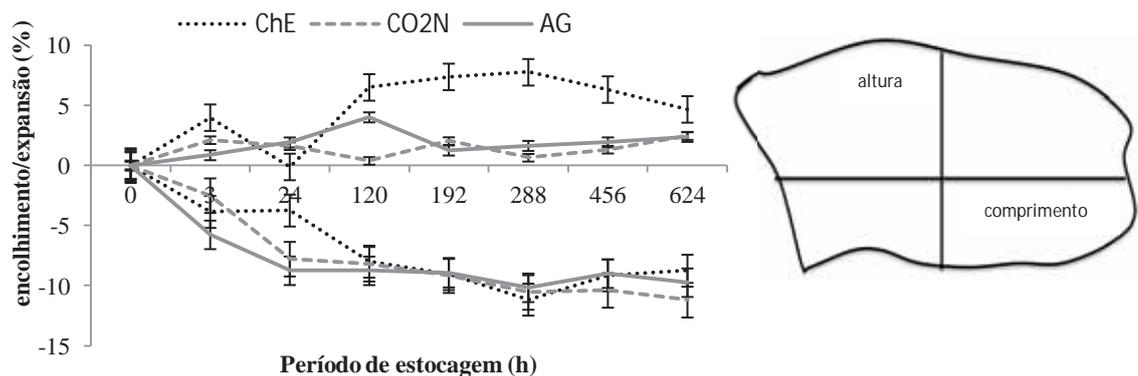
Esperava-se que a força de compressão diminuísse gradativamente em todos os tratamentos de acordo com o tempo de estocagem, já que perda de textura durante o armazenamento do pescado tem sido relatada por Sato et al., (1991). Santos (2008) observou em filés de linguado que os valores das variáveis de textura apresentavam uma tendência à diminuição com o tempo de armazenamento. Essa diminuição é resultante do avanço do estado de degradação, que torna o filé menos firme e com menor resistência a compressão (SANTOS, 2008).

Estudos com salmonídeos, tendem a mostrar que os peixes expostos ao estresse e alta manipulação no abate apresentam textura mais suave e curta vida de prateleira (BAHUAUD et al., 2010; LEFÈVRE et al., 2008). O estresse pré-abate acelera as alterações características de qualidade da textura do filé que pode ser alterada negativamente (SIGHOLT et al., 1997; ROBB, 2001; SKJERVOLD, 2001; KIESSLING et al., 2004).

Roth et al., (2006) em seu experimento com salmão do atlântico (*Salmo salar*) mostraram que os músculos de peixes abatidos por eletronarcole e choque térmico apresentaram similaridade nas características de textura. Estes mesmos autores (2007) não encontraram diferença significativa para os métodos de abate sobre os valores de força de compressão de filés de linguado abatidos por percussão, sangria ou eletronarcole. Existem vários estudos que mostram que a suavidade na textura pode ser associado ao estresse, provavelmente como um efeito direto da ativação da atividade proteolítica (MORZEL et al., 2006).

### 3.3. Índice de contração muscular

Os três métodos apresentaram percentual de contração e expansão semelhantes, não diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ) entre si ou entre os tempos, embora o abate por ChE tenha apresentado valores de expansão mais elevado a partir de 120h (**FIGURA 3**). Segundo Santos (2008), o músculo branco pode encolher até 15% do seu tamanho inicial. Pode-se observar que em todos os tratamentos os valores de encolhimento foram superiores aos de expansão, promovendo uma perda irreversível no tamanho do filé, correspondendo a 3,39, 8,74 e 6,15% para os tratamentos por ChE, CO<sub>2</sub>N e AG, respectivamente. Rensen et al., (1997) também encontraram uma redução de comprimento irreversível em filés de salmão filetados em pré rigor de aproximadamente 15%.



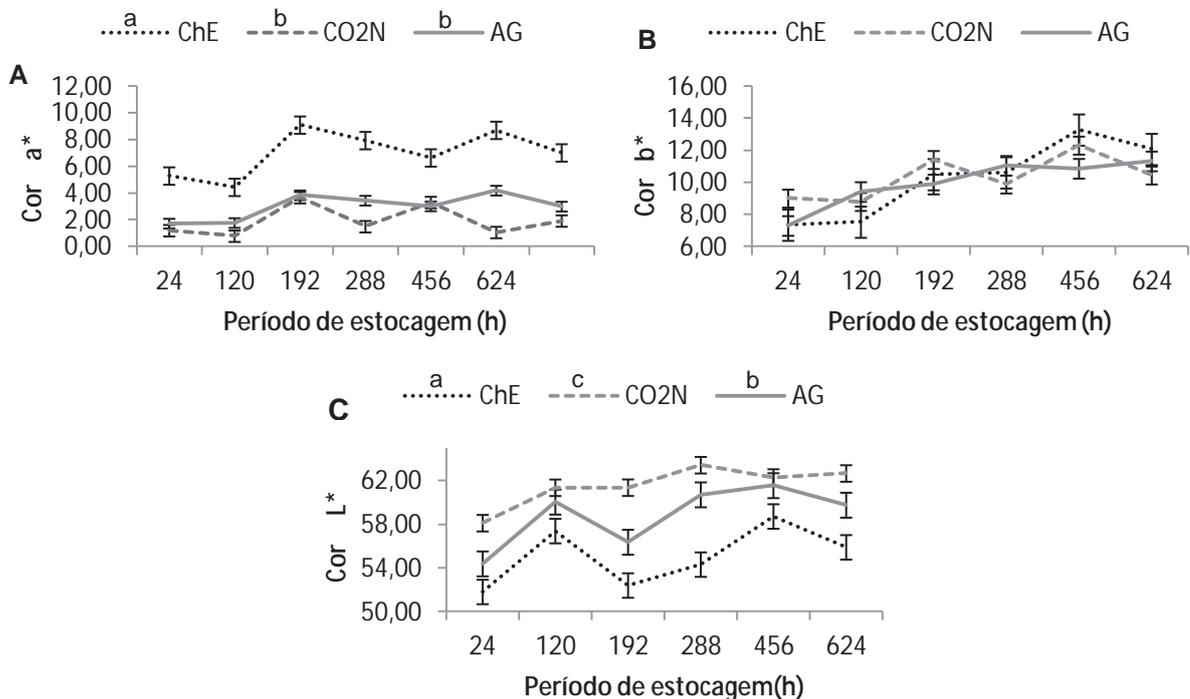
**FIGURA 3.** Percentual de encolhimento e expansão do filé de tilápia abatido por eletronarcole, mistura gasosa e hipotermia.

A filetagem no momento de pré-rigor permite que as fibras musculares contraíam-se livremente. Uma contração de 10-14% foi constatada em filés de salmão (EINEN et al., 2002). Skjervold et al.(2001) relatam que a espécie também

influencia na taxa de contração do filé, mostrando que, para salmão do Atlântico este valor foi de 14% e em bacalhau cerca de 25% . Vargas, (2011) encontrou valores máximos de contração para o matrinxã de 11,96% no abate por asfixia por CO<sub>2</sub> na água, 8,8 % nos peixes abatidos por eletronarcose e 9,08% nos peixes abatidos por choque térmico.

### 3.4. Cor instrumental

Os filés de tilápia refrigerados submetidos a diferentes métodos de abate apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ), nas variáveis de cor L\* e a\* durante os 26 dias de armazenamento em gelo. Observou-se que a Cor L\* (luminosidade do filé) aumentou ao longo do período de armazenamento em todos os tratamentos. A intensidade da cor vermelha (a\*) apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo do período de armazenamento com valores bem elevados nos filés de tilápia abatidos por ChE (7,02) (**FIGURA 4**). Knowles et al., (2008), verificaram que não houve diferença na cor do liguando abatido por eletronarcose ou água e gelo armazenado em gelo durante 10 dias.



**FIGURA 4.** Valores médios de a\* (**A**), b\* (**B**) e L\* (**C**) da tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), resfriado.

Estas alterações na coloração dos filés do tratamento por ChE podem ter ocorrido devido às hemorragias verificadas durante a filetagem realizada imediatamente após a morte. O sangramento ocorrido durante a filetagem é

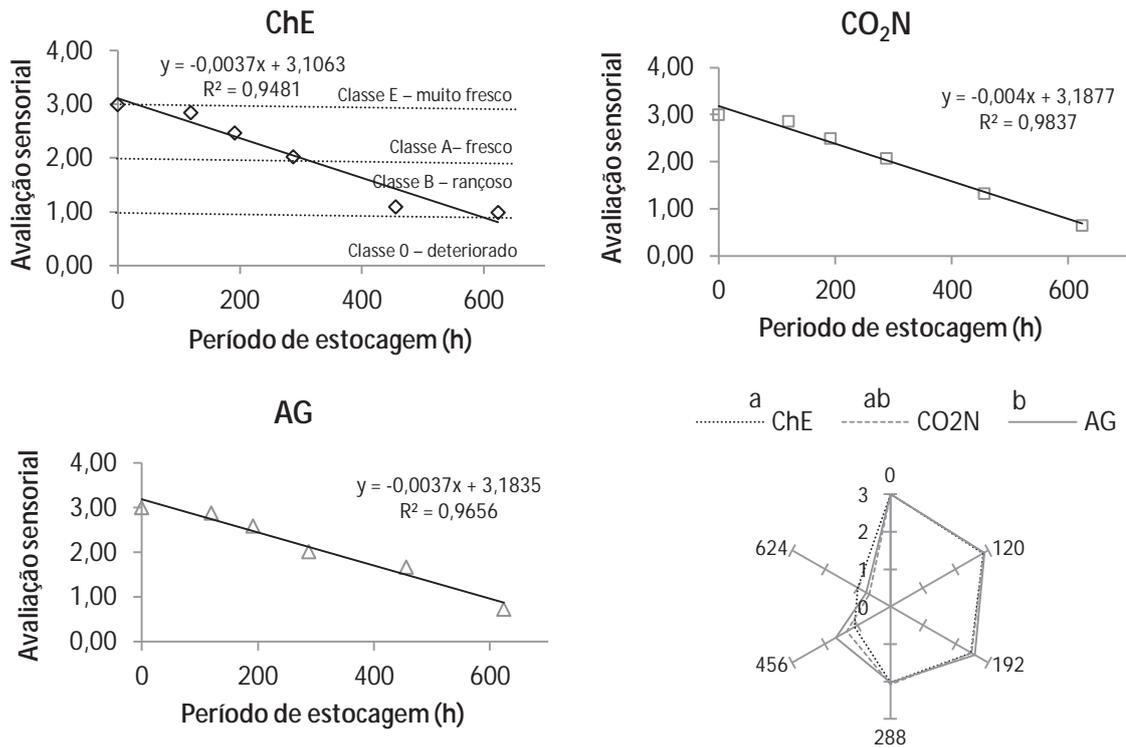
proveniente das lesões causadas pela corrente elétrica aplicada no momento do abate e pela falta de vasoconstricção, devido à rapidez que ocorre a morte. A força da contração muscular e o risco de lesão é dependente do tipo e intensidade da corrente (ROTH et al., 2004; LINES & KESTIN, 2005). Roth et al., (2007) relatam que a exposição do peixe a eletricidade pode gerar uma atividade muscular elevada, podendo provocar danos na espinha, bem como à aorta dorsal ou veias, causando hematomas no filé.

A variável  $b^*$  (intensidade de cor amarela) nos filés de tilápia aumentou ao longo do tempo para os três tratamentos, não apresentando diferença significativa. Robb et al., (2000), evidenciam que a estimulação elétrica durante o abate pode afetar a cor e que para trutas arco-íris a estimulação elétrica durante o abate torna a carne significativamente mais clara provavelmente devido à acidificação causada pela desnaturação das proteínas musculares. Este estudo mostrou que a utilização de eletricidade como método de abate afetou significativamente as variáveis cor  $L^*$  e  $a^*$  dos filés de tilápia.

### 3.5. Análise Sensorial

Houve diferenças significativas entre os tratamentos, na avaliação global dos atributos sensoriais, apresentaram um  $R^2$  igual a 0,94; 0,98 e 0,96 para os abates por ChE, CO<sub>2</sub>N e AG, respectivamente, entre os pontos de avaliação sensorial e o tempo de conservação em gelo, sendo considerado um bom critério para avaliação do frescor da tilápia armazenada em gelo. Segundo Chambers IV & Robel (1993), apud Pimentel & Panetta (2003), a importância da textura e do sabor está muito bem estabelecida, e a aceitação pelo consumidor depende das características sensoriais do pescado.

Todos os tratamentos alteraram-se de forma semelhante até 288 horas (14 dias) de estocagem em gelo, apresentando a partir deste momento uma diferenciação na diminuição da qualidade do peixe, com escores de 0,99; 0,64 e 0,73; para os tratamentos por ChE, CO<sub>2</sub>N e AG, respectivamente, no 26º dia (**FIGURA 4**). Ribas et al. (2007) verificaram maior perda de frescor no linguado abatido por asfixia, concluindo que o abate por CO<sub>2</sub>, foi eficaz na prorrogação da qualidade do linguado.



**FIGURA 4.** Avaliação sensorial da tilápia submetida e diferentes métodos de abate segundo o esquema da União Europeia. (Esquema baseado no Regulamento do CEE 103/76 e modificado pelo Regulamento EU 2406/96).

Os resultados da avaliação sensorial mostram que os espécimes de tilápia apresentam tempo de vida útil até 26 dias de estocagem em gelo, sendo 14 dias em boa qualidade. Observou-se que o abate por ChE alcançou maior escore no 624<sup>o</sup> hora de armazenamento, em relação aos demais tratamentos, indicando melhor estado de frescor. Métodos sensoriais são importantes ferramentas de estudo, podendo avaliar a qualidade do peixe da mesma forma que o consumidor poderia (NIELSEN et al., 1992).

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo favorecem a utilização da eletronarcose como ferramenta de abate da tilápia do Nilo. O método garante um produto de boa qualidade para o mercado e com isto maior vida de prateleira, que, pode ser aplicado para pescado proveniente da aquicultura, garantindo um nível de qualidade adequado para o consumo humano.

## 5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa e pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor.

## 6. REFERÊNCIAS

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**, Vol. 35, Número Especial., out., 2004: 264 – 271

ANTOINE, E. R., WEI, C. I., OTWELL, W. S., SIMS, C. A., LITTELL, R. C., HOGLE, A. D., et al. TVB-N correlation with odor evaluation and aerobic plate count in mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*). **Journal of Food Science**, 67(9), 3210–3214. 2002.

BAHUAUD, D., MØRKØRE, T., ØSTBYE, T.-K., VEISETH-KENT, E., THOMASSEN, M.S., OFSTAD, R., VEISETH-KENT, E., THOMASSEN, M.S., OFSTAD, R. Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) pre- and post-rigor fillets exposed to short and long-term crowding stress. **Food Chem.** 118, 602–615, 2010.

BERAQUET, N.J.; LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas “post mortem” em pescado. São Paulo: **Boletim ITAL.**, 1985.v.22, p. 169-192.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria 185, 1997. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 13 maio. 2012.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP. 409p. , 1994.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. Santiago de Chile: Centro de estudios em ciência y tecnologia de alimentos, 309 p, 2002.

EINEN, O., GUERIN, T., FJAERA, S.O., SKJERVOLD, P.O., 2002. Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. **Aquaculture** 212, 129–140

HUSS, H.H. 2003. Assessment and management of sea food safety and quality. **Food Agriculture Organization (FAO). Fisheries Technical Paper 444**.Rome:FAO.

KIESSLING, A., ESPE, M., RUOHONEN, K., MORKORE, T.. Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO<sub>2</sub> anaesthesia. **Aquaculture**, v. 236, p.645–657. 2004.

LAKSHMANAN, P.T.; ANTONY, P.D.; GOPAKUMAR, K. Nucleotide degradation and quality changes in mullet (*Lisa corsula*) and pearsport (*Etroplus suratensis*) in ice and at ambient temperatures. **Food Control**, v. 6, p. 277-283, 1996.

LAMBOOIJ, E., VAN DER VIS, J.W., KLOOSTERBOER, R.J., PIETERSE, C., Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla Anguilla* L.): neurological and behavioural assessment. **Aquaculture**, v. 210, p.159-169, 2002.

LAMBOOIJ, E., KLOOSTERBOER, R.J, GERRITZEN M.A., VAN DE VIS, J.W., Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility. **Aquaculture**, v. 254, p. 388–395, 2006.

LAPA-GUIMARÃES, J. **Aminas biogênicas, aminas voláteis, triptofano livre e uréia como índices químicos de qualidade e frescor do pescado**. 125 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2005.

LESSI, E., BATISTA, G.M., KODAIRA, M., FALCÃO, P.T., Alterações bioquímicas *post-mortem* de matrinxã *brycon cephalus* (günther, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24(4), p. 573-581, 2004.

LINES, J., KESTIN, S., Electric stunning of trout: power reduction using a two-stage stun. **Aquacultural Engineering**, v. 32, p. 483–491, 2005.

MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R. Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt. 2004. cap. 14, p. 405-480.

MELO FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, Atheneu, 1996. 182 p.

MORZEL, M., CHAMBON, C., LEFEVRE, F., PABOEUF, G., LAVILLE, E., Modifications of trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle proteins by pre-slaughter activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** v. 54, p. 2997–3001, 2006.

NETTO, F. M. **Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido da tilápia estocada em gelo...** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) -Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1984. f 79.

NIELSEN, J. Sensory analysis of fish. Proceedings of the Final Meeting of the Concerted Action “Evaluation of Fish Freshness”, Nantes (France), November 12– 14. **International Institute of Refrigeration**, Paris, France, pp. 279–286. 1997.

PIMENTEL, L.P.S.; PANETTA, J.C. Condições Higiênicas do gelo utilizado na conservação do pescado comercializado em supermercados da grande São Paulo - Parte 1- Resultados Microbiológicos **Revista Higiene Alimentar** v.17, n.106, p.56-63, 2003.

POLI, B. M.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; ZAMPACAVALLLO, G. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. **Aquaculture International**, v.13, p. 29–49, 2005.

RIBAS, L., FLOS, R., REIG, L., MACKENZIE, S., BARTON, B.A., TORT, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, p. 250–258. 2007

ROBB, D., O'CALLAGHAN, M., LINES, J. & KESTIN, S. C. Electrical stunning of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): factors that affect stun duration. **Aquaculture**, v. 205, p. 359–371. 2002.

ROBB, D.H.F., KESTIN, S.C., WARRISS, P.D., Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 182, p. 261–269. 2000.

ROTH, B. *et al.* Slaughter quality and rigor contraction in farmed turbot (*Scophthalmus maximus*); a comparison between different stunning methods. **Aquaculture, Amsterdam**, v. 272, p. 754-761, 2007.

ROTH, B., MOELLER, D., SLINDE, E. Ability of electric field strength, frequency, and current duration to stun farmed Atlantic salmon and pollock and relations to observed injuries using sinusoidal and square wave alternating current. **N. Am. J. Aquac.** 66, 208–216. 2004.

ROTH, B., SLINDE, E., ARILDSEN, J., Pre or post mortem muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. **Aquaculture**, v. 257, p. 504–510, 2006.

RÚÍZ-CAPILLAS, C., MORAL, A.; Correlation between chemical and sensory quality indices in hake stored in ice. **Food Research International**, v. 34, 441 – 447, 2001.

SANTOS, J. M. S.; **Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da qualidade física, química e microbiológica**; Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto para obtenção do grau de Mestre em Controlo de Qualidade na área Científica Água e Alimentos. p.170, 2008.

SATO, K., OHASHI, C., OHTUKI, K., & KAWABATA, M. (1991). Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 39, 1222–1225.

SAVAY DA SILVA, L. K; RIGGO, R.; MARTINS, P.E.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Otimização e padronização do uso de metodologia para a determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarão *Xyphopenaeus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, VII BMCFB. Preprint Series, n.20, p. 138-144, dez 2008.

SIGHOLT, T., ERIKSON, U., RUSTAD, T., JOHANSEN, T.S.. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farm-raised Atlantic salmon. **Journal of Food Science**, v. 62, n.4, p. 898–906, 1997.

Sikorski, Z. E., & Kolakowska, A. Changes in proteins in frozen stored fish. In Z. E. Sikorski, B. Sun Pan, & F. Shahidi (Eds.), **Seafood proteins** (pp. 99–112). London, UK: Chapman & Hall. 1994.

SKJERVOLD P.O., RORA A.M.B., FJÆRA S.O., VEGUSDAL A, VORRE A, EINEN O., Effects of pre-, in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. **Aquaculture** 194:315–26. 2001.

SKJERVOLD, P.O., FJAERA, S.O., OSTBY, P.B., ISAKSSON, T., EINEN, O., TAYLOR, R.. Properties of salmon flesh from different locations on pre- and post-rigor fillets. **Aquaculture** 201:91–106. 2001.

SOCOL, M. C. H. Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração. 2002. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

SOCOL, M.C.H.; OETTERER, M.; GALLO, C.R.; SPOTO, M.H.F.; BIATO, D.O. Efeitos da atmosfera modificada e do vácuo sobre a vida útil de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 1, p. 7-15, 2005.

SIQUEIRA, A.A.Z.C. Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*). 2001. 137f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

TOMÉ, E., IGLESIAS, M., KODAIRA, M., & GONZALEZ, A. (2000). Effects of storage temperature on the onset of rigor mortis and stability of cultured tilapia (*Oreochromis*) spp. **Revista Científica-Facultad de Ciências Veterinárias**, 10(4), 339–345.

KNOWLES, T.G, BROWN, S.N., WARRISS, P.D., LINES, J., TINARWO, A., SENDON, M.; Effect of electrical stunning at slaughter on the quality of farmed turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture Research**, v. 39, p. 1731-1738, 2008.

LAMBOOIJ, E., VAN DER VIS, J.W., KOOSTERBOER, R.J., PIETERSE, C., Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla Anguilla L.*): neurological and behavioural assessment. **Aquaculture**, 2002.

LAMBOOIJ, E., KLOOSTERBOER, R.J, GERRITZEN M.A., VAN DE VIS, J.W., Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepiens*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility. **Aquaculture**, v. 254, 2006.

### Capítulo III

## **ESTABILIDADE DE FILÉS CONGELADOS DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) SUBMETIDOS A DIFERENTES MÉTODOS DE ABATE**

### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos métodos de abate por choque elétrico (ChE), mistura de gases (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), sobre a qualidade do filé congelado da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Foram utilizados 45 exemplares de tilápia para cada tratamento, totalizando 90 filés com peso médio 149±9 g. Amostragens ocorreram 24h após o abate e a cada 30 dias durante 6 meses. Como indicadores físico-químicos de qualidade foram avaliados as BNV, TBA e DSC, além de medidas físicas como textura, cor, perda de água por cozimento (*cooking loss*) e descongelamento (*drip loss*) e capacidade de retenção de água (CRA). Os filés apresentaram aumento nos teores de BNV até o 90º dia seguido de oscilações até o 180º dia, não alcançando o limite de 30 mg de BNV/100 g. O pH apresentou diferenças entre os tratamentos e na relação tempo tratamento com maior variação no abate por AG (6,10 a 7,37). Os valores de TBARS foram crescentes ao longo do tempo, e os maiores valores foram obtidos no abate por ChE, apresentando em todos os tratamentos valores inferiores a 1 mg kg. Para a DSC, o método de abate influenciou significativamente ( $p < 0,01$ ) entre os tratamentos apenas para as temperaturas de desnaturação da actina, onde os maiores valores (75,08 e 75,31°C) foram encontrados no abate por AG nos 30º e 120º dias de armazenamento, respectivamente. Os filés do abate por ChE foram significativamente diferentes nos escores da cor  $a^*$ , em todos os tempos e na cor  $L^*$  do 1º ao 60º dia de estocagem. Foi observado redução significativa ( $p < 0,05$ ) na textura com o armazenamento, a partir de um valor inicial de 7790,3; 7864,0 e 7531,0 Kgf e 3275,2; 3251,9 e 3071,9 no final do armazenamento para os tratamentos por ChE, CO<sub>2</sub>N E AG, respectivamente. Nos valores de *drip*, *cooking loss* e CRA, observou-se que, quando a perda de água foi maior a CRA foi menor, especialmente no abate por AG. As metodologias de abate utilizadas neste estudo mostraram-se eficientes para o abate da tilápia em relação à qualidade do filé congelado, conferindo ao mesmo, após 180 dias de estocagem qualidade para consumo. Diante do efeito dos tratamentos na coloração e textura dos filés da tilápia, que normalmente apresentam uma carne de cor branca, é possível escolher qual metodologia melhor atenderá ao interesse da indústria e do consumidor, levando em consideração o abate humanitário.

Palavras-chaves: qualidade, vida de prateleira, conservação, oxidação lipídica.

# STABILITY OF FROZEN FILLETS TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) SUBMITTED TO DIFFERENT METHODS OF SLAUGHTER

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of slaughter methods from electrical shock (ChE) gas mixture (CO<sub>2</sub>N) and hypothermia (AG), the quality of frozen fillet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). We used 45 specimens of tilapia for each treatment, totaling 90 steaks weighing on average 149 ± 9 g. Sampling occurred 24h after slaughter and every 30 days for six months. How physico-chemical indicators of quality were assessed the N-BVT, TBA and DSC, and physical measures such as texture, color, drip loss, cooking loss and water holding capacity (WHC). The steaks had an increase in the sectors of N-VBT until day 90 followed by oscillations until the 180th not reaching the limit of 30 mg N-BVT/100 g. The pH showed differences between treatments and the treatment time compared with greater variation in slaughter by AG (6.10 to 7.37). TBARS values were increased over time, and the highest values were obtained at slaughter by ChE, showing in all treatments values below 1 mg kg<sup>-1</sup>. For DSC, the method of killing effect between treatments only for temperatures of desnaturation of actin, where the highest values (75.08 and 75.31 ° C) were found in slaughtered by AG the 30th 120th days of storage, respectively. The files slaughter by ChE scores were significantly different in color a\*, at all times and in color L \* the 1st to the 60th day of storage. We observed a significant (p<0.05) in the texture during storage, from an initial value of 7790.3, 7864.0 and 7531.0 and 3275.2 kgf; 3251.9 and 3071.9 in end of storage for treatments for electronarcosis (ChE), gas mixture (CO<sub>2</sub>N) and hypothermia (AG), respectively. The values of drip, cooking loss and CRA, where it was observed that water loss was greater CRA was lower, especially for the slaughter AG. The methods of slaughter used in this study were effective for the slaughter of tilapia in relation to the quality of frozen fillet, giving even after 180 days of storage quality for consumption. From a humanitarian perspective, we observed the feasibility of using electric shock as an effective method of killing, by causing rapid death and safely without causing undue suffering to the animal. The slaughter electronarcosis, gas mixture and hypothermia are effective when applied to Nile tilapia. Given the effect of treatments on the color and texture of the fillets of tilapia, which usually feature a white meat, you can choose which methodology best serve the interest of the industry and the consumer, considering the humane slaughter

Keywords: quality, shelf life, storage, lipid oxidation

## 1. INTRODUÇÃO

Em 2009, a produção nacional de tilápias foi de 132,957 mil toneladas, tendo crescido 16,4% em relação ao ano anterior (MPA, 2011). Parte significativa dessa produção é comercializada diretamente para os consumidores finais, pelos próprios produtores (NOGUEIRA; RODRIGUES, 2007), mas a produção também é destinada aos pesque-pague, e para frigoríficos, com a finalidade de produzir filés ou peixes inteiros eviscerados (SEBRAE, 2008).

Atualmente a filetagem é a principal forma de processamento de pescado no Brasil (BOMBARDELLI et al., 2005), e no caso da tilápia, os filés congelados ou *in natura* são os produtos mais populares (SEBRAE, 2011). Com o crescimento da produção de pescado, aumentam as exigências do mercado consumidor, que englobaram no conceito de qualidade, segurança alimentar, sabor e alguns aspectos que envolvem a produção, tais como, sustentabilidade, impacto ambiental e o bem estar animal (VAN DE VIS et al., 2003).

As técnicas de abate de peixes têm sido alvo de inúmeros estudos, com vários objetivos, entre os quais os de promover o controle de qualidade, a eficiência e a segurança dos procedimentos (CONTE, 2004). As técnicas de abate de peixes são diversas, e as espécies apresentam variação nas respostas aos diferentes métodos (ASHLEY, 2007), sendo assim, a escolha apropriada do método de abate é um passo importante para assegurar a qualidade do pescado (SCHERER et al., 2005).

Para peixes, o bem-estar animal começou a ser discutido recentemente (LAMBOOIJ et al., 2002), entretanto na indústria de abate de aves e mamíferos já se tem utilizado o bem-estar animal como forma de melhorar o produto final (LAMBOOIJ et al., 2006). Além de fatores como o abate, as próprias características químicas e estruturais da carne de pescado provocam aceleradas alterações, que proporcionam deterioração do pescado (MELO FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Entre os indicadores bioquímicos, alguns estão mais relacionados à deterioração da carne, tais como as concentrações de aminas, amônia, trimetilamina, dimetilamina, e compostos de peroxidação lipídica. A manipulação

inadequada do pescado no pré-abate pode levar a carne a uma deterioração mais rápida (SIGHOLT et al., 1997), pois a captura e o método de insensibilização ou abate podem ter uma grande influência sobre a degradação muscular pós-morte, causando mudanças no início e resolução do *rigor mortis* (TORNBERG et al., 2000).

Indicadores físicos como avaliação da perda de água por cozimento (*cooking loss*), por descongelamento (*drip loss*) e capacidade de retenção de água (CRA), são comumente utilizados para avaliação de qualidade de filés congelados. Durante a cocção, ocorrem perdas de líquido (*drip*) que contêm vitaminas e minerais, o que resulta em uma perda no valor nutritivo e de qualidade sensorial, tornando os produtos secos e rígidos (GONÇALVES, 2004). O *drip loss* é inicialmente interpretado como um resultado de dano celular, e este ainda é válido na medida em que os exsudatos resultantes de congelamento e descongelamento estão em produção. A posterior liberação de água é interpretada como um sinal de desidratação das proteínas musculares devido a desnaturação proteica. O valor nutritivo do músculo diminuiu porque as proteínas e minerais são perdidas pelo descongelamento (SUTTON, 1969).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de três métodos de abate sobre a qualidade do filé da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) filetado em pré-rigor e mantidos sob congelamento a  $-18^{\circ}\text{C}$ , utilizando como indicadores de qualidade os valores de bases nitrogenadas voláteis, oxidação lipídica e desnaturação proteica, além de medidas físicas como textura, cor, perda de água por cozimento e descongelamento entre outros.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Peixe e métodos de abate**

Foram utilizados 135 exemplares de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com peso médio de  $545,0 \pm 105,0$  g, adquiridos em uma piscicultura comercial situada na região de Pirassununga, SP. Os animais foram transportados vivos até o Laboratório de Aquicultura, da Universidade de São Paulo – USP, estocados em viveiros de alvenaria com capacidade de 5000L de água com renovação contínua e mantidos em jejum por 48h, até o momento do abate.

Três métodos de abate foram aplicados, utilizando 45 peixes para cada tratamento: a) *Eletronarcese (ChE)*: os peixes foram colocados em uma caixa plástica com capacidade total de 120L, preenchida com 80L de água da rede pública de abastecimento. Para ajuste da condutividade elétrica pré-estabelecida em 700 $\mu$ S, foi adicionada salmoura supersaturada de cloreto de sódio atingindo uma salinidade de 0,03%. Foi aplicada uma corrente elétrica de 154 V e 8,0 A, durante 120 segundos, tempo este suficiente para promover a morte dos animais. b) *Mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N)*: utilizado caixa plástica com capacidade de 120L, preenchida com 80L de água em temperatura ambiente, na qual foi adicionada uma mistura de gases composta por 70% de CO<sub>2</sub> (gás carbônico) e 30% de N (nitrogênio) através de um difusor e pedra porosa. Os peixes permaneceram na caixa até a morte de todos os exemplares. c) *Hipotermia (AG)*: uma mistura de água e gelo na proporção de 2:1 foi adicionados em uma caixa plástica com capacidade de 120L, e volume da mistura de 80L onde foram colocados os peixes e mantidos até a morte. Depois de constatada a morte, todos os peixes de cada tratamento foram pesados, utilizando balança digital, filetados e congelados em congelador de placas a - 40°C, embalados individualmente em sacos plásticos, identificados e estocados a -18°C durante seis meses. Os filés apresentaram peso médio de 149 $\pm$ 9 g.

## **2.2. Amostragem**

As amostragens foram realizadas 24 horas após o congelamento e nos intervalos de 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de estocagem. Para cada tratamento e tempo foram utilizados aleatoriamente 12 filés congelados, totalizando 84 filés de cada tratamento, nove desses foram submetidos ao descongelamento à temperatura de 10°C e três mantidos congelados até o momento da análise.

### **2.2. Análises físico-químicas**

#### **2.2.1. Potencial hidrogeniônico (pH), Bases Nitrogenadas Volateis (BNV) e Substancias Reativas ao Ácido Tionarbitúrico (TBARS)**

O pH dos filés foi determinado em triplicata utilizando-se três filés de cada tratamento, triturado e homogeneizadas em um processador de alimentos (Walita Master), com o emprego de um peagâmetro com eletrodo de imersão (VDSF, Umwelttechnik) em uma mistura de 10 g de amostra com 40 ml de água

destilada. A concentração de bases nitrogenadas voláteis (BNV) foi determinada em triplicata para cada tratamento, de acordo com a metodologia de Howgat, (1976). A análise de oxidação lipídica foi determinada pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em triplicata, em três filés de cada tratamento, lidos em espectrofotômetro (600, Femto) em comprimento de onda de 538 nm. Para o cálculo dos valores de TBARS obteve-se uma reta da curva padrão ( $y = 48,946x + 0,0028$ ) com tetrametoxipropano, e os resultados foram expressos em mg malonaldeído / kg amostra, de acordo com Vyncke (1970).

### **2.2.2. Desnaturação proteica - DSC**

As análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC) foram realizadas em um calorímetro diferencial de varredura modelo DSC-TA2010, com controlador TA5000 (TA Instruments), operando com fluxo de 45 mL/min de N<sub>2</sub>, taxa de aquecimento de 10°C/min, entre 0 e 100°C (FURUKAWA et al., 2004). A amostra foi retirada da porção muscular dorsal de três filés de tilápia de cada tratamento.

### **2.2.3. Cor e textura instrumental**

Para avaliação da cor, foi utilizado um colorímetro portátil (Miniscan XE, Hunterlab), previamente calibrado com padrão branco e preto, operando com fonte de luz D65, abertura de célula de 30 mm e ângulo de observação de 10°. Os valores para a cor foram expressas utilizando os padrões de cor do sistema CIE L\* a\* e b\* – “Comission Internationale de L’Eclairage”, onde: L\* (luminosidade), a\* (intensidade da cor vermelho-verde) e b\* (intensidade da cor amarelo-azul).

A análise de textura instrumental foi realizada na porção superior dorsal em três diferentes pontos, dos três filés de tilápia de cada tratamento, utilizando um texturômetro (TA-XT2i, Stable Micro Systems), previamente calibrado com peso padrão de 5 kg, com probe de alumínio (SMS P/20) com velocidade do pré-teste, teste e pós-teste de 2,0 mm/s e altura da plataforma de 20 mm. Foi analisada a força de compressão (g) na porção de 40% da altura do filé.

#### **2.2.4. Perda de água por cozimento (*cooking loss*) e descongelamento (*drip loss*) e capacidade de retenção de água**

Para determinação da perda de água no cozimento (*cooking loss*), foi utilizada a metodologia de CASON et al. (1997) modificada. Três filés de tilápia de cada tratamento descongelados previamente sob refrigeração durante 24h, foram pesados individualmente e acondicionados em sacos de polietileno (ziploc), fechados e submetidos à cocção por cinco minutos em banho-maria com temperatura de 90°C, seguido de resfriamento, ainda na embalagem, em água gelada, secos em papel absorvente e pesados. A diferença entre o peso inicial e o final do filé corresponde à perda de água pelo cozimento.

A determinação da perda de água pelo descongelamento (*drip loss*) foi definida pela diferença gravimétrica entre o filé congelado e o filé descongelado, mantidos em refrigerador por 48h a 7°C, sobreposto em funis de vidro acondicionados a coletores e protegidos por filme plástico.

A capacidade de retenção de água foi realizada conforme descrito por SOUZA (2006) modificada, onde os filés foram descongelados, triturados e homogeneizados, retirada uma amostra de 5g, envolvida entre dois papéis de filtro circular de 5,5 cm de diâmetro, espessura de 200 µm e gramatura de 80 g/m<sup>2</sup>. O cartucho com a amostra foi submetido à centrifugação a 3500 rpm por 10 minutos. A pressão por centrifugação exercida sobre a amostra foi uniforme em toda sua área. Posteriormente a amostra e os papéis foram pesados e os resultados expressos em porcentagem.

#### **2.3.5. Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três tratamentos, sete tempos e três repetições (3x7x3). Para atender as pressuposições de análise, a normalidade foi determinada pelo teste de Shapiro-Wilk e D'Agostino-Pearson, e homocedasticidade das variâncias pelo teste de Cochran. Foi realizada análise de Variância (ANOVA) fatorial dois efeitos, ou seja, tratamento x tempo, com  $p < 0,05$ . Nos casos em que houveram diferenças significativas foram aplicados o teste de Tukey e o método não paramétrico de Friedman, a um nível de significância de 5%.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Análises físico-químicas

##### 3.1.1. BNV, pH e TBARS

Os valores de BNV dos filés de tilápia, durante o período de estocagem a -18°C, foram crescentes até os 90 dias (**TABELA 1**), seguidos de oscilações decrescentes no período compreendido entre 90 e 180 dias de estocagem, não alcançando o limite de 30 mg de BNV/100 g. Não houve diferenças significativas entre os tratamentos, embora tenham ocorrido diferenças na interação tratamento x tempo de estocagem para a análise de BNV. Os maiores valores foram alcançados no tempo de 150 dias de congelamento para ChE=17,17; CO<sub>2</sub>N=17,27 e AG=16,55 mg/100g.

Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em relação às características físicas e químicas do pescado fresco, resfriado ou congelado, os valores de BNV, devem ser inferiores a 30 mg N/100 g (BRASIL, 1997). Neste estudo, estes valores estiveram de acordo com os estipulados pela legislação vigente e foram similares aos encontrados por KUBITZA (2000) e SILVA et al., (2006) para a tilápia do Nilo.

**TABELA 1.** Valores médios e desvio padrão das análises de pH e BNV dos filés de tilápia congelados, submetidos a três métodos de abate.

Tempo (dias)	BNV (mg N/100g)			pH		
	ChE <sup>ns</sup>	CO <sub>2</sub> N <sup>ns</sup>	AG <sup>ns</sup>	ChE <sup>AB</sup>	CO <sub>2</sub> N <sup>B</sup>	AG <sup>A</sup>
1	13,46±0,34 <sup>ab</sup>	13,70±0,73 <sup>bc</sup>	12,43±0,82 <sup>a</sup>	6,43±0,09 <sup>abc</sup>	6,31±0,06 <sup>a</sup>	6,30±0,07 <sup>b</sup>
30	15,86±0,34 <sup>bc</sup>	15,53±0,68 <sup>cd</sup>	13,85±0,56 <sup>ab</sup>	6,44±0,04 <sup>bc</sup>	6,55±0,09 <sup>b</sup>	6,43±0,04 <sup>bc</sup>
60	11,71±1,23 <sup>a</sup>	12,06±0,32 <sup>ab</sup>	11,83±0,15 <sup>a</sup>	6,36±0,04 <sup>ab</sup>	6,35±0,02 <sup>a</sup>	7,37±0,04 <sup>b</sup>
90	15,44±1,48 <sup>bc</sup>	14,91±0,39 <sup>cd</sup>	15,95±1,10 <sup>bc</sup>	6,26±0,03 <sup>a</sup>	6,20±0,01 <sup>a</sup>	6,10±0,01 <sup>a</sup>
120	14,43±0,21 <sup>b</sup>	13,77±0,18 <sup>ab</sup>	13,68±0,11 <sup>ab</sup>	6,51±0,05 <sup>bcd</sup>	6,54±0,09 <sup>b</sup>	6,36±0,03 <sup>b</sup>
150	17,17±1,57 <sup>c</sup>	17,27±0,25 <sup>d</sup>	16,55±0,29 <sup>c</sup>	6,54±0,07 <sup>cd</sup>	6,70±0,05 <sup>bc</sup>	6,57±0,07 <sup>cd</sup>
180	11,57±1,41 <sup>a</sup>	10,34±1,51 <sup>a</sup>	12,90±2,21 <sup>a</sup>	6,67±0,03 <sup>d</sup>	6,81±0,07 <sup>c</sup>	6,72±0,04 <sup>d</sup>

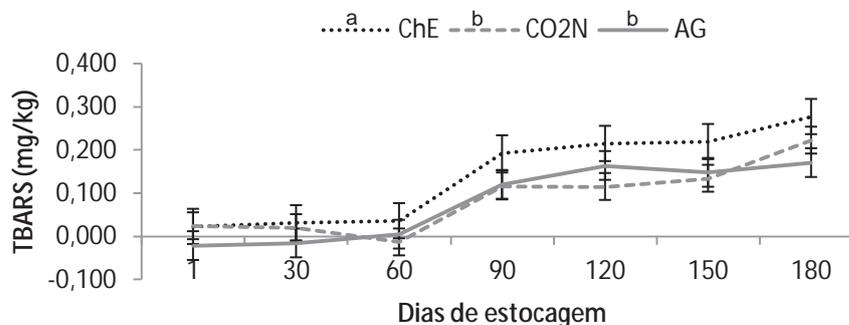
Letras maiúsculas significam diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre os tempos em um mesmo tratamento. <sup>ns</sup> Não apresentou diferença significativa entre os tratamentos.

Sikorski et al., (1994) descrevem a análise de BNVT como indicadora de possíveis alterações, uma vez que dentro dessa denominação genérica, encontram-se diferentes substâncias como amônia, trimetilamina, entre outras. Embora a utilização deste parâmetro para peixes de água doce seja questionada,

segundo Beraquet & Lindo, (1985) os peixes de água doce geralmente apresentam baixos valores de BVT. As alterações que ocorrem durante a decomposição são conhecidas por serem muito complexas, um único índice químico pode não ser um indicador de confiança para uma determinada amostra de peixe (CASTILLO-YÁÑEZ et al., 2007).

Houve diferenças significativas na análise de pH em todos os tratamentos, e na interação tempo X tratamento. A maior variação de pH ocorreu no abate por AG (6,10 a 7,37) (**TABELA 1**). O pH do filé de peixe fresco é quase neutro. No post-mortem o período de decomposição de compostos nitrogenados conduz ao aumento do pH no filé (KILINCCEKER et al., 2009). Oehlenschläger & Söresen (1997) afirmam que o pH do pescado fresco varia de 6,6 a 6,8, e à medida que o peixe se deteriora, os valores de pH aumentam e podem atingir 7,2. Soares et al. (2008), encontraram valores de pH em filés de castanha (7, 49) pescada (7, 38), cação (6, 71), pescadinha (6,67) e merluza (6, 69) congelados. Neste estudo, apenas o abate por AG no 60º dia encontrou valor de pH superior a 7,0. Cartonilho & Jesus (2011) encontraram valores crescentes de pH no decorrer dos 180 dias em cortes de tambaqui congelado.

Os valores de TBARS foram crescentes ao longo do tempo de armazenamento, e os maiores valores foram obtidos no abate por ChE. Houve diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Friedman (**FIGURA 1**), nos teores de TBA, para o abate por ChE, mostrando que a partir do 30º dia ocorreu aumento nos valores de TBA, não ocorrendo interação com o período de estocagem. Kilincceker et al. (2009), avaliaram filés de truta e encontraram valores de TBA de até 4,33 mg/kg no 7º mês de estocagem a -18°C.



**FIGURA 1.** Valores médios de TBARS (mg de malonaldeído/kg de amostra) em filés de tilápia do Nilo congelados e estocados a -18°C submetidos a três métodos de abate.

Os resultados das análises de TBARS corroboram com a afirmação de Sant'ana & Mancini-Filho (2000) de que somente o abaixamento da temperatura não é suficiente para impedir o processo de desenvolvimento da oxidação lipídica, que ocorre mesmo durante a estocagem de alimentos congelados, pois o armazenamento congelado não paralisa as reações oxidativas.

Segundo Al Kahtani et al., (1996) e Weber (2007) os filés avaliados poderiam ser considerados adequados para o consumo por mais de 18 meses após o congelamento. No presente trabalho, os valores de TBARS para os peixes abatidos por ChE, CO<sub>2</sub>N e AG estavam abaixo de 1 mg kg<sup>-1</sup>, índice inferior ao máximo aceitável que é de 3mg kg<sup>-1</sup> de malonaldeído, o que indica que os filés de tilápia estavam em bom estado de conservação, sem odor característicos de ranço, até os 180 dias de estocagem congelado. Segundo Schormuller, (1969) os limites de malonaldeído no pescado aptos para consumo estão entre 7-8 mg / kg. A estocagem sob congelamento não interrompe completamente todas as possíveis alterações na qualidade, as reações que induzem as alterações oxidativas continuam a ocorrer mesmo em baixas temperaturas (NEIVA, 2003).

### **3.1.2. Desnaturação proteica - DSC**

O método de abate influenciou significativamente ( $p < 0,05$ ) os tratamentos apenas para as temperaturas de desnaturação da actina, onde os maiores valores (75,08 e 75,31°C) foram encontrados no abate por AG nos 30º e 120º dias de armazenamento, respectivamente. As temperaturas de desnaturação da miosina apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na interação tempo x tratamento, mostrando uma diminuição bastante expressiva principalmente no tratamento por CO<sub>2</sub>N (**TABELA 2**). Chan et al., (1992) encontraram valores próximos para a miosina da carne de arenque, *Clupea harengus*, (53°C).

**TABELA 2.** Temperaturas (°C) e entalpia de desnaturação (Hd) (j/g) proteica dos filés de tilápia do Nilo abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG).

Tempo (Dias)	ChE			CO <sub>2</sub> N			AG		
	Miosina(°C)*	Actina(°C) <sup>AB</sup>	Hd (j/g)*	Miosina(°C)*	Actina(°C) <sup>A</sup>	Hd (j/g)*	Miosina(°C)	Actina(°C) <sup>B</sup>	Hd (j/g)*
1	53,76±0,33 <sup>c</sup>	74,71±0,31 <sup>ns</sup>	10,18±0,45	54,09±0,24 <sup>d</sup>	74,38±0,31 <sup>ns</sup>	9,86±0,32	53,89±0,60 <sup>c</sup>	74,96±0,74 <sup>ns</sup>	10,94±2,36
30	53,31±0,17 <sup>bc</sup>	74,82±0,58 <sup>ns</sup>	11,73±0,96	53,16±0,35 <sup>bc</sup>	73,79±1,00 <sup>ns</sup>	10,35±2,09	53,46±0,16 <sup>bc</sup>	75,08±0,49 <sup>ns</sup>	11,40±0,66
60	53,04±0,26 <sup>abc</sup>	74,05±0,22 <sup>ns</sup>	10,66±0,72	53,69±0,32 <sup>cd</sup>	73,88±0,23 <sup>ns</sup>	10,27±1,62	53,20±0,63 <sup>abc</sup>	74,52±0,18 <sup>ns</sup>	11,20±0,43
90	52,17±0,45 <sup>a</sup>	73,98±0,46 <sup>ns</sup>	10,55±0,94	52,12±0,51 <sup>a</sup>	73,81±0,27 <sup>ns</sup>	9,89±0,62	52,66±0,23 <sup>ab</sup>	74,02±0,37 <sup>ns</sup>	10,04±1,41
120	52,54±0,24 <sup>ab</sup>	73,97±0,43 <sup>ns</sup>	10,31±0,57	53,02±0,21 <sup>abc</sup>	74,34±0,41 <sup>ns</sup>	10,42±0,93	52,65±0,32 <sup>ab</sup>	75,31±0,71 <sup>ns</sup>	12,21±1,15
150	53,09±0,30 <sup>bc</sup>	74,63±0,55 <sup>ns</sup>	11,91±1,14	53,17±0,31 <sup>bc</sup>	73,96±1,40 <sup>ns</sup>	11,39±1,13	52,51±0,12 <sup>a</sup>	74,54±0,20 <sup>ns</sup>	11,77±0,82
180	52,16±0,17 <sup>a</sup>	74,35±0,23 <sup>ns</sup>	11,16±1,11	52,56±0,15 <sup>ab</sup>	74,21±0,48 <sup>ns</sup>	11,83±0,50	52,82±0,61 <sup>ab</sup>	74,48±0,24 <sup>ns</sup>	11,68±0,71

Letras maiúsculas significam diferença estatística pelo teste de Tukey (p<0,05) entre os tratamentos. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre os tempos em um mesmo tratamento. \* Não apresentou diferença. <sup>ns</sup> não diferiu significativamente apenas entre os tempos.

As proteínas do músculo do peixe sofrem alterações bioquímicas e físicas durante o armazenamento congelado que pode resultar na perda de qualidade, refletindo principalmente na textura sabor, odor e cor (SOTELO et al., 1995). O primeiro pico de desnaturação corresponde a miosina, o segundo corresponde a proteína sarcoplasmática ou do estroma (colágeno) e o terceiro corresponde a actina, tendo geralmente como temperatura de transição entre elas de 30 a 80°C (HERRERA et al., 2001; JENSEN et al., 2003).

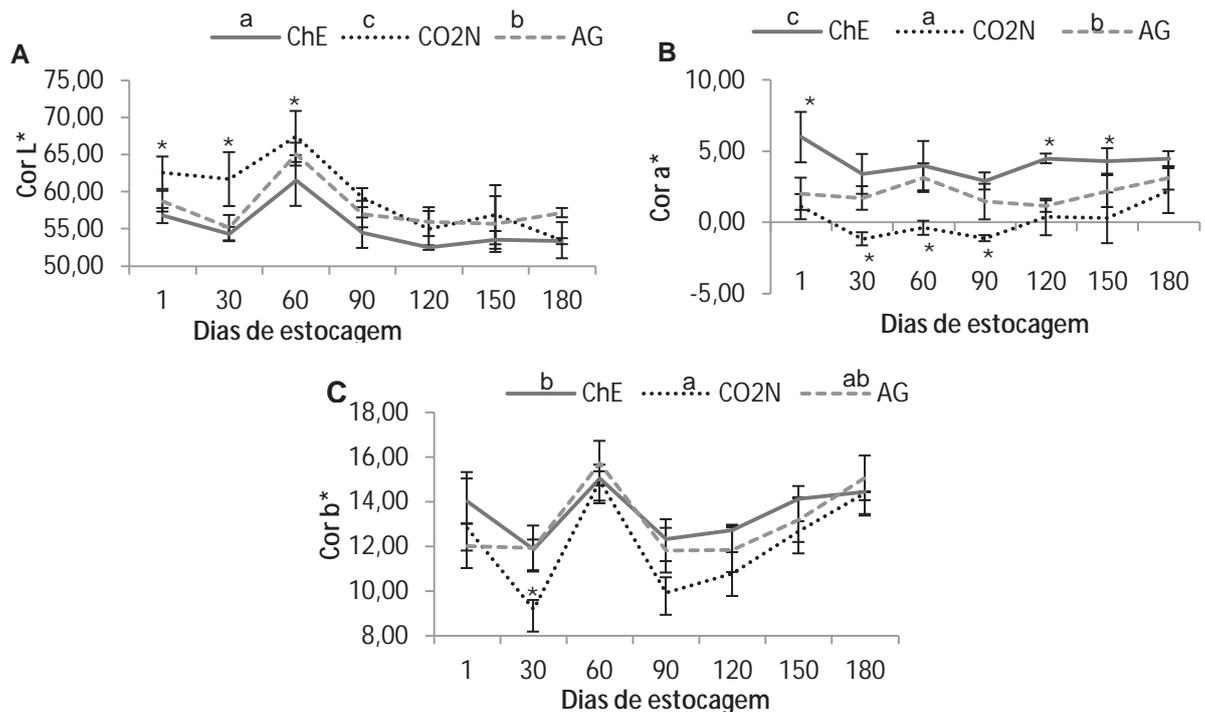
Park e Lanier (1989) em estudo com tilápia (*Oreochromis aureus*) observaram valores mais altos de desnaturação da miosina (58,3°C) e da actina (78,6°C) Em estudo com o músculo de tilápia do Nilo, Monterrey-Quintero e Sobral (2000) encontraram valores de desnaturação da miosina (54,4°C) e da actina (75,9°C) semelhantes aos encontrados neste estudo. Paredi et al., (1994) encontraram temperaturas de desnaturação das proteínas sarcoplasmáticas em um molusco tropical., *Aulacomya ater*, de 36, 43, 53 e 67°C, ou seja, de acordo com o encontrado no presente estudo. A entalpia de desnaturação (Hd) proteica dos filés não apresentou diferença significativa (p<0,05). O abate por AG apresentou o maior valor Hd=12, 21 no 120º dia de armazenamento a -18°C.

### 3.1.3. Cor instrumental

Os filés de tilápias submetidos a diferentes métodos de abate e armazenados a -18°C apresentaram diferença significativa (p<0,05) na intensidade da cor representada por a\* e b\* e na luminosidade representada por L\*. Os padrões de luminosidade para o abate por ChE mantiveram-se superiores

aos demais tratamentos até o 90º dia de armazenamento. Observou-se que a partir do 90º dia houve uma queda nos escores de L\*, evidenciando um efeito negativo do tempo de armazenamento congelado a -18°C (**FIGURA 2**). Skjervold et al., (2000). mostraram que a cor pode mudar devido a filetagem ter sido realizada em pré-rigor demonstrando uma mudança na luminosidade.

Durante o processo de filetagem, verificou-se uma tendência à coloração vermelha dos filés abatidos ChE, observação confirmada pelos escores na intensidade da cor a\*, os quais se mantiveram acima dos valores dos demais tratamentos. Para outras espécies de peixes tem sido relatado que a aplicação de corrente elétrica resultou em uma cor mais escura. Isto foi observado anteriormente no bagre (BOGGESS, HEATON, SHEWFELT et al., 1973) e enguias (MORZEL & VAN DE VIS, 2003).



**FIGURA 2.** Valores médios de L\* (**A**), a\* (**B**) e b\* (**C**) de filés de tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), congelados e estocados por 180 dias.

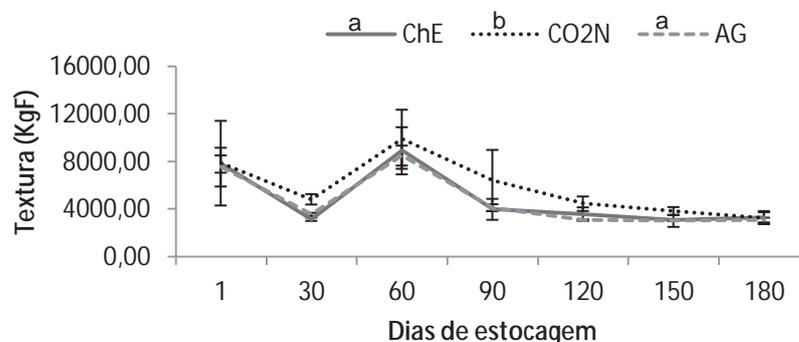
Os escores de a\* para o abate por CO<sub>2</sub>N no período de 30 a 90 dias apresentou valores negativos, resultado que corrobora com as observações feitas durante a filetagem, quando os filés do abate por este método apresentavam uma tendência à cor branca. Einem et al (2002) descrevem que o congelamento modifica a textura do filé, alterando as propriedades de refletancia da luz, afetando a impressão visual da cor no filé, além disso, é provável que a

desnaturação e perda de solubilidade da proteína tornem o músculo mais opaco, reduzindo a pontuação de cor.

A variável  $b^*$  se manteve oscilante durante todo o período de armazenamento, embora tenha havido diferença significativa entre os tratamentos. Os menores escores ocorreram para o abate por  $\text{CO}_2\text{N}$ . Lambooij, et al. (2008) afirmam que para robalos (*Dicentrarchus labrax*) as variações nos padrões de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) são significativamente dependentes do método de atordoamento/abate e do tempo de armazenamento. Neste estudo, os padrões de cor  $L^*$  e  $a^*$ , foram afetados significativamente pelo método de abate.

### 3.1.4. Textura instrumental

Foi observada uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) na textura de acordo com o tempo de armazenamento, com força inicial de 7790,3; 7864,0 e 7531,0 Kgf e 3275,2; 3251,9 e 3071,9 após seis meses para os tratamentos por ChE,  $\text{CO}_2\text{N}$  E AG, respectivamente (**FIGURA 3**). O abate por  $\text{CO}_2\text{N}$  apresentou maior força de compressão até o 150º dia de estocagem. Na literatura, a perda da textura durante o armazenamento dos produtos pesqueiros tem sido relatado por Sato, Ohashi, Ohtuki & Kawabata (1991). Enquanto vários pesquisadores associam a diminuição da textura com o pH muscular baixo e a perda de água por gotejamento elevada (DE VIDO, PAREDI, & CRUPKIN, 2001). Várias publicações indicam que após o rigor mortis, o tecido muscular apresenta perdas em sua firmeza (ANDERSEN, THOMASSEN & RORA, 1997; AZAM & SMITH, 1989; MONTERO & BORDERIAS, 1990), processo essencialmente relacionado com a degradação enzimática de proteínas musculares (PAPA et al., 1997).



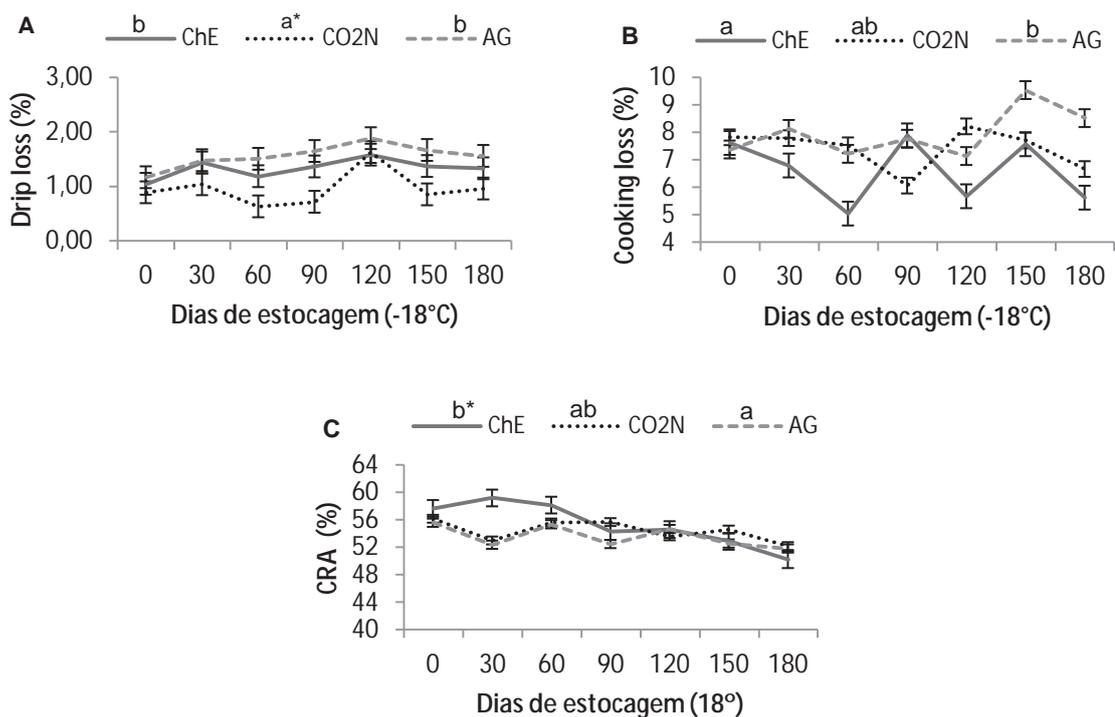
**FIGURA 3.** Valores médios de força de compressão dos filés de tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa ( $\text{CO}_2\text{N}$ ) e hipotermia (AG), congelados e estocados por 180 dias.

Estudos sobre o assunto, principalmente com salmonídeos, tendem a mostrar que os peixes expostos ao estresse e alta manipulação no abate apresentam textura mais suave e curta vida de prateleira (BAHUAUD et al., 2010; LEFÈVRE et al., 2008). A mudança na textura da carne após o armazenamento congelado é explicado pela redução da solubilidade e desnaturação de proteínas musculares (SIKORSKI & KOLAKOWSKA, 1994). O aumento progressivo da dureza em filés de salmão (SIGURGISLADOTTIR et al., 2000) têm sido referidos como sendo devido ao aumento o espaço intersticial., da aglutinação de células, decomposição das proteínas musculares e encolhimento das fibras. Ocaño-Higuera et al., (2011), relatam uma diminuição na força de compressão em filés de raia *Dasyatis brevis* com amostras congeladas a -86°C.

### **3.1.5. Perda de água por cozimento, por descongelamento e capacidade de retenção de água –CRA**

Estas três análises estão diretamente relacionadas com a maciez do filé, pois sabe-se que a textura é afetada pelo teor de umidade. Neste estudo, pode-se observar uma diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos por ChE, CO<sub>2</sub>N e AG e na interação tempo e tratamento para o abate por ChE nos valores de CRA e no abate por CO<sub>2</sub>N para o drip (**FIGURA 4**). O *drip loss* para o abate por AG aumentou até o 120º dia de estocagem, apresentando uma queda a partir deste tempo.

O *drip loss* é inicialmente interpretado como um resultado de dano celular, e este ainda é válido na medida em que os exsudatos resultantes de congelamento e descongelamento estão em produção. A quantidade de água do tecido muscular é de grande importância em vários aspectos, principalmente no que se refere a questão econômica e nutricional do pescado. Com a perda de água o valor nutritivo do músculo diminuiu devido as perdas de proteínas e minerais pelo descongelamento (SUTTON, 1969). O momento da filetagem tem grande influência sobre a perda de água por descongelamento. Sørensen et al., (1997) relatou que o congelamento de filés de peixes brancos filetados em pré rigor apresentaram um aumento na perda de água no descongelamento em relação ao peixe filetado em estado de pós-rigor.



**FIGURA 4.** **A-** Percentual de perda de água no cozimento (*cooking loss*), **B-** perda de água por descongelamento (*drip loss*) e **C-** capacidade de retenção de água (CRA) dos filés de tilápia abatidos por eletronarcose (ChE), mistura gasosa (CO<sub>2</sub>N) e hipotermia (AG), congelados e estocados a -18°C por 180 dias. Letras diferentes significam diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. \* indica diferença entre os tempos dentro de um mesmo tratamento ( $p < 0,05$ ).

Neste estudo observou-se que a capacidade de retenção de água foi afetada a partir do 60º dia, embora, apenas no tratamento por ChE tenha ocorrido diferença significativa entre os tempos. A CRA está diretamente relacionada à maciez dos produtos processados e a diminuição de tamanho e suculência quando há perdas de água no armazenamento e cozimento do produto (CASTRO, 2007). As perdas de água, sejam pela exsudação durante o resfriamento, pela pressão sob os tecidos durante a estocagem ou pela desnaturação das proteínas durante o cozimento, acabam conferindo ao produto características sensoriais indesejadas, como diminuição da suculência e perda de peso (LAKSHMANAN et al. 2007). Já foi demonstrado que há relação entre a CRA e as mudanças teciduais específicas que ocorrem durante o aquecimento da carne de salmão (OFSTAD Et al., 1993). É importante ressaltar que a capacidade de retenção de água e a perda de água no cozimento não são parâmetros objetivos e sim uma tendência, pois não existe um valor real para esta

propriedade (HONIKEL & HAMM, 1994). Isto porque é um processo dinâmico onde pode ocorrer mudança na configuração proteica em decorrência da exposição a fatores externos como congelamento, cozimento e acidez do meio (CASTRO, 2007).

#### 4. CONCLUSÃO

Os abates por eletronarcole, mistura gasosa e hipotermia são eficientes quando aplicados a tilápia do Nilo, visto que, os filés, mantiveram-se adequados ao consumo mesmo após 180 dias de estocagem congelados. Diante do efeito dos tratamentos na coloração e textura dos filés da tilápia, que normalmente apresentam uma carne de cor branca, é possível escolher qual metodologia melhor atenderá ao interesse da indústria e do consumidor, levando em consideração o abate humanitário.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo financiamento do projeto de pesquisa e pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor.

#### 6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AL-KAHTANI, H.A.; ABU-TARBOUSH, H.M.; BAJABER, A.S. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, 1996, p. 729-733.

ANDERSEN, U.B., THOMASSEN, M.S., RORA, A.M.B., 1997. Texture properties of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects of diet, muscle fat content and time of storage on ice. **J. Sci. Food Agr.** 74, 347–353.

BAHUAUD, D., MØRKØRE, T., ØSTBYE, T.-K., VEISETH-KENT, E., THOMASSEN, M.S., OFSTAD, R., VEISETH-KENT, E., THOMASSEN, M.S., OFSTAD, R., 2010. Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) pre- and post-rigor fillets exposed to short and long-term crowding stress. **Food Chem.** 118, 602–615.

BERAQUET, N.J.; LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas “post mortem” em pescado. São Paulo: **Boletim ITAL.**, 1985.v.22, p. 169-192.

BOGGESS, T.S., HEATON, E.K., SHEWFELT, A.L., PARVIN, D.W., 1973. Techniques for stunning channel catfish and their effects on product quality. *J. Food Sci.* 38, 1190–1193.

CARTONILHO, M. M.; JESUS, R. S. Qualidade de cortes congelados de tambaqui cultivado *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.46, n.4, p.344-350, abr. 2011.

CASTILLO-YÁÑEZ, F. J., PACHECO-AGUILAR, R., MARQUEZ-RIOS, E., LUGO-SÁNCHEZ, M. E., & LOZANO-TAYLOR, J. (2007). Freshness loss in sierra fish (*Scomberomorus Sierra*) muscle stored in ice as affected by postcapture handling practices. *Journal of Food Biochemistry*, 31(1), 56–67.

CASTRO, D. A. PERDAS DE ÁGUA EM FILÉ DE PESCADO DO PANTANAL., Campo Grande, 2007, 50p. (**Mestrado em Ciência Animal**) FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA.

CHAN, W.S., TOLEDO, R.T., DENG, J., 1975. Effect of smokehouse temperature, humidity and air flow on smoke penetration into fish muscle. *J. Food Sci.* 40, 240–243.

DE VIDO, D. M. N., PAREDI, M. E., & CRUPKIN, M. Postmortem changes in the adductor muscle of scallop (*Chlamys tehuelchus*) in chilled and frozen storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 10(3), 49–59. 2001.

EINEN, O., GUERIN, T., FJAERA, S.O., SKJERVOLD, P.O., 2002. Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture* 212, 129–140.

HERRERA, J.; PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G. A DSC study on the effects of various maltodextrins and sucrose on protein changes in frozen-stored minced blue whiting muscle. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.81, p.337-384, 2001.

HONIKEL, K.O.; HAMM, R. **Measurement of water-holding capacity and juiciness.** Em: Pearson, A.M.; Dutson, T.R. Eds. Quality attributes and their measurement in meat, Poultry and fish products. *Adv. Meat Res.* 9, capítulo 5, p.125-159, 1994

JENSEN, K.N.; JORGENSEN, B.M.; NIELSEN, J. Effect of storage conditions on differential scanning calorimetry profiles from thawed cod muscle. *Lebensm.-Wissu.- Technol.*, v.36, p.807-812, 2003.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial.** Jundiaí: Editora Degaspari, 2000. 289p.

LAKSHMANAN, P.T.; ANTONY, P.D.; GOPAKUMAR, K. Nucleotide degradation and quality changes in mullet (*Lisa corsula*) and pears spot (*Etroplus suratensis*) in ice and at ambient temperatures. *Food Control*, v. 6, p. 277-283, 1996.

LAMBOOIJ, B., GERRITZEN, M.A., REIMERT, H., BURGGRAAF, D., ANDRÉ, G., VAN DE VIS, H., 2008. Evaluation of electrical stunning of sea bass (*Dicentrarchus*

*labrax*) in seawater and killing by chilling: welfare aspects, product quality and possibilities for implementation. **Aquaculture Research** 39, 50–58.

LEFÈVRE, F., BUGEON, J., AUPERIN, B., AUBIN, J., 2008. Rearing oxygen level and slaughter stress effects on rainbow trout flesh quality. **Aquaculture** 284, 81–89.

MACKIE I.M. K. & SMITH, J. (1989) The effect of slaughter method on the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during storage on ice. **International Journal of Food Science and Technology** 24, 69-79.

MONTERO, P., & BORDERIAS, J. (1990). Effect of rigor mortis and ageing on collagen in trout (*Salmo irideus*) muscle. **Journal of Food Agriculture**, 52, 141.

MONTERREY-QUINTERO, E.S.; SOBRAL., P.J.A. Preparo de proteínas miofibrilares de tilápia-do-nilo para a elaboração de biofilmes: solubilidade das proteínas em função do pH. In: **Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 16., 1998, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1998. p.2086-2089.

MORZEL M. & VAN DE VIS J.W. Effect of the slaughter method on the quality of raw and smoked eels (*Anguilla anguilla* L.). **Aquaculture Research** 34,1-11.2003.

NEIVA, C. R. P. Obtenção e caracterização de minced fish de sardinha e sua estabilidade durante a estocagem sob congelamento. São Paulo, 2003, 78p. Dissertação (**Mestrado em Alimentos e Nutrição**) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

OFSTAD, R., KIDMAN, S., MYKLEBUST, R., & HERMANSSON, A. M. (1993). Liquid holding capacity and structural changes during heating of fish muscle: cod (*Gadus morhua* L.) and salmon (*Salmo salar*). **Food Structure**, 12, 163–174.

OCAÑO-HIGUERA V.M., MAEDA-MARTÍNEZ A.N., MARQUEZ-RÍOS E., CANIZALES-RODRÍ D.F., CASTILLO-YÁÑEZ F.J., RUÍZ-BUSTOS E., GRACIANO-VERDUGO A.Z., PLASCENCIA-JATOMEA M.. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical., chemical and physical methods. **Food Chemistry** 125 (2011) 49–54.

PAPA, I., TAYLOR, R. G., ASTIER, C., VENTRE, F., LEBART, M. C., ROUSTAN, C., ET AL. .Dystrophin cleavage and sarcolemma detachment are early post mortem changes on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) white muscle. **Journal of Food Science**, 62, 917. 1997.

PAREDI, M.E.; TOMAS, M.C.; CRUPKIN, M.; AÑON, M.C. Thermal Denaturation of *Aulacomya ater ater* (Molina) myofibrillar proteins: a differential scanning calorimetric study. **J. Agric. Food Chem.** v.42, p. 873-877, 1994.

PARISI, G.; FRANCI, O.; POLI, B. M; Application of multivariate analysis to sensorial and instrumental parameters of freshness in refrigerated sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during shelf life. **Aquaculture**, v. 214, p. 153–167, 2002.

PARK JW, LANIER TC. Calorimetric changes during development of rigor mortis. **J Food Sci** 53(5):1312-1314. 1988.

SANT'ANA, L.S.; FERNANDES, J.B. Efeito do armazenamento na composição em ácidos graxos de filés de peixes da espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, 17. 2000, Fortaleza, Resumos... Fortaleza: SBCTA, 2000, p. 5-272. v. 4.

SATO, K., OHASHI, C., OHTUKI, K., & KAWABATA, M. Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change during chilled storage of muscle. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 39, 1222–1225. 1991.

SHENDERYUK, V. I., & BYKOWSKI, P. **Salting and marinating of fish**. In Z. E. Sikorski (Ed.), *Seafood: Resources, nutritional composition and preservation*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. 1989.

SIGURGISLADOTTIR, S., INGVARSDOTTIR, H., TORRISSEN, O. J., CARDINAL, M., & HAFSTEINSSON, H. Effects of freezing/thawing on the microstructure and the texture of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Research International**, 33, 857–865. 2000.

SIKORSKI ZE, KOLAKOWSKA A AND BURT JR, **Postharvest biochemical and microbial changes**, in *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*, Ed by Sikorski ZE, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 55–75 (1994)

SKJERVOLD P.O., RORA A.M.B., FJÆRA S.O., VEGUSDAL A, VORRE A, EINEN O., Effects of pre-, in-, or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. **Aquaculture** 194:315–26. 2001.

SORENSEN, T.L., MOLLER, J.V., NISSEN, P. Phosphoryl transfer and calcium ion occlusion in the calcium pump. **Science**, v.304:p. 1672–1675, 2004.

SUTTON, A.H. 1969. **Polyphosphate treatment of Cod muscle**. In *Freezing and Irradiation*, (R. Kreuzer, ed.).

WEBER, T.E., BOSWORTH, B.G., 2005. Effects of 28 day exposure to cold temperature or feed restriction on growth, body composition, and expression of genes related to muscle growth and metabolism in channel catfish. **Aquaculture** 246, 483–492.