

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP – CAUNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

**Efeito do tocoferol no desempenho e na estabilidade
lipídica da Tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*).**

FABÍOLA HELENA DOS SANTOS FOGAÇA
ZOOTECNISTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Aquicultura – Área de concentração em Águas
Continentais, como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre.

Jaboticabal - SP

2005

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP – CAUNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

**Efeito do tocoferol no desempenho e na estabilidade lipídica da
Tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*).**

FABÍOLA HELENA DOS SANTOS FOGAÇA

ZOOTECNISTA

ORIENTADORA: Prof. Dra. LÉA SILVIA SANT'ANA
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. DALTON JOSÉ CARNEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Aquicultura – Área de concentração em Águas
Continentais, como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre.

Jaboticabal - SP

2005

DEDICATÓRIA

A DEUS, por todos os obstáculos superados.

A minha filha, que mesmo sendo tão pequenina, é minha companheira e inspiração para crescer e me superar.

Aos meus pais, PAULO e MARIA CÉLIA, pelo apoio, ajuda e uma vida de dedicação aos filhos.

Ao meu irmão, que tantas saudades sinto, pela amizade e companheirismo.

A minha família presente em todos os momentos de minha vida.

Ao meu amor e companheiro Leandro, que apesar da distância, tenta estar sempre presente, me dando forças e carinho.

A minha orientadora, Dra. Léa Silvia Sant'Ana, por me dar uma chance quando outras portas se fecharam, pelos ensinamentos, pela amizade e oportunidade profissional.

Ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro, meu primeiro contato com o mestrado, pelos caminhos e possibilidades que me mostrou durante suas aulas e nossas conversas.

AGRADECIMENTOS

Aos amigos e funcionários do CAUNESP, Seu Mauro, Márcio (Perereca), Márcio, Valdecir, Vera, Mônica, Ana, Sandra, Rodrigo, Thiago, Laurindo, Camilo, Gabriel, Cris, Camila, Luiz Fernando, Cericato, Vanessa, Fabiana, Lílian, Camila, pela ajuda, caronas, companhia, e apoio, sem vocês esse projeto não sairia do papel.

Aos companheiros da graduação, Márcio (Gorfo) e Marcus (Lazanha), e aos novos amigos de Jaboticabal: Leonardo e Janessa, pela amizade e ajuda.

As minhas companheiras de república: Rose, Ana Paula e Marina, que me acolheram, me ajudaram e cuidaram da Tainá durante o experimento e em outros momentos.

Aos amigos Dario e Nega, pois fizeram boa parte do serviço pesado no processamento dos peixes, e da pós-graduação: Charli, Camila, Amilton e Ana, sempre presentes.

Aos professores: Lídia, Departamento de Bioestatística, e Heraldo, Departamento de Exploração e produção Animal, FMVZ, pela orientação e auxílio na realização das análises estatísticas.

Ao professor Pedro de Magalhães Padilha, Departamento de Química, pelas análises de fósforo.

Aos professores Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pelo apoio desde o início desse trabalho, a Dra. Margarida Maria Barros, pela colaboração sempre que solicitada.

Aos funcionários do Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, FCA, principalmente ao João, pela orientação e auxílio na realização das análises e outras atividades relacionadas ou não ao projeto.

Aos funcionários do Laboratório de Bromatologia, FMVZ, Renato Diniz e Maria Regina Forlim, pela colaboração durante a realização das análises químicas.

A Área pela análise da vitamina E da ração.

Aos funcionários do Departamento de Economia e Extensão Rural: Marcos, Mário e Nivaldo pela colaboração.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, agradeço a todos que colaboraram de qualquer maneira para realização deste trabalho.

*“Educar é construir,
é libertar o ser humano.”*

Paulo Freire

ÍNDICE

Lista de abreviaturas	09
Resumo	11
Abstract	12
1 – Introdução	14
2 – Revisão de Literatura	17
2.1 – Processamento do Peixe	17
2.2 – A Deterioração do Pescado e a Oxidação Lipídica	18
2.2.1 – Métodos de Análise da Oxidação Lipídica	22
2.3 – Defesas Antioxidantes em Peixes	24
2.3.1 – Vitamina E	25
2.3.2 – Efeito Pró-oxidante da Vitamina E	28
2.3.3 – Vitamina E para Peixes	29
2.4 – Considerações sobre a Espécie	31
3 – Materiais e Métodos	33
3.1 – Material Biológico	33
3.2 – Condições Ambientais	33
3.3 – Variáveis Limnológicas	33
3.4 – Dietas	34
3.5 – Processamento	36
3.6 – Análises	37
3.6.1 – Variáveis de Desempenho	37
3.6.2 – Análises Químicas	37
3.7 – Estatística	38
4 – Resultados e Discussão	40
4.1 – Efeito do Nível de Suplementação de Vitamina E no Desempenho	40
4.2 – Avaliação do Efeito da Vitamina E sobre a Composição Centesimal	44
4.3 – Avaliação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (SRATB)	57
5 – Conclusões	65
6 – Referências	66

ÍNDICE DE FIGURAS, TABELAS E GRÁFICOS.

Figura 1 – Reação do TBA com o MDA.	23
Figura 2 – Fórmula química da série tocoferol.	26
Tabela 1 – Formulação base e composição química das dietas experimentais.	34
Tabela 2 – Formulação do hambúrguer de peixe.	35
Tabela 3 – Parâmetros de desempenho, rendimento de filé e sobrevivência de tilápias nilóticas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina E.	39
Tabela 4 – Análise de variância para a composição centesimal de hambúrgueres de tilápia nilótica.	43
Tabela 5 - Valores médios de umidade dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e adição <i>post mortem</i> de vitamina E.	44
Tabela 6 - Valores médios de cinzas dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e adição <i>post mortem</i> de vitamina E.	45
Tabela 7 - Valores médios de lipídios dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e adição <i>post mortem</i> de vitamina E.	46
Tabela 8 - Valores médios da composição centesimal dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e período de estocagem, sem adição <i>post mortem</i> de vitamina E.	48
Tabela 9 - Valores médios da composição centesimal dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e período de estocagem, com adição <i>post mortem</i> de vitamina E.	49
Tabela 10 - Valores médios de umidade dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição <i>post mortem</i> de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg de ração).	50
Tabela 11 - Valores médios de cinzas dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição <i>post mortem</i> de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg de ração).	51
Tabela 12 - Valores médios de proteína dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição <i>post mortem</i> de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg de ração).	52

Tabela 13 - Valores médios de lipídios dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição <i>post mortem</i> de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg de ração).	52
Gráfico 1 – Efeito da interação tripla na % de umidade dos hambúrgueres de tilápia.	53
Gráfico 2 – Efeito da interação tripla na % de cinzas dos hambúrgueres de tilápia.	54
Gráfico 3 – Efeito da interação tripla na % de proteína bruta dos hambúrgueres de tilápia.	54
Gráfico 4 – Efeito da interação tripla na % de lipídios dos hambúrgueres de tilápia.	55
Tabela 14 – Valores médios de SRATB dos hambúrgueres segundo o nível de suplementação nas dietas (N), a adição <i>post mortem</i> (A) e o tempo de estocagem (P).	57
Tabela 15 – Valores médios de SRATB segundo a interação nível de suplementação e adição <i>post mortem</i> de vitamina E.	58
Tabela 16 – Valores médios de SRATB em hambúrgueres de filés de tilápias nilóticas na interação entre nível de vitamina E/kg de ração e tempo de estocagem.	60
Tabela 17 – Valores médios de SRATB segundo a interação tempo de estocagem e adição <i>post mortem</i> de vitamina E.	62
Gráfico 5 – Variação dos Valores de SRATB determinados nos intervalos 0, 30, 60 e 90 dias em Hambúrgueres de Tilápia Nilótica	63

LISTA DE ABREVIATURAS

AGPI - Ácidos Graxos Poliinsaturados

CAA - Conversão Alimentar Aparente

CMS - Carne Mecanicamente Separada

CRA - Consumo de Ração Aparente

EB - Energia Bruta

ENN - Carboidratos não estruturais

EROS - Espécies Reativas ao Oxigênio

FAO - Food and Agriculture Organization

FSTA - Food Science and Technology Abstract

GP - Ganho de Peso

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Pressão

I - Iniciador

L• - Radical Livre

LH - Ácido Graxo Insaturado

LOO• - Radical Peroxila

MDA - Malonaldeído

MS - Matéria Seca

NRC - National Research Council

OD - Oxigênio Dissolvido

OH• - Radical Hidroxila

PB - Proteína Bruta

pH - Potencial Hidrogênio Iônico

RF - Rendimento de Filé

S - Sobrevivência

SRATB - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TBA - Ácido Tiobarbitúrico

TCE - Taxa de Crescimento Específico

TO• - Radical alfa-tocoferil

TOH - Radical alfa-tocoferol

Efeito do tocoferol no desempenho e na estabilidade lipídica da Tilápia nilótica
(*Oreochromis niloticus*).

Resumo

A vitamina E é usada nas dietas com a finalidade de melhorar o crescimento, a resistência ao estresse e a doenças, assim como a sobrevivência de peixes. Também pode ser eficiente na conservação do pescado durante o processamento e estocagem, inibindo a degradação dos lipídios pela oxidação. O presente trabalho avaliou os efeitos antioxidantes da vitamina E “in vivo” e “in vitro” na qualidade final dos hambúrgueres produzidos com filés de tilápias congelados durante 0, 30, 60 e 90 dias. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos, em esquema fatorial 3x2, caracterizado pela suplementação de dois níveis de vitamina E nas dietas (100 e 200 mg / kg de ração) e o grupo controle (zero mg/kg de ração) e adição ou não de 100 ppm de vitamina E aos hambúrgueres, com quatro repetições. Os peixes, com peso médio inicial de $184,23 \pm 1,68$ g foram alimentados com as dietas experimentais durante 63 dias. Após esse período, foram abatidos e os filés processados em hambúrgueres. Foram avaliados os parâmetros de desempenho, composição centesimal e a oxidação lipídica, determinada pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB). Os resultados mostraram que não houve diferença significativa para as variáveis de ganho de peso, conversão alimentar e crescimento específico entre os tratamentos. A composição química variou dentro dos valores encontrados para pescados. O aumento do nível de vitamina E promoveu redução nos valores de SRATB das amostras em todos os intervalos de tempo, e que a adição “in vivo” da vitamina E protegeu os hambúrgueres da oxidação lipídica de forma mais eficiente do que a adição “in vitro”, sendo que a interação entre ambas resultou em maior redução nas taxas de oxidação.

Palavras-chaves: oxidação lipídica, conservação, hambúrguer, suplementação, adição *post mortem*.

Effect of tocopherol on performance and lipid stability of Tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Abstract

Vitamin E is used in diets with the aim of enhancing growth, resistance to stress and pathology, and also fish survival. It can be efficient in fish conservation during processing and frozen storage, inhibiting lipid degradation from oxidation. The present work evaluated the antioxidant effects of vitamin E utilization *in vivo* and *in vitro* in the final quality of hamburgers made from tilapia filets during frozen storage over 3 months. A randomized design, in a 3x2 factorial scheme was utilized, which correspond to the two levels of diet vitamin E (100 and 200 mg / kg diet) and the control group (zero mg/kg diet) and addition or not of 100 ppm of vitamin E to the hamburgers, with four repetitions. The fishes, with initial weight 184.23 ± 1.68 g, were fed the experimental diets for 63 days, after which they were killed and processed into hamburgers. The performance parameters analyzed were centesimal composition and lipid oxidation, determined by the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). The results showed no significant difference between treatments for weight gain, food conversion or specific growth. The chemical composition varied within the values found for fish. Increased vitamin E levels promoted reduction of TBARS values over all time intervals. This means values suggested that the addition *in vivo* of tocopherol protected the hamburgers from lipid oxidation more efficiently when compared to *in vitro* addition, but the interaction between both resulted in higher reduction in rate of oxidation.

Key- words: lipid oxidation, conservation, hamburgers, supplementation, *post mortem* addition.

1 - Introdução

Nos últimos anos, a produção e demanda mundial de pescados apresentaram crescimento contínuo e vigoroso. No entanto, há estagnação da pesca de captura por causa da poluição ambiental e exploração indiscriminada das reservas naturais de peixes (SHIROTA & SONODA, 2004). Há pelo menos uma década, as taxas de crescimento da aquicultura mantêm-se em patamares superiores a 10% ao ano (FAO, 2003a), elevando a sua atual importância na oferta mundial de pescados (BORGHETTI, 2003).

Segundo a Food and Agricultural Organization (FAO), a produção mundial de pescados em 2003 foi estimada em 132,52 milhões de toneladas, sendo que desse total, 30,77 milhões de toneladas foram provenientes do cultivo de espécies de água doce. A produção brasileira contribuiu com 388.747 toneladas produzidas pela aquicultura continental, totalizando aproximadamente 1.086.504 toneladas de pescados em 2003 (FAOSTAT, 2005).

O potencial do Brasil para o desenvolvimento da aquicultura é imenso, constituído por 8.400 km de costa marítima, 5.500.000 hectares de reservatórios de águas doces, aproximadamente 12 % da água doce disponível no planeta, clima extremamente favorável, terras disponíveis e ainda, relativamente baratas na maior parte do país, mão-de-obra abundante e crescente demanda por pescado no mercado interno (SECRETARIA ESPECIAL DE AQUICULTURA E PESCA, 2003).

A aquicultura é uma atividade destinada a produzir alimentos de alto valor nutritivo, porém suas condições ambientais e seu manejo aumentam as reações de estresse nos peixes, prejudicando a qualidade de seus produtos. Nesse sentido, estudos que minimizem essas

alterações, associados à tecnologia do pescado, são capazes de gerar produtos que atendam as necessidades dos consumidores (MACEDO-VIEGAS & SOUZA, 2004).

Dentre os peixes de água doce mais produzidos atualmente, destacam-se principalmente espécies exóticas como a tilápia, que apresentam boa aceitação pelo consumidor e comumente, tem preço relativamente baixo em relação a outros peixes de cativeiro (VISENTAINER, 2004). Isto se deve às suas qualidades de produção, aliado ao valor nutricional de sua carne, excelente textura e paladar (SOUZA et al., 1998; FIRETTI & SALES, 2002b).

A oxidação lipídica é o processo primário de deterioração da qualidade dos peixes e seus produtos, manifestando-se por mudanças em seu cheiro, cor, textura, valor nutritivo, e possível produção de compostos tóxicos (JENSEN et al., 1998), afetando sua aceitabilidade para o consumo (NOGALA-KALUCKA et al., 2005). É acentuada imediatamente após o abate e durante o processamento, como no caso da fabricação dos hambúrgueres, quando ocorre a destruição da integridade das membranas celulares pelo corte das carnes, facilitando a propagação das reações oxidativas (MORRISSEY et al., 1998).

A oxidação depende de inúmeros fatores, incluindo a composição de ácidos graxos poliinsaturados e a concentração de agentes pró e antioxidantes (LAURIDSEN et al., 1998) que podem ser manipulados pela dieta (REY et al., 2004). Dentre os nutrientes que constituem as dietas para a aquicultura, a vitamina E é usada com a finalidade de melhorar o crescimento, a resistência ao estresse e a doenças, assim como a sobrevivência de peixes e camarões (HUO, 1999), e também pode ser eficiente na conservação do pescado durante o processamento e estocagem, inibindo a degradação dos lipídios pela oxidação (CHEAH, 1995).

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos antioxidantes da vitamina E, “in vivo” e “in vitro”, por meio da modificação da dieta e/ou pela adição de antioxidantes após o abate, na qualidade final dos hambúrgueres feitos com filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) conservados congelados e analisados com 0, 30, 60 e 90 dias de armazenamento.

2 - Revisão de literatura

2.1 – Processamento do Peixe

A popularização do consumo do pescado é uma das barreiras mais difíceis a serem vencidas para a expansão da aquicultura no país, pois o brasileiro consome pouca carne de peixe (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1999). Segundo OETTERER (1991), esse baixo consumo está ligado à comercialização mal feita praticada há anos e pela falta de métodos de conservação e processamento em sua cadeia produtiva.

O pescado apresenta atualmente grande potencial de mercado, e quando industrializado pode atender as necessidades do consumidor em aspectos nutricionais (rico em proteínas e ácidos graxos poliinsaturados); sensoriais (sabores agradáveis, suaves e característicos); conveniência (fácil preparo ou pré-pronto); e econômico (com preços acessíveis) (FERREIRA et al., 2002).

No Brasil, segundo VALENTI et al. (2000), o pescado de água doce ainda é comercializado predominantemente *in natura*, fresco, eviscerado e muito pouco na forma de filé ou industrializado. Porém, a agregação de valor, com desenvolvimento de novos cortes, produtos e embalagens para o pescado cultivado, tornou-se um segmento em clara fase de expansão por todo o país, envolvendo espécies como a tilápia (*Oreochromis niloticus*), o pintado (*Pseudoplatistoma coruscans*) e o tambaqui (*Colossoma macropomum*) (FIRETTI & SALES, 2002a).

Assim, para que se possa comercializar o pescado proveniente da piscicultura em boas condições de higiene e com qualidade, há necessidade de se aplicar tecnologia, sendo que a própria legislação exige o uso do frio como recurso mínimo para a venda do produto.

O processamento agrega valor ao pescado, que de matéria prima perecível, passa a produto com maior vida útil e com novas opções de consumo (OETTERER, 2005).

Novos produtos podem ser obtidos a partir da carne desossada do pescado, retirada manual ou mecanicamente. O uso de despoldadores permite rendimento consideravelmente maior em carne, quando comparado aos procedimentos convencionais de filetagem ou de cortes em pedaços, além de possibilitar a utilização do peixe em diversas fases de crescimento, sem necessitar de padronização (OETTERER, 1999).

Na forma de polpa o pescado possibilita à indústria maior flexibilidade nos processos de industrialização, com produtos diversificados (OETTERER et al., 2004) como os hambúrgueres de peixe ou “fishburgers”, que proporcionam melhor aceitação no mercado, pois a atenção dos consumidores está voltada para alimentos de conveniência ou pré-prontos (BLISKA, 1997).

2.2 – A Deterioração do Pescado e a Oxidação Lipídica

O pescado é extremamente perecível devido à elevada atividade de água, composição química, teores de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, principalmente ao pH próximo da normalidade (MELO FRANCO & LANDGRAF, 1996).

A deterioração do pescado se instala logo após a morte e avança com o tempo, sendo que a velocidade de decomposição depende de fatores exógenos (manipulação, manejo de abate e conservação) e endógenos (características físico-químicas do peixe) (OETTERER, 1998). Segundo LEITÃO (1994), o pescado está sujeito a processos deteriorativos que envolvem a atividade enzimática, a rancificação de gorduras e a ação de microorganismos presentes em sua superfície, guelras e trato intestinal.

O músculo do pescado pode conter 60 a 85% de umidade, aproximadamente 20% de proteína bruta, 1 a 2% de cinzas, 0,5 a 36% de lipídeos, sendo que este último varia com o tipo de músculo e a espécie analisada, sexo, idade, época do ano, habitat e dieta (SIQUEIRA, 2001).

Os lipídeos exercem importante papel como fonte energética, nutrientes essenciais, substâncias isolantes e precursores de substâncias metabólicas (OGAWA, 1999). Os ácidos graxos essenciais também funcionam como componentes dos fosfolipídios de todas as membranas, e são responsáveis por várias funções metabólicas, incluindo a manutenção do seu estado de fluidez em diversas temperaturas, que depende do balanço de ácidos graxos insaturados e saturados (SALEM, 1999).

No músculo, o mecanismo das espécies reativas causa quebra das ligações duplas nas frações fosfolipídicas das membranas celulares, que no caso dos peixes são mais suscetíveis porque possuem maior grau de insaturação (RUFF et al., 2004). Isto prejudica sua fluidez e altera sua função como barreira semipermeável devido à perda de ácidos graxos poliinsaturados essenciais (AGPI) e à formação de hidroperóxidos, aldeídos e outros produtos tóxicos secundários (SASAKI et al., 2001; WAGNER & ELMADFA, 2001).

O termo espécies reativas do oxigênio (EROS) inclui radicais livres como: radical hidroxila (OH^\bullet), radical óxido nítrico (N^\bulletO), radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), radical peroxila (LOO^\bullet) e não radicais como: peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso (HClO), oxigênio "singlet" ($^1\text{O}_2$) e ozônio (O_3) (ARUOMA, 1993); sendo que existem espécies mais reativas como a hidroxila, intermediárias como os radicais peroxilas e alcoxilas, e aquelas que reagem com poucas moléculas como $\text{O}_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 (HALLIWELL et al., 1995).

Os radicais livres são espécies químicas ou fragmentos moleculares com um ou mais elétrons desemparelhados em seu último orbital que lhes rendem alta reatividade devido à tendência de permanecerem pareados (BRYANT, 2000). São formados e degradados por todos os organismos aeróbicos, produzidos em concentração fisiológica pelo funcionamento celular normal ou em excessivas quantidades sob estresse oxidativo (MATÉS, 2000; IMAI & NAKAGAWA, 2003).

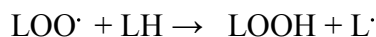
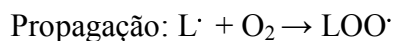
Em baixas concentrações, os EROS são benéficos e indispensáveis aos processos metabólicos normais, bem como nas defesas antimicrobianas, contribuindo com a atividade bactericida fagocítica (PUANGKAW et al., 2005). Em contraste, altas doses ou remoção inadequada de EROS resultam no estresse oxidativo que pode causar severos danos metabólicos (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

Nos lipídios dos peixes existem duas reações distintas importantes na deterioração de sua qualidade: a oxidação e a hidrólise. A primeira ocorre por mecanismo autocatabólico devido a grande concentração de AGPI encontrada na sua gordura. A segunda causa desnaturação protéica, e ambas resultam na produção de substâncias entre as quais algumas possuem sabor e cheiro de ranço (PIRINI et al., 2000).

A autooxidação pode ser dividida em três fases: iniciação, propagação e terminação. A reação inicial envolve a geração de um radical livre ($L\cdot$) a partir de um ácido graxo insaturado (LH). Essa fase é muito lenta e depende de um iniciador (I), representado pelo calor, metais traços e certas enzimas catalisadoras (KAMAL-EDIN & APPELQVIST, 1996).



A propagação inicia-se pela ação de uma espécie reativa que retira um átomo de hidrogênio do carbono central de uma estrutura pentadieno encontrada nas cadeias de ácidos graxos que contenham mais de uma ligação dupla. Ao contrário de sua molécula original, o radical lipídico gerado reage rapidamente com o oxigênio da atmosfera, formando um radical peróxido que novamente retirará um hidrogênio de uma outra cadeia acil, resultando em um hidroperóxido e uma nova espécie reativa ao oxigênio (FAO, 2003b), conforme as reações abaixo.



Nos ácidos graxos insaturados, livres ou esterificados, a abstração do átomo de hidrogênio é mais fácil no grupo metileno adjacente a sua dupla ligação (SANT'ANA & MANCINI-FILHO, 1995). Essa propagação continua até que o radical peróxido seja removido por uma reação com outro radical, formando produtos inativos ou não radicais (BURTON & TRABER, 1990).



Os íons metálicos são muito importantes no processo inicial da autoxidação lipídica, pois catalisam a formação de espécies reativas do oxigênio como radicais hidroxilas ($OH\cdot$), por exemplo. Este radical reage imediatamente com lipídios e outras moléculas que estão próximas a onde ele foi gerado (FAO, 2003b). Os hidroperóxidos formados são rapidamente quebrados, em oxidações secundárias, produzindo aldeídos, cetonas, álcoois e ácidos carboxílicos que dão às carnes odor característico e, em alguns casos, coloração amarelada (MCCALL & FREI, 1999).

2.2.1 – Métodos de Análise da Oxidação Lipídica

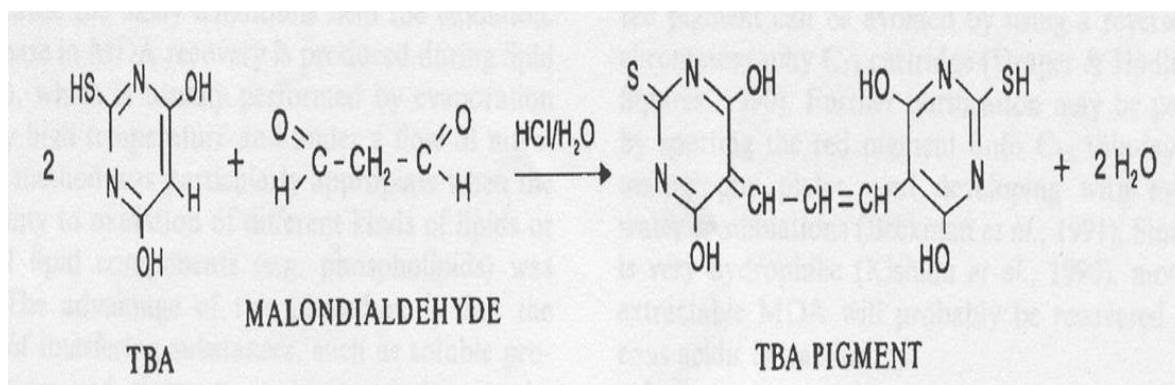
Muitos métodos químicos e físicos têm sido propostos para quantificar a formação dos compostos resultantes da oxidação lipídica em carnes, como a determinação dos valores de peróxido, dienos conjugados (produzidos nos primeiros estágios da autoxidação), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB), teste de Kreis, HPLC (cromatografia de alta pressão), entre outros (JARDINE et al., 2002). Os produtos mais freqüentemente medidos são hidroperóxidos e dienos conjugados, para a oxidação primária, e substâncias voláteis (SRATB) para a secundária (MOURE et al., 2001). Dentre eles existem vantagens e desvantagens, porém os mais simples e rápidos são baseados na quantificação de pigmentos medidos espectrofotometricamente (GRAU et al., 2000).

Em 1944, KOLN & LIVERSEDGE observaram que tecidos animais incubados aerobicamente com ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) produziam coloração rosa. BERNHEIM et al. (1948) descobriram que a coloração era resultado da formação de um complexo entre os compostos oxidados de gordura com o TBA. Essas descobertas deram origem ao teste mais utilizado na determinação da oxidação lipídica, o teste de TBA (MELTON, 1983; IGENE et al., 1985), sendo que a substância reativa ao ácido tiobarbitúrico presente em maior quantidade é o malonaldeído (MDA) (KAMAL-EDIN & APPELQVIST, 1996), um dialdeído derivado do hidroperóxido. Porém, existem outros produtos da oxidação dos lipídeos, tais como, aldeídos insaturados e vários precursores não voláteis não identificados que também reagem com o TBA (FERNÁNDEZ et al., 1996).

A reação do teste de TBA envolve uma molécula de MDA que reage com duas moléculas de TBA, eliminando mais duas moléculas de água, conforme a Figura 1

(NAWAR, 1996), formando um pigmento cristalino rosa com absorvância entre 532 a 535 nm (HOYLAND & TAYLOR, 1991).

Figura 1 – Reação do TBA com o MDA.



Fonte: FERNANDEZ et al. (1996).

Existem diferentes formas de medir as SRATB: pela reação direta da solução de TBA com os alimentos, por extração da amostra em solução ácida e por destilação. O primeiro método demanda alto gasto de tempo e solventes e, por isso, não é muito utilizado. O segundo é o mais recomendado e eficiente pela rapidez e simplicidade (OETTERER et al., 2004). A destilação, apesar de muito usada, resulta em valores mais altos, pois o aquecimento da amostra durante seu procedimento pode induzir à oxidação (FERNÁNDEZ et al., 1996; ULU, 2004), necessitando da adição de antioxidante à amostra durante a análise.

O teste de TBA também possui correlação positiva entre seus valores e o escore de rancificação avaliado pela análise sensorial, sendo apropriado na determinação do estado de oxidação lipídica em alimentos (HOYLAND & TAYLOR, 1991).

2.3 – Defesas Antioxidantes em Peixes

A convivência aparentemente harmoniosa dos organismos aeróbicos com os efeitos deletérios do oxigênio deve-se, primordialmente, ao desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidantes altamente especializados (MARCON, 1997). HALLIWELL & GUTTERIDGE (1989) definiram os antioxidantes como substâncias capazes de, em concentrações relativamente baixas, competirem com outros substratos oxidativos e assim evitar ou inibir a sua oxidação. Devido aos efeitos danosos dos EROS, todas as células mantêm sistemas de defesas antioxidantes através de três níveis de proteção: prevenção da formação dos EROS; diminuição dos EROS através dos varredores (*scavengers*) de radicais livres ou enzimas antioxidantes e; reparo dos componentes celulares danificados (SAMPAIO, 2003).

Os peixes, assim como os vertebrados superiores, possuem os dois sistemas de defesa endógena: enzimático e não enzimático (GUERRIERO et al., 2002). Os sistemas enzimáticos são compostos por constituintes primários, como as enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, e por enzimas de ação secundária, como a glutathione reductase, a glicose-6-fosfato desidrogenase e a glutathione S-transferase (MARCON, 1997).

O sistema de defesa antioxidante não-enzimático desempenha papel importante na proteção de macromoléculas contra possível dano oxidativo, principalmente no plasma que possui pouca defesa enzimática. De acordo com sua solubilidade, está dividido em dois grupos: lipossolúveis (α -tocoferol, ubiquinol-10, β -caroteno) e hidrossolúveis (glicose, piruvato, ácido úrico, ácido ascórbico, bilirrubina, GSH) (CHAN, 1996).

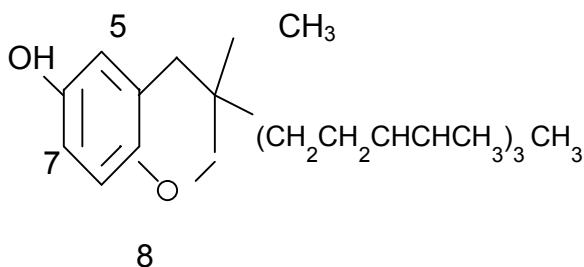
Os antioxidantes exógenos ou provenientes da nutrição (vitaminas C, E e os carotenóides) e seus cofatores (cobre, manganês, zinco, selênio, ferro e a riboflavina), também mantêm equilíbrio na produção e controle das espécies reativas (PAPAS, 1999; HAMRE et al., 2004). A sua ingestão pode ser um fator pré-abate importante na preservação da qualidade dos filés (SCAIFE et al., 2000), pois através da modificação da alimentação dos peixes, a qualidade do produto final pode ser melhorada, evitando-se alterações na textura, cor, aroma e valor nutritivo decorrentes das reações oxidativas (RUFF et al., 2002b).

2.3.1 – Vitamina E

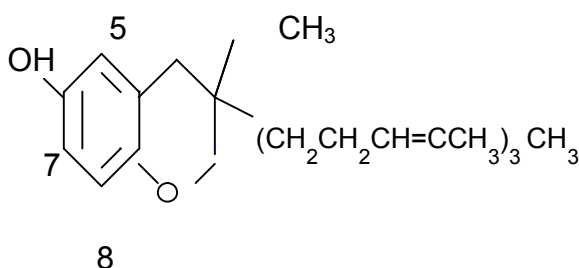
A vitamina E é uma descrição genérica muito utilizada para lipídeos intimamente relacionados, os tocoferóis e tocotrienóis. Na natureza são encontradas oito formas de vitamina E, α , β , δ , γ tocoferóis e tocotrienóis (Figura 2), que diferem entre si na localização do grupo metil do anel aromático de sua cadeia molecular (DEVLIN, 1997). Foi descoberta em 1922, e descrita como fator nutricional considerado especialmente importante na reprodução animal, e sua substância mais ativa, chamada de tocoferol, foi isolada em 1936 por Evans (QUINN, 1999).

Aparentemente, o α -tocoferol é o tocoferol predominante em biomembranas animais e é mais efetivo na doação de elétrons devido à posição orto do seu grupo metil, quando comparado aos seus isômeros (PARKER, 1989). Está presente em das plantas e sementes, sendo encontrado em concentrações significantes nos óleos vegetais, gérmen ou farelo de glúten, leveduras, gema de ovo e fígado (ANDRIGUETTO, 1990).

Estrutura básica dos tocois



Estrutura básica dos trienois

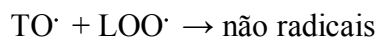
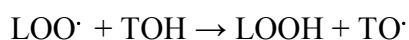


CH ₃	TOCOIS	TRIENOIS
5,7,8	α - tocoferol	α - tocotrienol
5,8	β - tocoferol	β - tocotrienol
7,8	γ - tocoferol	γ - tocotrienol
8	δ - tocoferol	δ - tocotrienol

Figura 2 - Fórmula química da série tocoferol (SANT'ANA, 1998).

O tocoferol natural sofre perdas substanciais de sua atividade nos alimentos processados ou armazenados (LOVELL, 1998), aceleradas principalmente pelo calor. Porém, desde a esterificação de vitaminas, melhorou-se sua estabilidade, e suplementos comerciais usualmente contêm acetato de d-α-tocoferil ou acetato dl-α-tocoferil (MCDOWELL, 1989).

A vitamina E constitui a primeira linha de defesa dos sistemas biológicos. Atua principalmente protegendo as membranas dos compostos oxidáveis do citoplasma celular, fazendo a estabilização dos ácidos graxos insaturados e quebrando as cadeias de peróxidos (LOO·) (YAMAMOTO et al., 2001). Previne a formação de hidroperóxidos lipídicos em seu estágio inicial através da doação de um átomo de hidrogênio a essa espécie reativa (FANG et al., 2002), resultando em um radical alfa-tocoferoxil (TO·). Esse radical será reduzido novamente à alfa-tocoferol (TOH) com a doação de elétrons pelo ácido ascórbico (AZZI & STOCKER, 2000). Seguem abaixo, as equações que representam o mecanismo de ação dos tocoferóis.



A suplementação na dieta de α - tocoferol tem sido a forma mais utilizada de vitamina E, pois sua localização específica na membrana, torna-a muito eficiente quando comparada a outros antioxidantes (BOTSOGLOU et al., 2003). Uma das hipóteses para sua maior eficiência seria a localização do seu anel cromanol na superfície polar dos fosfolipídios, com o lado da sua cadeia fitol interagindo com o acil da cadeia das gorduras insaturadas dos mesmos fosfolipídios, pela ação das forças de atração e dispersão de London Van der Wall's. Essa ligação protege os ácidos graxos poliinsaturados altamente oxidáveis da peroxidação por radicais produzidos pela enzima ligada à membrana adjacente, NADPH oxidase (BUCKLEY & MORRISSEY, 1992).

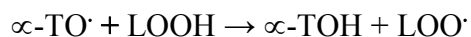
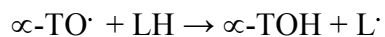
2.3.2 – Efeito pró-oxidante da vitamina E

As exigências vitamínicas dos peixes não são conhecidas com precisão e os níveis recomendados são médios. Quando a ingestão é inferior ao recomendado, durante muito tempo, pode induzir a estado subnutrido. Níveis superiores ao aporte recomendado apresentam o risco de aparecimento de estado tóxico. Em relação ao consumo excessivo, existem poucas informações quanto às doses responsáveis por esses efeitos (SAMPAIO, 2003).

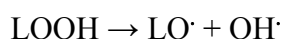
Estudos sugerem que o α -tocoferol, em particular, pode agir como pró-oxidante quando presente em altas concentrações nas dietas. TOKUDA & TAKEUCHI (1995) têm sugerido que doses excessivas de α -tocoferol nas dietas podem induzir a peroxidação lipídica em trutas. KAEWSRITHONG et al. (2001) observaram acúmulo de hidroperóxidos no sangue de peixes alimentados com 1000 mg de vitamina E/ kg de dieta.

Entretanto, KAMAL-ELDIN e APPELQVIST (1996) verificaram que os tocoferóis por si só não são pró-oxidantes, mas podem agir em sinergismo quando presentes em altas concentrações juntamente com outros pró-oxidantes, como metais de transição e peróxidos.

O efeito pró-oxidante do α -tocoferol está relacionado com a formação de radicais α -tocoferoxila (α -TO \cdot) (POKORNY, 1987) que, quando presentes em altas concentrações, proporcionam a ocorrência de reações paralelas indesejáveis, podendo aumentar a taxa de peroxidação. O α -TO \cdot reage com lipídios (LH) e hidroperóxidos (LOOH) pelo mecanismo de transferência de elétrons, gerando radicais alquilas e peroxilas, que reagirão com o oxigênio gerando outros radicais peróxidos, propagando a reação:



Esse efeito está relacionado com a baixa concentração de co-antioxidantes como a vitamina C nos tecidos dos peixes, que realizam a redução do radical alfa-tocoferoxil à alfa-tocoferol, com a doação de elétrons pelo ácido ascórbico. Altos níveis de vitamina E nas dietas podem promover a peroxidação, aumentando a concentração de hidroperóxidos no sangue, sendo que a decomposição dos hidroperóxidos via unimolecular ou bimolecular parece ser responsável pela propagação de reações de autoxidação (KAEWSRITHONG et al., 2001):



Esses radicais não desenvolvem significativo papel prooxidantes no estágio inicial da oxidação, porque geralmente são neutralizados pelo α -tocoferol. No entanto, este mecanismo pode ser mais significativo quando a relação tocoferol: hidroperóxidos é igual ou menor que um (KAMAL-EDIN & APPELQVIST, 1996). Porém, esses efeitos devem ser mais bem analisados, pois estudos que comprovem a ação pró-oxidante da vitamina E ainda são escassos.

2.3.3 – Vitamina E para Peixes

Mesmo sendo reconhecida como nutriente essencial a todas as espécies animais, pesquisadores e produtores de rações têm opiniões diferentes sobre seu nível de suplementação, pois esses são muito difíceis de serem determinados devido às inter-

relações dessa vitamina com outros fatores, como a quantidade de ácidos graxos poliinsaturados (LOPEZ_BOTE, 2003), as características dos nutrientes e a presença de outras substâncias antioxidantes nas dietas (GUO et al., 2001).

A concentração de alfa-tocoferol nos tecidos também pode ser afetada significativamente pela sua quantidade na ração. Existe correlação linear entre o aumento da deposição de vitamina E nos tecidos e o aumento do nível de sua suplementação na dieta, até posterior saturação (GALVIN et al., 1998).

Segundo o National Research Council (NRC, 1993), o mínimo de vitamina E exigido para os peixes em geral é de 30 mg / kg da dieta, e para tilápias é maior, de 50-100 mg / kg de ração. Porém, SHIAU & SHIAU (2001) observaram que tilápias alimentadas com dietas contendo 5 e 12% de lipídios necessitavam de 40-44 e 60-66mg de vitamina E/kg de dieta, respectivamente.

A interação da vitamina E da dieta com o sistema antioxidante dos peixes foi observada por TOCHER et al. (2002), onde a menor quantidade de vitamina E nas dietas levou a diminuição de seus níveis nos músculos e ao aumento da atividade oxidante do organismo, produzindo altos níveis de peróxidos lipídicos.

Os efeitos das dietas com vitamina E em trutas foram avaliados por FRIGG et al. (1990). Os peixes alimentados com os maiores níveis de vitamina E (100 a 200 mg/kg de ração) apresentaram melhor desempenho do que o grupo controle, pois obtiveram níveis elevados de tocoferol nos tecidos.

GATLIN III et al. (1992) encontraram resultados similares a esses estudos, observando que a suplementação de vitamina E em níveis acima de 240 mg/kg nas dietas aumentou a concentração de tocoferol nos tecidos, e proporcionou menor oxidação lipídica após processamento.

BAD II & HOWELL (2002) realizaram estudos comparativos analisando antioxidantes como as vitaminas C e E, o citrato, os crioprotetores, a sucrose e o sorbitol no tratamento dos filés. Os resultados indicaram que, a desnaturação da proteína e as mudanças na textura foram minimizadas na presença dos antioxidantes, separados ou associados aos crioprotetores.

Recentemente, trabalhos realizados com a suplementação de diferentes níveis de vitamina E em dietas para salmões do atlântico (ONIBI et al., 1996; HAMRE et al., 2004), robalos (PIRINI et al., 2000; GATTA et al., 2000), tilápias (SHIAU & SHIAU, 2001), pacus (SANT'ANA, 1998; SANT'ANA & FERNANDES, 2000) e pregados (RUFF et al., 2002b; 2003), também observaram redução nas taxas de oxidação e melhor conservação desses peixes durante a estocagem.

2.4 – Considerações sobre a Espécie

Tilápia é o nome comum aplicado a três gêneros da família Cichlidae: *Oreochromis*, *Sarotherodon* e *Tilápia*. Entre as espécies mais importantes para aquicultura está o gênero *Oreochromis* que inclui a tilápia do Nilo (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1999).

A criação de tilápias encontra-se amplamente distribuída no mundo, podendo atingir produção mundial de 1.5000.000 toneladas em 2010, segundo FITZSIMMONS (2003). Conforme dados estatísticos da FAO, a produção brasileira de todos os gêneros de tilápia foi estimada em 82.295 toneladas em 2003 (FAOSTAT, 2005).

A tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) foi introduzida no Brasil em 1971, em açudes do Nordeste e difundiu-se para todo o país. Apesar de ser nativo da África, a tilápia encontrou nos ambientes limnicos brasileiros condições ideais para se propagar. Seu cultivo está crescendo muito rapidamente, em função da sua rusticidade; da possibilidade de seu

cultivo com baixos níveis de proteínas das rações; das elevadas taxas de crescimento que podem ser obtidas em diferentes regimes de criação, inclusive em altas densidades; da elevada resistência a doenças; da sua boa aceitação no mercado, tanto nos “pesque-pagues” (BORGHETTI & OSTRENSKY, 1999), como nas vendas ao consumidor final, graças à qualidade de sua carne, excelente textura e paladar, ao rendimento na filetagem (FIRETTI & SALES, 2002a), ausência de espinhos intramusculares e ao seu preço relativamente baixo em relação a outros peixes de cativeiro (VISENTAINER et al., 2004).

Assim, torna-se importante à realização de trabalhos que priorizem a qualidade do pescado, tanto por parte dos produtores, como das indústrias de beneficiamento de peixes, com a finalidade de atender a preocupação atual dos técnicos com aspectos como reprodução, nutrição, sanidade, e até mesmo aqueles relativos à conservação dos peixes, procurando-se atingir padrão que garanta a sua comercialização.

3 - Material e Métodos

O presente experimento foi desenvolvido na Universidade Estadual Paulista, UNESP, no Setor de Piscicultura do Centro de Aqüicultura, CAUNESP, Campus de Jaboticabal e no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal, do Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Campus de Botucatu, no período de outubro de 2004 a maio de 2005.

3.1 - Material Biológico

Foram utilizados 420 juvenis revertidos de tilápia nilótica, 35 peixes por parcela, com peso inicial médio de $184,23 \pm 1,68$ g e comprimento inicial médio de $21,93 \pm 0,33$ cm.

3.2 - Condições Ambientais

A primeira fase da pesquisa, a suplementação de vitamina E nas rações por 63 dias, foi realizada em três viveiros de 200 m², com profundidade mínima de 1 m, paredes revestidas de alvenaria e fundo de terra. Os tanques foram divididos em quatro partes de 50 m², com telas plásticas de malha de 15mm.

O abastecimento de água foi realizado por derivação desde uma represa, passando posteriormente por um filtro de tela plástica para evitar entrada de predadores.

3.3 - Variáveis Limnológicas

O monitoramento das variáveis físico-químicas da água foi realizado aos 30 dias do experimento, sendo medido às 8:30 horas da manhã, na saída de água de cada viveiro. O potencial hidrogênio iônico (pH) foi medido por potenciômetro digital da marca Corning, e

o oxigênio dissolvido da água foi aferido utilizando-se um oxímetro YSI 52 CE. A temperatura da água foi monitorada diariamente, utilizando-se termômetro de coluna de mercúrio durante a manhã (oito horas) e à tarde (17 horas).

As médias dos parâmetros físico-químicos da qualidade da água durante o período experimental foram: oxigênio dissolvido (OD) $6,13 \pm 0,95$, temperatura entre $28,05 \pm 1,55^{\circ}\text{C}$ de manhã e $29,06 \pm 1,67^{\circ}\text{C}$ à tarde, e pH de $7,20 \pm 0,28$.

Os valores de OD apresentaram-se dentro dos ideais, pois a concentração fundamental para assegurar o adequado desenvolvimento e a sobrevivência de peixes tropicais, deve ser mantida preferencialmente acima de 4 ou 5 mg/l. Com relação à temperatura, essas espécies normalmente apresentam ótimo crescimento entre 26 e 30°C . Os resultados de pH também se apresentaram dentro dos ideais. Como regra geral, valores de pH próximos à neutralidade (6,5 a 8,0) são mais adequados à produção desses peixes (PROENÇA & BITTENCOURT, 1994; KUBITZA, 2003).

3.4 - Dietas

A ração foi extrusada na fábrica de ração da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, conforme as exigências da espécie. Foi formulada uma dieta base para todos os tratamentos, e a fonte de vitamina E (Rovimix 50% absorvato, produto comercial) foi diluída ao óleo de soja (1,5%) e incorporada à ração após extrusão. A dieta permaneceu estocada em freezer a -18°C para evitar perda da vitamina E pelo calor. A formulação base e a composição centesimal estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação base e composição das dietas experimentais.

Ingrediente	R1	R2	R3
Milho (%)	34,24	34,24	34,24
Farelo de trigo (%)	14,58	14,58	14,58
Farelo de arroz (%)	10,00	10,00	10,00
Farelo de soja (%)	28,41	28,41	28,41
Farinha de peixe (%)	11,70	11,70	11,70
Óleo de soja ¹ (%)	1,5	1,5	1,5
DL-Metionina (%)	0,38	0,38	0,38
L-Lisina (%)	0,19	0,19	0,19
Vitamina E (acetato de alfa-tocoferol, mg/kg)	0	200	400
Suplemento Vitamínico ² (%)	0,25	0,25	0,25
Suplemento Mineral ³ (%)	0,25	0,25	0,25
TOTAL	100	100	100
Composição Analisada			
MS (%)	90,24	89,87	89,85
ED (Kcal/kg) ⁴	3214	3214	3214
PB (%)	26,38	25,90	25,55
Lipídeos (%)	3,27	3,18	3,41
Cinzas (%)	7,77	7,71	7,72
CNN (%)	36,49	38,16	38,79
Atividade de água	0,572	0,576	0,574
Vitamina E (mg/kg)	24,45	135,98	230,74
Minerais⁵			
Ca (%)	0,46	0,46	0,46
P (%)	1,03	0,92	0,88
Mg (mg/kg)	29	29	28
Cu (mg/kg)	20	20	10
Fe (mg/kg)	190	190	190
Mn (mg/kg)	100	100	100
Zn (mg/kg)	80	80	70
Se (mg/kg)	10	10	10

¹ A vitamina E foi diluída ao óleo, adicionados após a extrusão;

² sem vitamina E; ingrediente/Kg de suplemento. Vitaminas: A=12.000UI; D₃= 2.000 UI; K₃= 5 mg; B12= 25 mg; B1= 2 mg; B2= 8 mg; B6= 2 mg; Biotina= 100 mg; Ácido Fólico = 0.5 mg; Ácido Pantotênico = 15 mg; Niacina = 40 mg; Colina = 350 mg. Nutremix, Brasil.

³Mistura Mineral: ingrediente/Kg de suplemento. Ferro= 40 mg; Cobre= 8 mg; Manganês= 70 mg; Cobalto= 0.5 mg; Iodo= 2 mg; Selênio= 0.2 mg; Zinco= 50 mg. Nutremix, Brasil.

Composição determinada com base nos dados obtidos em análises realizadas no Laboratório de Tecnologia de produtos de Origem Animal da FCA, Botucatu, segundo A.O.A.C. (1980).

⁴ ED calculada com base nos valores de ED da cada ingrediente.

⁵ Minerais em mg/Kg de ração, segundo método analítico de absorção atômica (A.O.A, 1980).

A quantidade da ração oferecida inicialmente foi calculada em cinco por cento do peso vivo dos peixes e, após condicionamento alimentar, ofertada até saciação aparente, duas vezes ao dia, e o consumo por período anotado.

3.5 - *Processamento*

Após nove semanas de alimentação, foi realizada a despesca com esvaziamento dos viveiros e retirada de todos os peixes. O abate foi realizado em caixas contendo gelo e água, na proporção 1:1. Os peixes foram então separados por tratamento e repetição, armazenados em isopores com gelo e transportados ao Departamento de Gestão Agroindustrial da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, de Botucatu. Cada lote foi descongelado e pesado, e uma amostra de 10 peixes de cada repetição foi eviscerada e filetada.

Os filés foram moídos em moedor de carne elétrico, para o aumento da sua superfície de contato e destruição da integridade de suas membranas celulares, com a finalidade de acelerar a sua oxidação lipídica devido a incorporação de oxigênio no tecido muscular (CLARK et al., 1999). Esses filés, então, foram processados em hambúrgueres de peixes (Tabela 2), recebendo nesse momento a adição ou não da vitamina E (100 ppm/kg de filé) e de condimentos.

Depois de homogeneizada, essa mistura foi enformada em tubos de PVC (revestidos com uma bolsa de polietileno) e congelada a -18°C . Após 24 horas, foi fatiada, com o auxílio de serra fita, e os hambúrgueres cortados congelados a -18°C , por 90 dias.

Tabela 2 – Formulação do Hambúrguer de Peixe.

Ingredientes	%
Filé de tilápia moído	98,8
Sal (do peso total do peixe moído)	1,0
Cebola desidratada	0,1
Alho desidratado	0,1

3.6 – Análises

3.6.1 – Variáveis de Desempenho

No início e no final do experimento foram realizadas biometrias, sendo registrados o comprimento total e o peso de cada indivíduo. A conversão alimentar aparente (CAA) foi calculada pela relação entre as médias de consumo da dieta e o ganho de peso médio de cada parcela. O ganho de peso (GP), o consumo de ração aparente (CRA), a taxa de crescimento específico (TCE) e a taxa de sobrevivência foram determinados para o período experimental pelas expressões abaixo:

$$CAA = (\text{Consumo médio})/\text{Ganho de Peso}$$

$$CRA = (\text{Consumo médio de ração por parcela})/\text{Número médio de peixes}$$

$$GP = (\text{Peso final} - \text{Peso inicial}) \times 100/\text{Peso inicial}$$

$$TCE = (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) \times 100/\text{Tempo}$$

$$S = (\text{n}^\circ \text{ inicial de peixes} - \text{n}^\circ \text{ final de peixes})/100$$

Foi feita uma avaliação do rendimento de filé (RF) de uma mostra de 10 peixes de cada parcela, utilizando-se a fórmula:

$$RF = \text{Peso do filé} \times 100/\text{Peso Total.}$$

3.6.2 – Análises Químicas

Foram retiradas quatro amostras de hambúrgueres de cada tratamento, por intervalo de tempo, e as análises realizadas em triplicata.

A oxidação lipídica foi avaliada pela formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB), segundo método de VYNCKE (1970). A quantidade de

malonaldeído, principal substância formada durante a oxidação e que reage com o ácido tiobarbitúrico, foi calculada pela equação da curva padrão: $y = 0,1152.x$ ($r^2 = 0,9962$).

As análises de umidade e das cinzas foram definidas através de secagem em estufa a 105° C até peso constante, da proteína bruta pelo método semimicro Kjeldahl e do extrato etéreo em aparelho de Soxhlet (AOAC, 1980).

A atividade de água da ração foi medida por analisador de atividade de água, Aqualab 3T, da Decagon Devices. A atividade de água (Aa) constitui-se em índice seguro para se avaliar o potencial de estabilidade biológica dos alimentos, especialmente em relação à deterioração por microorganismos (SOUZA, 2003). Os valores de Aa da ração mantiveram-se abaixo de 0,70, valores que não permitem o crescimento da maioria das bactérias, principalmente bactérias patogênicas que só se desenvolvem em Aa superiores a 0,85 (MELO FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Os minerais foram determinados segundo método analítico de absorção atômica, com lâmpada específica para cada mineral (AOAC, 1980). O fósforo inorgânico total e a fibra em detergente neutro (FDN) foram determinados pela metodologia descrita por SILVA & QUEIROZ (2004).

A vitamina E da ração foi determinada pela Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC), segundo metodologia descrita por Mestre Prates (2006).

Os carboidratos não estruturais (CNN) foram calculados por diferença, pela equação: $CNN (\%) = MS\% - (PB\% + Lipídios \% + FDN \% + Cinzas\%)$.

3.7 - Estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com 24 grupos experimentais e quatro repetições, em esquema fatorial 3x2x4, correspondendo a três níveis

de vitamina E nas dietas (zero mg, 100 mg e 200 mg / Kg de ração), 100 ppm de vitamina E por quilo de filé, adicionado ou não post mortem aos hambúrgueres e 4 tempos de avaliação (zero, 30, 60 e 90 dias de estocagem).

Os resultados dos parâmetros de desempenho: PF, GP e TEC foram analisados utilizando-se o peso inicial médio como covariante, analisados pelo programa estatístico SAEG, de Viçosa. Os dados de composição centesimal e MDA obtidos foram analisados pelo programa estatístico SAS, versão 6.12.

Nos resultados em que foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste Tukey – Kramer, ao nível de 5% de probabilidade.

4 - Resultados e Discussão

4.1 – Efeito do nível de suplementação de vitamina E no desempenho

Os resultados dos parâmetros de desempenho (GP, CAA, CRA, TCE e S), apresentados na Tabela 3, mostraram que não houve diferença significativa entre tratamentos, sugerindo que o nível de vitamina E nas rações não influenciou crescimento, ganho de peso, conversão ou consumo de ração durante o cultivo das tilápias.

Esses resultados estão de acordo com diversos autores que não observaram diferenças de desempenho entre peixes alimentados com rações contendo diferentes níveis de tocoferol. RUFF (2002a) não observou diferença de crescimento entre os tratamentos contendo 189 e 613 mg de vitamina E /kg de dieta para alabote do atlântico (*Hippoglossus hippoglossus*). HUANG et al. (2004) em estudos realizados com salmões (*Oncorhynchus kisutsh*), obtiveram ganhos de peso e taxas de crescimento semelhantes entre os peixes alimentados com 100 mg de vitamina E/kg de ração e o grupo controle. LYGREN et al. (2000) não encontraram diferenças de consumo de ração entre salmões do Atlântico (*Salmo salar*), alimentados com três níveis de vitamina E nas dietas. Assim como SCAIFE et al. (2000) que não encontraram diferenças de desempenho para salmões alimentados com dietas contendo 184; 573 e 865mg de vitamina E/kg.

KIRON et al. (2004) também não observaram diferenças no GP, TCE, CRA e CAA para trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com rações contendo 100mg e 1000mg de vitamina E/kg.

Tabela 3 – Parâmetros de desempenho, rendimento de filé e sobrevivência de tilápias nilóticas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina E.

Nível de Vit. E ¹	PF (g)	GP (%) ²	CRA (g) ³	CAA ⁴	TCE (%/dia) ⁵	RF (%) ⁶	S ⁷
Valor de F	0,88	0,88	0,17	0,79	0,86	8,15*	0,24
Média para:							
0 mg	484,70 ± 5,41	163,15 ± 2,06	480,18 ± 0,92	1,60 ± 0,34	1,54 ± 0,63	32,74 ± 1,29A	96,43 ± 3,59
100 mg	505,72 ± 15,61	174,26 ± 9,05	486,34 ± 7,08	1,48 ± 0,12	1,60 ± 0,56	31,70 ± 0,26AB	96,43 ± 3,59
200 mg	479,90 ± 10,21	158,22 ± 6,99	471,25 ± 8,00	1,74 ± 0,13	1,49 ± 0,49	29,88 ± 1,56B	87,86 ± 22,42

Médias seguidas de letras diferentes na vertical diferem entre si pelo teste de Tukey (P < 0,05). Peso final (PF), ganho de peso (GP), consumo de ração aparente (CRA), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE), rendimento de filé (RF) e sobrevivência (S). n = 140 peixes para cada tratamento, exceto para RF onde n=40.

¹ Níveis expressos em mg/kg de ração.

² GP = (Peso final - Peso inicial) x 100/Peso inicial;

³ CRA = (Consumo médio de ração por tratamento) / Número médio de peixes;

⁴ CAA = Consumo médio/ganho médio de peso;

⁵ TCE = (ln peso final – ln peso inicial) x 100/Tempo;

⁶ RF =(Peso do filé x 100)/Peso Total.

⁷ S = (n° inicial de peixes/ n° final de peixes)*100.

Porém, ao contrário do observado nesses experimentos, alguns trabalhos relataram diferenças no desempenho de espécies de peixes. LIN & SHIAU (2005) avaliaram o desempenho de garoupas (*Epinephelus malabaricus*) alimentadas durante oito semanas com dietas suplementadas com vitamina E (0, 100 e 200 mg/ kg de dieta) e observaram que o ganho de peso foi maior conforme o aumento da vitamina E na dieta. TOCHER et al. (2002) observaram que a sobrevivência e o crescimento da dourada (*Sparus aurata* L.) foram melhores com a suplementação, enquanto para “pregado” (*Scophthalmus maximus* L.) e “alabote” (*Hippoglossus hippoglossus*) não foram observadas essas diferenças de desempenho.

Outros trabalhos também revelaram relação positiva entre o melhor ganho de peso e o aumento no nível de vitamina E nas dietas de trutas (*Oncorhynchus mykiss*) (PUANGKAW et al., 2005) e perca amarela (*Perca flavescens*) (LEE & DABROWSKI, 2004). BAI & LEE (1998) trabalhando com juvenis de *Korean rockfish* (*Sebastes schlegeli*) alimentados com uma dieta sem vitamina E, observaram menor ganho de peso e pior conversão alimentar do que aqueles alimentados com dietas contendo 20–120 mg vitamina E/kg. No mesmo experimento, peixes que receberam dietas contendo altos níveis (500 mg/kg) de vitamina E também demonstraram respostas adversas em termos de crescimento. SHIAU & HZU (2002) também observaram menor ganho de peso em híbridos de tilápias alimentados com rações sem vitamina E.

A vitamina E nas dietas é essencial para melhorar o crescimento de peixes, sendo que maiores ganhos de peso e melhor conversão alimentar são obtidos com a utilização de dietas contendo valores de suplementação próximos ao recomendado para a espécie (PAUL et al., 2004). Baseados nessa afirmação, HALVER (2002), HUANG & HUANG (2004), SAU et al. (2004), e PAUL et al. (2004), sugeriram níveis ideais entre 80 a 100 mg de

vitamina E/kg de dieta para carpas (*Cyprinus carpio*), 80 mg de vitamina E/kg de dieta para híbridos de tilápias (*Oreochromis niloticus x O. aureus*), 131,91 mg/kg para alevinos de “rohu” (*Labeo rohita*) e 99 mg de vitamina E/kg de dieta para juvenis de “mrigal” (*Cin hinus mrigala*), respectivamente.

Com relação aos valores de rendimento de filé (RF), houve diferença significativa ($P < 0,05$), entre os tratamentos controle e com 200 mg de vitamina E / kg de dieta (Tabela 3). Os melhores resultados foram obtidos no grupo zero, porém as médias de todos os tratamentos mantiveram-se dentro dos padrões observados por outros autores.

De certa forma, o rendimento do filé depende, além da destreza do filetador, da forma anatômica do peixe, do tamanho da cabeça e do peso das vísceras, peles e nadadeiras (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994, SOUZA, 2003). Na literatura são encontrados dados de rendimentos de filés sem pele de tilápia do Nilo variando de 25,4% até 42%, em função do peso corporal, métodos de filetagem, remoção da pele e nadadeiras (SOUZA & MACEDO-VIEGAS, 2001; SOUZA et al., 1999).

SAMPAIO (2003) observou que a tilápia do Nilo, pesando em torno de 530 gramas, apresentou rendimento de filé de 37,34 a 31,96%, valores próximos aos observados no presente experimento. No entanto, SOUZA (2003) observou valores bem acima, obtendo rendimentos entre 37,28 a 40,47% para a mesma espécie. Assim, pode se sugerir que esses valores foram influenciados pelos fatores já mencionados acima, tornando difícil uma avaliação mais precisa dos resultados encontrados.

4.2 – Avaliação do efeito da vitamina E sobre a Composição Centesimal

A Tabela 4 mostra os resultados da análise de variância para a composição centesimal. Houve diferença na composição determinada ($P < 0,05$), sendo que a suplementação de vitamina E nas dietas, a adição *post mortem* e o tempo de estocagem influenciaram de diferentes maneiras todos os parâmetros analisados.

Tabela 4 – Análise de Variância para a composição centesimal de hambúrgueres de tilápia.

Fontes de Variação	Valores de F			
	Umidade	Cinzas	Proteína	Lipídios
Nível de Vitamina E nas rações	1,95 ns	4,91*	6,88*	0,56 ns
Adição <i>post mortem</i> de Vitamina E	0,35 ns	7,49*	13,59*	0,05 ns
Tempo de estocagem	14,06*	14,04*	7,36*	9,60*
Nível x Adição	6,73*	12,51*	1,33 ns	6,58*
Nível x Tempo	6,49*	6,97*	2,43*	1,18 ns
Adição x Tempo	9,58*	13,12*	4,83*	3,84*
Nível x Adição x Tempo	2,83*	6,98*	2,36*	14,45*

ns – não significativo, * - significativo ($P < 0,05$)

Os resultados da Tabela acima, nível e adição *post mortem* de vitamina E não influenciaram o teor de umidade e de lipídios, enquanto as suas interações sim. Houve interação entre nível e adição de vitamina E nos resultados das análises dos hambúrgueres, exceto para proteína. Nos resultados de lipídios não foi encontrado efeito da interação Adição x Tempo sobre sua porcentagem.

Alguns fatores como a alimentação, a idade, o peso, o estado fisiológico, e as diferentes regiões do corpo podem influenciar a composição centesimal do pescado (KATIKOU et al., 2001). Neste trabalho foram utilizados peixes de mesma idade, capturados no mesmo viveiro, e os hambúrgueres processados receberam a mesma

formulação (Tabela 2), para evitar fatores que pudessem influenciar nos resultados da análise.

Com relação ao efeito da interação nível e adição de vitamina E na composição centesimal do hambúrguer, a análise de variância (Tabela 4) apresentou efeito significativo da vitamina E na porcentagem de umidade, cinzas e lipídios dos hambúrgueres. As Tabelas 5, 6 e 7 apresentam os valores médios da composição segundo essa interação, no entanto não foi observado tendência de aumento ou redução nas porcentagens de umidade, cinzas ou lipídios com o aumento de vitamina E nas dietas ou com a adição *post mortem*.

Tabela 5 - Valores médios de umidade dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e adição *post mortem* de vitamina E.

Nível de vitamina E/kg dieta		Adição de vitamina E <i>post mortem</i>	
		Sim	Não
Inicial	0 mg	77,83±0,28aA	76,12±1,75bB
	100 mg	77,62±0,43aA	77,96±0,60aA
	200 mg	76,98±0,29aA	75,04±1,09bB
30 dias	0 mg	76,83±0,19aB	77,90±0,99aA
	100 mg	78,77±0,27aA	78,97±0,09aA
	200 mg	77,54±0,45aAB	77,64±0,70aA
60 dias	0 mg	75,59±0,81bB	77,22±0,35aA
	100 mg	73,55±3,19bC	77,40±0,70aA
	200 mg	77,65±0,62aA	77,04±0,11aA
90 dias	0 mg	77,83±0,23aA	77,21±0,61aA
	100 mg	78,14±0,52aA	77,74±0,92aA
	200 mg	78,17±0,36aA	77,63±0,75aA

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Na literatura, poucos artigos avaliam a composição centesimal de hambúrgueres de peixes. Recentemente, em dois trabalhos com hambúrgueres de tilápia nilótica congelados a -18°C , TOKUR et al. (2004) observaram média de 75,60% de umidade, 17,82% de

proteína, 5,29% de lipídios e 2,56% de cinzas; enquanto GRÝSCHEK et al. (2002) determinaram média de 75,57% de umidade, 14,96% de proteína, 4,82% de lipídios e 2,50% de cinzas.

Tabela 6 - Valores médios de cinzas dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e adição *post mortem* de vitamina E.

Nível de vitamina E/kg dieta		Adição de vitamina E <i>post mortem</i>	
		Sim	Não
Inicial	0 mg	2,05±0,07bA	2,33±0,07aAB
	100 mg	2,13±0,09aA	2,21±0,08aB
	200 mg	2,09±0,04bA	2,46±0,15aA
30 dias	0 mg	2,11±0,05aA	2,15±0,08aA
	100 mg	2,06±0,11aA	2,07±0,03aA
	200 mg	2,07±0,14aA	2,13±0,04aA
60 dias	0 mg	2,38±0,08aB	2,18±0,06bA
	100 mg	2,62±0,30aA	2,11±0,08bA
	200 mg	1,89±0,13bC	2,16±0,04aA
90 dias	0 mg	1,95±0,08bA	2,25±0,02aA
	100 mg	2,06±0,13aA	2,10±0,07aAB
	200 mg	1,99±0,06aA	1,98±0,18aB

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Esses resultados mostram valores semelhantes de umidade e cinzas, maiores de lipídios e menores de proteínas comparados aos teores apresentados na Tabela 5. As variações nas porcentagens de lipídios e de proteínas podem estar relacionadas à formulação dos hambúrgueres, pois ambos foram processados a partir de carne mecanicamente separada (CMS), que possui maior quantidade de gordura que o filé, além de receberam condimentos, farinhas de milho e de trigo, o que poderia diminuir a porcentagem protéica do produto pronto.

Tabela 7 - Valores médios de lipídios dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e adição *post mortem* de vitamina E.

Nível de vitamina E/kg dieta		Adição de vitamina E <i>post mortem</i>	
		Sim	Não
Inicial	0 mg	0,63±0,01aA	-
	100 mg	0,56±0,03aA	0,55±0,11aA
	200 mg	0,64±0,02aA	0,43±0,11aA
30 dias	0 mg	1,46±0,06aA	0,71±0,03bB
	100 mg	0,99±0,08aB	0,75±0,12aB
	200 mg	0,67±0,51bB	1,50±0,15aA
60 dias	0 mg	0,15±0,02bC	1,47±0,06aA
	100 mg	1,25±0,35aA	0,76±0,14bB
	200 mg	0,86±0,01aB	1,05±0,11aB
90 dias	0 mg	1,35±0,49aA	0,71±0,13bB
	100 mg	0,91±0,01aB	0,63±0,06aB
	200 mg	0,76±0,04aB	1,00±0,20aA

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Alguns trabalhos também avaliaram a composição dos filés de tilápias. GRÏSCHEK et al. (2002) comparando os valores entre hambúrgueres e filés observaram teores de 17,08% de proteína e 1,99% de lipídio para os filés frescos de tilápias, valores mais próximos dos encontrados no presente experimento, onde os hambúrgueres foram formulados somente com os filés das tilápias. SOUZA et al. (2004) encontraram valores de 26,65% de proteína e 2,55% de lipídios, superiores aos resultados da Tabela 7.

Resultados opostos são descritos por outros trabalhos que não encontraram diferenças na composição entre grupos suplementados com diversos níveis de vitamina E nas rações. HUANG & HUANG (2004) relataram valores mais próximos aos encontrados nesse experimento, 16,1; 16,2 e 16,4% de PB; 1,07; 0,93 e 1,05% de cinzas, e 1,56; 1,53 e 1,52% de lipídios, para filés de tilápias alimentadas com dietas suplementadas com zero,

120 e 200 mg de vitamina /kg de dieta, não observando diferença entre os tratamentos usados.

Resultados semelhantes com espécies diferentes também foram encontrados por outros autores. PIRINI et al. (2000) analisaram a quantidade do lipídio no músculo de dourada alimentadas com dietas enriquecidas com vitamina E (100, 200, 400 e 800 mg / kg de ração) durante 87 dias e não observaram diferença significativa nos seus valores durante a estocagem dos filés. CHAIYAPECHARA et al. (2003) também não observaram diferenças na composição de trutas arco-íris, alimentadas com níveis de 300 e 1500 mg de vitamina E/kg de ração, que apresentaram 70,9 e 71,2% de umidade, 9,7 e 9,5% de lipídios, 18,4% de proteína bruta e 1,5% de cinzas para os grupos de 300 e 1500 mg/kg, respectivamente.

Há certa dificuldade de comparação entre os resultados encontrados, porque muitos trabalhos na área de aquicultura não apresentam dados reais, sendo que a somatória das porcentagens de umidade, proteína, lipídios e cinzas que deveria resultar em valores próximos de 100%, em alguns casos, ultrapassam esse limite, como observado por SIQUEIRA (2001) ou em outros, os valores são fornecidos em MS como em SAU et al. (2004). Além disso, não existem trabalhos que avaliam a interação da suplementação *in vivo* e *in vitro* de antioxidantes como a vitamina E na composição centesimal de peixes.

Em relação ao efeito da interação nível e tempo de estocagem, as Tabelas 8 e 9 representam os resultados das análises da composição centesimal dos hambúrgueres de tilápia, sendo que não houve efeito dessa interação sobre a porcentagem de lipídios.

Tabela 8 - Valores médios da composição centesimal dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e período de estocagem, sem adição *post mortem* de vitamina E.

	Intervalo (dias)	Nível de vitamina E/kg dieta		
		0 mg	100 mg	200 mg
Umidade (%)	0	76,12 ± 1,75bB	77,96 ± 0,60aA	75,04 ± 1,09bB
	30	77,90 ± 0,99aA	78,97 ± 0,09aA	77,64 ± 0,70aA
	60	77,22 ± 0,35aAB	77,40 ± 0,70aA	77,04 ± 0,11aA
	90	77,21 ± 0,61aAB	77,74 ± 0,92aA	77,63 ± 0,75aA
Cinzas (%)	0	2,33 ± 0,07abA	2,21 ± 0,08bA	2,46 ± 0,15aA
	30	2,15 ± 0,08aA	2,07 ± 0,03aA	2,13 ± 0,04aB
	60	2,18 ± 0,06aA	2,11 ± 0,08aA	2,16 ± 0,04aB
	90	2,25 ± 0,02aA	2,10 ± 0,07abA	1,98 ± 0,18bB
Proteína Bruta (%)	0	20,67 ± 1,27aA	19,97 ± 0,69aA	20,13 ± 0,74aA
	30	18,03 ± 0,51aB	17,97 ± 0,67aB	18,92 ± 0,67aA
	60	19,61 ± 0,86aAB	19,36 ± 0,53aAB	19,14 ± 0,31aA
	90	19,61 ± 1,83aAB	18,00 ± 0,61bB	19,59 ± 0,19aA

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Comparando-se os três níveis de suplementação nas dietas (Tabela 8), a umidade variou com o tempo de estocagem nos tratamentos com 0mg e 200mg e entre os níveis apenas no tempo zero, permanecendo igual nos demais intervalos analisados. A porcentagem de cinzas variou entre os três tratamentos nos tempos zero e com 90 dias, e no grupo com 200mg em todos intervalos analisados. A proteína variou entre os três grupos após 90 dias de estocagem, e com o tempo de estocagem dentro de cada grupo, com exceção do tratamento com 200mg.

Tabela 9 - Valores médios da composição centesimal dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação nível de vitamina E e período de estocagem, com adição *post mortem* de vitamina E.

	Intervalo (dias)	Nível de vitamina E/kg dieta		
		0 mg	100 mg	200 mg
Umidade (%)	0	77,83±0,28aA	77,62±0,43aA	76,98±0,29aA
	30	76,83±0,19aA	78,77±0,27aA	77,54±0,45aA
	60	75,59±0,81aB	73,55±3,19bB	77,65±0,62aA
	90	77,83±0,23aA	78,14±0,52aA	78,17±0,36aA
Cinzas (%)	0	2,05±0,07aB	2,13±0,09aB	2,09±0,04aA
	30	2,11±0,05aB	2,06±0,11aB	2,07±0,14aAB
	60	2,38±0,08bA	2,62±0,30aA	1,89±0,13cB
	90	1,95±0,08aB	2,06±0,13aB	1,99±0,06aAB
Proteína Bruta (%)	0	19,97±0,39aA	17,79±1,17bA	18,60±0,61abA
	30	18,58±0,54abA	17,85±0,61bA	19,64±0,84aA
	60	18,78±0,85aA	18,54±0,78aA	19,41±0,66aA
	90	16,35±1,82bB	17,80±0,16abA	18,98±1,68aA

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Conforme os dados da Tabela 9, nos tratamentos com 0mg e 100mg, a umidade diminuiu, enquanto as cinzas aumentaram aos 60 dias de estocagem. A proteína não variou com 60 dias entre os três níveis de suplementação, e durante os 60 dias de congelamento dentro do mesmo grupo, situação oposta à encontrada nos outros parâmetros determinados anteriormente. Os lipídios não sofreram variação entre os três grupos no intervalo zero, e permaneceram estáveis no grupo com 200mg e adição *post mortem* de vitamina E (100 ppm).

Esses resultados apresentados estão de acordo com SAU et al. (2004) que observaram diferenças significativas ($P < 0,05$) na proteína da carcaça de “rohu” estocada a 80°C segundo o nível de suplementação de vitamina E das dietas. Segundo os mesmos autores, as carcaças do grupo que recebeu rações com 200 mg/kg apresentaram menor

porcentagem média de proteína bruta (57,17%) comparada aos grupos com 100mg/kg (58,34%) e 0mg/kg (58,34%).

As Tabelas 10, 11, 12 e 13 apresentam os valores médios da composição segundo a interação período de estocagem e adição *post mortem* de vitamina E. Os resultados demonstram variação em todos os parâmetros analisados, tanto com ou sem adição de vitamina *post mortem*, sendo que em alguns casos, como na proteína, essa variação ocorreu em apenas um grupo durante um único intervalo de tempo de estocagem.

Tabela 10 - Valores médios de umidade dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição *post mortem* de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg de ração).

		Adição de vitamina E <i>post mortem</i>	
Intervalo (dias)		Sim	Não
0 mg	0	77,83±0,28aA	76,12±1,75bB
	30	76,83±0,19aA	77,90±0,99aA
	60	75,59±0,81bB	77,22±0,35aAB
	90	77,83±0,23aA	77,21±0,61aAB
100 mg	0	77,62±0,43aA	77,96±0,60aA
	30	78,77±0,27aA	78,97±0,09aA
	60	73,55±3,19bB	77,40±0,70aA
	90	78,14±0,52aA	77,74±0,92aA
200 mg	0	76,98±0,29aA	75,04±1,09bB
	30	77,54±0,45aA	77,64±0,70aA
	60	77,65±0,62aA	77,04±0,11aA
	90	78,17±0,36aA	77,63±0,75aA

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Porém, se avaliarmos as variações ocorridas, os resultados dessas tabelas estão de acordo com SIQUEIRA (2001) que analisou filés de tilápia nilótica, refrigerados de 0,5 a 1°C e observou variação na sua composição centesimal. Os valores de umidade

determinados nos intervalos zero, 20 e 30 dias foram 78%, 60,1% e 69,6%, respectivamente. A proteína variou de 11,0% a 14,1% durante os primeiros 30 dias de armazenamento e os lipídios tiveram aumento de 18,3% a 30,1% no mesmo período. Apesar da porcentagem lipídica estar bem acima do normal, esses dados demonstram que pode existir variação da composição centesimal durante os períodos de estocagem.

Tabela 11 - Valores médios de cinzas dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição *post mortem* de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg ração).

		Adição de vitamina E <i>post mortem</i>	
		Sim	Não
	Intervalo (dias)		
0 mg	0	2,05±0,07bB	2,33±0,07aA
	30	2,11±0,05aB	2,15±0,08aA
	60	2,38±0,08aA	2,18±0,06bA
	90	1,95±0,08bB	2,25±0,02aA
100 mg	0	2,13±0,09aB	2,21±0,08aA
	30	2,06±0,11aB	2,07±0,03aA
	60	2,62±0,30aA	2,11±0,08bA
	90	2,06±0,13aB	2,10±0,07aA
200 mg	0	2,09±0,04bA	2,46±0,15aA
	30	2,07±0,14aAB	2,13±0,04aB
	60	1,89±0,13bB	2,16±0,04aB
	90	1,99±0,06aAB	1,98±0,18aB

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Tabela 12 - Valores médios de proteína dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição *post mortem* de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg ração).

	Intervalo (dias)	Adição de vitamina E <i>post mortem</i>	
		Sim	Não
0 mg	0	19,97±0,39aA	20,67±1,27aA
	30	18,58±0,54aA	18,03±0,51aB
	60	18,78±0,85aA	19,61±0,86aAB
	90	16,35±1,82bB	19,61±1,83aAB
100 mg	0	17,79±1,17bA	19,97±0,69aA
	30	17,85±0,61aA	17,97±0,67aB
	60	18,54±0,78aA	19,36±0,53aAB
	90	17,80±0,16aA	18,00±0,61aB
200 mg	0	18,60±0,61bA	20,13±0,74aA
	30	19,64±0,84aA	18,92±0,67aA
	60	19,41±0,66aA	19,14±0,31aA
	90	18,98±1,68aA	19,59±0,19aA

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Tabela 13 - Valores médios de lipídios dos hambúrgueres de tilápia segundo a interação período de estocagem e adição *post mortem* de vitamina E (grupos zero, 100 e 200 mg de vitamina E/kg ração).

Intervalo (dias)	Adição de vitamina E <i>post mortem</i>	
	Sim	Não
0 mg		
0	0,63±0,01B	-
30	1,46±0,06aA	0,71±0,03bB
60	0,15±0,02bC	1,47±0,06aA
90	1,35±0,49aA	0,71±0,13bB
100 mg		
0	0,56±0,03aB	0,55±0,11aA
30	0,99±0,08aA	0,75±0,12aA
60	1,25±0,35aA	0,76±0,14bA
90	0,91±0,01aAB	0,63±0,06aA
200 mg		
0	0,64±0,02aA	0,43±0,11aC
30	0,67±0,51bA	1,50±0,15aA
60	0,86±0,01aA	1,05±0,11aB
90	0,76±0,04aA	1,00±0,20aB

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Os gráficos 1 a 4 representam o comportamento da composição química dos hambúrgueres de tilápias, segundo a interação tripla: nível x adição *post mortem* x período de estocagem. Nota-se que não há uma tendência nessas variações, que foram aleatórias e independentes da quantidade de vitamina E nas dietas, da sua adição *post mortem* ou mesmo do tempo de estocagem congelada. Porém, o tratamento com 200 mg de vitamina E/kg de ração e com adição *post mortem* de tocoferol apresentou menor variação durante os 90 dias de estocagem.

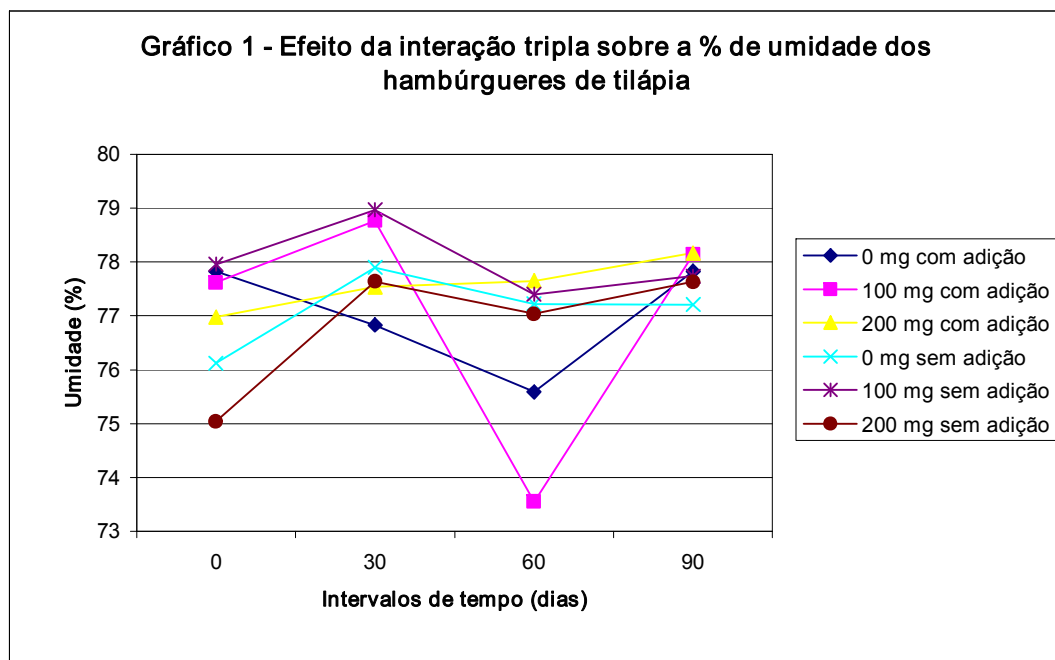


Gráfico 2 - Efeito da interação tripla sobre a % de cinzas dos hambúrgueres de tilápia

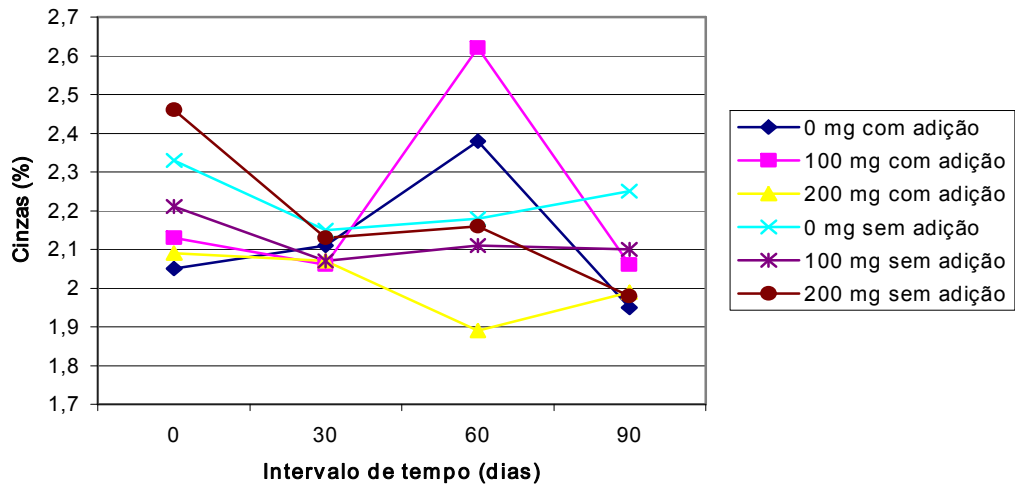
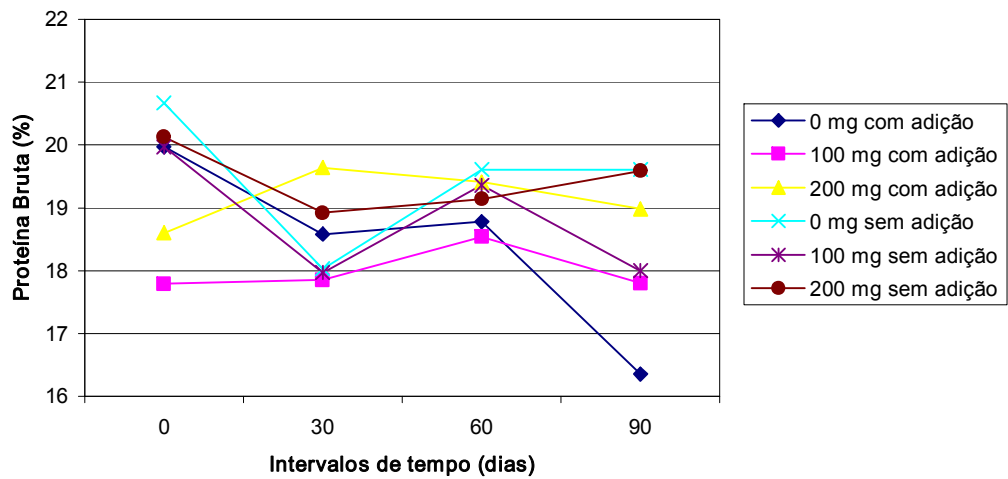
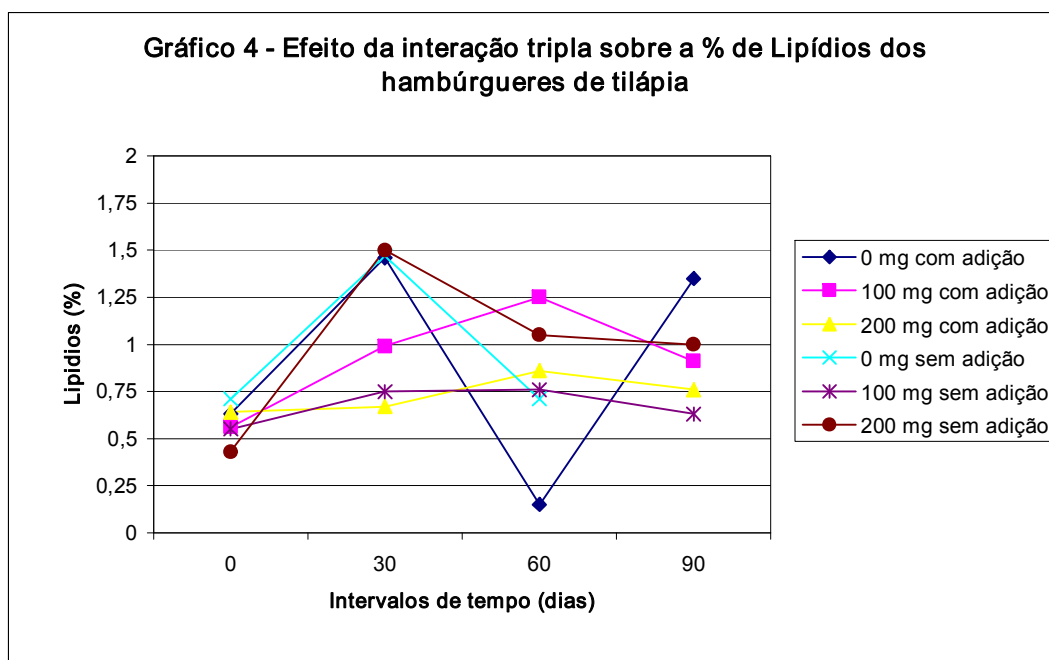


Gráfico 3 - Efeito da interação tripla sobre a % de proteína bruta dos hambúrgueres de tilápia





Na literatura, existem vários trabalhos que avaliam a oxidação lipídica em peixes durante o armazenamento congelado, porém nenhum deles faz acompanhamento da composição química neste período. Para corroborar com esta afirmativa, utilizou-se uma fonte de pesquisa bibliográfica, amplamente utilizada para trabalhos com tecnologia de alimentos, o *Food Science and Technology Abstract* (FSTA), que relacionou 7406 referencias com o termo composição química (*chemical composition*) e 3338 com estocagem congelada (*frozen storage*). Entretanto, ao combinar os dois termos são encontradas apenas 47 referencias, sendo apenas 16 utilizando peixes, no período de 1969 até 2005. Das 16 referencias, muitas se relacionam a análise de surimi ou de peixe moído (“minced fish”) e àquelas que se referem a peixes, algumas são utilizadas neste trabalho. Esta falta de dados pode ser devido à dificuldade em se explicar variações da composição química que ocorrem durante o armazenamento

Alguns trabalhos relataram a ocorrência de variações na composição centesimal de peixes durante a estocagem. LOSADA et al. (2005) observaram variações na umidade (77 a 81%) e dos lipídios (12 a 37%) em filés de “*horse mackerel*” estocados em gelo durante 22

dias. AUBOURG et al. (2002) também verificaram alterações dos teores de umidade durante o armazenamento congelado. Ambos os autores explicam que as diferenças encontradas podem ser atribuídas às variações que ocorrem de peixe para peixe e não pelas condições ou pelo tempo de estocagem. No presente experimento, foi utilizada uma massa homogênea composta por filés de vários peixes, eliminando-se essa influencia individual, e as variações na composição dos hambúrgueres encontradas durante a estocagem congelada foram mínimas, não afetando o valor nutricional do produto.

Uma possível explicação para variação encontrada neste trabalho pode estar relacionada com a atividade de água (Aa) do hambúrguer. Durante o congelamento apenas a água livre e a água ligada, se congelam a 0°C e a -18°C, respectivamente. Uma pequena porção da água que está fortemente ligada às proteínas, no caso das carnes, não é congelada (HARVIE, 1998). Como se trabalhou com produto moído, o rompimento das membranas plasmáticas do filé do pescado pode levar a desnaturação das proteínas, que perdem sua capacidade de se ligar com a água, provocando interações que vão afetar mais ainda a qualidade, e causar variação da composição química dos hambúrgueres.

Recentemente alguns trabalhos têm descrito o mecanismo de formação de cristais de gelo como um dos fatores que causam modificações morfológicas na estrutura de carnes congeladas (Do et al., 2004). No entanto, essas interações e suas conseqüências necessitam de tecnologia tri-dimensional e um sistema de processamento de micro imagens para descrevê-las, recursos não disponíveis durante as análises dos hambúrgueres.

4.5 – Avaliação das Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (SRATB)

O objetivo da suplementação de vitamina E nas dietas, assim como a adição de antioxidantes durante o processamento é retardar a oxidação lipídica. A Tabela 14 mostra

claramente a ação antioxidante da vitamina E, pois os resultados da análise de variância demonstraram que a suplementação de vitamina E nas dietas e sua adição *in vitro* influenciaram na qualidade final dos hambúrgueres de tilápia, diminuindo a oxidação durante o período de estocagem. Houve efeito da interação da vitamina *in vivo* com a adição *post mortem*, bem como do tempo de estocagem congelada, além do efeito da interação tripla, tempo de estocagem (P), nível de vitamina E (N) nas dietas e adição *post mortem* (A).

Tabela 14 – Valores médios de SRATB dos hambúrgueres segundo o nível de suplementação nas dietas (N), a adição post mortem (A) e o tempo de estocagem (P).

Fator de variação	SRATB (mg de malonaldeído/kg)
Média para Nível de Vitamina E (N):	
0mg (N1)	3,51
100mg (N2)	2,41
200mg (N3)	1,66
Média para Adição post mortem (A):	
Sim	2,72
Não	2,34
Média para Períodos de estocagem (P):	
P1 = inicial	1,91
P2 = 30dias	2,81
P3 = 60dias	2,22
P4 = 90dias	3,16
	Valores de F
Nível de vitamina E (N)	186,35**
Adição post mortem (A)	23,96**
Períodos de estocagem (P)	54,68**
Interação N x A	15,8**
Interação N x P	8,42**
Interação A x P	18,59**
Interação N x A x P	3,87*
C.V. (%)	14,9

** significativo (P<0,01).

A Tabela 15 apresenta os valores da oxidação medidos em mg de malonaldeído/kg de hambúrguer segundo o efeito da interação nível de vitamina E nas rações e adição *post mortem*, durante os 90 dias de estocagem. Os resultados demonstram que os menores valores, iniciais e aos 60 dias de estocagem, de MDA foram encontrados para o grupo com suplementação de 200mg de vitamina E/kg de ração, sem adição *post mortem* de vitamina E. Nos demais tratamentos, a suplementação nas dietas de vitamina E foi eficiente quando comparado ao grupo controle, sendo que a interação nível de suplementação e adição *post mortem* apresentou efeito positivo na inibição da oxidação lipídica.

Tabela 15 – Valores médios de SRATB (mg/kg) segundo a interação nível de suplementação e adição *post mortem* de vitamina E.

		<i>Adição Post Mortem</i>	
Níveis de Vitamina E/kg		Sim	Não
Inicial (P1)	0 mg	3,47± 0,60bB	2,78± 0,50aB
	100 mg	1,34± 0,46aA	1,26± 0,10aA
	200 mg	1,67± 0,37bA	0,94± 0,24aA
30 dias (P2)	0 mg	3,03± 0,19aC	5,16± 0,57bC
	100 mg	2,41± 0,62aB	3,20± 0,30bB
	200 mg	1,45± 0,37aA	1,63± 0,17aA
60 dias (P3)	0 mg	2,38 ± 0,11aB	3,21 ± 0,35bC
	100 mg	2,33 ± 0,80aB	2,38 ± 0,26aB
	200 mg	1,60 ± 0,18aA	1,42 ± 0,21aA
90 dias (P4)	0 mg	3,22 ± 0,40aB	4,79 ± 0,65bC
	100 mg	3,02 ± 0,17aB	3,34 ± 0,48aB
	200 mg	2,12 ± 0,28aA	2,47 ± 0,48aA

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=24).

Muitos trabalhos também têm demonstrado efeito antioxidante da vitamina E, por apresentar menores taxas de oxidação conforme maior nível de suplementação nas dietas para diversas espécies de peixes. HUANG et al. (2004) encontraram valores de SRATB de

36,3 e 23,5 nmol de MDA/kg de filés de salmões para dietas contendo zero e 100 mg de vitamina E/kg. HUANG & HUANG (2004) trabalhando com híbridos de tilápias (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) observaram valores de 2,16; 1,87 e 1,77 nmol de malonaldeído/Kg de filés, para dietas contendo zero, 120 e 200 mg de vitamina E/kg, sendo que os menores valores de MDA foram encontrados nos níveis acima de 100mg de vitamina E/kg de ração.

Com relação aos valores encontrados, KE et al. (1984) relataram valores inferiores a 0,576 mg MDA/ kg são baixos, ou indicadores de nenhuma rancificação, de 0,648 a 1,44 mg MDA/ kg como levemente rançosos, e valores superiores a 1,51 como inaceitáveis. KELLEHER et al. (1994) observaram que valores de 0,9 a 1,5 mg de malonaldeído/Kg são acompanhados de odor desagradável. Dessa forma, segundo esses autores, a suplementação sem adição de vitamina E mostrou níveis de MDA aceitáveis no período inicial.

Entretanto, inúmeros fatores como o método utilizado para determinar as SRATB (destilação ou extração ácida), o tipo de papel filtro usado na filtração das amostras, o peso das amostras, a influência da adição do BHT durante a análise, o tempo de espera entre as leituras das amostras no espectrofotômetro, o manuseio e a forma de estocagem das amostras podem influenciar nos resultados da análise (GRAU et al., 2000); por isso a determinação de SRATB torna-se útil para comparar valores em um determinado experimento, onde foi utilizada a mesma metodologia para todas as amostras analisadas.

A Tabela 16 mostra o efeito da interação nível de vitamina E nas dietas e período de estocagem nas taxas de oxidação lipídica. Os resultados mostraram que o maior nível de suplementação de vitamina E nas dietas (200 mg/kg) foi mais eficiente na preservação da qualidade dos hambúrgueres de tilápia, quando comparado aos outros grupos. O grupo com

100 mg de vitamina E/kg, quantidade referente às exigências da espécie segundo o NRC (1993), também demonstrou redução da oxidação, porém em menores proporções.

Diversos trabalhos encontraram resultados semelhantes aos da Tabela 16, que apresentaram menor quantidade de MDA nos peixes alimentados com diferentes níveis de vitamina E/kg de ração. Em salmões do Atlântico (*Salmo salar*), dietas contendo 167, 521 e 786 ppm vitamina E/kg de ração mostraram significativa influência na preservação dos lipídios nos filés mantidos a 4° C por 12 dias (ONIBI et al., 1996). TOCHER et al. (2002) observaram maiores valores de SRATB em peixes alimentados com dietas deficientes em vitamina E, e menores em dietas contendo 1000 mg de vitamina E/kg.

Tabela 16 – Valores médios de SRATB (mg/kg) em hambúrgueres de filés de tilápias nilóticas na interação entre nível de vitamina E/kg de ração e tempo de estocagem.

Intervalo (dias)	Nível de vitamina E/kg dieta		
	0 mg	100 mg	200 mg
0	2,78±0,50bA	1,26±0,10abA	0,94±0,24aA
30	5,16±0,57cB	3,20±0,30bC	1,63±0,17aB
60	3,21±0,35cA	2,38±0,26bB	1,42±0,21aAB
90	4,79±0,65cB	3,34±0,48bC	2,47±0,48aC

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

RUFF et al. (2002b) também analisaram a quantidade de SRATB para filés de pregados (*Scophthalmus maximus*) durante nove dias de estocagem em gelo, sendo que os valores de MDA foram significativamente maiores ($P < 0,001$) em peixes alimentados com dietas contendo 72 mg/kg de acetato α -tocoferil. Outros estudos com a mesma espécie, utilizando-se uma dieta comercial suplementada com acetato de tocoferol em níveis de 100, 500 e 1000 mg/kg por 15 semanas, apresentaram menores níveis de oxidação lipídica

e menor perda da coloração dos seus filés estocados no gelo quando comparado ao grupo controle (RUFF et al., 2003).

Resultados semelhantes foram observados por GATTA et al. (2000), que investigaram a qualidade dos filés frescos de robalos (*Dicentrarchus labrax*) alimentados com quatro dietas contendo 139, 254, 493 e 942 mg de vitamina E/kg durante 87 dias, e observaram que os valores de oxidação lipídica analisados pelo método de SRATB foram estatisticamente diferentes apenas para o grupo com menor suplementação quando comparado aos demais.

Diferentemente dos resultados encontrados neste trabalho (Tabela 16), níveis menores que 100 mg de vitamina E/kg de ração foram considerados baixos e insuficientes na prevenção da oxidação lipídica, segundo alguns autores. RUFF et al. (2002a) demonstraram que níveis inferiores a 189 mg tocoferol/kg dieta não foram suficientes para proteger os filés de pregado (*Scophthalmus maximus*) da oxidação lipídica, após seis semanas de suplementação.

A Tabela 17 mostra a influência da interação adição *post mortem* de 100 ppm de vitamina E e tempo de estocagem, na oxidação lipídica dos hambúrgueres de tilápia. Os resultados demonstram que somente a adição da vitamina E durante o processamento foi menos eficiente na prevenção da oxidação dos hambúrgueres, pois os níveis de MDA determinados foram maiores quando comparados aos grupos que receberam a vitamina E na ração.

Poucos trabalhos comparam a utilização da vitamina E *in vivo* à *in vitro*. Isto porque a suplementação nas rações tem comprovado ser mais efetiva quanto sua utilização *in vitro*, devido a sua melhor incorporação nas membranas (BUCKLEY & MORRISSEY, 1992; MORRISSEY et al., 1998; ERICKSON, 2002). No presente trabalho, a adição *post mortem*

realizada nos grupos com suplementação de vitamina na ração teve o objetivo de avaliar a interação entre diferentes formas de administração da vitamina E, e um possível efeito pró-oxidante, devido à alta concentração dessa vitamina nos hambúrgueres.

Os resultados demonstraram que a adição foi mais eficiente em todos os tempos de estocagem analisados, exceto para o tratamento controle, que obteve maiores valores de MDA/Kg de hambúrguer comparado ao grupo que recebeu somente adição *post mortem*. Esses valores estão de acordo com GEORGE et al. (2000), que trabalhando com a adição “in vitro” de vitamina E observaram um efeito protetor que reduziu a oxidação causada por estresse em células de carpas.

Tabela 17 – Valores médios de SRATB segundo a interação tempo de estocagem e adição *post mortem* de vitamina E.

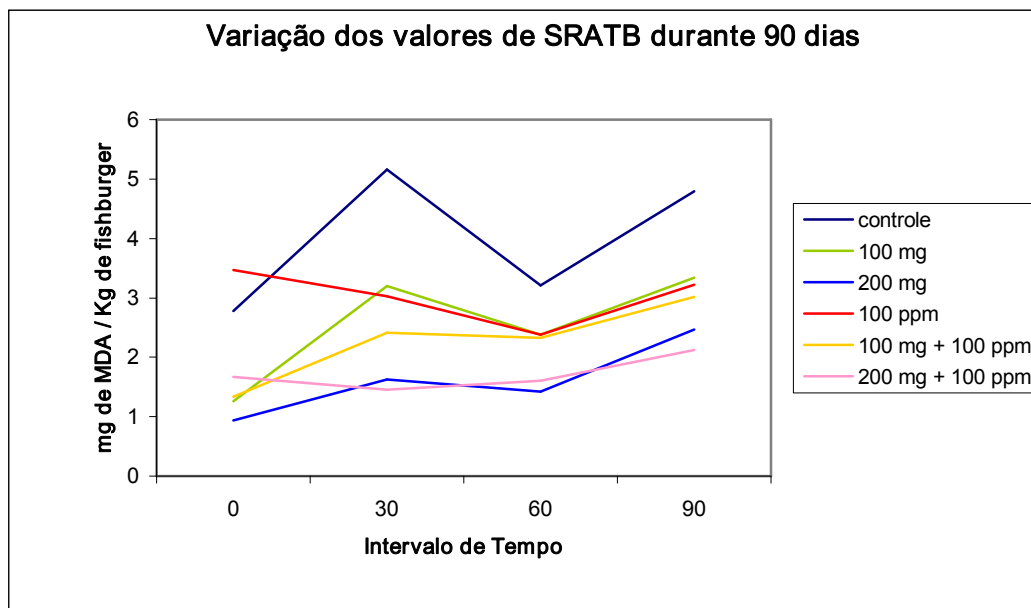
Níveis	Tempo (dias)	Adição Post Mortem	
		Sim	Não
0 mg	0	3,47±0,60bB	2,78±0,50aA
	30	3,03±0,19aAB	5,16±0,57bB
	60	2,38±0,11aA	3,21±0,35bA
	90	3,22±0,40aB	4,79±0,65bB
100 mg	0	1,34±0,46aA	1,26±0,10aA
	30	2,41±0,62aC	3,20±0,30bC
	60	2,33±0,80aB	2,38±0,26aB
	90	3,02±0,17aC	3,34±0,48aC
200 mg	0	1,67±0,37aA	0,94±0,24aA
	30	1,45±0,37aA	1,63±0,17bB
	60	1,60±0,18aA	1,42±0,21bAB
	90	2,12±0,28aA	2,47±0,48bC

Médias seguidas de mesmas letras não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas). Análises de quatro amostras realizadas em triplicata (n=12).

Em relação à interação tempo de estocagem, nível de suplementação e adição de vitamina E *post mortem* houve aumento dos valores de SRATB nos hambúrgueres do

período inicial aos 30 dias de estocagem. Depois desse período, ocorreu leve redução desses valores, indicando menores taxas de oxidação lipídica. Com 90 dias de estocagem, houve novamente aumento dos valores de SRATB que pode ser explicado pela oxidação de proteínas, levando a formação de aldeídos e outros compostos que têm capacidade de reagir com o TBA formando um cromógeno rosa. O Gráfico um ilustra melhor o efeito da interação Período, nível e adição post mortem de tocoferol na variação de SRATB durante os 90 dias de armazenamento.

Gráfico 5 – Variação dos Valores de SRATB determinados nos intervalos zero, 30, 60 e 90 dias em hambúrgueres de tilápia nilótica.



TOKUR et al. (2004) também observaram esse tipo de variação, encontrando valores de SRATB de 0,028 no tempo zero, 0,045 com 30 dias, 0,059 com 60 dias, 0,041 mg de MDA / Kg com 90 dias e 0,142mg de MDA/Kg no sétimo mês de estocagem, em análises realizadas em hambúrgueres de tilápia congelados (-18°C).

SIQUEIRA (2001) observou aumento de 0,26mg de MDA/Kg, no primeiro dia de estocagem, a 0,36mg de MDA/Kg de filés de tilápias após um mês de refrigeração a 1°C.

SANT'ANA & FERNANDES (2000) avaliaram a oxidação lipídica em filés de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) armazenados congelados (-18°C) e observaram esse aumento gradativo das SRATB, estando a quantidade de MDA em torno de 0,41; 0,62; 0,59 e 1,49mg/Kg de filé no início e após 30, 60 e 90 dias de armazenamento. AUBOURG et al. (2002) também relataram comportamento semelhante nos filés de “horse mackerel” (*Trachurus trachurus*), que apresentaram valores de 0,10; 0,25 e 0,38mg de MDA/Kg na primeira análise e após 30 e 60 dias de armazenamento a -20°C.

Assim, conforme os resultados obtidos nas análises de TBA, pode-se concluir que a suplementação com 200mg de vitamina E/kg de ração, juntamente com a adição de 100ppm de vitamina E durante o processamento foi o tratamento mais eficiente na preservação dos hambúrgueres de tilápias nilóticas estocados congelados durante 90 dias. Porém, mesmo em baixas concentrações, a suplementação de vitamina E também preveniu o hambúrguer da oxidação lipídica quando comparado ao grupo controle.

5 – Conclusões

O nível de vitamina E nas rações não influenciou nos parâmetros de desempenho: crescimento, ganho de peso, conversão, consumo de ração e sobrevivência durante o cultivo das tilápias;

A composição química variou dentro dos valores encontrados para pescados, sendo que a suplementação de vitamina E nas dietas, a adição *post mortem* e o tempo de estocagem influenciaram de diferentes maneiras os parâmetros analisados.

A suplementação na dieta da vitamina E protegeu os hambúrgueres da oxidação lipídica de forma mais eficiente do que a adição *in vitro*.

A interação da suplementação de vitamina E nas rações e a adição *in vitro* resultou em maior redução nas taxas de oxidação, sendo que a suplementação com 200mg de vitamina E/kg de ração, juntamente com a adição de 100ppm de vitamina E durante o processamento foi o tratamento mais eficiente na preservação dos hambúrgueres de tilápias nilóticas estocados congelados durante 90 dias.

6 - Referências

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists International**, 16th ed. Arlington, 1980. 937 p.

ANDRIGUETTO, J. M. **Nutrição animal**. 4. ed. São Paulo: Nobel, 1990. 395 p.

ARUOMA, O. I. Free radicals and food. **Chemistry in Britain**, v. 29, n. 3, p. 210-214, 1993.

AUBORG, S. P. Lipid damage during the frozen storage of an underutilized fish species. **Food Research International**, v. 32, p. 497-502, 1999.

AUBORG, S. P.; LEHMANN, I.; GALLARDO, J. M. Effect of previous chilled storage on rancidity development in frozen horse mackerel (*Trachurus Trachurus*). **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 82, p. 1764-1771, 2002.

AZZI, A.; STOCKER, A. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**, v. 39, p. 231-255, 2000.

BAD II, F.; HOWELL, N. K. Effect of antioxidants, citrate and cryoprotectants on protein denaturation and texture of frozen cod (*Gadus morhua*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 7, p. 2053-2061, mar/2002.

BAI, S. C.; LEE, K. J. Different levels of dietary dl- α - tocopheryl acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. **Aquaculture**, v. 161, p. 405-414, 1998.

BERNHEIM, F. M.; BERNHEIM, L. C.; WILBUR, K. M. The reaction between thiobarbituric acid on the oxidation products of certain lipids. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 174, p. 257-264, 1948.

BLISKA, F. M. M. **Importância do desenvolvimento tecnológico para a sobrevivência da agroindústria**. Campinas: CTC/ITAL, 1997. p. 46-47.

BORGHETTI, J. R.; OSTRENSKY, A. Pesca e Aqüicultura 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. Cap. 13, p. 451-466.

BORGHETTI, J. R. **Aqüicultura**: uma visão sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no Mundo. Curitiba: GIA, 2003. 129p.

BOTSOGLOU N. A. et al. Inhibition of lipid oxidation in long-term frozen stored chicken meat by dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation. **Food Research International**, v. 36, p. 207-213, 2003.

BRYANT R. J. Evidence that diet modification reduces oxidation damage in cells. **Food Rap**, v. 10, p. 10, Maio/2000.

- BUCKLEY, D. J.; MORRISSEY, P. A. Vitamin E and meat quality. In: Hoffmann, F. **Vitamins and fine chemicals**. Nova York: La Roche, 1992. Não paginado.
- BURTON, G. W.; TRABER, M. G. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. **Annual Review of Nutrition**, v. 10, p. 357-382, 1990.
- CHAIYAPECHARA, S. et al. M. Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. **Aquaculture**, v. 219, p. 715-738, 2003.
- CHAN, S. S. **Estudo morfofuncional de leucócitos polimorfonucleares sanguíneos como parâmetro de estresse oxidativo**. 1996, 230 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo). São Paulo, 1996.
- CHEAH, K. S.; CHEAH, A. M.; KRAUSGRILL, D. I. Effect of dietary supplementation of vitamin E on pig meat quality. **Meat Science**, v. 39, p. 255-264, 1995.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409p.
- DEVLIN, T. M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 4 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1997. 1007 p.
- DO, S-G. et al. Three-dimensional measurement of ice crystals in frozen beef with a micro-slicer image system. **International Journal of Refrigerated**, v. 27, p. 184-190, 2004.
- ERICKSON, M. C. Lipid Oxidation of Muscle Foods. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food Lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**. 2 ed. New York: Marcel Dekker, 2002. Cap. 13, p. 365-411.
- FANG, Y-Z.; YANG, S.; WU, G. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. **Nutrition**, v. 18, p. 872– 879, 2002.
- FAO. **Quality and quality changes in fresh fish: post mortem changes in fish**. Roma: FAO, 2003a. Disponível em <<http://www.fao.org/docrep/v7180e/v7180e06.htm>> Acesso em: 01/nov/2003.
- FAO. **Revisión del Estado Mundial de la Acuicultura**. Roma: FAO, 2003a, 103 p. Disponível em <<http://www.fao.org>> Acesso em: 01/jun/2005.
- FAOSTAT. 2005. Disponível em <<http://www.faostat.fao.org>> Acesso em: 01/ago/2005.
- FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 345-353, 1996.

FERREIRA, M. W. et al. **Pescados processados**: maior vida-de-prateleira e maior valor agregado. Lavras: UFLA, 2002, 26 p. Disponível em http://www.nucleoestudo.ufla.br/naqua/publicacoes/boletins_tecnicos/Pescados%20processados.pdf Acesso em: 01/jul/2005.

FIRETTI, R.; SALES, D. S. Perspectivas da cadeia de negócios da piscicultura em 2002. **Anualpec 2002**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio/Argos, 2002a. p. 316-318.

FIRETTI, R.; SALES, D. S. Tilápia em Tanque-rede e em tanque escavado: comparação de resultados. **Anualpec 2002**: anuário da pecuária brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio/Argos, 2002b. p. 319-323.

FOLCH, J.; LEE, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissue. **Journal of Biology and Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.

FITZSIMMONS, K. Tilapia evolution: growing industry moves from the live fish to value-added products. **Global Aquaculture Avocate**, v. 6, p. 50-52, 2003.

FRIGG, M.; PRABUCKI, A. L.; RUHDEL, E. U. Effect of dietary vitamin E levels on oxidative stability of trout fillets. **Aquaculture**, v. 84, p. 145-158, 1990.

GALVIN, K.; MORRISSEY, P. A.; BUCKLEY, D. J. Effect of dietary α -tocopherol supplementation and gamma-irradiation on α -tocopherol retention and lipid oxidation in cooked minced chicken. **Food Chemistry**, v. 62, n. 2, p. 185-190, 1998.

GATLIN III, D. M.; BAI, S. C.; ERICKSON, M. C. Effects of dietary vitamin E and synthetic antioxidants on composition and storage quality of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 106, p. 323 – 332, 1992.

GATTA, S.S. et al. The influence of different levels of dietary vitamin e on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) flesh quality. **Aquaculture Nutrition**, v. 6, I 1, p. 47, mar/2000.

GEORGE, S. et al. Development of a fish in vitro cell culture model to investigate oxidative stress and its modulation by dietary vitamin E. **Marine Environment Research**, v. 50, p. 541-544, 2000.

GRAU, A. et al. Measurement of 2-thiobarbituric acid values in dark chicken meat through derivated spectrophotometry: influence of various parameters. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, p. 1155-1159, 2000.

GRÛSCHEK, S. F. B.; OETTERER, M.; SPOT, M. F. Formulação de Fishburgers a partir de carne mecanicamente separada de Tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) e Tilápia vermelha (*Oreochromis spp.*) In: **XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2002, Porto Alegre. Anais..., Porto Alegre: SBCTA, 04-07 de agosto de 2002, p. 143-146.

GUERRIERO, G.; DI FINIZIO, A.; GARCIA, G. Stress induced changes of plasma antioxidants in aquatic sea bass. **Compendium of Biochemistry and Physiology**, part. A, v. 132, p. 205-211, 2002.

GUO, Y. et al. Effects of supplementation with vitamin E on the performance and the tissue peroxidation of broiler chicks and the stability of thigh meat against oxidative deterioration. **Animal Feed Science and Technology**, v. 89, n. 3-4, p. 165-173, fev/2001.

HALLIWELL, B. et al. Free radicals and antioxidants in food in vivo: what they do and how they work. **Reviews of Food Science and Nutrition**, v. 35, n. 1/2, p. 7-20, 1995.

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

HALVER, J. E. The vitamins. In: HALVER, J. E.; HARDLY, R. W. **Fish Nutrition**, 3rd ed. New York: Academic Press, 2002. p. 62-132.

HAMRE, K. et al. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic Salmon (*Salmo salar*, L.): effects on growth performance and fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v. 10, p. 113-123, 2004.

HARVIE, R. **Fish for food**: an introduction to seafood quality and spoilage. Lower Hutt: Seafood Industry Training Organization - SITO, 1998. 68p.

HOYLAND, D. V.; TAYLOR, A. J. A Review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. **Food Chemistry**, v. 40, p. 271-291, 1991.

HUANG, C. H. et al. Effect of dietary vitamin E level on growth, tissue peroxidation, and erythrocyte fragility of transgenic coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. **Compendium of Biochemistry and Physiology**, part. A, v. 139, p. 199-204, 2004.

HUANG, C. H.; HUANG, S. L. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *O. niloticus* X *O. aureus*, fed oxidized oil. **Aquaculture**, v. 237, p. 381-389, 2004.

HUO, J. Z. et al. Simultaneous determination of alfa-tocopheryl acetate and tocopherols in aquatic organisms and fish feed. **Journal of Chromatography and Biology**, v. 724, p. 249-255, 1999.

IGENE, J. O. et al. Evaluation of 2-thiobarbituric acid reactive substances in relation to warmed over flavour development in cooked chicken. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 33, p. 364-367, 1985.

IMAI, H.; NAKAGAWA, Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHG Px, GPx4) in mammalian cells. **Free Radicals and Biology Medicine**, v. 34, n. 2, p. 145-169, 2003.

JARDINE, D. et al. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) investigation of the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) reaction. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, p. 1720-1724, 2002.

JENSEN, C.; LAURIDSEN, C.; BERTELSEN, G. Dietary Vitamin E: Quality and Storage Stability of Pork and Poultry. **Trends in Food Science and technology**, v. 9, I. 2, p. 62-72, fev/1998.

KAEWSRITHONG, J. et al. Effects of an excess dose of dietary alpha-tocopherol on hydroperoxide accumulation and erythrocyte osmotic fragility of sweet plecoglossus altivelis (Temminck et Schlegel). **Aquaculture Research**, v. 32, p. 191-198, 2001.

KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L. A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 31, n. 7, p. 671-701, 1996.

KATIKOU, P.; HUGHESS, S. I.; ROBB, D. H. F. Lipid distribution with Atlantic salmon (*Salmo salar*) filets. **Aquaculture**, v. 202, p. 80-99, 2001.

KE, P. J.; CERVANTES, E.; ROBLE-MARTINEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (tbars) in fish tissue by an improved distillation-spectrophotometric method. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 35, p. 1248-1254, 1984.

KELLEHER, S. D.; HULTIN, H.; WILHEN, K. A. Stability of macherel surimi prepared under lipid stabilizing processing conditions. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 2, p. 269-271, 1994.

KIM, T. J. et al. Influence of Ozone, Hydrogen Peroxide or Salt on microbial Profile, TBARS and color of channel catfish filets. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 7, p. 1210-1213, 2000.

KIRON, V. et al. Antioxidant status and nonspecific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two levels of vitamin E along with three lipid sources. **Aquaculture**, v. 234, p. 361-379, 2004.

KOLN, H. I.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, epinephrine and menadione. **Journal of Pharmacology**, v. 82, p. 292-297, 1944.

KUBTIZA, F. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. 2 ed. Jundiaí: Fernando Kubitza, 2003. 229 p.

LAURIDSEN, C. et al. Antioxidative and oxidative status in muscle of pigs fed rapeseed oil, vitamin E and cooper. **Journal of Food Protective**, v. 61, n. 1, p. 36-40, 1998.

LEE, K-J.; DABROWSKI, K. Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. **Aquaculture**, v. 230, p. 377-389, 2004.

- LEITÃO, M. F. de F. Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial ou marinha. In: **Simpósio sobre controle de qualidade microbiológico, químico, físico e organoléptico de pescado e derivado**, 1994, Campinas. Anais... Campinas: ITAL, 1994. p. 11-26.
- LIN, Y. H.; SHIAU, S.Y. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses. **Aquaculture**. Disponível em <www.elsevier.com/loca/aqua-online> Acesso em: 01/jun/2005.
- LÓPEZ _ BOTE, O. J. Effect of vitamin e supplementation and partial substitution of poly with mono-unsaturated fatty acids in pigs diets on muscle, and micrososome extract alpha-tocopherol concentration and lipid oxidation. **Animal Science**, v. 57, n. 1, p. 11-25, fev/2003.
- LOVELL, R. T. **Nutrition and feeding of fish**. 2. ed. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 267 p.
- LOSADA, V. et al. Inhibition of chemical changes related to freshness loss during storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*) in slurry ice. **Food Chemistry**, v. 93, p. 619-625, 2005.
- LYGREN, B.; HAMRE, K.; WAAGBO, R. Effect of induced hyperoxia on the antioxidant status of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed three different levels of dietary vitamin E. **Aquaculture Research**, v. 31, p. 401-407, 2000.
- MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R. Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**. 1 ed. São Paulo: Funep, 2004. Cap. 14, p. 405-480.
- MACEDO-VIEGAS, E. M.; SOUZA, M. L. R.; KRONKA, S. N. Estudo da carcaça de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em quatro categorias de peso. **Revista da Unimar**, v. 19, n. 3, p. 863-870, 1997.
- MARCON, J. L. **Estresse oxidativo em duas espécies de teleósteos amazônicos, *Astronotus ocellatus* e *Colossoma macropomum*, expostos a diferentes tensões de oxigênio: uma abordagem comparativa**. 1997, 103 f. Tese (Doutorado em Biologia Tropical e Recursos Naturais do INPA, área de concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA, Universidade Federal do Amazonas, UFAM) Manaus, 1997.
- MATÉS, J. M. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. **Toxicology**, v. 153, p. 83-104, 2000.
- MCCALL M. R.; FREI B. Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? **Free Radicals and Biology Medicine**, v. 26, n. 7/8, p. 1034-1053, 1999.

- MCDOWELL, L. R. **Vitamins in animal nutrition**. San Diego: Academic Press, 1989. 486 p.
- MELO FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.
- MELTON, S. L. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technology**, v. 37, p. 105-116, 1983.
- MESTRE PRATES, J. A. et al. Simultaneous HPLC quantification of total cholesterol, tocopherols and β - carotene in Barrosã – PDO veal. **Food Chemistry**, v. 94, p. 469-477, 2006.
- MORRISSEY, P. A. et al. Lipid in meat and meat product. **Meat Science**, v. 49, sup. 1, p. 73-86, 1998.
- MOURE, A. et al. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of fish**. Washington: Academic Press, 1993. 114 p.
- NAWAR, W. W. Lipids. In: FENNEMA, O. R. **Food Chemistry**. 3 ed. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 5, p. 226-319.
- NOGALA-KALUCKA, M. et al. Changes in antioxidant activity and free radical scavenging potential of rosemary extract and tocopherols in isolated rapeseed oil triacylglycerols during accelerated tests. **Food Chemistry**, v. 93, p. 227-235, 2005.
- OETTERER, M. **Tecnologia do pescado: da adoção de técnicas de beneficiamento e conservação do pescado de água doce**. Disponível em <www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/beneficiamento.pdf> Acesso e: 01/set/2005.
- OETTERER, M. **Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos higiênicos e nutricionais**. 1999, 196 f. Tese (Livre docência - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Esalq, Universidade de São Paulo, USP). Piracicaba, 1999.
- OETTERER, M.; SIQUEIRA, A. A. Z. C.; GRÏSCHEK, S. B. Tecnologias emergentes para processamento do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSI, D. M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. 1 ed. São Paulo: Funep, 2004. Cap. 15, p. 481-500.
- OETTERER, M. Técnicas de beneficiamento e conservação do pescado de água doce. **Panorama da Aqüicultura**, v. 8, n. 46, p. 14-20, 1998.

- OETTERER, M. **Matéria-prima alimentar: pescado**. São Caetano do Sul: Centro de pesquisas do Instituto Mauá de Tecnologia, 1991. 29p.
- OGAWA, M. Alterações da carne de pescado por processamento e estocagem. In: OGAWA, M.; MAIA, E. L. (Ed). **Manual de pesca, ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Livraria Vilela, 1999, v. 1, p. 221-249.
- OGAWA, M.; DINIZ, F. M. Conservação de produtos Pesqueiros. In: OGAWA, M.; MAIA, E. L. (Ed). **Manual de pesca, ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Livraria Vilela, 1999, v. 1, p. 157-171.
- OHM, V. A.; STOCKMANN, H.; SCHWARZ, K. The more - the better? Estimating the inhibitory activity of alpha-tocopherol towards lipid oxidation. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 785-789, 2005.
- ONIBI G. E.; SCAIFE J. R.; FLETCHER T. C. Influence of α -tocopherol acetate in high lipid diets on quality of refrigerated Atlantic Salmon (*Salmo salar*) fillets. **Refrigeration and Aquaculture**, v. 33, p. 145-152, 1996.
- PAPAS, A. M. Diet and Antioxidant Status. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 37, p. 999-1007, 1999.
- PAUL, B. N.; SARKAR, S.; MOHANTY, S. N. Dietary vitamin E requirement of mrigal, *Coinhinus mrigala* fry. **Aquaculture**, v. 242, p. 529-536, 2004.
- PARKER, R. S. Dietary and biochemical aspects of vitamin E. **Advocate Food Nutrition and Research**, v. 33, p. 157-232, 1989.
- PIRINI M. et al. Effect of refrigerated storage on muscle lipid quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed on diets containing different levels of vitamin E. **Food Chemistry**, v. 68, p. 289-293, 2000.
- POKORNY, J. Major factors affecting the autoxidation of lipids. In: CHAN, H. W. S. **Autoxidation of Unsaturated Lipids**. London: Academic Press, 1987. p. 141-206.
- PROENÇA, C. E. M.; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de piscicultura tropical**. Brasília: IBAMA, 1994. 195 p.
- PUANGKAW, J. et al. T. Antioxidant defense of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to dietary n-3 highly unsaturated fatty acids and vitamin E contents. **Compendium of Biochemistry and Physiology**, part. C, v. 140, p. 187-196, 2005.
- QUINN, P. J.; WANG, X. Vitamin E and its function in membranes. **Progress in Lipid Research**, v. 38, p. 309-336, 1999.
- REY, A.I. et al. Modification of lipid composition and oxidation in porcine muscle and muscle microsomes as affected by dietary supplementation of n-3 with either, n-9 or n-6

fatty acids and alpha-tocopheryl acetate. **Animal Feed Science and Technology**, v. 113, p. 223-238, 2004.

RUFF, N. et al. Fillet shelf-life of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. fed elevated levels of alpha-tocopheryl acetate. **Aquaculture Research**, v. 33, p. 1059-1071, 2002a.

RUFF, N. et al. The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. **Aquaculture Nutrition**, v. 9, I. 2, p. 91, abr/2003.

RUFF, N. et al. Slaughtering method and dietary tocopherol acetate supplementation affect *rigor mortis* and fillet shelf-life of turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture Research**, v. 33, I. 9, p. 703, jul/2002b.

RUFF, N. et al. Distribution of α -tocopherol in fillets of turbot (*Scophthalmus maximus*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), following dietary α -tocopheryl acetate supplementation. **Aquaculture Nutrition**, v. 10, p. 75-81, 2004.

SALEM Jr., N. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Background**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 1999.

SAMPAIO, J. G. G. et al. Rendimento de carcaça de peixe matrinxã (*Brycon cephalus*) nos diferentes cortes de cabeça. Disponível em < www.editora.ufla.br/revista/27_1/art27.pdf. 2003 > Acesso em: 01/ago/2005.

SAMPAIO, F. G. **Selênio e vitamina E em dietas para a tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus***. 2003, 99 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ, UNESP). Botucatu, 2003.

SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Influence of the addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillets. **Food Chemistry**, v. 68, p. 175-178, 2000.

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**, 2000, Fortaleza. Anais... Fortaleza: SBCTA, 2000. v. 4, p. 5-272.

SANT'ANA, L. S. **Influência da Fonte Lipídica da dieta e da Adição de Antioxidantes in vivo na Composição em ácidos graxos de filés de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) cultivados**. 1998, 157 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, USP). São Paulo, 1998.

SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Mecanismos de Proteção Oxidativa na Utilização de Antioxidantes *in vivo* em Músculos Animais. **Cadernos de Nutrição**, n. 10, p. 48-63, 1995.

- SASAKI, K.; MITSUMOTO, M.; KAWABATA, K. Relationship between lipid peroxidation and fat content in Japanese Black beef *Longissimus muscle* during storage. **Meat Science**, v. 59, I 4, p. 407-410, dez/2001.
- SAU, S. K. et al. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu (*Labeo rohita*) fry. **Aquaculture**, v. 240, p. 359-368, 2004.
- SCAIFE, J. R. et al. Influence of α -tocopherol acetate on the short- and long-term storage properties of fillets from Atlantic salmon *Salmo salar* fed a high lipid diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 6, p. 65-71, 2000.
- SECRETARIA ESPECIAL de AQUICULTURA e PESCA. Disponível em <<http://www.presidencia.gov.br/seap>> Acesso em: 01/jan/2003.
- SHIROTA, R.; SONODA, D. Y. Comercialização de pescados no Brasil: caracterização dos mercados. In: CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.; FRACALOSSO, D. M.; CASTAGNOLI, N. **Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva**. São Paulo: Funep, 2004. Cap. 16, p. 503-516.
- SHIAU, S. K.; HZU, C-Y. Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid Tilápia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture**, v. 210, p. 335-342, 2002.
- SHIAU, S. Y.; SHIAU, L. F. Re-evaluation of the vitamin E requirement of juvenile Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). **Animal Science**, v. 72, p. 529-534, 2001.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. O método Van Soest na determinação da qualidade de forrageiras. In: SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Lavras: UFLA, 2002. Cap. 09, p. 97-127.
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Determinação de minerais. In: SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de Alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3 ed. Lavras: UFLA, 2002. Cap. 15, p. 169-178.
- SIQUEIRA, A. A. Z. C. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2001, 154 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Esalq, Universidade de São Paulo). Piracicaba, 2001.
- SOUZA, M. L. R. et al. Defumação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira, eviscerada e filé: aspectos referentes às características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 1, p. 27-36, 2004.
- SOUZA, M. L. R. **Processamento do filé e da Pele de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): aspectos tecnológicos, composição centesimal, rendimento, vida útil do filé defumado e testes de resistência da pele curtida**. 2003, 169 f. Tese (Doutorado em Aquicultura, Área de Concentração Águas Continentais – Faculdade de Ciências Agrônômicas e Veterinárias, Centro de Aquicultura da UNESP). Jaboticabal, 2003.

- SOUZA, M. L. R.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Comparação de quatro métodos de filetagem utilizados para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre o rendimento no Processamento. **Infopesca International**, n. 7, p. 26-31, 2001.
- SOUZA, M. L. R.; MACEDO-VIEGAS, E. M.; KRONKA, S. N. Influencia do método de filetagem e categorias de peso sobre o rendimento de carcaça, filé e pele da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 1, p. 1-6, 1999.
- SOUZA, M. L. R.; CASTAGNOLLI, N.; KRONKA, S. N. Influência das densidades de estocagem e sistemas de aeração sobre o peso e características de carcaça da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 387-393, 1998.
- TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T. A. Destillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. **Journal of American Oil Chemist's Society**, v. 37, p. 44-48, 1960.
- TOCHER D. R. et al. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.) **Aquaculture Nutrition**, v. 8, I. 3, p. 195, set/2002.
- TOKUR, B. et al. Changes in the quality of fishburger produced from tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen storage (-18 °C). **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 420-423, 2004.
- TOKUDA, M.; TAKEUCHI, M. Effects of excess doses alphatocopherol on the lipids and function of rainbow trout liver. **Journal of Nutrition and Science Vitaminology**, v. 41, p. 25-32, 1995.
- TOLEDO, M.P.A. **Processamento de dietas práticas com diferentes fontes de energia para o crescimento e a digestibilidade da Tilápia do Nilo**. 2004, 79 f. Tese (Doutorado em Aqüicultura - Centro de Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista, UNESP). Jaboticabal, 2004.
- ULU, H. Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meats products. **Meat Science**, v. 67, p. 683-687, 2004.
- VALENTI, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A. **Aqüicultura no Brasil: bases para o desenvolvimento sustentável**. 1 ed. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 2000. 399p.
- VISENTAINER, J. V. et al. **Composição química e de ácidos graxos em tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas a dietas prolongadas**. Disponível em <http://www.dipemar.com.br/carne/313/materia_pesca_carne.htm> Acesso em: 01/jul/2004.
- VYNCKE, W. Direct determination of the TBA value in trichloroacetic acid extract of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette-Scifen Anstrichmittel**, v. 72, p. 1084 -1087, 1970.

YAMAMOTO, Y. et al. An unusual vitamin E constituent provides enhanced antioxidant protection in marine organisms adapted to cold-water environments. **Proceedures of National Academic of Sciences**, v. 98, p. 13144-13148, 2001.

WAGNER, K-H.; ELMADFA, I. Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. **Journal of Lipid Science and Technology**, v. 103, p. 624-629, 20.

