



**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E PROCESSAMENTO DO  
BIJUPIRÁ (*Rachycentron canadum*) PROCEDENTE DE  
PISCICULTURA**

**MARCONDES AGOSTINHO GONZAGA JÚNIOR**

**RIO GRANDE  
JULHO, 2014**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE**  
**INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E PROCESSAMENTO DO**  
**BIJUPIRÁ (*Rachycentron canadum*) PROCEDENTE DE**  
**PISCICULTURA**

Marcondes Agostinho Gonzaga Júnior

**Orientador:** Prof. Dr. Carlos Prentice-Hernández

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Aquicultura no Programa de Pós - Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

**Rio Grande**  
**Julho, 2014**

## ÍNDICE

DEDICATÓRIA .....	iv
AGRADECIMENTOS .....	v
RESUMO GERAL .....	7
GENERAL ABSTRACT .....	9
1.INTRODUÇÃO GERAL .....	11
1.1 Aquicultura .....	11
1.2 Bijupirá .....	12
1.3 Qualidade do pescado.....	13
1.4 Embalagens.....	15
1.5 Nanocompósitos.....	16
1.6 Embalagens e etiquetas inteligentes: indicadores de tempo e temperatura.....	17
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
3. OBJETIVOS .....	24
3.1 OBJETIVO GERAL .....	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
CAPÍTULO 1: Desenvolvimento e aplicação de um método de índice de qualidade para o bijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> ) cultivado armazenado em gelo.....	27
CAPÍTULO 2: Acompanhamento dinâmico da vida-útil do bijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> ): estudo da aplicabilidade de indicador inteligente fotocromico.....	48
CAPÍTULO 3: Atributos de qualidade de filés bijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> ) refrigerados e embalados em atmosfera modificada.....	66
CAPÍTULO 4: Estabilidade físico-química e microbiológica de filés de bijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> ), procedentes de piscicultura <i>near-shore</i> , mantido sob congelamento.....	89
CAPÍTULO 5: Efeito de filmes nanocompósitos de isolado protéico de corvina ( <i>Micropogonias furnieri</i> ) e nanoargilas sobre a qualidade de filés de bijupirá ( <i>Rachycentron canadum</i> ) refrigerados.....	107
DISCUSSÃO GERAL .....	126
REFERÊNCIAS .....	130

## Dedicatória

*Aos meus pais, Marcondes e Conceição,  
que desejaram e buscaram toda felicidade  
dos filhos e que, no estudo, acreditavam  
estar o começo do caminho para a  
concretização de sonhos.  
Amo vocês!*

## **Agradecimentos**

Primeiramente a Deus.

Muitas foram às pessoas e situações que me levaram, ao longo desses anos, a concretização desse trabalho.

Agradeço minha família, Marcondes, Conceição, Nane, May, Matheus e Nira pelo amor, dedicação, compreensão, por perdoarem os meus momentos de ausência e mesmo assim estarem sempre ao meu lado torcendo por mim.

Ao meu Orientador e amigo Professor Dr. Carlos Prentice, pela oportunidade, confiança, orientação e atenção, que foram fundamentais em todos os momentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, pela bolsa concedida.

À equipe do Laboratório de Tecnologia em Alimentos, em especial a Sandriane Pizato, Ana Paula Brizio e a Técnica Sabrina pela ajuda em várias etapas deste trabalho.

Aos professores Dr. William Cortez-Vega e Dra. Myriam Salas-Mellado pela convivência, amizade, contribuição acadêmica e apoio durante todos esses anos.

Aos piscicultores Cláudio (Ubatuba - SP) e ao Kazuo (Ilha Grande, Angra dos Reis – RJ), por disponibilizarem os espécimes de bijupirá, tornando possível a elaboração do presente trabalho.

À Estação Marinha de Aquicultura - EMA, na pessoa do amigo Sergio Pilenghi pelo apoio administrativo e pela convivência. A todos os professores colaboradores, colegas do programa de pós-graduação, e aos AMIGOS, pela convivência sempre cordial e pela contribuição direta ou indireta para a elaboração deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

A todos os professores do PPGAq e REPIMAR que contribuíram para minha formação, em especial aos professores e amigos, Dr. Marcelo Tesser, Dr. Mario Chim e Dr. Luis André Sampaio pelos conselhos, apoio e amizade durante esses anos.

À equipe do Laboratório de Tecnologia do Pescado da Embrapa Meio-Norte, estagiários, técnicos e em especial à Dra. Fabíola Fogaça pela confiança, dedicação, amizade e atenção.

À amiga Marianna Basso Jorge pelos conselhos e ajuda preciosa para realização deste trabalho.

Aos meus amigos Engenheiros de Pesca, amigos de infância, amigos da “República Pinguins”, amigos da “República Crazy Boys”, amigos “Butequeiros”, amigos do Cassino e do “Cassinolândia” e aos amigos da UEA pelo apoio, incentivo, companheirismo, brincadeiras e amizade.

À Banca examinadora pela excelente contribuição.

Enfim, à Universidade Federal do Rio Grande – FURG, ao Instituto Oceanográfico, pela oportunidade de realização deste curso.

## RESUMO GERAL

Nos últimos anos, o bijupirá *Rachycentron canadum* tem despertado interesse mundial. No Brasil, ainda são poucos os estudos visando gerar pacotes para a viabilização de sua criação, muito menos para o desenvolvimento de tecnologias para o seu processamento. A efetiva consolidação da aquicultura depende do escoamento da produção que, por sua vez, dependerá da demanda dos produtos. Para que o consumo de pescado no Brasil seja ampliado, é necessário que haja oferta de produtos com a qualidade exigida pelo consumidor. Desta forma, o presente estudo visou auxiliar a tecnologia desenvolvida para pescado inteiro e minimamente processado. Foram utilizados exemplares de bijupirá cultivado em tanques-rede (sistema *near-shore*) e em sistema de recirculação de água, alimentados com ração comercial e rejeitos de pesca, com peso variável de 2 a 3 e 9 a 11 kg. Após despesca, os peixes foram sacrificados por hipotermia em água gelada (método choque térmico, proporção 1:1, gelo:água). Foram investigadas no bijupirá cultivado, as alterações sensoriais, físico-químicas e microbiológicas visando determinar o tempo de conservação em gelo e congelado do pescado inteiro e de seu filé. Para o estudo da conservação em gelo, os peixes foram estocados em caixas de isopor, seguindo-se então de duas variantes de investigação: 1) Após sacrificados por choque térmico os exemplares foram armazenados em gelo durante 30 dias, onde se avaliou, em cada intervalo de 2 dias, as alterações de qualidade *pós-mortem*, através de análises químicas (nitrogênio das bases voláteis totais – N-BVT e pH), sensoriais (método do índice de qualidade – MIQ do pescado inteiro) e microbiológicas (contagem de mesófilos, psicrófilos, psicrófilos e coliformes totais); 2) Acompanhamento dinâmico da vida-útil, com aplicabilidade de indicador inteligente fotocromico com etiquetas inteligentes (ITT). Para o estudo da estocagem congelada, os filés do bijupirá foram processados e congelados em congelador de placas (-30 °C) e estocados em freezer a -18 °C, durante 180 dias, onde foram acompanhados, em cada intervalo de 30 dias, pH, teste de oxidação (TBA), umidade, proteínas, dureza instrumental do filé e as mesmas análises microbiológicas realizadas para o peixe conservado em gelo. Também foi avaliado o potencial tecnológico desta espécie, sob a forma de filé embalados em atmosfera modificada e embalagens com diferentes filmes, acondicionados em sacos plásticos de alta densidade de etileno-álcool-vinílico – EVOH. As amostras foram submetidas a 3 tratamentos: A (Controle) e mais 2 atmosferas contendo aproximadamente 0,5 L de ar: (100 % CO<sub>2</sub>) e (Vácuo). As amostras embaladas foram

mantidas sob refrigeração, na faixa de  $2 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , quando foram submetidas a análise nos tempos 0,1,7,14,21,30,45 e 50 dias de armazenamento refrigerado em estufa climatizada. Foram realizadas análises físico-químicas (bases voláteis totais – N-BVT, pH), estabilidade lipídica (TBA), textura (força de rompimento), cor e microbiológicas. Ainda trabalhando com embalagens foi avaliado o efeito de biofilmes nanocompósitos de isolado protéico (IPC) de pescado sobre a qualidade dos filés mantido sob refrigeração. O IPC foi obtido a partir de subprodutos da industrialização do pescado. Os filmes poliméricos foram desenvolvidos a partir do IPC pela técnica de *casting*. Foram testados três tipos de filmes, dois industriais e um preparado a base de IP: TA (EVOH), TB (PVC), e TC (IPC), submetidos às mesmas análises das embalagens com EAM. Desta forma concluímos que, a análise sensorial do pescado acondicionado em gelo mostrou um ponto de rejeição com 15 dias de armazenamento. No filé embalado sob atmosfera modificada, as embalagens à vácuo e 100 % de  $\text{CO}_2$  prolongaram a vida útil por até 21 dias em temperatura de refrigeração. Quando embalados a vácuo os resultados mostraram que o filé congelado nessas condições experimentais possui evidente estabilidade sensorial, química, física, e microbiológica armazenados a  $-18^{\circ}\text{C}$ , durante 180 dias. As embalagens de filmes nanocompósitos elaboradas a partir de IPC mostraram-se eficientes para conservação do pescado refrigerado em relação a filmes comerciais.

## GENERAL ABSTRACT

*Cobia Rachycentron canadum* has aroused considerable interest around the world due to its excellent characteristics for fish aquaculture. However, only few studies aiming to optimize cobia cultivation and processing technology in Brazil. The effective consolidation of aquaculture depends on the flow of production, which in turn depends on the demand of the products. That way, a real expansion of fish consumption only happen when products with quality desired by consumers start to be offered. In this context, the present study aimed to improve and develop new processing technologies for cobia, aiding the technologies developed for minimally processed fisheries. To this purpose, were used a total of 150 specimens of cobia cultivated in cages (near-shore) and tanks with recirculating water systems, fed with commercial feed and tailings fishing with variable weight between 2, 3, 9 and 11 kg. Fishes were killed by hypothermia method for further analysis of sensory, physicochemical and microbiological changes to determine fish shelf-life conditions and storage temperature of whole fish and fillet. For the first purpose, conservation in ice, fish were maintained in polystyrene boxes for two variants of investigation: 1) After sacrificed by thermal shock, fishes were stored on ice for 30 days, to investigate the changes on post-mortem quality through chemical (total volatile nitrogen bases - TVB-N and pH), sensory (quality index method - MIQ whole fish) and microbiological (mesophilic count , psychrotrophs, psychrophiles, molds, yeasts and coliforms) analyzes performed every two days; 2) Dynamic Monitoring of shelf-life, with applicability of smart photochromic indicator, smart tags (ITT). For the second purpose, storage temperature evaluation, cobia fillets were processed and frozen in freezer plate (-30 °C) and stored at -18 °C during 180 days to monitored (each 30 days) the pH, lipid oxidation (TBA), moisture, protein, instrumental hardness and the same microbiological analyzes for fish stored in ice. Also in the present study, we evaluated the technological potential of this species, as packaged fillet under modified atmosphere conditions and with different films, packed in plastic bags of high density ethylene-vinyl alcohol - EVOH. The samples were subjected to 3 treatments, A (control), B (vacuum atmosphere conditions) and C (100% CO<sub>2</sub>). The packed fillets were kept under controlled refrigerated conditions (2 ± 1 °C), until the time 0, 1, 7, 14, 21, 30, 45 and 50 days of storage, when they are subjected to physicochemical (total volatile bases - TVB-N, pH), lipid stability (TBA), texture (breaking force), color and microbiological analysis. Still studying

packaging, was evaluated the effect of biofilms nanocomposites of fish isolate protein (IP) on the quality of fish fillets kept under refrigeration. The IPC was obtained from fish products industrialization. The polymeric films were developed from the IP by *casting* technique. Three types of films, two industrial and one prepared on the basis of IP (TA - EVOH, TB - PVC and TC - IPC) were tested and submitted to the same analysis of EAM packaging: The sensory analysis of fish packed in ice showed a point of rejection 15 days after storage. For fillet packaged under modified atmosphere, vacuum packaging and 100% CO<sub>2</sub> prolonged life for over 21 days at refrigerator temperature. For vacuum packaged the results showed that the frozen fillet under this experimental condition have chemical, physical, microbiological and sensorial stability when the fillets were kept under -18 °C for 180 days. The packages compiled from IP were effective on fillet fish conservation compared to commercial films.

## **1. Introdução Geral**

### **1.1 Aquicultura**

A aquicultura é possivelmente o setor de produção de alimentos de crescimento mais acelerado no mundo. Atualmente, 66,6 milhões de toneladas dos produtos pesqueiros mundiais são oriundos da atividade, e dentro da aquicultura, a piscicultura marinha é uma atividade que vem se estabelecendo em vários países do mundo (FAO, 2014). Com um litoral de mais de 8.000 km e ainda uma Zona Econômica Exclusiva equivalente ao tamanho da Amazônia, o Brasil possui enorme potencial para a piscicultura marinha, além de imenso potencial para piscicultura de água doce com 5.500.000 hectares de reservatórios de águas doces, aproximadamente 12 % da água doce disponível no planeta, clima extremamente favorável para o crescimento dos organismos cultivados, terras disponíveis, mão-de-obra abundante e crescente demanda por pescado no mercado interno (FAO, 2012). Com um crescimento na produção de pescado e melhorias nos canais de distribuição e abastecimento, a taxa de crescimento nas últimas cinco décadas, apresenta-se em torno de 3,2 % ao ano, estima-se que a previsão é de que até 2030 a demanda internacional de pescado aumente mais 100 milhões de toneladas, de acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO). A produção mundial total de pescados hoje é da ordem de 158 milhões de toneladas com 136 milhões de toneladas destinadas ao consumo humano (FAO, 2014).

O Brasil é um dos poucos países que tem condições de atender à crescente demanda mundial por produtos de origem pesqueira, sobretudo por meio da piscicultura. Dados do Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) mostram que o país poderá se tornar um dos maiores produtores do mundo até 2030, ano em que a produção pesqueira nacional teria condições de atingir aproximadamente 20 milhões de toneladas (BRASIL, 2011). A atividade aquícola tem crescido substancialmente, e com isto, pode ser considerado um desenvolvimento econômico com o surgimento de pequenas e médias empresas em áreas onde o emprego alternativo é bastante limitado. Isso tem sido particularmente evidente na maricultura. Esta tendência foi reforçada pelo declínio na captura de peixes selvagens e um aumento na demanda por estes pescados (ARVANITOYANNIS e KASSAVETTI, 2008).

### **1.2 O bijupirá**

Entre os vários peixes marinhos nativos do Brasil, o bijupirá (*Rachycentron canadum*) é considerado uma espécie de grande potencial para a criação intensiva (CHOU et al., 2001; SAMPAIO et al., 2011 ). Peixe pelágico, migrador de grande porte, encontra-se amplamente distribuído nas águas tropicais e subtropicais. Apresenta de sete a nove espinhos e 31 raios na nadadeira dorsal, dois espinhos e 24 raios na nadadeira anal, possui um achatamento na parte anterior do corpo, abrangendo principalmente a cabeça, e uma coloração amarronzada, com duas faixas longitudinais, de coloração prata bem definidas (CHANG, 2003; FROESE e PAULY, 2009). Apresenta corpo fusiforme e largo e possui olhos pequenos e a mandíbula mais protuberante que a maxila superior. Seu hábito alimentar é variado, embora caracterizado principalmente pelo consumo de pequenos peixes ósseos. Na natureza, pode alcançar até 2 metros de comprimento, havendo registros de indivíduos com 68 kg (FROESE e PAULY, 2007; LIAO et al., 2004).



**Figura 1.** Ilustração de um exemplar de bijupirá *Rachycentron canadum*.

Em virtude do rápido crescimento (podendo atingir cerca de 6-8 kg em um ano), da utilização de praticamente todas as suas partes, da excelente qualidade da carne (fato que valoriza economicamente o pescado), além da facilidade de reprodução em cativeiro, tolerância das larvas à salinidade e aceitação de dietas extrusadas, a piscicultura do bijupirá tem se tornado cada vez mais popular (DITTY e SHAW, 1992; CHANG, 2003; CAVALLI e HAMILTON, 2007; CAVALLI e HAMILTON, 2009; CAVALLI et al., 2011). Além do seu grande potencial zootécnico, apresenta taxas de conversão alimentar que variam de 1,5 a 1,8 e é muito valorizado no mercado internacional, onde o quilo é comercializado entre US\$ 5,00 a US\$ 7,00 (FAO, 2013).

Sua produção na aquicultura está em expansão em diversos países (LIAO et al., 2004; FAO, 2013), principalmente por causa do seu crescimento rápido e carne de alta qualidade (FRANKS et al., 1999). A espécie é muito produzida no Sul dos Estados

Unidos principalmente em gaiolas, destinada para exportação, onde seu maior mercado é o Japão (LIAO, 2003). Sua cultura começou no início de 1990, e a tecnologia de produção de juvenis em massa foi desenvolvida em 1997. A espécie já foi citada por produzir um filé de alta qualidade, adequado para *sashimi* ou pratos mais sofisticados (CRAIG, et al., 2006). Segundo dados do MPA, no Brasil há solicitação de áreas para instalação de cultivos e/ou estruturas em produção na Bahia (Cairu, Itaparica, Taperoá), em Pernambuco (Recife), no Paraná (Guaratuba), no Rio de Janeiro (Angra dos Reis, Cabo Frio, Itaguaí, Mangaratiba, Parati) e em São Paulo (Iguape, Ilha Comprida, Ilhabela, Ubatuba). Além de áreas com temperaturas superficiais adequadas (entre 23 e 32°C), águas com alta transparência e não poluídas são fundamentais para a criação de bijupirá de alta qualidade. Assim, os cultivos realizados em águas oceânicas apresentam resultados superiores aos realizados em áreas costeiras ou abrigadas. Entretanto, os cultivos oceânicos exigem elevados investimentos em tecnologias e equipamentos apropriados de cultivo, vigilância, despesca e armazenagem de insumos (CHANG, 2003; CAVALLI e HAMILTON, 2009; CAVALLI et al., 2011).

Nos últimos anos, o Ministério da Pesca e Aquicultura, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e a Embrapa têm incentivado o desenvolvimento de técnicas de cultivo sustentável do bijupirá em consonância com a realidade brasileira. Com isso, diversos projetos específicos, tais como Repimar (Rede de Pesquisa e Desenvolvimento em Piscicultura Marinha), Pró-Mar e Bijupirá Plus (Rede para Aproveitamento Integral do Bijupirá), têm surgido, e os estados de Ceará, Pernambuco, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul foram contemplados para aplicação dos projetos. Liderada pela FURG, a sub-rede “Sistemas de Produção, Qualidade Ambiental e Processamento” realizou o estudo de mercado do bijupirá nas regiões Sul e Sudeste, e o cultivo do bijupirá se estendeu para a cidade de Rio Grande-RS, onde atualmente a espécie é cultivada em tanques, com sistema de recirculação de água na Estação Marinha de Aquicultura – EMA (FURG).

### **1.3 Qualidade do pescado**

Em geral, o conhecimento sobre todos os aspectos relacionados com a qualidade e o processo de deterioração é indispensável para a indústria e consumidores. Dessa forma, foram conduzidos trabalhos com várias espécies de importância comercial, entre elas o

salmão (BECHMANN e JORGENSEN, 1998, BIRKELAND et al., 2004). Décadas atrás, pesquisadores se reuniram para estabelecer padrões de análise visando avaliar a qualidade do pescado marinho comercializado refrigerado inteiro e congelado (OLAFSDÓTTIR et al., 1997; BAIXAS-NOGUERAS et al., 2003; BORGES et al., 2007; SANT'ANA et al., 2011). Em pescados de água doce, foi avaliada a qualidade em gelo de espécies capturadas na natureza como a matrinxã (CASTELO, 1992) e o jaraqui (JESUS et al., 1990). Com as espécies procedentes da piscicultura, existem trabalhos de pesquisa executados por Batista (2002) para a espécie matrinxã, *Brycon amazonicus* por Almeida et al., (2005) para a espécie tambaqui, *Colossoma macropomum* e pirarucu, *Arapaima gigas*, por Oliveira et al., (2014). Em todas essas pesquisas se destacam a importância do conhecimento das características das qualidades bioquímica, física, química, sensorial e do produto para o mercado de transformação e consumidor.

No Brasil, segundo Valenti et al., (2000), o pescado é comercializado predominantemente *in natura*, fresco, eviscerado e muito pouco na forma de filé ou industrializado. O método do índice de qualidade foi desenvolvido justamente para avaliação do pescado fresco resfriado, no intuito de melhorar a cadeia da pesca em países como Austrália, Noruega, Portugal, etc. Baseado na análise sensorial sistemática e segura, é a ferramenta utilizada na avaliação do pescado fresco na Europa (MARTINSDÓTTIR et al., 2001). Atualmente, já existe um aplicativo para celulares (App “How fresh is your fish?” para iPhone, Apple) contendo o protocolo do índice de qualidade (MIQ) de diversas espécies, tanto da pesca como de cultivo, que é utilizado na inspeção do pescado em indústrias e mercados (EUROFISH, 2013).

Em função da qualidade e do prazo de vida útil de pescados, a crescente demanda por produtos frescos, e ainda, com a necessidade de redução de custos relacionados à energia utilizada nos processos de refrigeração e congelamento, justifica-se a busca por tecnologias que permitam um aumento no prazo de vida comercial de alimentos altamente perecíveis e com alto teor protéico como pescados, carnes vermelhas e produtos de aves (SIMPSON e CAREVIC, 2004). Em diversas regiões do mundo há muito tempo o pescado faz parte da dieta alimentar e representa, em alguns países, a principal fonte de proteínas de origem animal, entretanto na atualidade, seu consumo ainda está associado a problemas de saúde, principalmente devido às deficientes práticas de manuseio (HUSS, 1997).

A maior necessidade por produtos de conveniência, fáceis de preparar, motivada pelo novo estilo de vida, hábitos saudáveis e dia-a-dia mais corridos e ainda, a invasão

das prateleiras por produtos estrangeiros de alta qualidade e diversificação, vêm modificando o tradicional consumidor de alimentos. E este, passa a se utilizar cada vez mais dos produtos de fácil preparo, higienicamente corretos e vantajosos do ponto vista nutricional (OETTERER, 1999; SARTORI e AMANCIO, 2012; SANTOS e OLIVEIRA, 2012).

A busca por alimentos saudáveis e de preferência de origem marinha tem conseqüentemente, provocado à elevação da quantidade de resíduos de pescado, geralmente descartados sem o devido aproveitamento (ARNESEN e GILDBERG, 2007). Diante desta problemática, tem-se observado uma intensificação dos estudos voltados à utilização dos resíduos do processamento para o aproveitamento do conteúdo protéico de maneira mais eficaz. Um grande foco tem sido dado a métodos de extração de proteína para obtenção de isolados e gelatinas (JAMILAH et al., 2002; KARIM E BAHT, 2008; FREITAS, 2011; CORTEZ-VEGA et al., 2013), no entanto, há poucos dados referentes à produção e à qualidade destes produtos tendo o bijupirá como matéria-prima.

#### **1.4 Embalagens**

A indústria aquícola ainda apresenta deficiências em relação à falta de padronização do produto apresentado aos consumidores e adequação de embalagens e atmosferas para estes produtos, o que pode acarretar dificuldades quanto à forma de apresentação/aceitação e características de sabor. Entretanto, se o produto for bem apresentado (embalagens), torna-se mais fácil a sua aceitação pelo mercado. Sem dúvidas, a procura por um alimento de qualidade e de fácil preparo é uma das maiores estratégias de marketing exploradas por indústrias de alimentos (SOUZA, 2002; SARTORI e AMANCIO, 2012; GONZAGA JR, 2010; SANTOS e OLIVEIRA, 2012).

Dentre as embalagens, podemos citar a embalagem com atmosfera modificada (EAM), que é um conceito que teve início em 1910, estabeleceu-se a sua utilização para conservar diversos alimentos (JAY, 2004) principalmente na Europa e que ainda em nossos dias é uma tendência mundial. Paralelamente ao desenvolvimento da tecnologia de EAM, encontra-se a tendência de produtos “prontos- para-consumo”, em que não há a necessidade de acrescentar tipo algum de processo ao auto-serviço. As preferências detectadas entre os consumidores são o que tem levado os processadores e o auto-serviço há dedicarem mais tempo e recursos a explorar e a comercializar cada vez mais

produtos acondicionados em embalagens com atmosferas modificadas. Uma das formas de prevenir a decomposição e prolongar a vida-útil do pescado e seus produtos alimentícios é o uso de embalagens apropriadas para cada alimento, onde o seu papel é decisivo na segurança, na qualidade e na prevenção de perdas por deterioração (SIMPSON e CAREVIC, 2004; SANTOS e OLIVEIRA, 2012). Entretanto, alguns trabalhos têm citado a utilização de pescado conservado sob-refrigeração com uso de atmosfera modificada, chamados de produtos minimamente processados a base de pescado (SOCCOL et al., 2005; PRENTICE e SAINZ, 2005; TORRIERI et al., 2006; SANTOS e OLIVEIRA, 2012).

Outra forma de aproveitamento do pescado é o isolamento de proteína, basicamente um processo de extração química que visa obter um produto livre de interferentes e, portanto, mais concentrado, que tem outras propriedades e características de conservação e uso. Os isolados protéicos são obtidos de diversos alimentos, tais como soja, feijão, leite, frango, pescado e outros (FREITAS, 2011). A preparação de concentrados ou isolados protéicos provenientes de subprodutos da indústria processadora de pescado, obtidos pela aplicação do processo variação do pH (ou pH *shifting process*) tem recebido mais atenção nestes últimos anos (FONTANA et al., 2009; CORTEZ-VEGA, 2013). Este processo pode ser usado para qualquer espécie de pescado, remove essencialmente todos os lipídios e aumenta o rendimento protéico. Os processos de solubilização ácida e alcalina, utilizam o princípio de que a solubilidade do material contendo proteína quando homogeneizado com água é afetada pelo pH da mistura. Em condições extremamente ácidas ou alcalinas, forças de repulsão atuam sobre as proteínas miofibrilares e citoesqueléticas, ocorrendo interações com água e acontecendo a solubilização (NOLSOE e UNDELAND, 2009).

### **1.5 Nanocompósitos**

O desenvolvimento de filmes a base de biopolímeros tem sido bastante estudado devido aos problemas ambientais causados por embalagens de plásticos sintéticos, em razão das preocupações ambientais sobre o descarte desses materiais não renováveis das embalagens para alimentos e das oportunidades para criar novos mercados para as matérias-primas formadoras de filme (BAE et al., 2009; PAIVA et al., 2006; CORTEZ-VEGA et al., 2013). Os filmes biodegradáveis geralmente são elaborados a partir de proteínas, polissacarídeos e lipídeos ou da combinação destes compostos (RHIM e NG, 2007).

Os filmes nanocompósitos à base de proteínas de peixe formam redes, apresentando boas propriedades mecânicas e boa barreira ao oxigênio, porém, absorvem muita água, devido à hidrofiliabilidade dos aminoácidos das moléculas de proteína (PAIVA et al., 2006). Estas propriedades podem ser melhoradas aplicando-se nanotecnologia, incluindo materiais, como as nanoargilas e argilas organofílicas. No entanto, filmes constituídos por proteínas e polissacarídeos normalmente são sensíveis ao vapor de água, poderiam melhorar as propriedades mecânicas, de barreira a gases e à umidade, térmicas, ópticas e transparência, quando comparadas com compostos poliméricos convencionais (CORTEZ-VEGA et al., 2013).

A montmorilonita, dentre os tipos de argila de origem natural utilizados para a produção de nanocompósitos merece destaque, pois apresenta razão de aspecto bastante elevada devido à sua excelente capacidade de delaminação, além da resistência a solventes e estabilidade térmica necessária aos processos de polimerização. Apesar das suas qualidades, a montmorilonita em seu estado natural é hidrofílica, o que a torna quimicamente incompatível com as cadeias poliméricas. Portanto, é necessário que essa argila sofra um processo de modificação artificial para torná-la organofílica e desta forma, compatível com a matriz polimérica (COELHO et al., 2007; PAIVA et al., 2008; SILVA e FERREIRA, 2008).

Segundo Carrasco e Page's (2008) a introdução de pequenas quantidades de uma fase no polímero provoca melhoras significativas nas propriedades de barreira, resistência à chama, estabilidade térmica, resistência mecânica e resistência à degradação ambiental (raios ultravioleta e absorção de água), o que a torna potencial candidata para aplicações que exijam melhores desempenhos, como no caso das embalagens de proteção ao alimento.

### **1.6 Embalagens e etiquetas inteligentes: indicadores de tempo e temperatura.**

Ao longo do tempo, a indústria de alimentos tem sofrido constantes mudanças para se adaptar às crescentes exigências dos consumidores. A demanda por produtos minimamente processados, sensorialmente similares aos alimentos *in natura*, tem imposto novos requerimentos às embalagens, que devem assegurar uma vida útil adequada aos produtos (BRIZIO, 2014; TSIRONI et al., 2008).

Os indicadores de tempo e temperatura ajudam a alertar quando os produtos foram expostos a temperaturas além do limite definido. São utilizados principalmente

para a embalagem secundária para expedição para ajudar a monitorar as remessas sensíveis à temperatura (carnes vermelhas, aves, bebidas e etc.), incluindo vacinas, medicamentos, hemoprodutos, implantes, substâncias para diagnósticos, soluções oftálmicas, lentes intra-oculares e sinalizam quando a qualidade de um produto precisa ser verificada devido à exposição a determinadas temperaturas. Algumas empresas já fabricam uma grande variedade de produtos de indicadores para detectar elevação ou queda de temperatura. Esses produtos estão sendo usados em várias indústrias como, por exemplo, a alimentícia, farmacêutica, médica, veterinária e química (3M Food Safety Brasil, 2014).

Haja vista, esses sistemas monitores de temperatura vêm constituir recursos muito úteis para se monitorar a vida-útil de alimentos. Esses indicadores fornecem um histórico do produto através de integradores tempo-temperatura (*Dataloggers*) aos qual o alimento foi exposto, fornecendo uma indicação visual da vida-útil remanescente ou apenas uma indicação de que o tempo-temperatura total excedeu um valor pré-determinado (MAI et al. 2011; GALAGAN et al., 2010). Esses indicadores podem se basear em uma série de princípios físicos e químicos, devido às características requeridas dos indicadores, a saber: fácil ativação e utilização; resposta rápida, precisa, irreversível, e de boa correlação com taxas de deterioração; mecanismo baseado em uma alteração facilmente mensurável, com boa reprodutibilidade e dependente de tempo e temperatura (SELMAN, 1995). Entretanto, como essas taxas variam dependendo do tipo de alimento, é importante que a reação na qual se baseia o indicador tenha uma energia de ativação similar àquela que determina a deterioração do alimento em questão (BRIZIO, 2013; GALAGAN e SU, 2008; TSIRONI et al., 2008).

Nesse sentido, o uso de indicadores inteligentes de tempo e temperatura (ITT) têm se mostrado uma tecnologia emergente de grande potencial para monitorar continuamente a vida-útil de alimentos (BRIZIO e PRENTICE, 2014).

O *OnVu*® ITT B<sub>1</sub> é um indicador de tempo e temperatura irreversível cujo princípio de funcionamento está baseado numa reação fotocromica em estado sólido. Onde, uma tinta inteligente muda de cor de incolor para azul após irradiação com luz ultravioleta (UV) (ativação). Depois de ativada a tinta reverte para o estado incolor a uma taxa de resposta que é dependente do tempo e da temperatura de armazenamento da etiqueta (PASCALL et al., 1995; MAI et al., 2011; KREYENSCHMIDT et al., 2010).

## 2. Referências

- ALMEIDA, N.M.; BATISTA, G.M; KODAIRA, M; VAL, A.L; LESSI, E. 2005. Determinação do índice de rigor-mortis e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma macropomum*), de piscicultura e conservados em gelo. *Ciência Rural* 35(3):698-704.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; KASSAVETI, A. 2008. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses *International Journal of Food Science & Technology*, 726–745.
- ARNESEN, J.A; A. GILDBERG, 2007. Extraction and characterization of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin *Bioresour. Technology*. 98: 53-57.
- BAIXAS-NOGUERAS, S.; BOVER-CID, S.; VECIANA-NOGUES, T.; NUNES, M. L.; VIDAL-CAROU, M. C. 2003. Development of a quality index method to evaluate freshness in mediterranean hake (*Merluccius merluccius*). *Journal of Food Science*, Chicago, v. 68, n. 3, p. 1067-1071.
- BATISTA, G. M. 2002. Alterações bioquímicas post-mortem de matrinxã *Brycon cephalus* (GUNTHER, 1869) procedente da piscicultura, mantido em gelo. Dissertação, Mestrado em Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 111p.
- BAE, H. J.; PARK, H. J.; HONG, S. I.; BYUN, Y. J.; DARBY, D. O.; KIMMEL, R. M.; WHITESIDE, W. S. 2009. Effect of clay content, homogenization RPM, pH, and ultrasonication on mechanical and barrier properties of fish gelatin/montmorillonite nanocomposite films. *LWT - Food Science and Technology*, Oxford, v. 42, p. 1179-1186.
- BECHMANN, I. E.; JORGENSEN, B. M.. 1998. Rapid assessment of quality parameters for frozen cod using near infrared spectroscopy. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 31(7-8):648-652.
- BIRKELAND, S.; RORA, A M B.; SKARA, T.; BJERKENG, B. 2004. Effects of cold smoking procedures and raw material characteristics on products yield and quality parameters of cold smoked Atlantic salmo ( *Salmo salar* L) fillets.: *Food Research International*, v. 37, p. 273-286.
- BORGES, A., TEIXEIRA, M.S., FREITAS, M.Q., FRANCO, R.M., MÁRSICO, E.T., CARMONA, S.C. 2007. Qualidade da corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada em diferentes períodos de estocagem a 0°C. *Ciência Rural*, v.37, n.1.
- BRASIL. 2002. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA. Pescados e derivados, Cap.7, seção 1. Brasília.

- BRIZIO, A. P. D. R., PRENTICE, C. 2014. Use of smart photochromic indicator for dynamic monitoring of the shelflife of chilled chicken based products. *Meat Science*, 96, 1219–1226.
- BRIZIO, A.P.D.R. (2014). Embalagens Ativas e Inteligentes: Tecnologias Emergentes Para o Controle Dinâmico da Qualidade de Alimentos. p.110. Rio Grande: Ed. da FURG.
- CASTELO, F.P. 1992. Aproveitamento racional de pescado de água doce da Amazônia. Avaliação do frescor da matrinxã (*Brycon sp*) em gelo. *Acta Amazonica*. v.22, facs.3, p. 449-460, 1992.
- CARRASCO, F., PAGE'S, P. 2008. Thermal degradation and stability of epoxy nanocomposites: Influence of montmorillonite content and cure temperature, *Polymer Degradation and Stability*, v. 80, pp. 1000–1007.
- CAVALLI, R.O.; HAMILTON, S. 2007. A piscicultura marinha no Brasil - Afinal, quais as espécies boas para cultivar? *Panorama da Aquicultura*, 17(104): 50-55.
- CAVALLI, R. O.; HAMILTON, S. 2009. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.6, p.64-69.
- CAVALLI, R.O; DOMINGUES, E.C; HAMILTON, S. Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil: possibilidades e desafios. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.40, p.155-164, 2011.
- CHOU, R. L., SU, M. S., CHEN, H. Y. , 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v. 193, p. 81-89.
- CHANG, D. O cultivo do Beijupirá em Taiwan. *Panorama da Aquicultura*, setembro/ outubro, 2003: 43-49. 2003.
- CHAUDRY, Q.; CASTLE, L. 2011. Food applications of nanotechnologies: An overview of opportunities and challenges for developing countries. *Trends in Food Science & Technology*, Amsterdam, v. 22, n. 11, p. 595-603.
- COELHO, A. C. V., SANTOS, P. S. de SANTOS, H. S. 2007. Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão, *Química Nova*, v. 30, n. 5, PP. 1282-1294.
- CORTEZ-VEGA, W. R; BAGATINI, D. C.; SOUZA, J. T.A; PRENTICE, C. 2013. Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: Avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira. *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas, v. 16, n. 2, p. 90-98.

- CRAIG, S. R., SCHWARZ, M. H., & MCLEAN, E. (2006). Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. *Aquaculture*, 261(1), 384–391.
- DITTY, J.G., SHAW, R.F., 1992. Larval development, distribution, and ecology of cobia *Rachycentron canadum* (Family: Rachycentridae) in the Northern Gulf of Mexico. *Fish. Bull.* 90, 668–677.
- FAO, 2010. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2010*. Rome, FAO. 2010. 197p.
- FAO., 2011. FISHSTAT PLUS: Universal software for fishery statistical time series. Version 2.3.2000. Rome: Fisheries Department Fishery Information, Data and Statistics Unit, FAO.
- FONTANA A.; CENTENARO G.S; PALEZI, S.C; PRENTICE, C.H. 2009. Obtenção e avaliação de concentrados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*) processados por extração química. *Quím. Nova* vol.32.
- FRANKS, J. S., WARREN, J. R., BUCHANAN, M. V. 1999. Age and growth of cobia, *Rachycentron canadum*, from the Northeastern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin*, 97, 459–471.
- FREITAS I. R. 2011. Otimização do processo de obtenção de isolados protéicos provenientes de pescado de baixo valor comercial..Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Curso de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande.
- FROESE, R., D. PAULY. (Editors). 2009. FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org).
- GALAGAN, Y., HSU, S.-H. & SU, W.F. 2010. Monitoring time and temperature by methylene blue containing polyacrylate film. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 144, 49–55.
- GONZAGA JR, M.A. Avaliação da qualidade de filés de pirarucu (*Arapaima gigas*, CUVIER 1829), refrigerados e embalados sob atmosfera modificada. 74p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós - Graduação em Aqüicultura. Universidade Federal do Rio Grande, 2010.
- HUSS, H.H. *Garantia da Qualidade dos Produtos da Pesca*. Roma: FAO, 1997. (FAO Documento Técnico Sobre as Pescas 334).
- JAY, J. M., 2004. *Microbiologia dos alimentos*. Ed. Guanabara Koogan, p. 308-324.
- JESUS, R. S.; FALCÃO, P. T.; LESSI, E. 1990. Deterioração do pescado de água doce da Amazônia. Qualidade do jaraqui (*Semaprochilodus spp*) comercializado em Manaus, Am. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, 10 (2): 216-230.

- JAMILAH, B.; HARVINDER, K. G. Properties of gelatins from of fish – Black tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and red tilapia (*Oreochromis nilotica*). *Food Chemistry*, v. 77, n. 1, p. 81-84, 2002.
- KARIM, A. A.; BHAT, R. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Food Science & Technology*. v. 19, n. 12, p. 1-13, 2008.
- KARIM, A. A.; BHAT, R. Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*. v. 23, n. 3, p. 563-576, 2009.
- LIAO, I. C., HUANG, T. S., TSAI, W. S., CHANG, S. L., HSUEH, C. M., LEAN E. M. 2004. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. *Aquaculture*, 237, 155–165.
- LIAO, I.C., 2003. Candidate species for open ocean aquaculture: the successful case of cobia *Rachycentron canadum* in Taiwan. In: Bridger, C.J., Costa-Pierce, B.A. (Eds.), *Open Ocean Aquaculture: From Research to Commercial Reality*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA, pp. 205–213.
- JAY, J. M., 2004. *Microbiologia dos alimentos*. Ed. Guanabara Koogan, p. 308-324.
- MARTINSDOTTIR, E; SVEINSDOTTIR, K.; LUTEN,J.; SCHELVIS - SMIT, R. e HYLDIG, G. 2001. Avaliação sensorial da frescura de produtos da pesca. *QIM Eurofish*. 49 p.
- MAI, N. T. T., GUDJÓNSDÓTTIR, M., LAUZON, H. L., SVEINSDÓTTIR, K., MARTINSDÓTTIR, E., AUDORFF, H., REICHSTEIN, W., HAARER, D., BOGASON, S. G., & ARASON, S. 2011. Continuous quality and shelf life monitoring of retail-packed fresh cod loins in comparison with conventional methods. *Food Control*, 22, 1000–1007.
- MPA, 2011 – Ministério da Pesca e Aquicultura <http://www.mpa.gov.br>. Acessado em 12/03/2012
- OLAFSDOTTIR, G.; MARTINSDOTTIR, E.; OEHLENSCHLAGER, J.; DALGAARD, B.; JENSEN, B.; UNDERLAND, I.; MACKIE, I. M.; HENEHAN, G.; NIELSEN, J.; NILESEN, H. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. A review. *Trends in Food Science and Technology*, 8: 258-265.
- OETTERER, M. 1999. *Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos e higiênicos e nutricionais*. Piracicaba, 198p. Tese (Livre-docente) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

- OLIVEIRA, P. R., JESUS, R. S., BATISTA, G.M., LESSI E. 2014. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) durante estocagem em gelo . Brazilian Journal Food Technology. Campinas, v. 17, n. 1, p. 67-74.
- PASCALL, M.A.; HARTE, B.R.; GIACIN, J.R.; GRAY, J.I. 1995. Decreasing lipid oxidation in soybean oil by a UV absorber in the packaging material. Journal of Food Science, v. 60, n. 5, p. 1116-1119.
- PAIVA, L.B.; MORALES, A.R.; GUIMARÃES, T.R. 2006. Propriedades Mecânicas de Nanocompósitos de Polipropileno e Montmorilonita Organofílica. Polímeros: Ciência e Tecnologia, v.16, p. 136-140.
- PAIVA, L. B. de, MORALES, A. R., DÍAZ, F. R. V. 2008. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização, Cerâmica, v. 54, pp. 213-226.
- PRENTICE, C.; SAINZ, R.. 2005. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, 25 (1): 127-131.
- NOLSØE, H.; UNDELAND, I. 2009. The acid and alkaline solubilization process for the isolation of muscle proteins: State of the Art. Food Bioprocess Technol. 2: 1–27.
- ROONEY, M.L. 1995. Overview of active food packaging. In: ROONEY, M.L. Active food packaging. Glasgow: Chapman & Hall. p. 1-37.
- RHIM, J.W.; NG, P.K.W. 2007. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.47, p. 411-433.
- SANT'ANA, L. S., SOARES, S., & VAZ-PIRES, P. 2011. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). Food Science and Technology, 44, 2253-2259.
- SAMPAIO, L. A.; MOREIRA, C.B.; MIRANDA-FILHO, K.C.; ROMBENSO, A.N. 2011 Culture of cobia *Rachycentron canadum* (L) in near-shore cages off the Brazilian coast. Aquaculture Research, v.42, p.832-834.
- SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, M. B. P. P.2012. Revisão: Alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v. 15, n. 1, p. 1-14, jan./mar.

- SARTORI, A. G. O; AMANCIO, R.D. 2012. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, 19(2): 83-93.
- SELMAN, J.D. 1995. Time-temperature indicators. In: ROONEY, M.L. *Active food packaging*. Glasgow: Chapman & Hall. p. 215-237
- SILVA, A. R. V., FERREIRA, H. C. 2008. Esmectitas organofílicas: conceitos, estruturas, propriedades, síntese, usos industriais e produtores/fornecedores nacionais e internacionais, *Revista eletrônica de materiais e processos*, v. 3.3, PP. 1-11.
- SIMPSON, R., CAREVIC, E. 2004. Designing a modified atmosphere packaging system for foodservice portions on non-respiring foods: optimal gas mixture and food/headspace ratio. *Foodservice Research International*,(4), 257-272.
- SOCOL, M.C.H.; OETTERER, M.; GALLO, C.R.; SPOTO, M.H.F.; BIATO, D.O. 2005. Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. *Brazilian Journal of Food Technology*. v.8, n.1, p.7-15.
- SOUZA, M. L. R. de. Comparação de seis métodos de filetagem em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.3, p.1076-1084, 2002.
- TSIRONI, T.; GOGOU, E., VELLIU, E.;TAOUKIS, P. S. 2008. Application and validation of the TTI based chill chain management system SMAS (Safety Monitoring and Assurance System) on shelf life optimization of vacuum packed chilled tuna. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 108 e 115.
- TORRIERI, E.; S. CAVELLA, S.; VILLANI, F.; MASI, P. 2006. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Food Engineering* 77 1078–1086.
- 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.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Geral:**

Determinar tecnologias para conservação do bijupirá (*Rachycentron canadum*) cultivado, resfriado e congelado.

#### **3.2 Específicos:**

- Desenvolver um protocolo IQ, baseado no Método de Índice de Qualidade (MIQ), específico para o bijupirá inteiro armazenado em gelo, com vistas a determinar a vida útil do pescado inteiro resfriado.

- Avaliação de alterações físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais dos filés de bijupirá mantido sob congelamento;

- Avaliar as alterações na temperatura ao longo do tempo de estocagem do bijupirá mantido em gelo através do uso de indicadores de tempo e temperatura;

- Estudar o efeito na qualidade e na vida-útil dos filés de bijupirá embalados em atmosfera modificada (EAM);

- Avaliar o comportamento de filmes nanocompósitos de isolado protéico de pescado e nanoargilas aplicados em filés de bijupirá.

**Os capítulos foram padronizados e redigidos conforme as Normas Complementares do Programa de Pós-Graduação em Aquicultura (Orientações para o formato da Dissertação/Tese).**

## **Capítulo 1.**

### **Desenvolvimento e aplicação do método de índice de qualidade para o bijupirá (*Rachycentron canadum*) inteiro cultivado armazenado em gelo.**

#### **RESUMO**

O frescor é o principal contribuinte para a qualidade do pescado, e o principal método para avaliá-lo em pescados é a avaliação sensorial. O objetivo deste trabalho foi estudar as alterações na qualidade do bijupirá sob armazenamento em gelo por meio de análise sensorial e físico-química, bem como a contagem bacteriana de organismos específicos de deterioração. Em particular, foi proposta a elaboração de um método de índice de qualidade (MIQ). O bijupirá foi capturado e abatido por choque térmico em caixas contendo gelo e água (1:1), seguido de estocagem em gelo (0-2 ° C). As amostras armazenadas entre 0 a 30 dias foram analisados através do MIQ. Dez painelistas observaram e registraram as mudanças que ocorrem no pescado, a partir do momento da despesca (dia zero) até o final do experimento. Depois de desenvolver o método, 11 atributos sensoriais foram descritos em 23 pontos, que detalharam a aparência da pele, olhos, abdômen, brânquias e textura. Conforme as bases voláteis (N-BVT) e dados microbiológicos determinaram um período de vida útil de 19 dias para as amostras. A análise sensorial mostrou um ponto de rejeição com 15,67 dias de armazenamento de gelo . A degradação natural de proteínas miofibrilares e colágeno foi observada durante o armazenamento de gelo. Em conclusão, um prazo de validade de 15 dias, foi definido para bijupirá inteiro armazenado em gelo.

**Palavras-chave:** frescor, armazenamento em gelo, avaliação sensorial, vida-util.

#### **ABSTRACT**

### **Development and application of a quality index method scheme for farmed cobia *Rachycentron canadum* stored on ice.**

Freshness is the main contributor to seafood quality, and the principal method to evaluate seafood freshness is sensory evaluation. The aim of this work was to study the quality changes of cobia under ice storage through sensory and physical analysis as well

as bacterial counting of specific spoilage organisms (SSOs). In particular, the optimization of a quality index method (QIM) scheme was proposed. The cobia was caught and slaughtered by thermal shock in boxes containing ice and water (1:1) followed by storage on ice (0-2°C). Samples stored for 0 to 30 days were analyzed with the QIM. Ten panelists observed and registered the changes occurring in the fish starting on day zero and ending when the fish were spoiled. After developing the scheme, 11 sensory attributes were described in 23 points, which detailed the appearance of skin, eyes, abdomen, gills and texture. The volatile nitrogen compound measurements and microbiological data of the SSOs determined a shelf-life of 19 days for the samples. Sensory analysis showed a rejection point with 15.67 days of ice storage. The natural degradation of myofibrillar proteins and collagen was observed during ice storage. In conclusion, a shelf-life of 15 days was defined for raw cobia stored on ice.

**Keywords:** freshness, ice storage, sensory evaluation, shelf-life

## 1. Introdução

A qualidade do pescado é um conceito complexo que envolve diversos fatores, incluindo segurança, qualidade nutricional, disponibilidade, conveniência e integridade para o consumidor, bem como o frescor, qualidade alimentar, atributos físicos da espécie, tamanho e tipo de produto (Abbas et al., 2008). No entanto, o frescor é o fator mais importante para a qualidade de produtos pesqueiros, porque é o primeiro critério para a aceitação ou rejeição do pescado.

A análise sensorial sempre desempenhou um papel fundamental na qualidade e avaliação do frescor do pescado na indústria. Este método tem sido considerado rápido e de baixo custo (Martinsdottir, 2002), e analisa-se a qualidade do pescado através da visão (aspecto), paladar, olfato e tato (Huidobro et al., 2000). No entanto, a qualidade da análise sensorial depende da amostra, método utilizado e principalmente habilidade dos painelistas (Stone e Sidel, 1992), que são essenciais para determinar a vida útil do pescado (Huss et al., 2004).

O método de índice de qualidade (MIQ) foi desenvolvido para avaliar o peixe fresco, para aperfeiçoar o trabalho de forma globalizada, na qualidade do pescado em

países como a Austrália, Noruega e Portugal (Bremner, 1985). Atualmente, este método é aplicado a diferentes produtos (Erikson et al., 2011; Bonilla et al., 2007; Guillerm-Regost et al., 2006; Mach e Nordvedt, 2012). Com base em uma análise sensorial sistemática, o MIQ é um método de prospecção para avaliar pescado fresco em todo o mundo (Martinsdottir et al., 2001). Devido à relevância do MIQ e sua fácil aplicabilidade, existem protocolos que medem o índice de qualidade para 35 espécies de peixes e produtos (QUIM-EUROFISH, 2012), e hoje já existem aplicativos para celulares como o iPhone da Apple, um protocolo digital livre, que mede o índice de qualidade de algumas dessas espécies, tem sido usados para a inspeção dos pescados nos mercados e indústria.

Foram introduzidas outras técnicas para medir os parâmetros físicos e químicos de pescados frescos. A análise morfológica dos alimentos é importante para avaliar os efeitos do armazenamento sobre a estrutura microscópica dos componentes que contribuem para manter os atributos de qualidade. Estudos têm mostrado alterações de elementos estruturais da musculatura do pescado promovidas por processos líticos que alteram a composição bioquímica das miofibrilas (Pavlov et al., 2008), com perdas na textura e qualidade da carne.

Bijupirá (*Rachycentron canadum*) (Linnaeus, 1766) é considerado uma espécie de grande valor comercial para a aquicultura, pois tem crescimento rápido, excelente desempenho, boa qualidade de filé e altos preços comerciais. Shiao, (2007) analisou a nutrição e desempenho do bijupirá, focando a qualidade de seus filés. O esquema MIQ foi relatado em somente uma publicação (Mach e Nordvedt, 2012), em que os autores desenvolveram um esquema prévio para o bijupirá eviscerado, no entanto, existem outros estudos em que utiliza-se o método MIQ para avaliar as propriedades físico-químicas e microbiológicas de pescado inteiro.

Devido à alta relevância do MIQ e as paupérrimas informações de algumas espécies de peixes, uma avaliação mais elaborada, para avaliar a qualidade da carne e o frescor do bijupirá, bem como o desenvolvimento de protocolos de análise sensorial tornou-se necessário. O objetivo deste estudo foi desenvolver e aplicar o método MIQ para bijupirá inteiro armazenado em gelo, realizar análises sensoriais, contagens microbiológicas e executar avaliações físico-químicas para determinar o período de vida útil desse pescado armazenado em gelo.

## **2. Material e Métodos**

## 2.1 Preparação das amostras

Foram realizados três experimentos entre os meses de janeiro a setembro de 2012. As amostras foram obtidas a partir de uma produção *near-shore*, cerca de 700m da praia Recanto da Lagoinha em Ubatuba, São Paulo, Brasil. Os espécimes de bijupirá foram despescados e abatidos por choque térmico em caixas contendo gelo e água (1:1), as amostras foram mantidas em gelo (0-2°C) e transportadas para o laboratório de Tecnologia do Pescado – Embrapa Meio Norte em caixas de poliestireno (dentro de 24 horas entre a despesca e início das análises).

Foram capturados três lotes (n=60 peixes) a partir do mesmo cultivo. De cada lote, 10, 5 e 2 espécimes foram escolhidas aleatoriamente, para análises sensoriais, físico-químicas e microbiológicas, respectivamente. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e mantidas em gelo ( $0,5 \pm 0,2$  °C) em uma sala com temperatura de  $17,60 \pm 0,5$  °C, e então foi adicionado gelo diariamente. Os parâmetros morfométricos e a composição inicial das amostras em cada ensaio estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores de peso, comprimento total e composição proximal do bijupirá.

	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
Peso (g) <sup>a</sup>	1513,02±213,29	2587,00±622,26	2634,64±484,74
Comp total (cm) <sup>a</sup>	47,60±4,81	59,88±4,44	60,25±3,60
Umidade (%) <sup>b</sup>	72,18±1,40	75,24±0,62	77,05±0,90
Proteína (%) <sup>b</sup>	16,87±1,73	17,19±0,01	17,19±0,01
Lípidios (%) <sup>b</sup>	3,48±0,32	5,82±0,01	2,22±0,13

Media + SD

<sup>a</sup> n = 20

<sup>b</sup> n = 6

## 2.2 Avaliação sensorial

Participaram do painel de testes sensoriais dez avaliadores/painelistas treinados para o desenvolvimento do sistema MIQ. Os avaliadores eram funcionários, estagiários e técnicos do Laboratório de Tecnologia do Pescado da Embrapa Meio-Norte. Todos os membros tinham formação prévia em análise sensorial de pescado e esquemas de MIQ para diversas espécies de peixes.

As avaliações para determinar a qualidade do bijupirá foram realizadas sob condições padronizadas em temperatura ambiente (25°C), utilizando luz elétrica fluorescente e com o mínimo de distração possível. Os espécimes de bijupirá foram retirados das caixas isotérmicas e colocados sobre embalagens de PVC com gelo, de 20 a 30 minutos antes de cada avaliação. As amostras de pescado foram identificadas, codificadas com números aleatórios de três dígitos, independentes da caixa armazenada e tempo de armazenamento.

Os avaliadores analisaram previamente as amostras de bijupirá mantidas em gelo (0-2 °C) por 15 dias. Todas as alterações observadas na aparência, odor, olhos, brânquias, pele e textura foram listadas em um esquema preliminar. Após estas observações, 10 sessões de uma hora cada, foram usadas para desenvolver o esquema do painel sensorial do MIQ. Em cada sessão, dez exemplares que tinham sido armazenadas em gelo até 24 dias, foram observadas. Nos dois primeiros dias, observou-se o estado de frescor do bijupirá e então um esquema preliminar foi explicado aos panelistas. Todas as sugestões relatadas pelos membros do painel foram incluídas no esquema final e apresentado pelo líder no último dia de treinamento.

A aplicação MIQ foi realizada de acordo com Sant'Ana, et al., (2011). Dez bijupirás foram avaliados após 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 18 e 22 dias de armazenamento em gelo, em triplicata, nos meses de fevereiro, março e setembro de 2012. O protocolo MIQ para bijupirá inteiro é apresentado na Tabela 2. O esquema MIQ demonstrou atributos de qualidade para a aparência, textura, brânquias, olhos, pele e mucosa, com variação entre 0 a 3 pontos, de acordo com as mudanças no tempo de armazenamento.

Tabela 2 – Método de índice de qualidade desenvolvido para bijupirá.

Parâmetro	Descrição	Pontuação
Cor/Aparência	Pigmentação viva, cores vivas	0
	Perda de brilho, cores mais opacas	1
	Sem brilho, cores desvanecidas	2
Pele	Claro e fluido	0
	Muco	
	Leitoso e espesso	1
	Amarelo e espesso	2
Odor	Frescor	0
	Neutro a metal, grama seca, grãos	1
	Acre	2
Olhos	Rançoso	3
	Límpida	0
	Córnea	
	Ligeiramente opaca	1
Pupila	Leitosa, opaca	2
	Preta, bem delimitada (arredondada)	0
	Enevoada, perda do delineamento	1
	Cinzenta, sem delineamento	2

		Protuberante, convexa	0
	Forma	Achatada, plana	1
		Côncava, afundada	2
		Vermelho vivo	0
	Cor	Menos vivo, pálida nas bordas	1
		Descoradas	2
		Transparente	0
	Muco	Amarelado, espesso	1
		Marrom	2
Brânquias		Algas	0
	Odor	Neutro, algas menos intenso	1
		Ligeiramente rançoso	2
		Rançoso	3
		Integra	0
	Forma	Ligeiramente disforme	1
		Disforme	2
		Marca do dedo desaparece imediatamente(<2 s)	0
Textura	Elasticidade	Marca do dedo menos de 3s para desaparecer	1
		Marca do dedo mais de 3s para desaparecer	2
Índice de qualidade total			0-23

### 2.3 Análises microbiológicas

Dois espécimes de bijupirá foram escolhidos aleatoriamente para serem analisadas microbiologicamente. Realizou-se a contagem de bactérias heterotróficas, aeróbicas, mesófilas e psicrotróficas (Contagem de Placas em Agar - HIMEDIA®, LBS Marg, Mumbai, Índia), *Enterobactérias* (Agar MacConkey - OXOID®, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido), *Pseudomonas spp* (Pseudomonas Agar - OXOID®, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido) e de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>S (Agar Ferro - OXOID®, Basingstoke, Hampshire, Reino Unido), em intervalos de 1, 4, 7, 11, 15, 18, 22, 25 e 29 dias de armazenamento, utilizando a técnica de esfregação de superfície (Evancho, Sveum, Moberg, & Frank, 2001).

As placas que continham os meios Agar Pseudomonas e Agar ferro foram incubadas a 20 °C durante 24-48 h. As placas de Agar MacConkey e as que continham bactérias mesófilas foram incubadas a 35 °C durante 24-48 h, as placas com bactérias psicrotróficas foram incubadas a 5 °C a por 7-10 dias. Os resultados da contagem de bactérias foram expressos em log 10.

### 2.4 Análise química

Análises de composição proximal foram realizadas com a chegada do peixe (dia 1). Cinco peixes escolhidos aleatoriamente foram cortados em files e homogeneizados de acordo com os métodos analíticos convencionais (AOAC, 2005). Foi determinado o

teor de umidade de cada amostra (2,0 g) e a diferença foi medida antes e após o aquecimento em forno durante 24h a 105 °C (QUIMIS, São Paulo, São Paulo, Brasil). O nível total de proteína, foi determinado pelo método de Kjeldahl, e os níveis de proteína foram estimados utilizando um fator de conversão de 6,25. Os lipídios foram determinados por extração com éter de petróleo em um aparelho de Soxhlet (SOLAB, Campinas, São Paulo, Brasil).

Os valores de pH e de base nitrogenadas voláteis totais (N-BVT) das amostras foram analisados nos dias 1, 4, 8, 12, 16 e 20 de armazenamento em gelo. O pH das amostras foram determinados usando um medidor de pH digital (TESTO, modelo 205, Campinas, São Paulo, Brasil), equipado com um eletrodo de vidro (calibrado em pH 4 e 7). O nitrogênio de base volátil total (N-BVT) foi determinado pela precipitação de proteínas com ácido tricloroacético (TCA, 7,5%, Synth @, Diadema, São Paulo, Brasil) e o extrato TCA foi avaliado utilizando o método Micro Kjeldahl de acordo com um método adaptado de Brasil (1981) e Jesus (1999).

## **2.5 Análises histológicas**

Dez amostras de biópsia foram obtidas a partir dos músculos dorsais de dois peixes. As amostras foram fixadas em fixador de Carnoy, fixador de Bouin e 10% de formalina neutra. Então a remoção dos fixadores dos tecidos foi realizada utilizando água corrente ou série crescente de etanol, o material foi clarificado em xileno, encharcado e embebido em parafina. Secções transversais de 6 mM foram coradas em hematoxilina-eosina (Ehrlich) para as preparações histológicas permanentes (Vitanov et al., 1995). Cada secção transversal histológica de todas as amostras biológicas foi analisada em microscópio óptico (lupa).

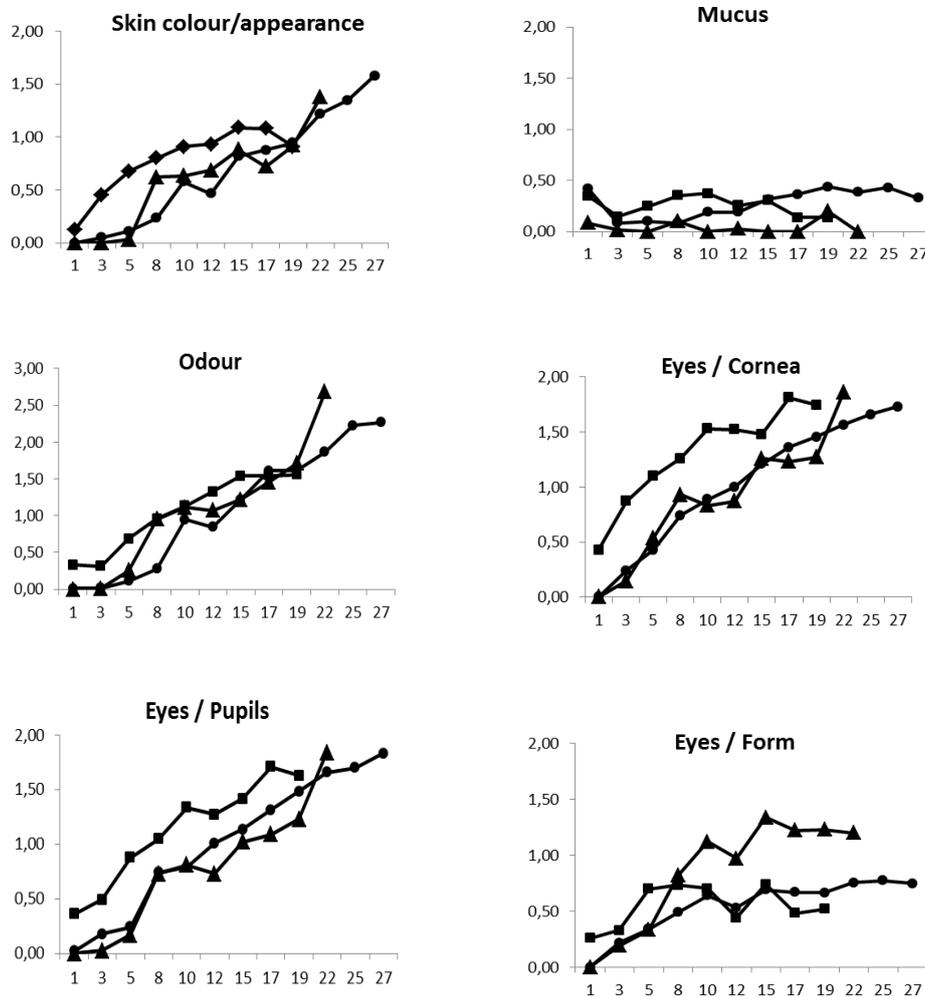
## **2.6 Análise estatística**

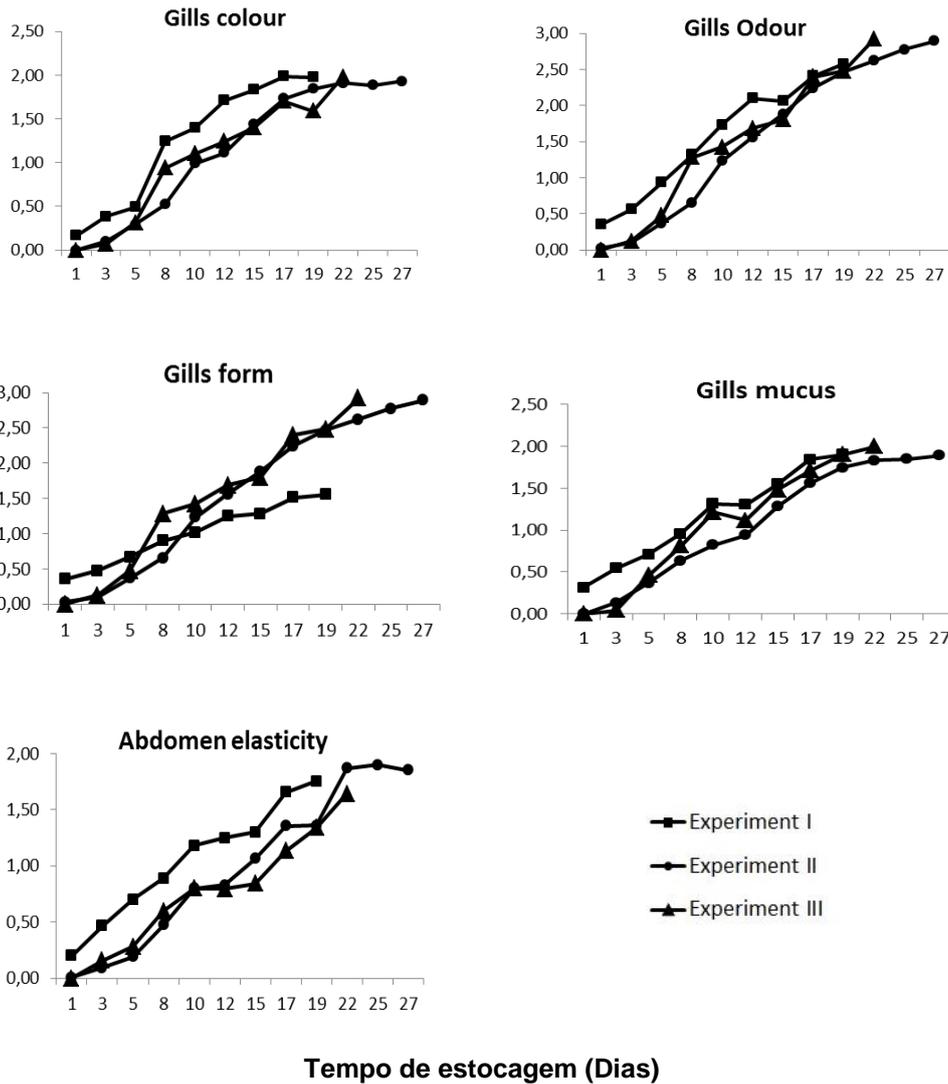
Os dados da análise sensorial obtidos foram avaliados utilizando a normalidade aplicada através do teste de Shapiro-Wilk (Zar, 2010). A regressão linear e a correlação de Pearson entre o escore QI *versus* o armazenamento em gelo foram analisados usando o software OriginPro 8.1.

## **3. Resultados e Discussão**

O protocolo de QI desenvolvido apresentou 11 atributos sensoriais (Tabela 2) relacionados com pele (cor/aparência, presença de muco e odor), olhos (córnea, pupila e forma), brânquias (cor, forma, odor e muco) e textura ou elasticidade da musculatura abdominal (Figura 1). O total de pontos de demérito estabelecido foi de 23. No entanto, alguns atributos não apresentaram a maior pontuação, porque as suas características levaram mais tempo para mudar.

Figura 1. Pontuação de cada atributo de qualidade para o bijupirá durante o armazenamento em gelo (n = 20).





Durante os cinco primeiros dias de armazenamento em gelo, a pele do pescado não foi alterada, no entanto, a cor característica alterou após 10 dias. O odor também mudou lentamente, marcando 2,68 após 22 dias de armazenamento. Do início da avaliação até 15 dias após o armazenamento, os bijupirá frescos foram descritos como pescado fresco ou neutro, fator semelhante foi observado em análises de salmão (Sveinsdottir et al., 2002). Esta observação pode estar relacionada ao fato de que pescado fresco contém baixos níveis de compostos voláteis. Os odores azedos e podres, que são causados por ácidos de cadeia curta, aminas e compostos de enxofre oriundas de atividade microbiana, foram observados somente após 20 dias de armazenamento em gelo (Olafsdottir e Fleurence, 1997).

O muco da pele foi um dos atributos que mostraram uma grande variação devido à lixiviação durante a manipulação e contato com o gelo, tornando-se um atributo

menos relevante na análise sensorial. Os olhos mostraram alterações visíveis, tais como opalescência e um contorno indistinto durante os primeiros dias de armazenamento. A forma do olho foi convexa no primeiro dia, e se tornaram plana e lisa nos 10 dias subsequentes, seguido por uma forma côncava, durante o restante do período de armazenamento. A forma dos olhos depende da posição de armazenamento de peixe. Por exemplo, os olhos ficam achatados quando o peixe é colocado na horizontal e convexo quando o peixe é colocado em pé ou na vertical (Campos et al., 2005).

A cor das brânquias e o odor mostraram mudanças perceptíveis após o 5º dia de armazenamento, com maior pontuação no 17º dia quando a cor foi alterada de vermelho para cinza-marrom e o odor de neutro a fétido. Após esse período, as mudanças nas brânquias aconteceram lentamente, como forma, cor e odores padrões. Os formatos do arco branquial foram uniformes e bem definidos durante os primeiros dias do experimento, mas tornou-se menos definido, com as pontas desfiadas e os arcos aglutinados. No 1º dia, o muco mostrou-se transparente e não denso. Nos dias seguintes de avaliação, o muco tornou-se denso mais escuro e amarelado, com incisões de sangue a partir do 17º dia de armazenamento.

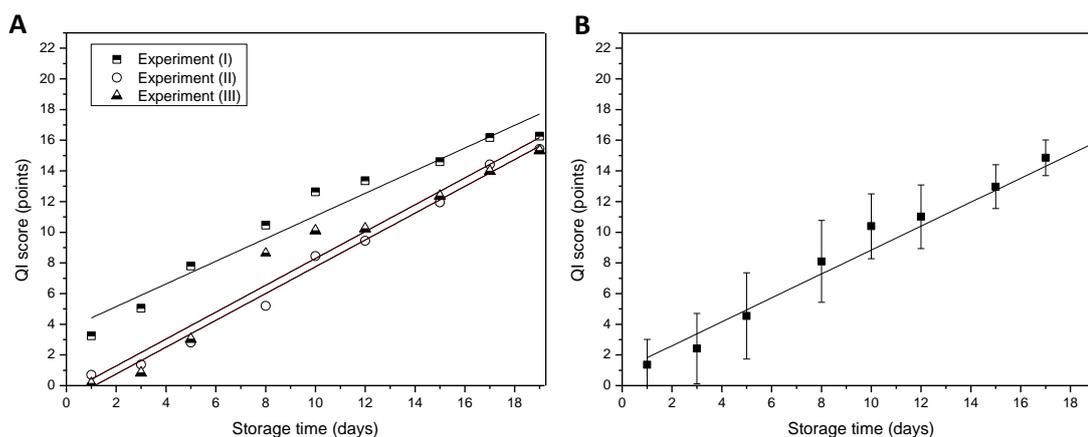
A área branquial é considerada a parte do peixe mais susceptível a putrefação microbiana. Portanto, a cor e a mudança de odor do peixe demonstram o início da deterioração. O grau de deterioração pode ser observado quando a cor característica das brânquias, que é vermelha brilhante, inicia a mudança para marrom, em seguida, a cinza-amarronzado (Lauzon et al., 2010).

A elasticidade da musculatura levou mais tempo para mostrar modificação visível, e foi flexível até o 10º dia de armazenamento (Figura 1). Os escores médios de atributos para a qualidade do abdômen eram baixos até cerca do 8º dia, e então começaram a aumentar com o tempo de armazenamento (Sveinsdottir et al., 2002). Após 10 dias de armazenamento em gelo, a carne tornou-se macia devido à autólise causada no músculo do pescado e enzimas microbianas (Nielsen, 1995).

O número de atributos de qualidade e o total de pontos de demérito dependem de cada espécie de peixe estudado, pois as características sensoriais são espécie-específica. O principal protocolo MIQ que foi recentemente desenvolvido para o bijupirá eviscerado inteiro, contém 11 atributos que cobrem 25 pontos de demérito (Mach e Nordvedt, 2012). No entanto, o ponto de rejeição para bijupirá eviscerado inteiro é obtido com 13,8 pontos totais e 15 dias de armazenamento de gelo. No presente estudo, a pontuação total foi de 15,67, com 19 dias de armazenamento (Figura

2). A diferença destes resultados pode ser atribuída às diferentes áreas de produção (Brasil e Vietnã) e grandes quantidades (ou estoques) de peixes. Estas diferenças podem também ser devido à utilização de peixe eviscerado por Mach e Nordvedt (2012), o que pode favorecer a entrada de microrganismos no músculo e estimular o processo de deterioração.

Figura 2. Índice de Qualidade para o bijupirá durante o armazenamento em gelo: (A) média de três experimentos; (B) média total.



Outros estudos utilizando outras espécies de pescado têm descrito um total de 30 pontos de demérito para blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*), com um prazo de validade de 12-13 dias (Sant'Ana et al., 2011), 22 pontos de demérito para o linguado Senegalês (*Solea senegalensis*), com 14 dias de armazenamento (Gonçalves et al., 2007), 15 pontos para dourada cultivada (*Sparus aurata*, L.), com 14 dias de armazenamento (Simat, et al., 2012) e 14 pontos de demérito para o listrado híbrido (*Morone saxatilis x chrysops Morone*) com um prazo de validade de prateleira de 14 dias (Nielsen e Green, 2007).

Há uma relação crescente entre o escore QI total e os dias de armazenamento (Sveinsdottir et al., 2002). Esta correlação foi extremamente elevada para o conjunto de bijupirá mantidos em gelo ( $R^2 = 0,994$ ) (Tabela 3) durante todas as experiências efetuadas, demonstrando assim que o protocolo desenvolvido de QI foi consistente com todas as alterações de atributos sensoriais do bijupirá durante o armazenamento em gelo. O QI pode ser usado para prever o tempo de armazenamento restante com uma

precisão de  $\pm 1,3$  dias, quando cinco ou mais amostras de cada tempo de armazenamento são utilizadas (Bonilla et al., 2007), como observado neste trabalho.

Tabela 3 - Correlação de Pearson e análise de regressão linear do Índice de Qualidade do bijupirá em relação ao tempo de armazenamento.

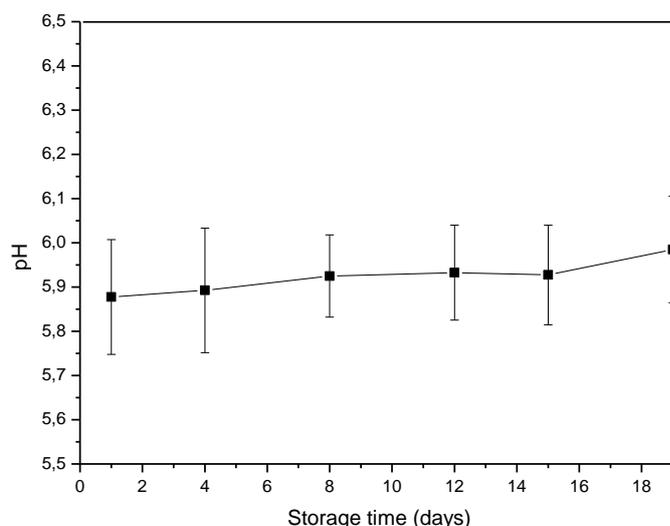
Experimento	I	II	III	Média
Linear Fit	$y = 0,739x + 3,673$	$y = 0,874x - 0,991$	$y = 0,876x - 0,467$	$y = 0,780x + 1,038$
R de Pearson	0,977	0,995	0,978	0,994
Adj. R-Square	0,948	0,988	0,949	0,986
Soma do quadrado dos resíduos	8,309	2,543	11,317	1,389

As mudanças de atributos sensoriais são os resultados da deterioração do pescado causados por processos complexos bioquímicos, físicos e microbiológicos. Portanto, a análise sensorial deve ser realizada juntamente com as avaliações físico-químicas e microbiológicas.

As medições de bases voláteis totais e de pH, são aspectos físico-químicos que permitem inferir a qualidade do pescado juntamente com correlações de atributos sensoriais. Depois que peixe morre, o pH dos músculos diminui devido a uma reação bioquímica produzindo ATP através da degradação de glicogênio e de ácido láctico. No entanto, a diminuição do pH durante o *rigor mortis* é baixa, com valores próximos a 6,0, o que é causado pela baixa concentração de glicogênio. De acordo com outros estudos, a faixa de pH dos músculos de bijupirá mostra valores baixos no músculo (cerca de 5,50), o que é semelhante aos valores observados em pelágicos, e o pH diminui durante o início do armazenamento (Shiau, 2007).

No presente estudo, os bijupirá armazenados em gelo mostraram valores de pH variando de 5,75 (24 horas após o abate) para 6,10 ao fim de 18 dias de armazenamento (Figura 3). O aumento do pH pode ser afetado pelas espécies de peixes, tipo de pescado, quantidade de microrganismos, manuseio e armazenamento (Teodoro, et.al., 2007). Neste trabalho, o baixo pH muscular observado no início do armazenamento em gelo refletiu o bom estado nutricional do peixe (Abbas et al., 2008). O aumento dos valores de pH após 5 dias, reflete a produção de metabólitos de bactérias alcalinas, como o nitrogênio de bases voláteis total (N-BVT) (Simat et al., 2012).

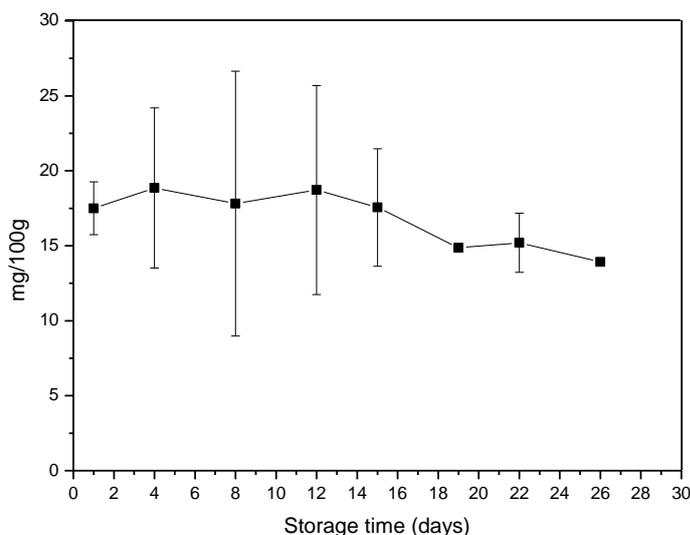
Figura 3. Valores de pH do bijupirá inteiro durante o armazenamento em gelo.



O nitrogênio de bases voláteis totais (N-BVT) é representado por substâncias tais como o amoníaco e trimetilamina, que são produzidos quando o peixe está em decomposição (Scherer et al., 2006). Valores N-BVT são baixos durante os períodos de captura, abate e *rigor mortis*, quando o processo resulta em autólise uma ligeira perda de sabor e cheiro. Valores N-BVT mais elevados são observados durante o período de pós-rigor, com compostos mais altos de atividade de microrganismos, que levam a um sabor e odor desagradável no produto (Contreras-Guzmán, 1994).

Durante os primeiros 12 dias de armazenamento, os bijupirá mostraram um valor médio de N-BVT de 19,33 mg/100g de músculo, o que diminuiu para 17mg/100g de músculo de 15-29 dias de armazenamento e durou até a deterioração (Figura 4). Os valores mais elevados durante os primeiros dias de armazenamento são causadas por uma degradação inicial de 40% de aminoácidos livres, que resulta na produção de amoníaco no músculo do bijupirá (Shiau, 2007). Nos dias seguintes, os valores mais baixos de N-BVT estão relacionados com a baixa atividade de microrganismos produtores de  $H_2S$  no pescado armazenado em gelo (Figura 5). Um estudo similar de qualidade de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) armazenada em gelo (Scherer et al., 2006) não mostraram diferenças significativas na N-BVT durante 20 dias de armazenamento.

Figura 4. Valores de bases voláteis totais (N-BVT) do bijupirá durante o armazenamento em gelo.



Os níveis iniciais de N-BVT foram perto do limite estabelecido para pescado fresco (20 mg por 100g), mas os valores no final do armazenamento não permaneceram abaixo do limite recomendado de 30-35mg/100g de N-BVT. No ponto de rejeição sensorial das amostras (15 dias), o conteúdo de amins voláteis não indicou que o peixe estava estragado. Assim, a análise das amins voláteis não deve ser tomada como indicadores confiáveis para o frescor do bijupirá cultivado.

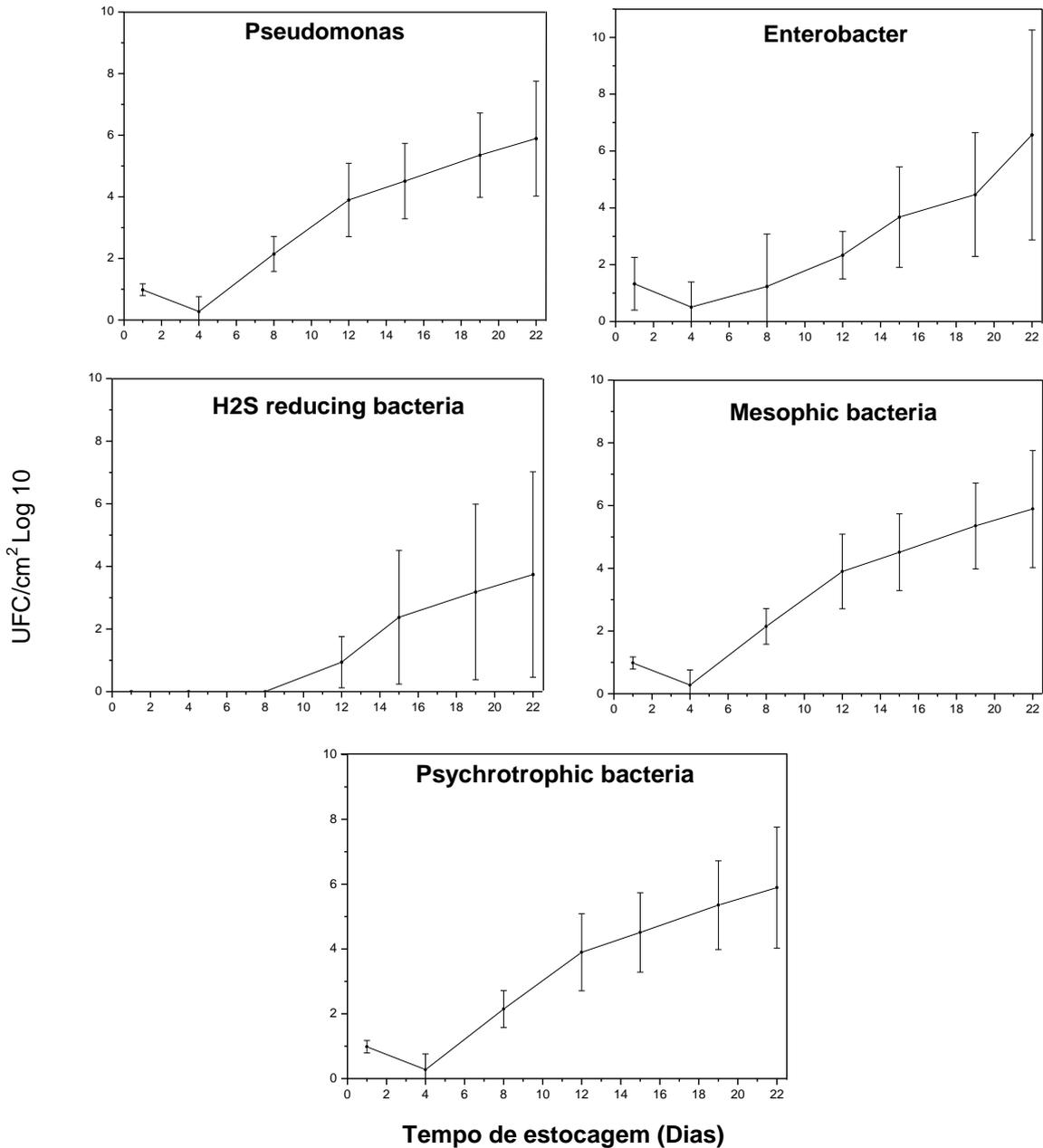
Resultados similares foram observados para a truta (*Onchorrynchus mykiss*) capturada em piscicultura, onde o pescado eviscerado e filés de truta foram mantidos em gelo, resultando em valores de N-BVT /100g de 18,11 e 26,06, respectivamente; esses valores foram considerados inadequados para indicar a qualidade do peixe durante o armazenamento em gelo (Chytiri et al., 2004).

O peixe é considerado um alimento perecível. A perda de qualidade é desencadeada pelas enzimas autolíticas das brânquias e músculos, seguido pelo crescimento de microorganismos da pele. *Pseudomonas*, *Shewanella* ou  $H_2S$  produtoras de bactérias que são alguns dos organismos mais importantes responsáveis pela deterioração do pescado (Franco e Landgraf, 2008). No entanto, a contagem total de bactérias psicrófilas, mesófilas e enterobactérias também são recomendados para avaliar as condições sanitárias dos produtos.

Inicialmente, o bijupirá mantido em gelo mostrou redução de contagem de bactérias *Pseudomonas spp*, bactérias mesófilas e de  $H_2S$  ( $10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>), enquanto que a contagem das bactérias psicrófilas e contagens de enterobactérias ( $>10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>)

aumentaram gradualmente a partir dos primeiros dias de armazenamento de gelo (Figura 5). Os números de bactérias eram baixos até o 12º dia de armazenamento, mas após este período, todas as bactérias analisadas mostraram um aumento significativo no total das contagens.

Figura. 5. Média  $\pm$  DP dos resultados das análises microbiológicas do bijupirá armazenado em gelo durante 22 dias. Onde, (A) Pseudomonas, (B) Enterobactérias, (C) H<sub>2</sub>S bactérias redutoras, (D) Mesofilos e (E) Psicotróficos. (n = 8); UFC = unidades formadoras de colônia



Um estudo anterior realizado utilizando blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) demonstrou um aumento significativo na contagem bacteriana a partir do 8º

dia de armazenamento em gelo. No entanto, a análise sensorial do blackspot seabream no 12º dia descreveu um odor na pele azedo, nas brânquias um odor podre e a musculatura flácida, bem como a presença de *Pseudomonas* e *Shewanella* (Sant'Ana et al., 2011).

De acordo com Huss (1997), a contagem bacteriana total é usada para indicar as condições sanitárias da matéria-prima, bem como condições de armazenamento e de distribuição. Recomenda-se um número máximo de  $10^7$  UFC/g ou  $\text{cm}^2$  para os peixes armazenados em gelo, e o produto de pescado é considerado insalubre em contagens acima deste limite. A maior quantidade de *Pseudomonas spp* ( $10^7$  UFC/ $\text{cm}^2$ ) foi observado no 17º dia de armazenamento em gelo, e o maior número de enterobactérias foi observado no 20º dia de armazenamento. Além disso, as maiores contagens de bactérias psicrotróficas e mesofilas foram observadas no 19º dia de armazenamento em gelo, e a redução de bactérias  $\text{H}_2\text{S}$  não apresentou esse mesmo limite de contagem (Tabela 4).

No entanto, o ponto de rejeição de 19 dias de armazenamento observado na análise sensorial do bijupirá pode estar relacionado a outras reações de deterioração, como a oxidação lipídica desencadeada pela presença de espécies reativas de oxigênio, geradas por reações autolíticas e produtos de crescimento bacteriano (Sant'Ana et al., 2011).

Tabela 4 – Tempo de vida-útil do bijupirá com base nos parâmetros avaliados

Valores de rejeição / Parametros	Experimento		Experiment	Dias de Rejeição
	I	II	oIII	
Índice de Qualidade	16,26	15,42	15,32	15
<i>Pseudomonas</i> <sup>a</sup>	$10^7$	$10^7$	$10^7$	18
Enterobacteria <sup>a</sup>	-	$10^7$	$10^7$	19
$\text{H}_2\text{S}$ bacterias reductoras	-	-	-	-
Mesofilos <sup>a</sup>	-	-	$10^7$	20
Psycrotofilos <sup>a</sup>	-	-	$10^7$	19
N-BVT <sup>b</sup>	21,61	14,63	16,71	22

<sup>a</sup>UFC/ $\text{cm}^2 \log_{10}$

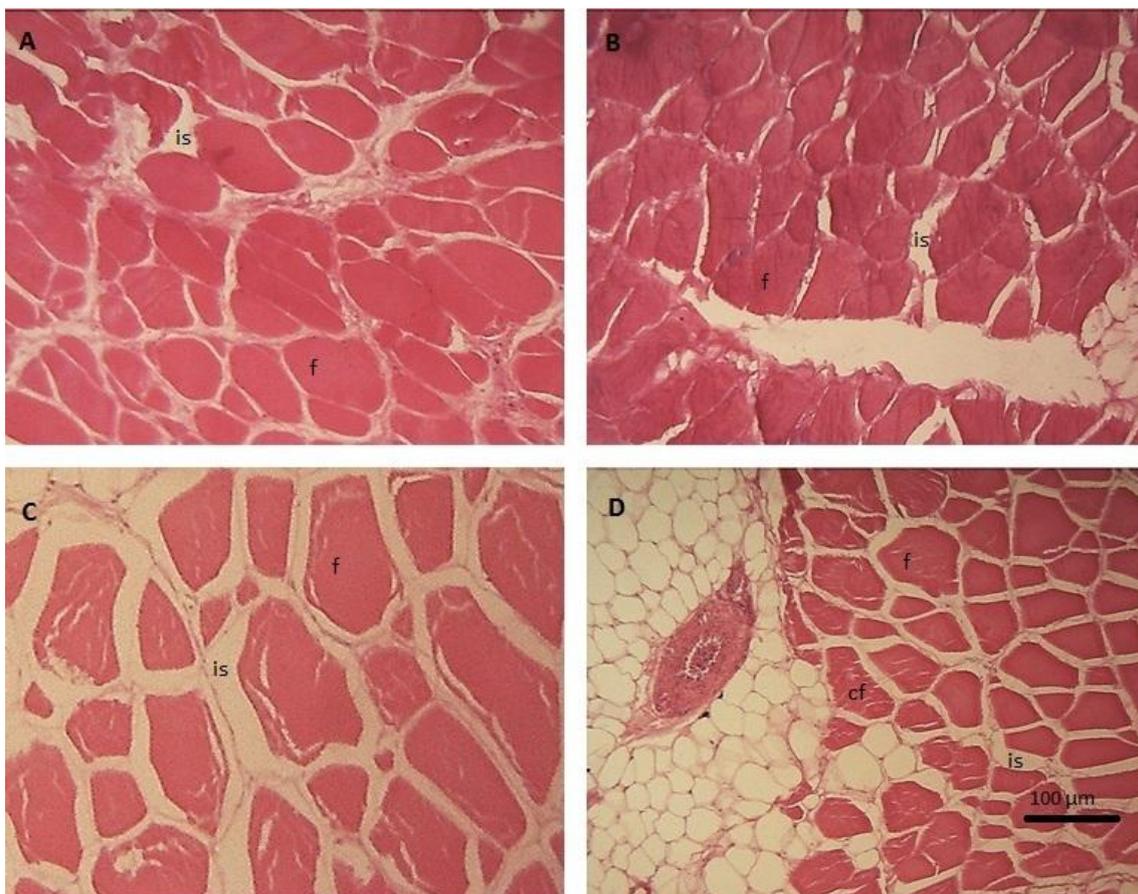
<sup>b</sup>mg/100 g

Células e músculos de peixes funcionam em paralelo e estão ligados a bainhas de tecido conjuntivo (myocommata), que estão ancorados ao esqueleto e pele. O colágeno é degradado no tecido conjuntivo do peixe após a morte, como mostrado pelas imagens histológicas de fibras musculares (Figura 6) como um colapso progressivo das

junções entre o colágeno myocommata e as fibras musculares durante o armazenamento em gelo (Delbarre-Ladrat et al., 2006).

Durante os primeiros dias de armazenamento, as fibras musculares são formas bem definidas hexagonais com poucos espaços extracelulares preenchidos com colágeno. Após 7 dias de armazenamento, foi observado uma perda da estrutura das fibras do músculo, o que resultou em fibras musculares irregulares e desidratados. Após 14 e 21 dias de armazenamento em gelo, as fibras de colágeno e o tecido conjuntivo pericelular estavam desorganizados e degradados, e os espaços entre as fibras do músculo aumentado. Também foram observadas numerosas fissuras no interior das fibras (Figura 6). Neste ponto, a análise sensorial mostrou que o músculo era macio, pois quando pressionado com os dedos retornava lentamente (Figura 1).

Figura 6. Seções longitudinais de tecido muscular do bijupirá de armazenado em gelo, (A) um dia, (B) sete dias, (C) 14 dias e (D) 21 dias. As barras representam a 100 µm; f = fibras; is = espaço intercelular; cf = conjuntivo frouxo.



Estas modificações são a degradação natural de proteínas miofibrilares e colágeno, devido a proteases e microrganismos, e estas modificações estão ligadas a

diminuição da rigidez durante o armazenamento em gelo (Chére et al., 2006). Esta degradação explica como o músculo ficou relativamente flácido e mostrou efeitos de “gapping” durante o armazenamento em gelo (Ando et al., 1999).

#### **4. Conclusão**

O bijupirá em gelo pode ser armazenado por 15 dias. A vida- útil foi determinada pelos escores sensoriais, medições de pH e contagem bacteriana. Os valores de N-BVT são pouco confiáveis na determinação da vida de prateleira. As análises histológicas confirmam as alterações musculares do bijupirá observados na avaliação sensorial.

#### **5. Referências**

- ABBAS, K. A., MOHAMED, A., JAMILAH, B., & EBRAHIMIAN, M. (2008). A review on correlations between fish freshness and pH during cold storage. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4, 416-421.
- ANDO, M., NISHIYABU, A., & TSUKAMASA, Y. (1999). Post-mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. *Journal of Food Science*, 64, 423-428.
- AOAC. (2005). *Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists*. (18<sup>th</sup> ed.) Gaithersburg, MD: Author.
- BONILLA, A. C., SVEINSDOTTIR, K., & MARTINSDOTTIR, E. (2007). Development of Quality Index Method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. *Food Control*, 18, 352–358.
- BRASIL. (1981). *Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de pescado e seus derivados*. Brasília, Brazil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- BREMNER, H. A. (1985). A convenient, easy to use system for estimating the quality to chilled seafoods. *Fish Proceedings Bulletin*, 7, 59-70.
- CAMPOS, C., RODRÍGUEZ, Ó., LOSADA, V., AUBOURG, S., & BARROSVELÁZQUEZ, J. (2005). Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*). *International Journal of Food Microbiology*, 103, 121–130.
- CHÉRET, R., HERNÁNDEZ-ANDRÉS, A., DELBARRE-LADRAT, C., DE LAMBALLERIE, M., & VERREZ-BAGNIS, V. (2006). Proteins and proteolytic activity changes during refrigerated storage in sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) muscle after high-pressure treatment. *European Food Research and Technology*, 222, 527-535.

- CHYTIRI, S., CHOULIARA, I., SAVVAIDIS, I. N., & KONTOMINAS, M. G. (2004). Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*, 21,157-165.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. (1994). *Bioquímica de pescados e derivados*. Jaboticabal, Brazil: FINEP.
- DELBARRE-LADRAT, C., CHÉRET, R., TAYLOR, R., & VERREZ-BAGNIS, V. (2006). Trends in postmortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 409-421.
- ERIKSON, U., MISIMI, E., & GALLART-JORNET, L. (2011). Superchilling of rested Atlantic salmon: Different chilling strategies and effects on fish and fillet quality. *Food Chemistry*, 127, 1427–1437.
- EVANCHO, G.M., SVEUM, W.H., MOBERG, L.J., & FRANK, J.F. (2001). Microbiological monitoring of the food processing environment. In F. P. Downes, & K. Ito (Eds.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (pp. 25-36). Washington, DC: American Public Health Association.
- FRANCO, B. D. G. M., & LANDGRAF, M. (2008). *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo, MD: Atheneu.
- GONÇALVES, A. C., ANTAS, S. E., & NUNES, M. L. (2007). Freshness and quality criteria of iced farmed Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 3452–3461.
- GUILLERM-REGOST, C., HAUGEN, T., NORTVEDT, R., CARLEHOG, M., LUNESTAD, B. T., KIESSLING, A., & RORA, A. M. B. (2006). Quality characterization of farmed Atlantic halibut during iced storage. *Journal of Food Science*, 71, 83-90.
- HUIDOBRO, A., PASTOR, A., & TEJADA, M. (2000). Quality index method developed for raw gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Journal of Food Science*, 65, 1202-1205.
- HUSS, H. H. (1997). *Garantia da qualidade dos productos da pesca*. Rome, Italy: Food and Agricultural Organization of the United Nations.
- HUSS, H. H., ABABOUCHE, L., & GRAM, L. (2004). *Assessment and management of seafood safety and quality*. Rome, Italy: Food and Agricultural Organization of the United Nations.
- JESUS, R.S. 1999. Estabilidade de "minced fish" de peixes amazonicos durante o congelamento. Tese (Doutorado). Fac. Ciências Farmacêuticas ,USP, São Paulo, 105 p.
- LAUZON, H. L., MARGEIRSSON, B., SVEINSDÓTTIR, K., GUDJÓNSDÓTTIR, M., KARLSDÓTTIR, M. G., & MARTINSDÓTTIR, E. (2010). Overview on fish quality research - Impact of fish handling, processing, storage and logistics on fish quality deterioration. Report/Skýrsla Matís, 39, 70.

- MACH, D. T. N.; NORDVEDT, R. (2012). Comparison of fillet composition and initial estimation of shelf life of cobia (*Rachycentron canadum*) fed raw fish or fish silage moist diets. *Aquaculture Nutrition*, 19, 333-342.
- MARTINSDOTTIR, E. (2002). *Quality management of stored fish*. Reykjavik, Iceland: CRC Press LLC.
- MARTINSDOTTIR, E., SVEINSDOTTIR, K., LUTEN, J., SCHELVIS-SMIT, R., & HYLDIG, G. (2001). *Sensory evaluation of fish freshness: Reference manual for the fish sector*.
- NIELSEN, D., & GREEN, D. (2007). Developing a Quality Index grading tool for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *Morone chrysops*) based on the Quality Index Method. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 86-94.
- NIELSEN, J. (1995). Sensory methods. In H. H. Huss (Ed.), *Quality and quality changes in fresh fish* (pp.130-139). Rome, Italy: Food and Agricultural Organization of the United Nations.
- OLAFSDÓTTIR, G., & FLEURENCE, J. (1997). Sensory evaluation in research of fish freshness. In G. Olafsdóttir, J. Luten, P. Dalgaard, M. Careche, V. Verrez-Bagnis, E. Martinsdóttir, & K. Heia (Eds.), *Methods to determine the freshness of fish in research and industry* (pp.55-69). Paris, France: International Institute of Refrigeration.
- PAVLOV, A., DIMITROV, D., PENCHEV, G., & GEORGIEV, L. (2008). Structural changes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) fish meat during freezing. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 11, 131-136.
- QUIM-EUROFISH. (2012). Scientific papers. Retrieved from [www.qim-eurofish.com](http://www.qim-eurofish.com).
- SANT'ANA, L. S., SOARES, S., & VAZ-PIRES, P. (2011). Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *Food Science and Technology*, 44, 2253-2259.
- SCHERER, R., AUGUSTI, P. R., STEFFENS, C., BOCHI, V. C., HECKTHEUER, L. H., LAZZARI, R., & EMANUELLI, T. (2006). Effect of slaughter method on postmortem changes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) stored in ice. *Journal of Food Science*, 70, 348-353.
- SHIAU, C. Y. (2007). Biochemical composition and utilization of cultured cobia (*Rachycentron canadum*). In I. C. Liao, & E. M. Leano (Eds.), *Cobia aquaculture: Research, developments and commercial production* (pp.147-156). Manila, Philippines: Asian Fisheries Society.
- ŠIMAT, V., BOGDANOVIĆ, T., KRŽELJ, M., SOLDI, A., & MARŠIĆ-LUČIĆ, J. (2012). Differences in chemical, physical and sensory properties during shelf life assessment of wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.). *Journal of Applied Ichthyology*, 28, 95-101.
- STONE, H., & SIDEL, J. L. (1992). *Sensory evaluation practices*. (2<sup>nd</sup> ed). San Diego, CA: Academic Press.
- SVEINSDÓTTIR, K., MARTINSDÓTTIR, E., HYLDIG, G., JORGENSEN, B., & KRISTBERGSSON, K. (2002). Application of quality index method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Science*, 67, 1570-1579.

TEODORO, A. J., ANDRADE, E. C. B., & MANO, S. B. (2007). Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 158-161.

VITANOV, S., DIMITROV, D., & BOCHUKOV, A. (1995). *Manual of cytology and histology with histological techniques*. Sofia, Bulgaria: Zemizdat.

ZAR, J. H. 2010. *Biostatistical analysis*. (5<sup>th</sup> ed). Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall.

## **Capítulo 2.**

### **Acompanhamento dinâmico da vida-útil do bijupirá (*Rachycentron canadum*): estudo da aplicabilidade de indicador inteligente fotocromico**

#### **RESUMO**

Este estudo avaliou a aplicabilidade de um indicador de tempo e temperatura fotocromico (TTI) para monitorar a temperatura e a vida-útil do bijupirá armazenado em gelo (condição de ativação de 5, 6, 7, 8, 9 e 10s de luz UV). Os espécimes foram mantidos em caixas isotérmicas com gelo em temperatura de  $4 \pm 2$  °C. As amostras foram submetidas à análise durante 25 dias. Foram realizadas análises de N-BVT, pH, TBA e microbiológicas. O pescado apresentou um aumento de pH de 5,8 a 6,8. Os índices de TBA permaneceram abaixo de 1,5 MA mg/kg até o 15º dia de armazenamento e os valores de N-BVT mantiveram-se abaixo de 30mg/100g até o 18º dia. Os exemplares estudados excederam o limite microbiológico proposto pela legislação no 18º dia de armazenamento. Os resultados mostraram que o indicador inteligente mostrou boa reprodutibilidade quando fixado na pele/escama do pescado durante o processo de descoloração em todas as condições investigadas, com destaque para a ativação 6s. Assim, o rótulo fotocromico (6s UV / etiqueta) anexado às amostras se configurou um rótulo de vida-útil dinâmico que pode assegurar aos consumidores o ponto final de 15 dias de qualidade do bijupirá, constituindo-se como uma ferramenta confiável e inovadora para monitorar a cadeia de abastecimento deste pescado, quando conservado sob resfriamento.

**Palavras-chave:** embalagem inteligente; temperatura; pescado marinho; controle de qualidade

#### **ABSTRACT**

**Dynamic monitoring of the shelf-life of cobia (*Rachycentron canadum*): study of the applicability of smart photochromic indicator**

The present study aimed to evaluate the applicability of the temperature indicator and photochromic time (TTI) to monitor temperature and shelf life of cobia stored on ice (activation condition 5, 6, 7, 8, 9 and 10s UV light ). The specimens were kept in isothermal boxes with ice at a temperature of  $4 \pm 2$  ° C and were subjected to analysis of TVB-N, pH, TBA and microbiology after 25 days. The results showed an increase in pH values of 5.8 to 6.8. The TBA indexes remained below of 1.5 mg MA/kg until 15<sup>th</sup> day of storage while the TVB-N values remained below 30mg/100g until 18<sup>th</sup> day. Regarding microbiological results, values exceeded the limit proposed by the legislation after 18<sup>th</sup> of storage. The results for intelligent indicator showed good reproducibility when was fixed on the skin/scales of the fish during the bleaching process in all conditions investigated, with emphasis on 6s activation. Thus, the photochromic label (6s UV/sticker) attached to the samples have been configured as a dynamic label shelf life that can assure consumers the ultimate point of 15-day of cobia quality, establishing itself as a reliable and innovative tool to monitor the supply chain of this fish on ice.

**Keywords:** intelligent packaging; temperature; marine fish; quality control

## 1. Introdução

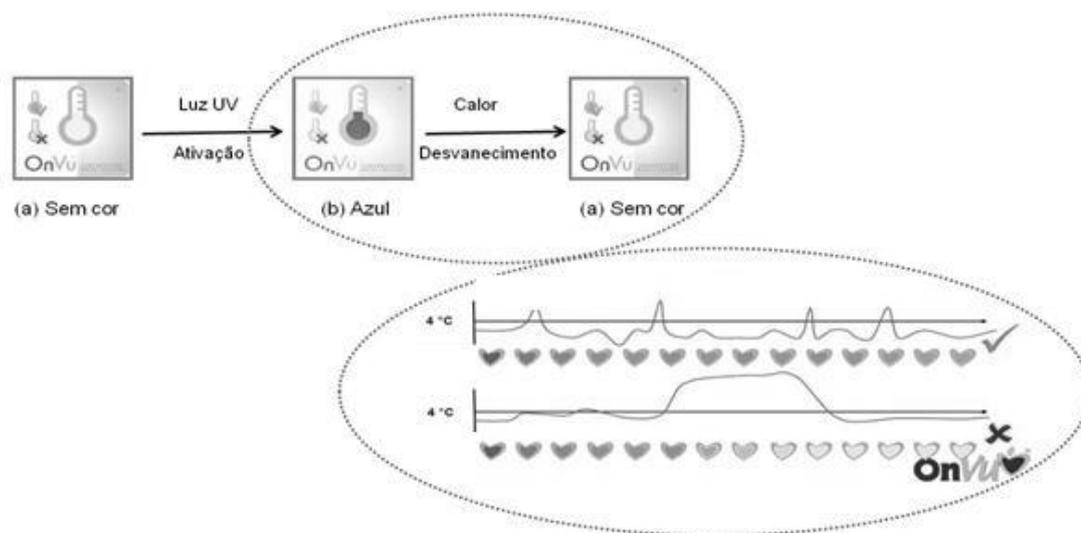
O controle efetivo da temperatura durante a distribuição de produtos frescos à base de pescado é imprescindível para sua viabilidade comercial (Tsironi et al., 2008). Por isso, faz-se necessário a aplicação de novos sistemas de qualidade que realizem de forma fácil e confiável o acompanhamento contínuo das condições de armazenamento, desde a produção até consumo (Brizio, 2014; Tsironi et al., 2008).

Nesse sentido, o uso de indicadores inteligentes de tempo e temperatura (ITT) têm se mostrado uma tecnologia emergente de grande potencial para monitorar continuamente a vida-útil de alimentos (Brizio e Prentice, 2014; Mai et al., 2011; Galagan et al., 2010; Kreyenschmidt et al., 2010; Galagan e Su, 2008; Tsironi et al., 2008).

O *OnVu*® ITT B<sub>1</sub> é um indicador de tempo e temperatura irreversível cujo princípio de funcionamento está baseado numa reação fotocromica em estado sólido. Sua tinta inteligente muda de cor de incolor para azul após irradiação com luz ultravioleta (UV) (ativação). Depois de ativada a tinta reverte para o estado incolor a

uma taxa de resposta que é dependente do tempo e da temperatura de armazenamento da etiqueta (Mai et al., 2011; Kreyenschmidt et al., 2010), conforme mostra Figura 1.

Figura 1. Ciclo de reação do sistema fotocromico. Fonte: Adaptado de Basf – *OnVu*<sup>®</sup> (2012).



A exposição à luz ultravioleta induz a coloração, enquanto o calor promove a reação inversa. A taxa de resposta (descoloração) do *OnVu*<sup>®</sup> ITT B<sub>1</sub> é inversamente proporcional à quantidade de luz UV utilizada durante a sua ativação (Brizio e Prentice, 2014) e deve ser calibrada tendo em conta as características do alimento onde o indicador vai ser aplicado (Kreyenschmidt et al., 2010).

Entre os vários peixes marinhos nativos do Brasil, o bijupirá (*Rachycentron canadum*) é considerado uma espécie de grande potencial para a criação intensiva e que apresenta características favoráveis para utilização das etiquetas, pois é um peixe de grande porte, possui um achatamento na parte anterior do corpo, abrangendo principalmente a cabeça, e uma coloração amarronzada, com duas faixas longitudinais, de coloração prata bem definidas. Apresenta corpo fusiforme e largo e possui olhos pequenos e a mandíbula mais protuberante que a maxila superior. Na natureza, pode alcançar até 2 metros de comprimento (Chou et al., 2001; Chang, 2003; Froese e Pauly, 2007; Cavalli et al., 2011). Características que facilitam a aplicação das etiquetas diretamente no pescado. Outra característica que o torna atrativo para o cultivo e o mercado é o rápido crescimento, podendo atingir cerca de 8 kg em um ano, além da utilização de praticamente todas as suas partes e da excelente qualidade da carne (Ditty

e Shaw, 1992; Chang, 2003; Cavalli e Hamilton, 2007; Cavalli e Hamilton, 2009; Sampaio et al., 2011).

Assim, uma alternativa inovadora no controle dinâmico da cadeia do pescado inteiro fresco, poderia ser o uso de uma etiqueta inteligente anexada no “conjunto” couro/escama do pescado. Para isto, este trabalho estudou a aplicabilidade da etiqueta *OnVu*® ITT B<sub>1</sub> no monitoramento do histórico de tempo-temperatura e da vida-útil do bijupirá, durante simulação de cadeia de armazenamento e distribuição em gelo.

## 2. Material e Métodos

### 2.1 Caracterização da matéria-prima

Foram utilizados 10 espécimes de bijupirá obtidos a partir de cultivo *near-shore* a cerca de 700m da praia Recanto da Lagoinha, Ubatuba, São Paulo, Brasil. Os espécimes de bijupirá foram despescados e abatidos por choque térmico. Imediatamente após o abate foram transportados para o laboratório de análise em caixas contendo gelo (4°C±2°C). As análises iniciaram-se em tempo inferior a 24 horas após a despesca.

A Tabela 1 apresenta a caracterização dos espécimes de bijupirá utilizados neste estudo.

Tabela 1 – Peso e comprimento dos pescados utilizados neste estudo.

Característica do bijupirá	Media ± Desvio
Peso (g)	2634,6±484,7
Comprimento total (cm)	50,3±3,6

### 2.2 Caracterização do indicador de tempo e temperatura fotocromico

O indicador de tempo e temperatura analisado foi o *OnVu*® rótulo B<sub>1</sub> (BASF, patente WO/2006/048412). Um carregador de luz ultravioleta (UV) manual desenvolvido para a *OnVu*® (GLP TTI, Bizerba, Alemanha) foi usado para ativar as etiquetas.

O tempo de exposição da irradiação UV na etiqueta foi expresso em segundos (s). Neste estudo, foram investigados cinco diferentes tempos de carga (5, 6, 7, 8, 9 e 10s de luz UV), com objetivo de analisar a influência do tempo de ativação sobre o

processo de descoloração do ITT e, desta forma, configurar a melhor condição de ativação.

Durante o procedimento de ativação dos ITT's a temperatura ambiente foi controlada em  $20,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ , pois de acordo com Kreyenschmidt et al., (2010) mudanças nas condições ambientais influenciam o processo de ativação deste tipo de etiqueta. Depois de carregados os rótulos foram cobertos com um filtro ótico sob a forma de uma fita de transferência térmica para protegê-los do re-carregamento pela luz solar e, imediatamente colados na estrutura externa (escamas) do bijupirá.

### **2.3 Estimativa de vida-útil de bijupirá durante simulação de armazenamento em gelo**

Os conjuntos pescado-ITT's foram colocados em caixas isotérmicas contendo gelo (relação 2 gelo:1pescado p/p). Diariamente foi realizada adição de gelo nas caixas para manter a temperatura na faixa de  $0,5$  a  $2^\circ\text{C}$ , monitorada continuamente por coletores de dados (Data Logger DHT5012, Perceptec, São Paulo, Brasil).

Durante vinte e cinco de armazenamento foram efetuadas análises tradicionais de caracterização de qualidade do pescado e medições da descoloração dos indicadores de tempo e temperatura (condições de ativação de 5, 6, 7, 8, 9 e 10s de luz UV) anexados as amostras. Ao final da validade dos pescados foi realizada uma comparação entre a taxa de resposta dos ITT's e a perda de qualidade do alimento.

#### **2.3.1 Análises de caracterização da qualidade**

##### **2.3.1.1 Estabilidade microbiológica do músculo de pescado**

Para caracterizar a perda de qualidade microbiológica das amostras de pescado foram conduzidas análises nos tempos 1, 4, 7, 11, 15, 18, 22 dias de armazenamento em gelo.

A escolha dos microrganismos analisados para este estudo foi baseada na literatura (Sant'Ana et al., 2011; Franco e Landgraf, 2008; Jay, 2005) e na legislação brasileira (Brasil, 1998). Foram realizadas as análises de contagem total de aeróbios mesófilos e psicrotróficos; enumeração de bactérias *Pseudomonas*, enterobactérias, bactérias sulfito-redutoras, *Staphylococcus* spp.; determinação de coliformes

termotolerantes a 45°C e *Salmonella* spp., conforme metodologia oficial do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil 2003) e *American Public Health Association* (APHA 2001). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

### **2.3.1.2 Estabilidade físico-química do músculo de pescado**

As análises foram conduzidas nos tempos 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 e 23 dias de armazenamento em gelo. O Nitrogênio Total de Base Voláteis (N-BVT) foi determinado por precipitação da proteína com ácido tricloroacético (TCA 7,5 %) utilizando o método de extração de micro Kjeldhal de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Para determinação da quantidade de ácido tiobarbitúrico (TBA), foi utilizado o método da AOAC (2005) com adaptações, por meio de precipitação com ácido tricloroacético, TCA 7,5 %. A determinação do pH foi realizado de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2004), pela leitura em potenciômetro, utilizando 50g de filé do bijupirá homogeneizado em água destilada, na proporção 1:1.

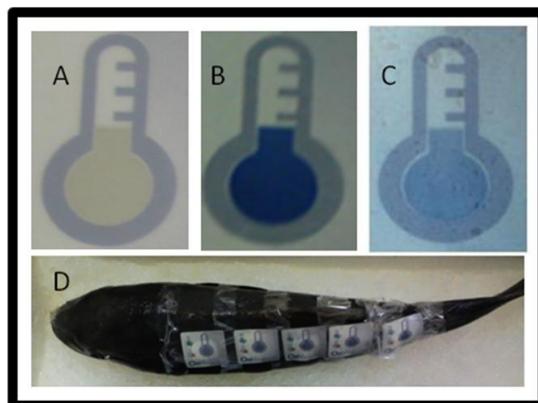
### **2.3.2 Acompanhamento de qualidade – Indicador Inteligente**

#### **2.3.2.1 Uso dos indicadores de tempo e temperatura (ITT's)**

Foi mensurada diariamente a descoloração das etiquetas anexadas aos pescados através da utilização de colorímetro, mediante o sistema *CIELab* (iluminante D<sub>65</sub>), obtendo a dimensão do *chroma* b\*. As análises foram interrompidas após 25 dias de armazenamento em gelo do conjunto pescado - ITT's.

Seguindo o trabalho desenvolvido por Brizio e Prentice (2014), o fim da vida-útil da etiqueta foi definido como o tempo que leva a cor azul escura da etiqueta imediatamente carregada (Fig. 2B) para chegar a uma cor azul clara, quase cinza (*chroma* b\* = -7,0), considerada pelos autores como último estágio da cor azul visualmente perceptível (Fig. 2C).

Figura 2: (A) Aparência visual do ITT sem ativação; (B) Tonalidade de azul escuro apresentada pela etiqueta imediatamente após a ativação com luz UV; (C) Cor do ITT definida como fim da vida-útil do indicador, *chroma b\**= -7,0. (D) Conjunto pescado - ITT's. Fonte: Adaptado de Brizio e Prentice (2013).

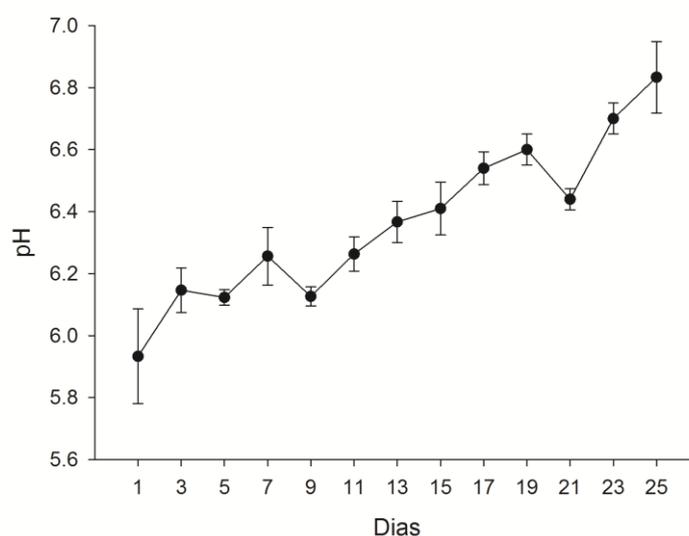


### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Análises de caracterização de qualidade físico química e microbiológica

Na Figura 3 são apresentados os valores de pH analisados no bijupirá.

**Figura 3.** Valores de pH obtidos nas amostras de bijupirá armazenados em gelo.

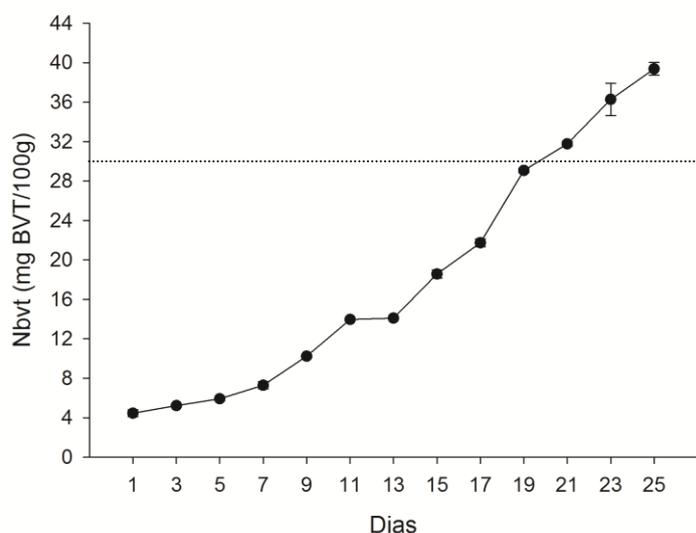


Os valores médios de pH variaram de 5,8 a 6,9 durante os 25 dias de estocagem em gelo (Figura 3). No período de estocagem foi observado aumento do pH, coincidindo com os dados da avaliação de N-BVT e TBA. Esse aumento do pH é afetado pela espécie do pescado, tipo e carga microbiana, métodos de captura, manuseio

e armazenamento (Teodoro et al., 2007). Na Figura 3 observar-se que o pH apresentou um aumento rápido, atingindo valores superiores a 6,5 no 17º dia de armazenamento, com pequeno declínio no 21º dia. Por volta do 25º dia de armazenamento o pH continuava a aumentar e tender à neutralidade (7,0), o pH sugerido aceitável para pescados frescos é  $6,5 \pm 0,1$ , segundo RIISPOA (BRASIL, 2002). Este resultado difere do encontrado por Pacheco-Aguilar et al., (2003), os quais concluíram que o pH do cangulo (*Balistes polylepis*) peixe marinho recém-chegado ao comércio foi de 6,4. Porém, BORGES et al. (2007) analisando a corvina (*Micropogonias furnieri*) estocada em gelo demonstram resultados semelhantes ao presente estudo, o que evidencia que as oscilações dos valores do pH estão diretamente ligadas a características individuais de cada pescado.

Na Figura 4 são apresentados os valores de N-BVT analisados no bijupirá.

**Figura 4.** Valores de N-BVT obtidos nas amostras de bijupirá estocados em gelo.

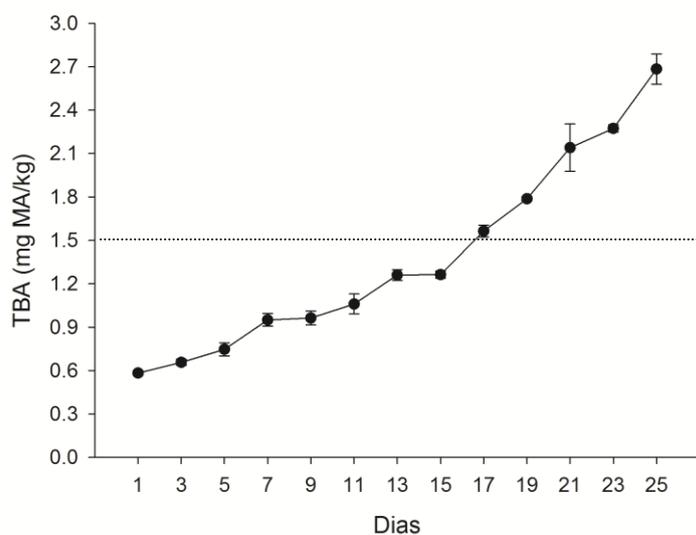


O conteúdo de bases voláteis totais em pescado é geralmente baixo nas primeiras etapas de armazenamento em gelo. Mas quando o pescado apresenta perda de qualidade, esse conteúdo aumenta rapidamente (Contreras-Guzmán, 1994; Oliveira et al., 2014). Os teores N- BVT aumentaram de 4,2 mg N /100g para 40,1 mgN /100g no músculo do pescado no período de 25 dias de estocagem em gelo. Foram detectados, nas amostras a partir do 21º dia de estocagem valores superiores a 30 mg N /100g, limite de aceitabilidade considerado impróprio para o consumo pela Portaria No 185 (BRASIL, 1997), porém esse valor ainda é muito discutido pelos pesquisadores, por isso a

necessidade de estudos em diferentes espécies (Teodoro et al., 2007; Oliveira et al., 2014). Conforme a metodologia utilizada à análise de bases voláteis nitrogenadas podem variar, portanto esses valores estão ligados à espécie e método praticado nas análises (Jesus et al., 2001; Baixas-Nogueras et al., 2003, Cardenas-Bonilla et al., 2007). Em um estudo similar de qualidade de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) armazenada em gelo (Scherer et al., 2006) não mostraram diferenças significativas na N-BVT durante 20 dias de armazenamento. Já Pacheco-Aguilar et al., (2003) pesquisando *Balistes polylepis* fresco durante 20 dias de armazenamento observaram mudanças químicas e bioquímicas, onde o N-BVT variou de 11,8 a 29,7mg N/ 100g.

Na Figura 5 são apresentados os valores das análises das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA).

**Figura 5.** Valores de TBA obtidos nas amostras de bijupirá estocados em gelo.

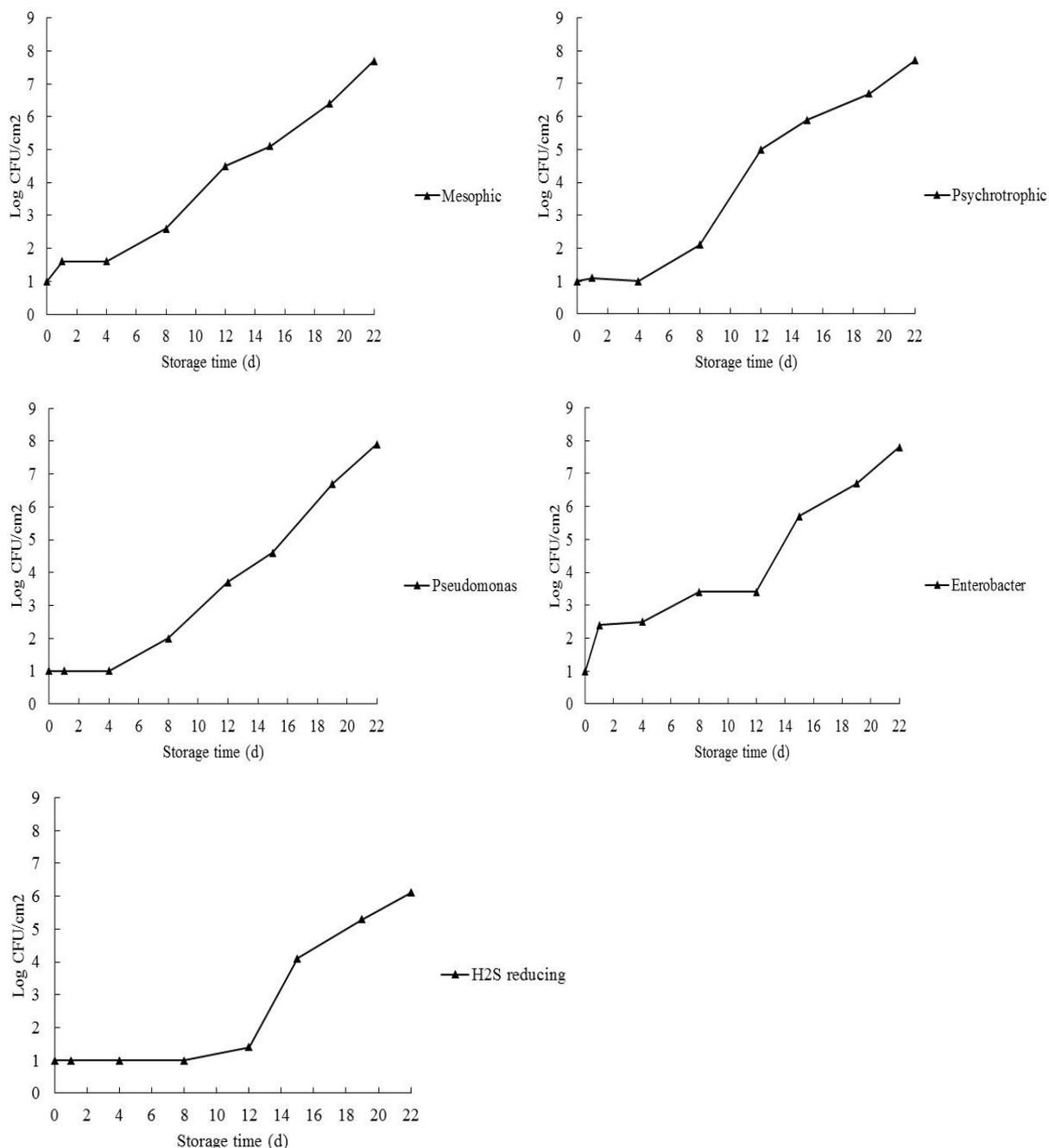


Segundo Osawa et al. (2005), os índices de TBA são considerados de qualidade aceitável se mantendo de 0,7 a 1,4 mg MA/kg,. A legislação brasileira não apresenta limite máximo de malonaldeído/kg em produtos pesqueiros. Os teores TBA variaram de 0,58 mg MA/kg a 2,8 mg MA/kg no músculo do pescado no período de 25 dias de estocagem em gelo (Figura 5). A baixa oxidação lipídica inicial no bijupirá pode ser justificada por terem sido armazenados em torno de 2°C, sendo este um fator favorável

para a oxidação nos primeiros dias de estocagem (Gines et al., 2004). No presente estudo verificamos que os valores sugeridos por Osawa et al., (2005) foram superados a partir do 17º dia de estocagem. No músculo do pescado resfriado a oxidação lipídica foi causada por compostos químicos ou espécies reativas ao oxigênio que causam quebra das ligações duplas nas frações fosfolipídicas das membranas celulares, que no caso desses pescados são mais suscetíveis porque possuem maior grau de insaturação (Fogaça e Sant'ana, 2009).

Na figura 6 são apresentados os resultados das análises microbiológicas.

**Figura 6.** Análises microbiológicas do bijupirá armazenado em gelo durante 22 dias. Onde, (A) Mesofilos, (B) Psicrotróficos, (C) Pseudomonas, (D) Enterobactérias e (E) H<sub>2</sub>S bactérias redutoras; ufc = unidades formadoras de colônia.



A deterioração microbiológica no pescado começa logo após a morte e avança com o tempo de exposição e estocagem do produto, sendo que a velocidade de decomposição depende de fatores exógenos (manipulação, manejo de abate e

conservação) e endógenos (características físico-químicas do peixe) (Oetterer et al., 2004). A legislação brasileira não estabelece limites definidos seguros para alguns microrganismos em pescados, para *Staphylococcus* coagulase positiva estabelece um limite máximo de  $10^3$  Log UFC/g de amostra para pescado fresco e refrigerado (BRASIL, 2001). A ICMSF estabelece padrões entre  $10^6 - 10^7$  UFC/g<sup>-1</sup> para o pescado estar seguro para o consumo (ICMSF, 1986).

A análise microbiológica do bijupirá, durante o período de estocagem em gelo por 25 dias, mostrou que na contagem das bactérias psicrófilas e mesófilas houve maior intensidade de crescimento a partir do 16º dia, alcançando contagem próxima de  $10^6$  ufc/g. O crescimento de *Pseudomonas spp* ( $10^6$  UFC/g) foi observada a partir do 17º dia de armazenamento em gelo. Conforme Barbosa et al., (2002) a contagem bacteriana total logo após captura pode variar entre  $10^1$  e  $10^4$  ufc/g, mas no momento da rejeição sensorial e/ou no ponto de superação dos limites físico químicos estabelecidos pode apresentar valores elevados como  $10^6$  ou  $10^7$  ufc/g, níveis estes que estão em conformidade com as contagens de microrganismos obtidos no presente trabalho.

O número de bactérias mesófilas/psicrófilas no estágio limite de aceitabilidade, no 16º dia, esteve próximo de  $10^6$  log ufc/g, valor semelhante ao trabalho realizado por Baixas-Nogueras et al. (2003), que encontraram, no limite de tempo para aceitabilidade da pescada, o valor de  $10^6$  log ufc/g.

Inicialmente, o bijupirá mantido em gelo mostrou baixa contagem de bactérias produtoras de H<sub>2</sub>S ( $10^1$  UFC/cm<sup>2</sup>), enquanto que as contagens de enterobactérias ( $>10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>) aumentaram gradualmente a partir dos primeiros dias de armazenamento em gelo (Figura 6). Os números de bactérias foram baixos até o 16º dia de armazenamento, mas após este período, todas as bactérias analisadas mostraram um aumento significativo no total das contagens.

Sant'Ana et al., (2011) analisando a qualidade do blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) demonstraram um aumento significativo na contagem bacteriana a partir do 8º dia de armazenamento em gelo. No presente estudo não foi detectada presença de *Salmonella spp.* (apresentou ausência em 25 g) para os 25 dias de estocagem em gelo. Já para *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes o resultado foi inferior a 3 ufc/g, estando de acordo com Compêndio de Normas e Padrões para Alimentos (BRASIL, 2002).

### 3.2 Análises não convencionais para acompanhamento de qualidade – Indicador Inteligente

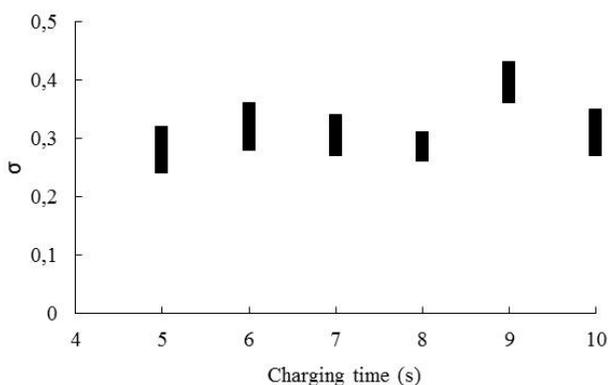
A Tabela 2 mostra os valores médios obtidos para o parâmetro de cor *chroma* b\*, enquanto a Figura 7 mostra os desvios ( $\sigma$ ) médios dos valores de *chroma* b\* mensurados durante a avaliação da reprodutibilidade do procedimento de ativação das etiquetas inteligentes (condições de ativação: 5, 6, 7, 8, 9 e 10s de luz UV).

**Tabela 2.** Imagens e valores médios de *chroma* b\* da marca fotocromica das etiquetas carregadas em diferentes tempos de ativação (5; 6; 7; 8; 9 e 10s de luz UV).

	Tempo de ativação (s)					
	5	6	7	8	9	10
<i>Crhoma</i> b*	-27.1±0.26 <sup>a</sup>	-26.9±0.32 <sup>a</sup>	-27.1±0.30 <sup>a</sup>	-27.3±0.29 <sup>a</sup>	-26.9±0,40 <sup>a</sup>	-27.5±0.31 <sup>a</sup>
						

Os valores médios identificados com letras iguais dentro de uma mesma linha não apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Figura 7.** Reprodutibilidade do processo de carga dos ITT's, avaliada através dos desvios médios dos valores de *chroma* b\*.

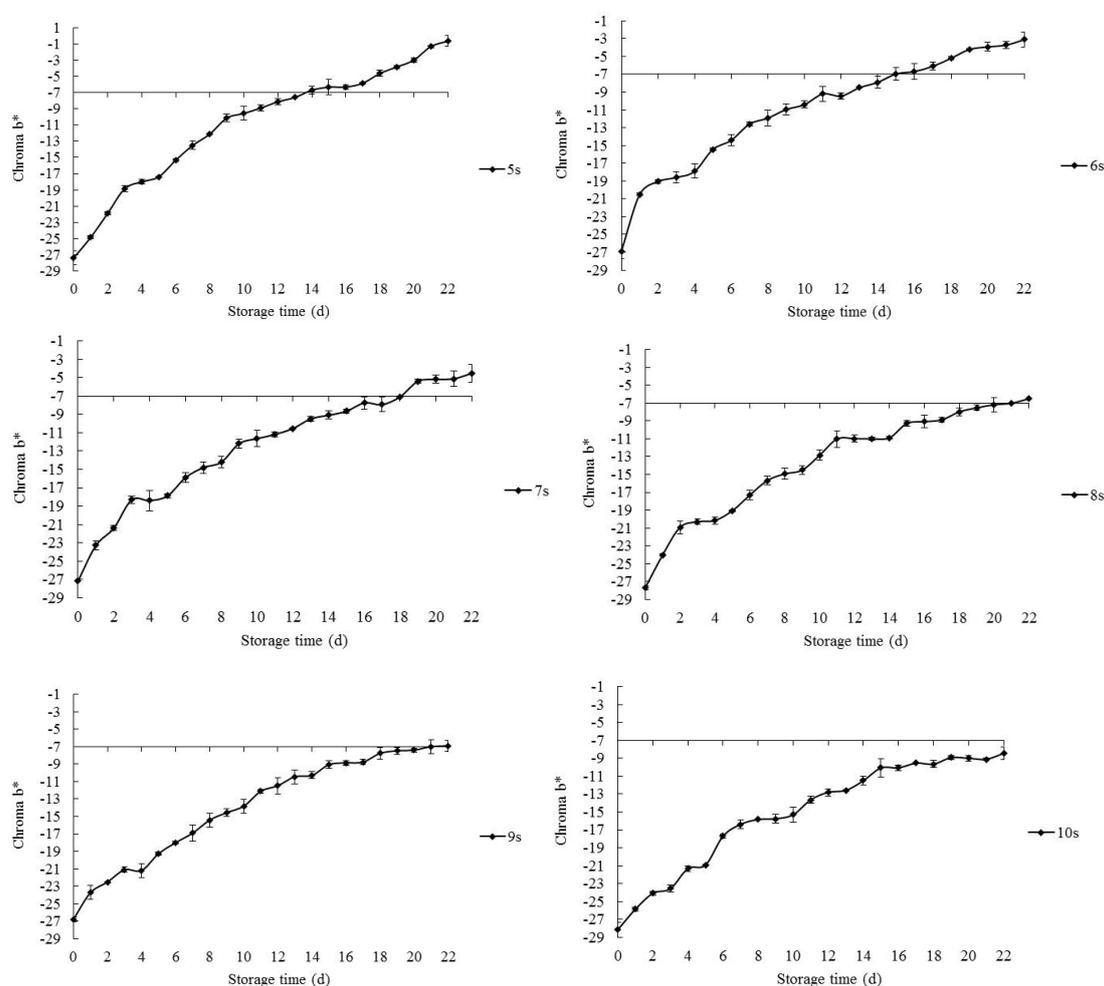


Em cada condição analisada o processo de ativação mostrou uma variação não significativa ( $p>0,05$ ), resultado que garante a confiabilidade do processo de carregamento. Segundo Shimoni et al. (2001), a fiabilidade de um sistema de ITT é uma característica necessária e importante para a sua implementação na gestão da cadeia de frio. Para a etiqueta *OnVu*® ITT B<sub>1</sub> um processo de carga reprodutível é

obrigatório, uma vez que variações na ativação levam a tempos diferentes de duração (Mai et al., 2011; Kreyenschmidt et al., 2010).

A Figura 8 apresenta os resultados de cor que caracterizaram a descoloração das etiquetas anexadas na pele do bijupirá durante armazenamento em gelo.

**Figura 8.** Descoloração dos ITT's (condição de ativação de 5, 6, 7, 8, 9 e 10s de luz UV) durante armazenamento em gelo. Onde  $chroma\ b^* = -7,0$  representa a cor definida como fim da vida-útil do ITT (Brizio e Prentice, 2014). As barras de erro representam o desvio padrão das triplicatas de cada medição.



Os rótulos apresentaram uma descoloração uniforme durante armazenamento em gelo, com baixos desvios (de 0,1 a 0,92) entre os valores das triplicatas mensuradas para cada condição de carregamento. Resultados que corroboram com os achados por Brizio

e Prentice (2014) e Kreyenschmidt et al., (2010) para outras condições de carga do mesmo indicador inteligente.

Outra particularidade a ser destacada foi à adequada adesão das etiquetas à pele do pescado. Os rótulos permaneceram bem afixados as amostras de bijupirá nos vinte e dois dias de análise. Esta característica facilitaria o uso deste ITT em pescado comercializado inteiro.

A descoloração da marca fotocromica dos ITT's mostrou uma dependência clara e inversamente proporcional ao tempo de ativação. A resposta de cor foi tanto visualmente compreensível como adaptável à medição por equipamentos. Assim, considerando  $b^* = -7,0$  como valores que representa o último estágio da cor azul do ITT visualmente perceptível (Brizio e Prentice, 2014), as etiquetas apresentaram duração de 12,5 (300h); 15 (360h); 18 (432h); 21 (504h); 22 (528h) e >22 dias, para os tempos de ativação de 5; 6; 7; 8; 9 e 10s segundos, respectivamente (Figura 8), mantendo assim relação com as análises de qualidade física, química e microbiológicas.

#### **4. Conclusão**

Atendendo à qualidade das amostras de bijupirá de quinze dias, a melhor condição de ativação dos ITT's foi de 6s de luz UV. Com esta carga o indicador inteligente apresentou uma descoloração semelhante à taxa de deterioração do produto analisado, configurando-se um rótulo de vida-útil dinâmico que pode assegurar aos consumidores o ponto final de qualidade do bijupirá de forma fácil, barata e precisa, constituindo-se como uma ferramenta confiável e inovadora para monitorar a cadeia de abastecimento em gelo deste produto.

#### **5. Referências**

- BAIXAS-NOGUERAS, S.; BOVER-CID, S.; VECIANA-NOGUES, T.; NUNES, M. L.; VIDAL-CAROU, M. C. 2003. Development of a quality index method to evaluate freshness in mediterranean hake (*Merluccius merluccius*). Journal of Food Science, Chicago, v. 68, n. 3, p. 1067-1071.
- BARBOSA, A., BREMNER, H. A., & VAZ-PIRES, P. 2002. The meaning of shelf-life. Chapter 11. In H. A. Bremner (Ed.), Safety and quality issues in fish processing (pp.173e190). Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.

- BORGES, A., TEIXEIRA, M.S., FREITAS, M.Q., FRANCO, R.M., MÁRSICO, E.T., CARMONA, S.C. 2007. Qualidade da corvina (*Micropogonias furnieri*) eviscerada em diferentes períodos de estocagem a 0°C. *Ciência Rural*, v.37, n.1, jan-fev.
- BRASIL. 2002. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA. Pescados e derivados, Cap.7, seção 1. Brasília.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.185, de 13 de maio de 1997. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco(inteiro e eviscerado). Brasília: Ministério da Agricultura, 1997.
- BRIZIO, A. P. D. R., PRENTICE, C. 2014. Use of smart photochromic indicator for dynamic monitoring of the shelflife of chilled chicken based products. *Meat Science*, 96, 1219–1226.
- CARDENAS-BONILLA, A.; SVEINSDOTTIR, K.; MARTINSDOTTIR, E. 2007. Development of quality index method (QIM) scheme for fresh cod (*Gadus morhua*) fillets and application in shelf life study. *Food Control*, Amsterdam, v. 18, n. 4, p. 352-358.
- CAVALLI, R.O., DOMINGUES, E.C., HAMILTON, S., 2011. Desenvolvimento da produção de peixes em mar aberto no Brasil: possibilidades e desafios. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40, 155-164.
- CAVALLI, R. O.; HAMILTON, S. 2009. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.6, p.64-69.
- CAVALLI, R.O.; HAMILTON, S. 2007. A piscicultura marinha no Brasil - Afinal, quais as espécies boas para cultivar? *Panorama da Aquicultura*, 17(104): 50-55.
- CHANG, D. O cultivo do Beijupirá em Taiwan. *Panorama da Aquicultura*, setembro/ outubro, 2003: 43-49. 2003.
- CHOU, R. L., SU, M. S., CHEN, H. Y. , 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v. 193, p. 81-89.
- DITTY, J.G., SHAW, R.F., 1992. Larval development, distribution, and ecology of cobia *Rachycentron canadum* (Family: Rachycentridae) in the Northern Gulf of Mexico. *Fish. Bull.* 90, 668–677.
- CONTREAS-GUZMÁN, E.S. 1994. Bioquímica de pescados e derivados. Jaboticabal: FUNEP, 409p.
- FROESE, R., D. PAULY. (Editors). 2009. FishBase. World Wide Web electronic publication. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org).

- FOGAÇA, F.H.S.; SANT'ANA, L.S. 2009. Oxidação lipídica em peixes: mecanismo de ação e prevenção. *Archives of Veterinary Science*, v.14, n.2, p.117-127. ISSN 1517 – 784.
- GINÉS, R. 2004. Effects of rearing temperature and strain on sensory characteristics, texture, colour and fat of Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Food Quality and Preference*, v.15,p.177–185.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. 2008. Métodos físico-químicos para Análise de Alimentos. 4. Ed. São Paulo: IAL, 1020 p. Versão eletrônica.
- JESUS, R. S.; LESSI, E.; TENUTA-FILHO, A. 2001. Estabilidade química e microbiológica de “minced fish” de peixes amazônicos durante o congelamento. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 21, n. 2, p. 144-148.
- KREYENSCHMIDT, J., CHRISTIANSEN, H. A., HUBNER, V. R., & PETERSEN, B. 2010. A novel photochromictime–temperature indicator to support cold chain management. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 208–215.
- MAI, N. T. T., GUDJÓNSDÓTTIR, M., LAUZON, H. L., SVEINSDÓTTIR, K., MARTINSDÓTTIR, E., AUDORFF, H., REICHSTEIN, W., HAARER, D., BOGASON, S. G., & ARASON, S. 2011. Continuous quality and shelf life monitoring of retail-packed fresh cod loins in comparison with conventional methods. *Food Control*, 22, 1000–1007.
- OETTERER, M.; SIQUEIRA, A.A.Z.C.; GRÛSCHEK, S.B. Tecnologias emergentes para processamento do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J.E P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. 1 ed. São Paulo: Funep, 2004. Cap. 15, p. 481-500.
- OLIVEIRA, P. R., JESUS, R. S., BATISTA, G.M., LESSI E. 2014. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) durante estocagem em gelo . *Brazilian Journal Food Technology*. Campinas, v. 17, n. 1, p. 67-74.
- OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova* 28(4):655-663.
- SAMPAIO, L. A.; MOREIRA, C.B.; MIRANDA-FILHO, K.C.; ROMBENSO, A.N. Culture of cobia *Rachycentron canadum* (L) in near-shore cages off the Brazilian coast. *Aquaculture Research*, v.42, p.832-834.

- SANT'ANA, L. S., SOARES, S., & VAZ-PIRES, P. 2011. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). Food Science and Technology, 44, 2253-2259.
- SHIMONI, E., ANDERSON, E. M., & LABUZA, T. P. 2001. Reliability of time temperature indicators under temperature abuse. Journal of Food Science, 66, 1337-1340.
- TEODORO, A.J.; ANDRADE, E. C.B; MANO, S.B. 2007. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 27(1): 158-161.

## **Capítulo 3.**

**Atributos de qualidade de filés de bijupirá (*Rachycentron canadum*) refrigerados e embalados em atmosfera modificada.**

### **RESUMO**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da embalagem em atmosfera modificada (EAM) em filés de bijupirá (*Rachycentron canadum*). Os espécimes utilizados foram adquiridos a partir de uma piscicultura *near-shore* em Angra dos Reis – RJ, Brasil, processados, eviscerados, filetados e embalados em filmes plásticos de alta densidade álcool etileno vinil (EVOH). As amostras foram submetidas a três condições de embalagem: A (controle), B (vácuo) e C (100% CO<sub>2</sub>). As amostras embaladas foram mantidas sob refrigeração em temperatura de  $2 \pm 1$  °C e submetidas à análise nos tempos zero, 1, 7, 14, 21, 30 e 45 dias. Foram realizadas análises de N-BVT, pH, TBA, textura, cor e microbiológicas. As amostras armazenadas sob condições aeróbicas (A) mostraram um rápido incremento de valores N-BVT. As amostras do tratamento A (controle) apresentou um aumento de pH. Os índices de TBA permaneceram abaixo de 2,0 mg MA/kg, os padrões de cores oscilaram com o tempo e a textura variou entre 2,05 e 6,61 N. Os tratamentos excederam o limite microbiológico proposto pela legislação no 30º dia de armazenamento. De acordo com os resultados deste estudo, concluiu-se que as embalagens B (vácuo) e C (100% de CO<sub>2</sub>) mostraram um bom desempenho, com destaque para o tratamento (C) que prolongou a vida útil de 14 por até 30 dias sob condições de refrigeração.

**Palavras-chave:** qualidade, embalagem, atmosfera modificada, vida-útil, deterioração

### **ABSTRACT**

**Quality attributes of cobia (*Rachycentron canadum*) fillets chilled and packaged in modified atmospheres**

The aim of this study was to evaluate the effect of modified atmosphere packaging (MAP) on cobia (*Rachycentron canadum*) fillets. The specimens used were filleted and

packed in high-density ethylene-vinyl alcohol plastic bags. The samples were submitted to 3 treatments: A (control), B (vacuum) and C (100% CO<sub>2</sub>). The packaged samples were maintained under cooling in temperatures of about  $2 \pm 1$  °C. The samples were later submitted to analysis with different days of storage (zero, 1, 7, 14, 21, 30 and 45 days). TVB-N, pH, TBA, texture, color and microbiology were examined. The samples stored under aerobic conditions (A) showed fast increase of TVB-N values and showed an increase of pH. The TBA indexes remained below 2.0 mg/kg, the color patterns varied slightly and texture ranged between 2.05 and 6.61 N. The treatments exceeded the microbiological limit proposed by legislation on the 30th day of storage. According to the results of this study, it was concluded that the packages B (Vacuum) and C (100% CO<sub>2</sub>), showed a fine performance, increasing the shelf life by up to 30 days.

**Keywords:** quality, fillets, modified atmosphere packaging, shelf life, quality deterioration

## 1. Introdução

O bijupirá (*Rachycentron canadum*) é uma espécie relativamente nova na aquicultura brasileira, com grande potencial de produção em escala global. Por produzir filés de boa qualidade, preços altamente comerciais e rápido crescimento, é considerada uma espécie de excelentes características para aquicultura comercial (Liao e Leano, 2007). Comercialmente, a espécie é cultivada em tanques, tanques-rede e sistemas de recirculação. Apresenta características de crescimento excepcionais e tem boa resistência a doenças (Duncan et al., 2007; Lunger et al., 2007).

Pescados, em geral, são produtos extremamente perecíveis, e sua qualidade é altamente influenciada pelo frescor do produto. A intensidade de reações enzimáticas e o número e espécies de microrganismos, que afetam a perecibilidade do produto vão determinar a qualidade e conseqüentemente o tempo de armazenamento desses alimentos. Outra característica importante é a temperatura de armazenamento, que deve ser avaliada através das várias fases de produção, durante a captura, os atrasos na

refrigeração, a variação da temperatura de armazenamento e a temperatura de processamento. A conservação de alimentos é baseada em métodos combinados, que podem ser utilizados para melhorar a qualidade de produtos convencionais ou o desenvolvimento de novos produtos. Eles asseguram a estabilidade e segurança, resultando em produtos que apresentam propriedades sensoriais e nutricionais mais adequadas (Leistner, 1992; Monteiro et al., 2012; Santos e Oliveira, 2012).

Estudos com pescados embalados em atmosfera modificada (EAM) tem relatado um aumento no tempo de vida útil de 50% a 400%, mas apenas o período de moderada a baixa qualidade muitas vezes é estendido e não o período inicial de primeira qualidade (Fletcher e Statham, 1988; Rotabakk et al., 2008; Monteiro et al., 2012). Normalmente, o efeito da EAM é condicionada pela presença de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) disponível na atmosfera, a disponibilidade de oxigênio (O<sub>2</sub>), a qualidade das matérias-primas, e o mais importante a temperatura de armazenamento (Sivertsvik et al., 2002). O CO<sub>2</sub> inibe o crescimento da flora normal de deterioração no ar (tais como, *Pseudomonas* e *Shewanella putrefaciens*) e durante o armazenamento. Nesta situação, microorganismos tolerantes a CO<sub>2</sub> (como, *Lactobacillus spp*, *Photobacterium phosphoreum*, *Brochothrix thermosphacta*) irão dominar a microflora (Dalgaard, 2000).

Em altas concentrações de CO<sub>2</sub>, a *P. phosphoreum* foi detectada como a principal bactéria de deterioração, tanto para o bacalhau refrigerado em embalagens em atmosfera modificada (Dalgaard, 1995) como para o salmão (Emborg et al., 2002), e sobre o crescimento de *Pseudomonas spp*. A EAM evoluiu muito desde a descoberta do efeito inibidor do CO<sub>2</sub> (com temperaturas inferiores a 4°C) desde a década de 1930 (Esteves, 2012). O princípio de EAM é a substituição do ar na embalagem por uma mistura fixa e otimizada de gases. O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), é o gás mais importante usado na EAM, uma vez que possuem propriedades bacteriostáticas e fungistáticas (Soccol e Oetterer, 2003). Aplicação dos conhecimentos sobre organismos de deterioração específicos para a determinação, previsão e extensão da vida de prateleira do pescado é de vital importância para estender a vida útil e obter uma matéria prima de qualidade ao longo de um período mais longo (Esteves, 2012; Santos e Oliveira, 2012).

Desta forma, alimentos embalados em atmosfera modificada tornam-se cada vez mais disponíveis para atender a demanda dos consumidores por alimentos frescos e refrigerados, sendo eficazes para prolongar a vida de prateleira de carnes frescas, aves, pescados, entre outros (Chouliara et al., 2008; Rosnes et al., 2006). Além disso, quando

o CO<sub>2</sub> é dissolvido no produto, ele altera o pH, o que também atua como uma barreira contra algumas bactérias deteriorantes (Sivertsvik et al., 2002).

O armazenamento sob EAM estende a vida de prateleira desses alimentos, retardando a taxa de deterioração. O sucesso da EAM em estender a vida de prateleira de frutos do mar depende de muitos fatores, incluindo a qualidade inicial do produto, uma boa higiene durante o abate, a seleção correta do material de embalagem, equipamentos, mistura de gás apropriada com uma relação apropriada de volume de gás e produto (g/p), e manutenção das temperaturas de processo (Sivertsvik, 2007), onde a quantidade de CO<sub>2</sub> dissolvido no produto e da temperatura de armazenamento são os fatores mais críticos (Rotabakk et al., 2008).

Existem vários relatos sobre o uso de EAM na preservação dos pescados, no entanto, a padronização de critérios é difícil devido às diferenças encontradas para cada espécie, misturas de gases e temperaturas de armazenamento. Pesquisas utilizaram a EAM, para prolongar a vida útil de files de salmão fresco (Gonzalez, 2000), trutas (Pastoriza et al., 1996) e salmão (Hoz et al., 2000) estendidos para 20, 18 e 22 dias respectivamente. Sivertsvik et al., (2002) estudaram a evolução das condições de armazenamento de filés de salmão utilizando condições de refrigeração (4°C) e EAM (CO<sub>2</sub>: N<sub>2</sub>; 60:40), e observaram a melhor performance após 21 dias de armazenamento. Ainda, Sivertsvik et al., (1999) avaliaram a qualidade de refrigeração ( $\leq 1^{\circ}\text{C}$ ) do salmão eviscerado (*Salmo salar*) durante o transporte, armazenados em embalagens de poliestireno contendo 50% e 100% de CO<sub>2</sub> e 60% de CO<sub>2</sub> com 40% de O<sub>2</sub>, e observaram que o salmão EAM apresentou melhor qualidade sensorial do que os convencionalmente embalados após 13 dias de armazenamento. Todas essas experiências foram realizadas em diferentes misturas gasosas, razões g/p e temperaturas.

Tendo em vista o exposto acima, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o bijupirá minimamente processado, por determinação de sua vida útil através do monitoramento de suas propriedades químicas e físicas, no produto embalado em atmosfera modificada, bem como a realização de análises microbiológicas.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Embalagem e condição de armazenamento**

Os espécimes de bijupirá foram fornecidos por uma piscicultura (tanques redes *near shore*) localizada em Angra dos Reis - RJ, região sudeste do Brasil. Os peixes foram abatidos por imersão em água gelada (hipotermia), eviscerados e embalados em uma caixa isotérmica com gelo. Posteriormente, foram encaminhados ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA- FURG), após 12 h do abate, onde foram lavados, filetados (aproximadamente  $300 \pm 20$ g) e embalados em atmosfera modificada utilizando-se uma máquina seladora apropriada (TECMAQ, modelo AP-450). Os filés de peixe foram acondicionados em embalagem plástica de polímero etileno vinil álcool (EVOH), sob a taxa de transmissão de oxigênio para O<sub>2</sub> de 28,18 cm<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>, a 23 °C, 80 % RH e 1 atm). A razão utilizada entre o volume de gás e o peso dos alimentos (razão G/P) do produto foi de 2:1 (V/W) e as composições de mistura de gás para embalar o produto foram: (A) controle, em condições de atmosfera com ar; (B) vácuo; e (C) condições de atmosfera (100% de CO<sub>2</sub>). Todas as amostras foram armazenadas em incubadora refrigerada a uma temperatura constante ( $2 \pm 1$ °C) durante 45 dias. As análises foram realizadas imediatamente após a embalagem (tempo zero) e posteriormente nos dias 1, 7,14,21,30 e 45 de armazenamento.

## **2.2 Composição proximal química**

Os teores de umidade, cinzas, proteína bruta e lipídeos foram determinados de acordo com os métodos descritos pela AOAC (2000). A umidade foi determinada pelo método de secagem em forno a 110 °C durante 24 h. O teor total de proteína foi determinado pelo método de Kjeldhal e os lipídios totais foram avaliados em aparelho de Soxhlet. As cinzas pelo método gravimétrico de incineração em mufla a 600 °C. Foram realizados três repetições para cada análise.

## **2.3 Análises de qualidade e estabilidade**

O nitrogênio de bases voláteis total (N-BVT) foi determinado por precipitação da proteína com ácido tricloroacético (TCA 7,5 %) utilizando o método de extração de micro Kjeldhal de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

Para determinação da quantidade de ácido tiobarbitúrico (TBA), foi utilizado o método da AOAC (2005) com adaptações, por meio de precipitação com ácido tricloroacético, TCA 7,5 %, adaptado por Tarladgis et al., (1960).

#### **2.4 Análises físicas instrumentais**

O pH foi determinado utilizando músculo homogeneizado em água destilada numa proporção de 1:1, de acordo com as normas analíticas do IAL (IAL, 2008).

A medição da cor dos filés foi realizada com um colorímetro (CR - 400 Chroma Meter, Konica Minolta Instrument Systems) que tem uma área circular de medição de 8 mm. O colorímetro foi calibrado com uma placa padrão branco (L = 100). A L \*, a \*, b \* foram medidos em três posições distintas do filé, sendo que três leituras foram realizadas em cada posição.

As análises da textura dos filés de bijupirá foram realizadas utilizando um analisador de textura TA- XT2 Modelo Plus (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido) calibrado para a velocidade de 2 mm/s, velocidade de retorno de 5 mm/s, sensibilidade de corte de 0,250 N. As amostras foram cortadas em forma de retângulos de 2 cm<sup>3</sup>, seguindo a orientação das fibras do músculo como Sigurgisladottir et al., (1999), com os valores expressos em N (Newton). As amostras foram submetidas a um teste de corte usando uma probe Warner-Bratzler (kgf), o que indica a energia total (trabalho) necessária para cisalhamento (resistência ao corte).

#### **2.5 Análises Microbiológicas**

Foram realizadas as análises de contagem total de aeróbios mesófilos e psicrotróficos, *Staphylococcus* spp., determinação de coliformes termotolerantes a 45°C e *Salmonella* spp., conforme metodologia oficial do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil 2003) e *American Public Health Association* (APHA 2001). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

#### **2.6 Análise Estatística**

As avaliações físicas e físico-químicas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias foi feito pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%, usando o software Estatística 7.0.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1 Análises físico-químicas

A composição proximal do filé de bijupirá no presente estudo e os seus desvios padrão foram: umidade de  $76,85 \pm 1,26$  %, cinzas de  $0,96 \pm 0,02$  g, proteína total de  $18,45 \pm 1,6$  % e gordura total de  $3,48 \pm 0,32$  g. Sabe-se que a variação na composição química dos peixes marinhos está intimamente relacionada com a nutrição, ao habitat de origem, ao tamanho do peixe, a temperatura, variações sazonais e sexuais, bem como outras condições ambientais relevantes (Gonçalves, 2010). Variação da composição química, devido aos fatores mencionados acima, pode levar a alterações nos atributos, incluindo o sabor, odor, textura e cor que controlam a aceitabilidade do pescado como alimento (Flick e Martin, 1992; Oliveira et al., 2014).

A regulamentação da Indústria e Inspeção de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 2002) estabeleceu o limite máximo de pH para a parte interna do peixe fresco de 6,5, sendo que o valor de pH no músculo do peixe vivo é de aproximadamente 7,0 (Papadopoulos et al., 2003). Simeonidou et al., (1998), declarou que os valores de pH *post mortem* pode variar 6,0-7,1 dependendo da espécie, época de pesca e outros fatores. Com base nos resultados (Tabela 1), este critério parece ser adequado para as avaliações qualitativas de filés de bijupirá minimamente processados.

A Tabela 1 apresenta os valores de pH para os filés de bijupirá analisados.

**Tabela 1.** Valores de pH em filés de bijupirá em EAM mantidos sob refrigeração a  $2 \pm 1$  °C, onde: “A” (controle), “B” (à vácuo) “C” (100 % CO<sub>2</sub>).

Tempo/ATM	A	B(Vácuo)	C (100%)
0	6,44 <sup>a</sup>	6,45 <sup>a</sup>	6,45 <sup>a</sup>
1	6,63 <sup>a</sup>	6,3 <sup>b</sup>	6,23 <sup>b</sup>
7	6,1 <sup>a</sup>	6,34 <sup>b</sup>	6,1 <sup>ac</sup>
14	6,2 <sup>a</sup>	6,09 <sup>b</sup>	6,03 <sup>b</sup>
21	6,12 <sup>a</sup>	6,24 <sup>a</sup>	6,16 <sup>a</sup>
30	6,29 <sup>a</sup>	5,94 <sup>b</sup>	6,08 <sup>c</sup>
45	6,8 <sup>a</sup>	6,43 <sup>b</sup>	6,34 <sup>b</sup>

Mesma letra na linha para os valores de pH indica que não há diferença estatística ( $p < 0,05$ ),  $n=3$ . A legislação brasileira propõe o limite de aceitabilidade de pH  $6,5 \pm 0,1$  (BRASIL, 2002).

O aumento do pH indica a acumulação de compostos alcalinos, tais como amônia derivada principalmente da ação microbiana (Herbard et al., 1982). Já a diminuição do pH, que foi observado para os tratamentos (B) vácuo (6,1-5,9) e (C) EAM (6,03-6,1) nos dias 14 e 30 de armazenamento, foi relacionado com a diminuição da contagem de bactérias psicrófilas, o que pode ser explicado pela ação antimicrobiana do CO<sub>2</sub> no músculo do pescado. Para o tratamento (C), o pH muscular no momento da embalagem, diminuiu de 6,45 para 6,0 e 6,2 após 1 e 7 dias de armazenamento, respectivamente. O pH das amostras de EAM (C) foram significativamente mais baixo e mais estável quando comparado com as amostras armazenadas em ar (A), que o pH seguiu aumentando até o 30º dia de armazenamento (Tabela 1).

Arkoudelos et al., (2007) analisando atributos qualitativos da enguia (*Anguilla anguilla*) armazenadas sob ar e EAM demonstraram ausência de alterações significativas para as amostras de enguia durante todo o período de armazenamento em todas as condições de embalagem, revelando que o análise do pH não poderia ser útil para monitorar as alterações observadas na qualidade desse pescado. Poli et al., (2006) encontraram valores de pH inicial de 6,4 em filés de robalo (*Dicentrarchus labrax*) muito semelhantes aos valores encontrados nesta pesquisa. A embalagem controle (A) demonstrou aumento durante todo o armazenamento, no entanto, foi observada maior diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas no dia 45º, quando se atingiu um pH de 6,85 (Tabela 1). As diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o controle e as EAM apareceram no 1º dia de armazenamento, onde o pH das amostras (B) e (C), armazenada em atmosfera controlada, diminuiu até o 7º ou 21º dias de armazenamento, aumentando ligeiramente em seguida. Esta redução do pH pode ser devido a acidificação do meio de dissolução de CO<sub>2</sub>. Torrieri et al., (2006) verificaram em *Dicentrarchus labrax* uma redução de 6,6 para 6,3, quando embalados em atmosfera modificada, dependente da composição da atmosfera de armazenamento. Apenas a amostra embalada com o ar, como o gás de composição inicial, exibiu um aumento do pH como consequência da acumulação de substâncias básicas nos músculos. Resultados semelhantes foram relatados por Pastoriza et al., (1998) e Ruiz-Capillas e Moral (2001) em pescados marinhos.

Stamatis e Arkoudelos (2007) encontraram resultados semelhantes para os valores de pH nas embalagens controle, amostras de EAM e de embalagem a vácuo em

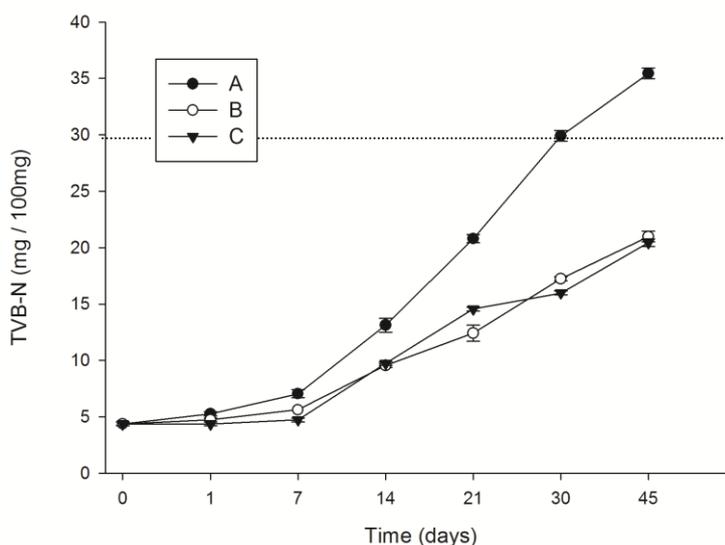
files de *Sardina pilchardus* a 3 °C. No presente estudo, os valores de pH da EAM (C) e do vácuo (B) foram menores durante todo o período de armazenamento, variando em torno de 6,26. Para os peixes armazenados em EAM, sabe-se que o dióxido de carbono pode ser absorvido na superfície do músculo, acidificando-o através da formação de ácido carbônico (Torrieri et al., 2006).

De acordo com Sikorski et al., (1994), a estabilidade do pH pode ser causada pelo efeito tampão do músculo do peixe. Este efeito é atribuído à presença de proteínas solúveis, aminoácidos, trimetilamina e substâncias de baixo peso molecular presentes no músculo dos peixes, que podem mascarar alterações de pH, aumentando lentamente o pH no início do processo de degradação e mais rapidamente no final da vida útil. Este aumento, comumente observado em produtos deteriorados, pode em parte explicar a significância das diferenças encontradas no final do armazenamento.

### 3.2 Análises de Qualidade

A Figura 1 mostra os valores N-BVT dos filés de bijupirá armazenados por 45 dias em atmosfera controlada. Os valores N-BVT para os tratamentos (B) e (C) ficaram abaixo do limite estabelecido pela legislação brasileira (30 mg/100g) (BRASIL, 2002).

**Figura 1.** . Valores de N-BVT em filés de bijupirá em EAM mantidos sob refrigeração a  $2 \pm 1$  °C , onde: “A” (controle), “B” (à vácuo) “C” (100 % CO<sub>2</sub>). A legislação brasileira propõe o limite de aceitabilidade de (30 mg/100g) (BRASIL, 2002).



Foram observados valores mais altos no controle (A). No entanto, (B) e (C) foram significativamente afetadas ( $p < 0,05$ ) pelos tratamentos e períodos de armazenamento. Não houve diferenças entre os valores N-BVT nos últimos períodos de armazenamento no tratamento (B) e (C). Resultados semelhantes foram relatados por Ozogul et al., (2004) na avaliação da sardinha (*Sardina pilchardus*), embaladas em condição de atmosfera modificada e vácuo.

No início do armazenamento, o valor de N-BVT foi de 4,9 mg/100g. Sendo que, as bases voláteis totais aumentaram até 30 mg/100g de músculo armazenados nas embalagens com ar (A), 17,3 mg/100g em (B) e 16 mg/100 g em EAM (C), no último dia de aceitabilidade, 30º dia, para cada condição de armazenamento. Fraser e Sumar (1998) indicaram que o catabolismo bacteriano de aminoácidos em peixes resulta na acumulação muscular de amoníaco e outras bases voláteis. Fernandez et al., (2009) em experimentos com EAM em salmão (*Salmo salar*), demonstraram que a N-BVT não apresentou diferenças significativas durante o período de armazenamento. Os valores também foram inferiores aos indicados pelas normas técnicas (30mg N/100 mg) (Gonzalez, 2000).

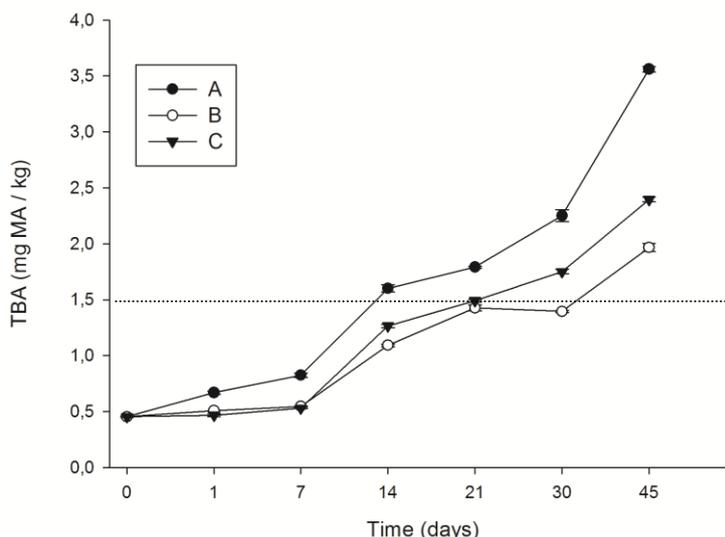
Quando a contagem de microrganismos atingiu  $10^6$  UFC/g, o conteúdo N-BVT encontrado foi de aproximadamente 29 mg/100g de músculo para o tratamento (A). O aumento mais rápido de N-BVT em contagens microbianas indicam a fase de deterioração substancial do pescado. Amostras com concentrações de  $CO_2$  (C) foram as que apresentaram menores valores de N-BVT. De acordo com Lampila (1991) isto pode ocorrer por dois fatores: (1) o efeito inibidor do  $CO_2$  sobre o crescimento microbiano, e (2) a mudança na flora, quando o pescado é armazenado em atmosfera enriquecidas com  $CO_2$ . Ruiz- Capillas e Moral (2001) também observaram que os níveis de N-BVT em *Merluccius merluccius*, armazenados em atmosferas de  $CO_2$ , aumentaram mais lentamente do que no ar. No mesmo estudo, o controle apresentou os maiores valores N-BVT durante todo o período de armazenamento, ultrapassando os limites de aceitabilidade de 30 mg/100g de músculo após 25 dias de armazenamento, enquanto que nos tratamento do presente estudo, as atmosferas (B) e (C) não excederam este limite (Figura 1). Isto pode ocorrer, pelo fato de que as atmosferas controladas retardam o aparecimento de deteriorações e subseqüentemente os valores de N-BVT, ao contrário do grupo controle. Este resultado está de acordo com o observado por Ruiz-Capillas e Moral (2001), onde a EAM na embalagem de (*Merluccius merluccius*), foram

eficazes em até 35 dias de armazenamento. De acordo com Stamatis e Arkoudelos (2007) as concentrações de N-BVT em *Sardina pilchardus* e da maioria dos pescados contêm pouco carboidrato (< 0,5 % w/w) no tecido muscular e apenas pequenas quantidades de lactato são produzidos pós-morte.

### 3.3 Análise de estabilidade

A Figura 2 apresenta os valores de TBA nos filés de bijupirá armazenados por 45 dias em atmosfera controlada.

**Figura 2.** Valores de TBARS em filés de bijupirá em EAM mantidos sob refrigeração a  $2 \pm 1$  °C, onde: “A” (controle), “B” (à vácuo) e “C” (100 % CO<sub>2</sub>).



Pode-se observar que os valores de TBA mantiveram-se dentro dos limites recomendados (1,5 mg de malonaldeído/kg de músculo) para o tratamento (B) e (C) durante os primeiros 21 dias de estocagem ( $p > 0,05$ ) (Al-Kahtani et al., 1996; Osawa et al., 2005).

No entanto, houve um aumento significativo, ao longo do período de armazenamento estudado, no tratamento (A) ( $p < 0,05$ ), sendo que após 14 dias de armazenamento os valores encontrados para o tratamento controle (A), mantido em atmosfera normal, foi de 1,6 mg de malonaldeído/kg de músculo (Figura 2). Os lipídios de pescados frescos, armazenados em gelo ou sob-refrigeração, raramente têm alguma tendência para o ranço oxidativo (Gonçalves, 2010). No entanto, quando o pescado é

armazenado por longos períodos de tempo em ambientes controlados, com níveis elevados de O<sub>2</sub>, o ranço, poderia ser um problema.

Os valores de TBA observados para o tratamento de embalagem a vácuo (B) foram menores no final do período de armazenamento quando comparado com os valores obtidos para os outros tratamentos. Isto foi provavelmente causado pela ausência de oxigênio, o que retarda o processo de oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados. O tratamento (C), mantido na atmosfera com as maiores concentrações de CO<sub>2</sub> (100%), obteve níveis de TBA de 1,75 mg de MA/kg, após 30 dias de armazenamento. Estudando a qualidade da merluza (*Merluccius merluccius*) Ruiz-Capillas e Moral (2001) observaram maior quantidade de TBA para atmosferas ricas em CO<sub>2</sub>, provavelmente, devido a uma ação sinérgica entre CO<sub>2</sub> e pequenas quantidades de O<sub>2</sub> que favoreceu a auto-oxidação de ácidos graxos poli-insaturados. Soccol et al., (2005) também observaram um comportamento semelhante em atmosferas modificadas.

### 3.4 Análises microbiológicas

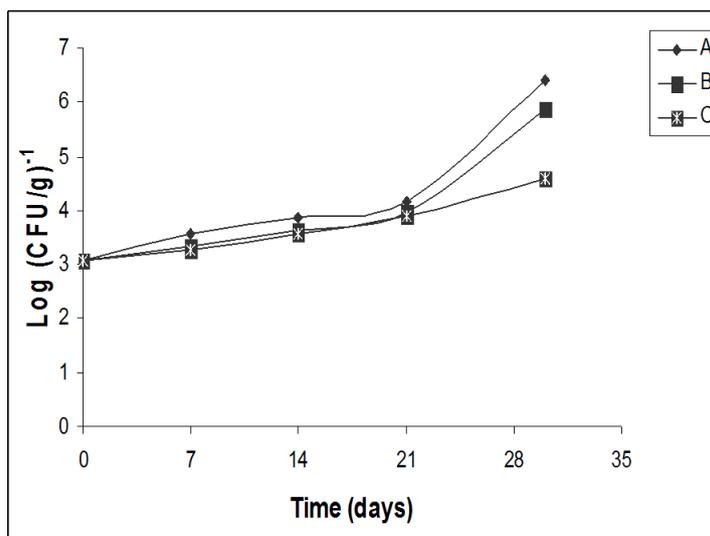
Bactérias do gênero *Salmonella ssp.* não aparecem originalmente em pescados, são geralmente introduzidas durante o manuseio ou contato com a água contaminada. O habitat deste gênero de bactérias é o trato intestinal de humanos e animais de sangue quente, razão pela qual sua presença indica uma possível contaminação fecal. Os pescados capturados em águas limpas são geralmente isentos deste tipo de bactéria, e sua presença é atribuída a superfícies de contato mal higienizado e a contaminação cruzada (Martins et al., 2002; Bartholomeu et al., 2011). No presente trabalho, a presença de *Salmonella ssp* não foi detectada em nenhuma das amostras, indicando uma boa higiene e segurança do produto.

Embora a legislação brasileira não estabeleça valores de referência para a contagem de *Escherichia coli* em pescados, a pesquisa desses microrganismos é um importante indicador da qualidade sanitária e adequação para o consumo humano (Bartholomeu et al., 2011). No presente estudo, a contagem de *Escherichia coli* encontrada nos filés de bijupirá embalados em diferentes atmosferas (A, B e C) estiveram abaixo de 0,3 NMP/g ou > 10<sup>2</sup> UFC/g, permanecendo dentro dos padrões estabelecidos pelo ICMSF (1986). Ao contrario do presente estudo, os resultados relatados por Manna et al., (2008) em amostras de pescado fresco e marisco preservado em gelo, revelaram valores superiores a 10<sup>2</sup> UFC/g, indicando a presença de coliformes,

demonstrando que os pescados avaliados foram expostos a condições sanitárias inadequadas.

A Figura 3 apresenta a curva de crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos de filés de bijupirá armazenados por 45 dias em atmosfera controlada.

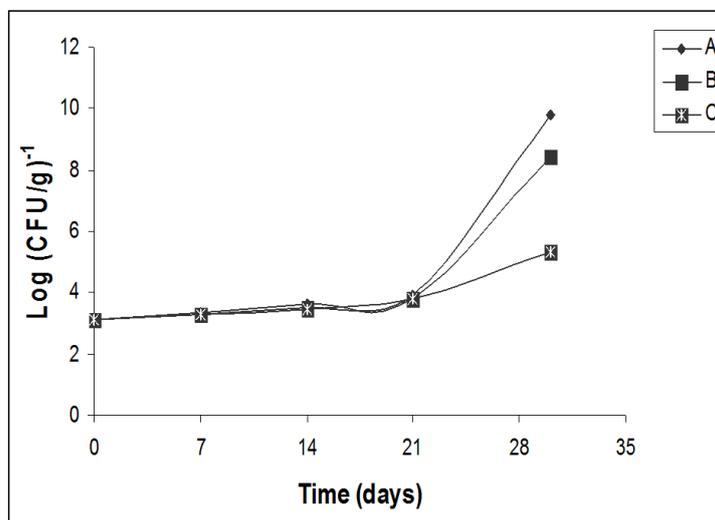
Figura 3. Curva de crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos de filés de bijupirá embalados em diferentes atmosferas modificadas. Onde: A (Controle); B (vácuo); C (100% de CO<sub>2</sub>).



As curvas de crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios em filés de bijupirá embalados em diferentes atmosferas modificadas apresentados na (Figura 3) demonstraram que a contagem desses microrganismos aumentou com os dias de armazenamento em todos os tratamentos e só houve diferença significativa no último dia de análise para todos os tratamentos. Uma diferença maior entre o tratamento (A) e (C) foi observada após 30 dias de armazenamento, demonstrando que para estes microrganismos o gás utilizado reduz a taxa de crescimento. Estudos semelhantes por Cortez-Vega et al., (2012) com carne de peito de frango cru também demonstraram a eficácia do uso de gases diferentes no controle de microrganismos em relação à amostra controle. Soccol et al., (2005) comparando o efeito da EAM na conservação de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), concluíram que o vácuo obteve melhor desempenho em relação ao ar, no entanto foi inferior, se comparado às atmosferas enriquecidas com dióxido de carbono CO<sub>2</sub>, o que mostra a eficiência desse gás em embalagens para pescados.

As curvas de crescimento de microrganismos mesófilos psicrotróficos em filés de bijupirá embalados em diferentes atmosferas modificadas apresentados na Figura 4.

Figura 4. Curva de crescimento de microrganismos psicrotróficos de filés de bijupirá embalados em diferentes atmosferas modificadas. Onde A (Controle); B (vácuo); C (100% de CO<sub>2</sub>).



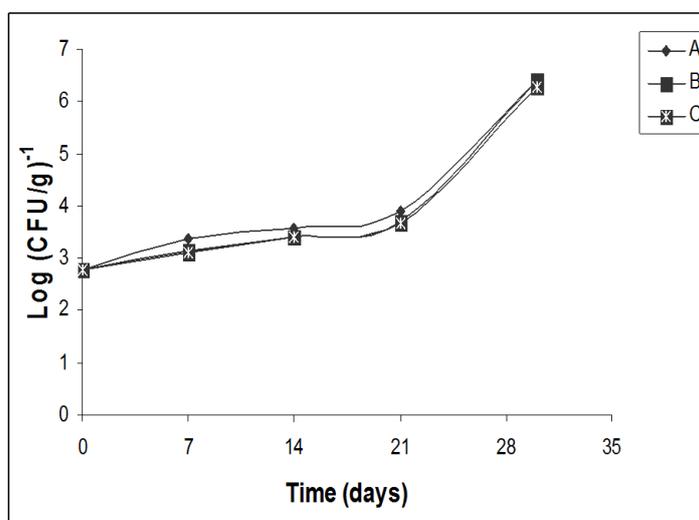
As curvas de crescimento dos microrganismos aeróbios psicrotróficos (Figura 4) em filés de bijupirá embalados em diferentes atmosferas modificadas foi crescente em relação ao tempo de armazenamento, sendo que o tratamento (A) apresentou um aumento de aproximadamente 68% entre o primeiro e o último dia de armazenamento, enquanto o tratamento (C) apresentou um menor crescimento (40%). Muitos microrganismos de deterioração aeróbia são inibidos por concentrações de 20% de CO<sub>2</sub>, aumentando a vida útil do produto com o aumento da concentração do mesmo gás (Rotabakk et al., 2006). Corroborando os resultados encontrados no presente estudo, onde foi observado que o uso de CO<sub>2</sub> aumentou o tempo de vida útil dos filés de bijupirá em relação ao controle. A legislação brasileira não estabelece limites para psicrotróficos, mas altas contagens desses microrganismos contribuem para a redução da vida útil do produto.

O ICMSF estabelece contagem inferior a 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> UFC/g pescado padrões como sendo os valores seguros para o consumo (ICMSF, 1986). A fim de aumentar a vida útil dos produtos, as contagens microbiológicas iniciais devem ser reduzidas com rigorosas condições de higiene na indústria. Além disso, a temperatura de armazenamento deve ser mantida a 1,5 °C ao invés de 0°C para reduzir a taxa de crescimento microbiano (Fernández et al., 2009). No presente estudo, o desenvolvimento de aeróbios mesófilos

e psicrotórficos aumentaram em todos os tratamentos durante o período de armazenamento, sendo que para o controle (A) foram observado valores acima de  $10^6$  UFC/g. O crescimento foi sempre mais elevado nos filés expostos ao ar em comparação com EAM à mesma temperatura e tempo de armazenamento.

A curva de crescimento para o *Staphylococcus spp.* em filés bijupirá armazenados sob refrigeração por 30 dias está apresentada na Figura 5.

Figura 5. Curva de crescimento de *Staphylococcus spp.* em filés de bijupirá embalados em diferentes atmosferas modificadas. Onde A (Controle); B (vácuo); C (100% de  $\text{CO}_2$ ).



Demonstrou um aumento de *Staphylococcus spp.* ao longo dos 30 dias de armazenamento, os valores ficaram próximos de  $10^6$  UFC/g e não foi observado diferença para os tratamentos após 30 dias de armazenamento. Ogrzydziak e Wang (1988), não detectaram a presença de *Staphylococcus* em bacalhau com 80 % de  $\text{CO}_2$  após 14 dias de armazenamento a 4 °C. O Compêndio de Normas e Padrões para Alimentos (BRASIL, 2001) estabeleceu para peixe fresco refrigerado um máximo de  $10^3$ - $10^4$  de *Staphylococcus coagulase (+)*/g de peixe, no presente estudo observamos que esses valores foram atingidos entre o 14º e 21º dia de armazenamento.

### 3.5 Análises de Cor e Textura

A Tabela 2 mostra os valores da cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) e textura dos files de bijupirá armazenados sob refrigeração.

Tabela 2. Valores de cor ( $L^*$ ), Chroma  $a^*$ ,  $b^*$  e textura (N) dos filés de bijupirá em diferentes embalagens e armazenados sob refrigeração. Onde: A (Controle); B (vácuo); C (100% de  $CO_2$ ).

Tempo (dias)	Tratamento	Cor			Textura
		$L^*$	$a^*$	$b^*$	
0	A	66.85±1.03 <sup>aBC</sup>	0.73±0.12 <sup>aB</sup>	1.46±0.24 <sup>aC</sup>	6.61±1.2 <sup>aA</sup>
	B	66.85±1.03 <sup>aA</sup>	0.73±0.12 <sup>aAB</sup>	1.46±0.24 <sup>aC</sup>	6.61±1.2 <sup>aA</sup>
	C	66.85±1.03 <sup>aA</sup>	0.73±0.12 <sup>aAB</sup>	1.46±0.24 <sup>aD</sup>	6.61±1.2 <sup>aA</sup>
1	A	66.23±0.71 <sup>aBC</sup>	0.61±0.10 <sup>bB</sup>	1.57±0.15 <sup>aC</sup>	6.61±1.2 <sup>aA</sup>
	B	66.15±0.66 <sup>aA</sup>	0.73±0.21 <sup>abAB</sup>	1.42±0.06 <sup>aC</sup>	6.61±1.2 <sup>aA</sup>
	C	66.10±1.20 <sup>aA</sup>	1.01±0.08 <sup>aA</sup>	1.56±0.21 <sup>aD</sup>	6.61±1.2 <sup>aA</sup>
7	A	65.63±0.62 <sup>aBC</sup>	0.61±0.21 <sup>aB</sup>	2.62±0.19 <sup>aBC</sup>	4.19±0.7 <sup>cA</sup>
	B	66.32±0.29 <sup>aA</sup>	0.52±0.19 <sup>aB</sup>	2.17±0.83 <sup>aBC</sup>	5.08±1.37 <sup>abA</sup>
	C	62.91±0.97 <sup>bB</sup>	-0.51±0.07 <sup>bC</sup>	1.72±0.22 <sup>aD</sup>	4.09±1.3 <sup>bA</sup>
14	A	72.44±0.51 <sup>aA</sup>	1.35±0.09 <sup>aA</sup>	3.56±0.42 <sup>bB</sup>	3.45±0.2 <sup>bcB</sup>
	B	65.74±0.14 <sup>bA</sup>	-0.73±0.21 <sup>cC</sup>	2.29±0.12 <sup>cABC</sup>	5.01±0.45 <sup>abA</sup>
	C	60.38±0.46 <sup>cC</sup>	0.03±0.01 <sup>bBC</sup>	6.56±0.27 <sup>aC</sup>	3.27±0.23 <sup>bB</sup>
21	A	67.86±1.43 <sup>aB</sup>	1.04±0.33 <sup>aAB</sup>	3.34±0.92 <sup>bBC</sup>	3.01±0.14 <sup>bcB</sup>
	B	65.45±0.51 <sup>bA</sup>	0.77±0.32 <sup>aAB</sup>	2.61±0.31 <sup>bAB</sup>	4.96±0.27 <sup>abA</sup>
	C	58.84±0.37 <sup>cD</sup>	-1.33±0.16 <sup>bD</sup>	6.87±0.33 <sup>aC</sup>	3.19±0.2 <sup>bB</sup>
30	A	65.36±2.23 <sup>aBC</sup>	1.01±0.37 <sup>aAB</sup>	6.64±1.29 <sup>aA</sup>	2.77±0.12 <sup>bcB</sup>
	B	65.36±0.32 <sup>aA</sup>	1.15±0.14 <sup>aA</sup>	2.88±0.17 <sup>bAB</sup>	4.58±0.13 <sup>abA</sup>
	C	58.53±0.36 <sup>bCD</sup>	-3.52±0.67 <sup>bF</sup>	7.92±0.56 <sup>aB</sup>	2.92±0.7 <sup>bB</sup>
45	A	63.35±1.97 <sup>aC</sup>	1.41±0.07 <sup>aA</sup>	6.96±0.75 <sup>bA</sup>	2.05±0.08 <sup>cB</sup>
	B	62.65±0.78 <sup>aA</sup>	-0.19±0.05 <sup>cB</sup>	3.28±0.16 <sup>cA</sup>	3.93±0.25 <sup>aA</sup>
	C	57.44±0.11 <sup>bD</sup>	-2.28±0.13 <sup>cE</sup>	9.61±0.36 <sup>aA</sup>	2.58±0.35 <sup>bB</sup>

Pode-se observar que houve uma diminuição de luminosidade ( $L^*$ ), com os dias de armazenamento. Esta diminuição de  $L^*$  está relacionada com o aumento do índice de escurecimento dos filés, sendo que quanto mais escuro a amostra maior a tendência para zero. No presente trabalho, o uso de  $CO_2$  foi eficaz para reduzir o escurecimento, mas provocou colorações amareladas na superfície dos filés de bijupirá, concordando com resultados encontrados por Cortez-Vega et al., (2012), que demonstrou a eficácia de  $CO_2$  no retardamento do escurecimento dos filés de peito de frango cru, o que demonstra a sua ação em diferentes tipos de carnes. Poli et al., (2006), encontraram valores de brilho mais elevados no início e no final do período de armazenamento em filés de robalo europeu embalados em EAM em relação as amostras controle.

Em relação às análises de Chroma  $a^*$  pode-se observar, que com o passar dos dias de armazenagem, ocorreu uma diminuição nos valores da cor vermelha de ambos os tratamentos (B) e (C) tendenciado para um tom esverdeado (Figura 6). Após 45 dias de análise foi observada diferença significativa entre os tratamentos (B) e (C). Esses resultados concordam com Cortez-Vega et al., (2012) que também observaram uma diminuição nos valores de Chroma  $a^*$  em filés de peito de frango cru. Um aumento nos valores de chroma  $b^*$  foi encontrada em todos os tratamentos, sendo que o tratamento (C) (100 % de  $CO_2$ ) apresentou o maior valor de chroma  $b^*$  em comparação com a amostra controle, demonstrando que o gás provocou alterações na manutenção da cor dos filés de bijupirá (Figura 6). Este aumento mostra uma tendência de cor mais escura (tendência para o amarelo), o que não pode ser considerado um indicador de degradação dos filés. Torrieri et al., (2006) em estudo da influência da EAM na vida-útil do robalo (*Dicentrarchus labrax*), os parâmetros  $a^*$  diminuíram e os valores do parâmetro  $b^*$  aumentaram durante o tempo de armazenamento, semelhantes ao estudo em questão. No presente trabalho, para a amostra controle (A), aumentaram as variações para o tom amarelo esverdeado, neste caso apresentando aparência de produto em deterioração.

Figura 6. Coloração dos filés de bijupirá após 45 dias de estocagem. Onde: A (Controle); B (vácuo); C (100% de  $CO_2$ ).



A textura diminuiu com o tempo de armazenamento para todos os tratamentos após 45 dias sob refrigeração, sendo que o tratamento (A) controle, mostrou a maior redução na textura (68,98 %), seguido do tratamento (C) 100 % de  $CO_2$  (60,96 %) e tratamento (B) vácuo (40,54 %) (Tabela 2).

De acordo com Dhananjayan et al., (2006) a menor resistência ao corte está relacionada com a degradação microbiana durante o período de armazenagem, quando a absorção de nutrientes pela bactéria ocorre e as fibras quebram-se mais facilmente. Fernández et al., (2009) estudaram o efeito combinado de embalagem em atmosfera modificada com aditivos, e estimaram que a vida de prateleira do salmão (*Salmo salar*) foi de 27 dias, quando se considerou a textura do filé como parâmetro. Esses resultados demonstraram a eficiência dos diferentes tratamentos na manutenção da textura por mais tempo.

#### **4. Conclusão**

A partir dos resultados da análise química e microbiológica, podemos concluir que os tratamentos (B) a vácuo e (C) 100 % de CO<sub>2</sub> apresentaram resultados satisfatórios durante o período de armazenamento. A embalagem com EAM (Tratamento C) manteve a estabilidade das características químicas, físicas e microbiológicas dos filés ao longo do experimento, prolongando a vida útil de 14 para 21 dias. A embalagem a vácuo mostrou ser uma alternativa viável em prolongar a vida comercial dos filés de bijupirá fresco a um custo menor.

#### **5. Referencias**

- AL-KAHTANI, H.A., ABU-TARBOUSH, H.M. and BAJABER, A.S. 1996. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in tilapia and Spanish mackerel. *J. Food Sci.*, 61, n. 4, 729-733.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. *Association of Official Analytical Chemists*. 16th ed., Arlington.
- ARKOUDELOSA, J., NIKOLAOS, S. and SAMARASA, F. 2007. Quality attributes of farmed eel (*Anguilla anguilla*) stored under air, vacuum and modified atmosphere packaging at 0 - 1 °C. *Food Microbiol.*, 24, 728-735.
- BARTHOLOMEU, D.A.F.S., DALLABONA, B.R., MACEDO, R.E.F. and KIRSCHNIK, P.G. 2011. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Archives of Veterinary Sci.*,

- BRASIL. 2001. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 46-53.
- BRASIL. 2002. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal- RIISPOA. Pescados e derivados*. Cap.7, seção 1. Brasília.
- CHOULIARA, E., BADEKA, A., SAVVAIDIS, I., and KONTOMINAS, M.G. 2008. Combined effect of irradiation and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of chicken breast meat: Microbiological, chemical and sensory changes. *European Food Res. and Technol.*, 226, n. 4, 877–888.
- CORTEZ-VEGA, W.R., PIZATO, S. and PRENTICE, C. 2012. Quality of raw chicken breast stored at 5 °C and packaged under different modified atmospheres. *J of Food Safety*, 32, 360–368.
- DALGAARD, P. 2000. *Fresh and lightly preserved seafood. Shelf-life evaluation of foods*. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers, Inc. p 110-39.
- DALGAARD P. 1995. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. *Inter. J. of Food Microbiol.*, 26, n. 3, 319-33.
- HOZ, L., LOPEZ-GALVEZ, D.E., FERNANDEZ, M., HIERRO, E. and ORDONEZ, J.A. 2000. Use of carbon dioxide enriched atmospheres in the refrigerated storage (2 °C) of salmon (*Salmo salar*) steaks. *European Food Res. and Technol.*, 210, n. 3, 179–188.
- DHANANJAYAN, R., HAN, I.Y., ACTON, J.C. and DAWSON, P.L. 2006. Growth depth effects of bacteria in ground Turkey meat patties subjected to high carbon dioxide or high oxygen atmospheres. *Poultry Sci.*, 85, 1821–1828.
- DUNCAN, M., CRAIG, S.R., LUNGER, A.N., KUHN, D.D., SALZE, G. and MCLEAN, E. 2007. Bioimpedance assessment of body composition in cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 271, 432 - 438.
- EMBORG, J., LAURSEN, B.G., RATHJEN, T. and DALGAARD, P. 2002. Microbial spoilage and formation of biogenic amines in fresh and thawed modified atmosphere packed salmon (*Salmo salar*) at 2 °C. *J. of Microbiol*, 92, n. 4, 790 - 799.
- ESTEVEZ, E. 2012. *Tecnologia dos Produtos de Origem Animal – Produtos da Pesca e Aquicultura*. Departamento Engenharia Alimentar, Instituto Superior Engenharia, Universidade do Algarve.

- FRASER, O.P. and SUMAR, S. 1998. Compositional changes and spoilage in fish - microbiological induced deterioration. *Nutrition and Food Sci.*, 6, 325 - 329.
- FERNÁNDEZ, K., ASPE, E. and ROECKEL, M. 2009. Shelf-life extension on fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) using natural additives, super chilling and modified atmosphere packaging. *Food Control*, 20, 1036 - 1042.
- FLETCHER, G.C. and STATHAM, J.A. 1988. Shelf-life of sterile yellow-eyed mullet (*Aldrichetta forsteri*) at 4 °C. *J. Food Sci.*, 53, n.4, 1030 - 1035.
- FLICK, G.R. and MARTIN R.E. 1992. *Advances in Seafood Biochemistry. Composition and Quality.* Technomic Publishing Co., Lancaster.
- HEBARD, C.E., FLICK, G.J. and MARTIN, R.E. 1982. Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish, in *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products.* Westport, 149 - 304.
- GONÇALVES, A.A. 2010. *Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação.* 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Atheneu. p.700.
- GONZALEZ, C. 2000. Effect of the use of modified atmospheres on the extension of shelf life of cold fresh Atlantic salmon. In *Eight International Congress on Engineering and Food.* México, p. 320.
- ICMSF. 1986. *International Commission On Microbiological Specifications For Foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications.* 2nd ed. London: Blackwell Scientific Publications.
- ISO 6579. 1993. *Microbiology. General Guidance on Methods for the Detection of Salmonella.* International Organization of Standardization, Geneva, Switzerland.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos.** 4. ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p. Versão eletrônica.
- JESUS, R.S. 1999. Estabilidade de minced fish de peixes amazônicos durante o congelamento. *Tese. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo*, p. 105.
- LAMPILA, L.E. 1991. *Modified atmosphere packaging.* New York, USA: Van Nostrand Reinhold, p. 373 - 393.

- LEISTNER, L. 1992. Food preservation by combined methods. *Food Research International*, 25, n. 2, 151 - 158.
- LIAO, I.C. and LEAÑO, E.M. 2007. *Cobia aquaculture: research, development and commercial production*. World Aquaculture Society. Louisiana, USA.
- LUNGER, A.N., MCLEAN, E., GAYLORD, T.G. and CRAIG, S.R., 2007. Taurine addition to alternative dietary proteins used in fish meal replacement enhances growth of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 271, 401 - 410.
- MANNA, S.K., DAS, R. and MANNA, C. 2008. Microbiological quality of finfish and shellfish with special reference to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157. *J. of Food Sci.*, 73, 283 - 291.
- MARTINS, C.V.B., VAZ, S.K. and MINOZZO, M.G. 2002. Aspectos sanitários de pescados comercializados em pesque-pagues de Toledo (PR). *Revista Higiene Alimen.*, 16, 51 - 56.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA) (Brasil 2003) e *American Public Health Association* (APHA 2001).
- MONTEIRO, M.L.G; MÁRSICO, E.T; TEIXEIRA, C.E; MANO, S.B.; CONTE, C.A; VITAL, E.C. 2012. Validade comercial dos filés de tilapia do Nilo refrigerados embalados em atmosfera modificada e irradiados. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.42, n.4, p.737-743.
- OSAWA, C.C., FELÍCIO, P.E. and GONÇALVES, L.A.G. 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Quím. Nova*, 28, n. 4, 655 - 663.
- ÖZOĞUL, F., POLAT, A. and ÖZOĞUL, Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chem.*, 85, 49 - 57.
- PAPADOPOULOS, V., CHOULIARA, I., BADEKA, A., SAVVAIDIS, I.N. and KONTOMINAS, M.G. 2003. Effect of gutting on microbiological, chemical and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in iced. *F. Microbiol.*, 20, 411 - 420.
- PASTORIZA, L., SAMPEDRO, G., HERRERA, J.J. and CABO, M.L. 1998. Influence of sodium chloride and modified atmosphere packaging on microbiological, chemical, and sensorial properties in ice storage of slices of hake (*Merluccius merluccius*). *F. Chem.*, 61, 23 - 28.

- PASTORIZA, L., SAMPEDRO, G., HERRERA, J.J. and CABO, M.L. 1996. Effect of carbon dioxide atmosphere on microbial growth and quality of salmon slices. *J. of the Sci. of Food and Agricul.*, 72, n. 3, 348 - 352.
- POLI, B.M., MESSINI, A., PARISI, G., SCAPPINI, F., VIGIANI, V., GIORGI, G. and VICENZINI, M. 2006. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air or prepared from whole fish stored in ice. *Inter. J. of Food Sci. and Technol.*, 41, 444 - 454.
- ROSNES, J.T., KLEIBERG, G.H., SIVERTSVIK, M., LUNESTAD, B.T. and LORENTZEN, G. 2006. Effect of modified atmosphere packaging and super chilled storage on the shelf life of farmed ready-to-cook spotted wolf-fish (*Anarhichas minor*). *Packaging Technol. and Sci.*, 19, n. 6, 325 - 333.
- ROTABAKK, B.T., LEKANG, O.I. and SIVERTSVIK, M. 2008. Volumetric method to determine carbon dioxide solubility and absorption rate in foods packaged in flexible or semi rigid package. *J. of Food Eng.*, 84, n. 3, 499 - 509.
- ROTABAKK, B.T., BIRKELAND, S., JEKSRUD, W.K. and SIVERTSVIK, M. 2006. Effect of modified atmosphere packaging and soluble gas stabilization on the shelf life of skinless chicken breast fillets. *J. of Food Sci.*, 71, 124 - 131.
- RUIZ-CAPILLAS, C. and MORAL, A. 2001. Chilled bulk storage of gutted hake (*Merluccius merluccius*) in CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> enriched controlled atmospheres. *Food Chem.*, 74, 317 - 325.
- SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Revisão: Alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 15, n. 1, p. 1-14, jan./mar. 2012.
- SIGURGISLADOTTIR, S., HAFSTEINSSON, H., JONSSON, A., LIE, O., NORTVEDT, R., THOMASSEN, M. and TORRISSEN, O. 1999. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *J. of Food Sci.* 64, n. 1, 99 - 104.
- SIMEONIDOU, S., GOVARIS, A. and VARELTZIS, K. 1998. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. *F. Res. Inter.*, 7, 479 - 484.
- SIKORSKI, Z.E., KOLAKOWSKA, A. and BURT, J.R. 1994. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura. *Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación*. Zaragoza: Acribia. 4, p. 73 - 101.

- SIVERTSVIK, M. 2007. The optimized modified atmosphere for packaging of prerigor filleted farmed cod (*Gadus morhua*) is 63 ml/100 ml oxygen and 37 ml/ 100 ml carbon dioxide. LWT- F. Sci. and Technol., 40, n. 3, 430 - 438.
- SIVERTSVIK, M., JEKSRUD, W.K. and ROSNES, J.T. 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products - significance of microbial growth activities and safety. Inter. J. of Food Sci. and Technol., 37, n. 2.107 - 27.
- SIVERTSVIK, M., ROSNES, J.T., VORRE, A., RANDELL, K., AHVENAINEN, R. and BERGSLIEN, H. 1999. Quality of whole gutted salmon in various bulk packages. J. of F. Quality, 22, 387 - 401.
- SOCOL, M.C.H., OETTERER, M., GALLO, C.R., SPOTO, M.H.F. and BIATO, D.O. 2005. Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. Brazilian J. of Food Technol., 8, n. 1, 7 - 15.
- SOCOL, M.C.H., and OETTERER, M. 2003. Use of modified atmosphere in seafood preservation. Brazilian Archives of Biol. and Technol., 46, n. 4, 569 - 580.
- STAMATIS, N. and ARKOUDELLOS, J.S. 2007. Effect of modified atmosphere and vacuum packaging on microbial, chemical and sensory quality indicators of fresh, filleted *Sardina pilchardus* at 3 °C. J. of the Sci. of Food and Agricul., 87, 1164 - 1171.
- TARLADGIS, B.G., WATTS, B.M. and YOUNATHAN, M.T. 1960. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. The Journal of the American Oil Chemists' Society, 37, 44 - 48.
- TORRIERI, E.S., CAVELLA, S., VILLANI, F. and MASI, P. 2006. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). J. of Food Eng., 77 1078 - 1086.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE/FOOD SAFETY AND INSPECTION SERVICE (USDA/FSIS). 1998. Microbiology Laboratory Guidebook, 3rd Ed., USDA/FSIS, Washington, DC.
- OGRYDZIAK, D.M. and WANG, M.Y. 1988. Residual effect of storage in an elevated carbon dioxide atmosphere on the microbial flora of rock cod (*Sebastes* spp.). Applied and Environm. Microbiol., 52, 727 - 732.

## **Capítulo 4.**

**Estabilidade físico-química e microbiológica de filés de bijupirá (*Rachycentron canadum*), procedentes de piscicultura *near-shore*, mantidos sob congelamento**

### **RESUMO**

O bijupirá (*Rachycentron canadum*) tem atraído nos últimos anos um grande interesse como um produto cultivado, principalmente quando praticado em piscicultura *near-shore*, e esse fato tem motivado a sua exploração comercial. O objetivo deste trabalho foi determinar o efeito do tempo de estocagem sobre filés de bijupirá, procedente de piscicultura, estocados em temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , durante 180 dias. Os filés foram congelados em congelador de placas a  $-30^{\circ}\text{C}$ , e avaliados em intervalos de 30 dias. Foram examinadas as alterações no pescado por meio de análises do pH, TBA, umidade e proteínas, textura instrumental e contagens microbiológicas. As contagens de bactérias mesófilas, psicrotrófilas apresentaram valores máximos entre  $10^6$  a  $10^7$ (UFC/g), os índices de pH diminuíram com o passar do tempo e os valores TBA não apresentaram valores elevados durante todo o período. Os resultados mostraram que o filé congelado nessas condições experimentais e embalados a vácuo possui estabilidade sensorial, química, física, e microbiológica ao longo dos 180 dias de estocagem, permitindo concluir que o estudo estabelece as bases para a conservação dos filés de bijupirá congelados quando procedentes de piscicultura.

**Palavra-chave:** pescado, piscicultura, congelamento, estabilidade, qualidade

### **ABSTRACT**

**Physico-chemical and microbiological stability of cobia fillets (*Rachycentron canadum*), coming from near-shore fish farming and kept under freezing.**

Recently, the cobia (*Rachycentron canadum*) has attracted great interest as a cultivate product, especially when applied in near-shore fish farming. In the present work, we evaluated the effect of storage time on cobia fillets coming from fish farming and stored

at -180 °C during 180 days. The steaks were frozen in freezer plate`s at -300 °C and were sampled at every 30 days. Changes in fish were examined by analysis of pH, TBA test, moisture, protein, instrumental texture and microbiological counts. Mesophilic and psychrotrophic bacteria's, showed maximum values between  $10^6$  -  $10^7$  (UFC/g), the pH decreased over time and TBA values did not show elevated values throughout the entire period. Results showed that frozen fillet in these experimental conditions and vacuum packed have stability as the sensory, chemical, physical and microbiological analysis over 180 days of storage. The results allow us to conclude that this study provides the basis for the conservation of cobia frozen fillets coming from fish farming.

**Keyword:** cobia, fish farming, freezing, stability, quality.

## 1. Introdução

O bijupirá é altamente apreciado pelos pescadores esportivos, não pela pesca industrial, e sim devido ser um peixe de habito solitário. No entanto, em piscicultura marinha é uma notável espécie devido ao seu crescimento rápido, bom rendimento, qualidade do filé e altos preços comerciais. Podem atingir o peso de 5 - 6 kg em um ano, e 8 - 10 kg, em até 16 meses (Liao et al., 2004; Faulk e Holt, 2005; Faulk et al., 2007; Webb et al., 2007; Benetti et al., 2008). Devido a esses fatores, o bijupirá tem sido o foco de pesquisas, em particular os sobre requisitos em proteína e lipídios, além da qualidade de sua carne (Mach e Nortvedt, 2013; Romarheim et al., 2007; Sharooz e Motallebi, 2012).

Os pescados são compostos basicamente por água, lipídios e proteínas, cujas quantidades variam entre as espécies. A fração lipídica é a que mais oscila, também ao longo do ciclo de vida em uma mesma espécie, chegando aos valores mínimos durante o período de ovulação. A fração de carboidratos no músculo dos peixes é baixa, geralmente menor que 0,5%, e é típica nos músculos estriados, aonde aparece como glicogênio e como um dos constituintes dos nucleotídeos. No final do ciclo de vida esta fração torna-se fonte de ribose livre, após autólise *post mortem* (Ababouch, 2005). Assim, a qualidade do pescado em geral está baseada em critérios da aparência, textura, odor, sabor e cor. Hallier (2007) cita que o processo de deterioração do pescado relacionado à qualidade sensorial é consequência de mudanças físico-químicas perceptíveis, tais como a perda de frescor até chegar a deteriorado ou estragado.

Inclusive, aspectos como a cor podem salientar a qualidade dos filés, não se restringindo a mero fator da deterioração (Sigurgisladottir et al., 1999).

Os pescados obtidos por meio da atividade aquícola destacam-se nutricionalmente de outros alimentos de origem animal. Contêm, comparativamente, grandes quantidades de vitaminas lipossolúveis A e D, minerais cálcio, fósforo, ferro, cobre, selênio e, no caso dos peixes de água salgada, iodo. A composição lipídica de alguns pescados contrasta com a de mamíferos por conter elevada proporção de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa com cinco ou seis duplas ligações (mais de 40%), o que impacta tanto na saúde (atividade benéfica antitrombótica), quanto na tecnologia aplicada durante o processamento destes alimentos (rápida deterioração e rancificação) (Sartori e Amancio, 2012). Geralmente, o principal fator extrínseco responsável pelo processo de deterioração em músculo de pescado congelado é a temperatura de armazenamento. No filé congelado, a deterioração microbiana é inibida, a atividade enzimática é diminuída, porém as proteínas sofrem alterações tanto nas propriedades funcionais como nas propriedades estruturais. Entretanto, o efeito da temperatura e do tempo de estocagem sobre o desenvolvimento da rancidez oxidativa e hidrolítica também tem sido objeto de pesquisas para a determinação da qualidade e da vida útil do pescado e seus produtos (Aubourg et al., 2005; Aro et al., 2005; Jesus, 1999; Taheri e Motallebi, 2012; Weber, 2007).

O presente estudo teve o objetivo de estudar a deterioração da carne do bijupirá e como estas alterações desenvolvem-se no filé congelado, frente a parâmetros físicos, químicos e microbiológicos.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1 Obtenção e preparo das amostras de pescado**

Foram utilizados 15 espécimes de bijupirá, com aproximadamente  $2,5 \pm 0,5$  Kg provenientes de uma unidade de piscicultura intensiva (tanque-redes, *sistema near-shore*) do município de Ubatuba - SP, região sudeste do Brasil. Os peixes foram capturados por meio de “puçá” (apetrecho circular com rede para manejo e despesca) e abatidos por hipotermia água/gelo a  $2 \pm 1$  °C.

O preparo das amostras se iniciou com lavagem com água, seguida de filetagem (com retirada da pele) e lavagens adicionais com soluções de 3% de cloreto de sódio, para remover resíduos de sangue e impurezas, e de 0,3% de hipoclorito de sódio, para

redução microbiana. As amostras foram rapidamente imersos em solução de 10% de cloreto de sódio, drenada por 2 minutos em escurredores, pesada em sacos plásticos em porções de  $500 \pm 30$ g (balança automática da marca Filizola).

Os filés foram embalados individualmente e acondicionados em sacos plásticos de alta densidade de etileno-álcool-vinílico – EVOH, de 5 camadas com alta barreira, sob a taxa de transmissão de oxigênio para  $O_2$  de  $28,18 \text{ cm}^3/\text{m}^2$ , a  $23 \text{ }^\circ\text{C}$ , 80 % RH e 1 atm. Os filés foram embalados em dois grupos. O primeiro grupo foi embalado sem tratamento (controle – TA) e no segundo o ar da embalagem foi removido automaticamente por meio de um sistema de retirada de ar (vácuo – TBV) utilizando uma seladora automática (TECMAQ modelo AP – 500). A seguir, os filés foram congelados a  $-30^\circ\text{C}$  (congelador de placas) e armazenados em freezer com controle de temperatura a  $-18^\circ\text{C}$ .

Os filés foram avaliados nos tempos zero, 30, 60, 90, 120 e 180 dias conforme as análises indicadas. Anteriormente à execução das análises, as amostras foram descongeladas em refrigerador à temperatura de  $2 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , durante 12 horas.

## **2.2 Análises de umidade e proteína.**

Foi determinado o teor de umidade de cada amostra (2,0 g) e a diferença foi medida antes e após o aquecimento em estufa durante 24h a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ . O nível total de proteína foi determinado pelo método de Kjeldahl, e os níveis de proteína foram estimados utilizando um fator de conversão de 6,25 (AOAC, 2005).

## **2.3 Análise das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e pH.**

Para determinação da quantidade de ácido tiobarbitúrico (TBA), foi utilizado método da AOAC (2005) com adaptações, por meio de precipitação com ácido tricloroacético, TCA 7,5 %. A determinação do pH foi realizado de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), pela leitura em potenciômetro, utilizando 50g de filé do bijupirá homogeneizado em água destilada, na proporção 1:1.

## **2.4 Análises microbiológicas.**

Foram realizadas análises microbiológicas dos filés para *Staphylococcus* coagulase positiva, Salmonela (Detecção presuntiva), Coliformes termotolerantes (através da técnica do NMP por grama de pescado), psicrófilos e mesófilos, segundo metodologia recomendada por Silva et al., (1997).

## **2.5 Análises instrumentais de Textura e Cor.**

Para a determinação da textura foi utilizado o analisador de textura da marca SMS, modelo TA.XT plus, equipado com uma célula de carga de 10 kg e com uma lâmina de corte tipo guilhotina, que opera a uma velocidade de 40 mm.s<sup>-1</sup> a uma distância de 25 mm. A textura da carne foi avaliada através da medida da resistência ao corte (força de cisalhamento). Os filés foram cortados em cubos, medindo aproximadamente 25x25x20 mm e estes cortados transversalmente na direção das fibras musculares. Obteve-se o parâmetro de força de corte (cisalhamento) em Newton (N). A análise foi realizada em triplicata (Sigurgisladottir et al., 1999).

Para analisar a cor nos filés, os parâmetros L\* (luminosidade), Chroma a\* (vermelho), e b\* (amarelo) foram medidos através de um colorímetro CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta Instrument Systems) (MINOLTA, 2007). As porções cortadas dos filés de bijupirá, com aproximadamente 100 gramas, foram separadas em 3 partes, sendo escolhidos três pontos de diferentes pontos dos filés, para serem analisadas individualmente, correspondendo às porções central, lateral e da ponta.

## **2.6 Análise Estatística**

As avaliações físicas e físico-químicas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias foi feito pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%, usando o software Estatística 7.0 (ZAR, 1996).

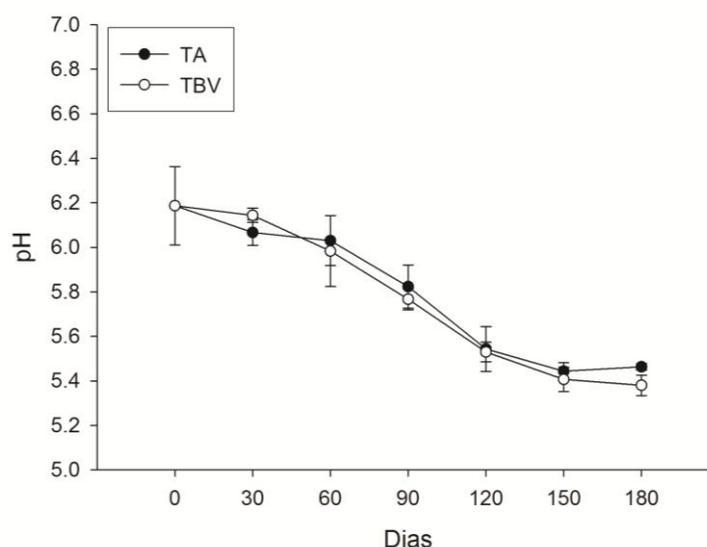
# **3. Resultados e Discussão**

## **3.1 pH e TBA**

Durante o período experimental, os valores de pH diminuíram nos dois modos de embalagem (Figura1). Porém, os valores de pH não foram afetados significativamente ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos apresentando-se estáveis, com

pequenas variações, onde os filés embalados em atmosfera normal com ar (TA) diminuíram de 6,18 a 5,46 e em (TBV) foi registrada diminuição de 6,20 a 5,38 (entre o início e o final do estudo). Apenas após 90 dias de conservação se verificaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no pH dos filés entre as embalagens, quando comparados TA e TBV.

**Figura 1.** . Valores de pH em filés de bijupirá mantidos sob congelamento a  $-18 \pm 2$  °C , onde: “TA” (controle) e “TBV” (à vácuo).

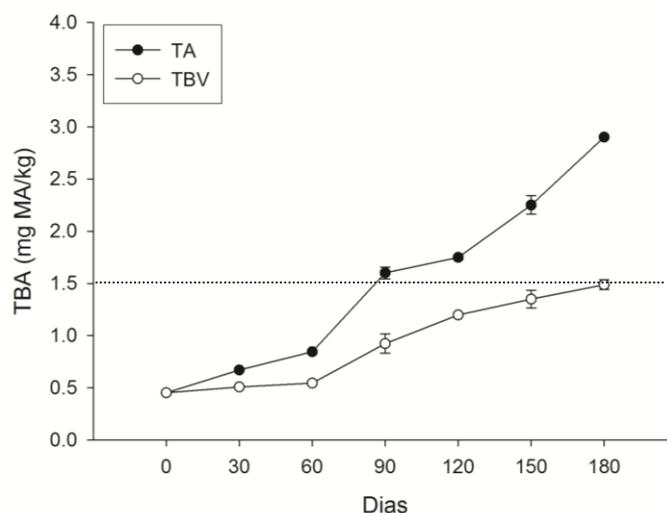


O pH do músculo do pescado foi superior a 6,0 no início do experimento e no momento da sua captura, o que contribui para a sua rápida deterioração (Santos, 2008). O valor inicial de pH medido nos filés de bijupirá foi de 6,20, o que está de acordo com a literatura (Grigorakis et al., 2003) que citam que o valor de pH *post-mortem* deverá estar entre 5,4 e 7,2 no momento da captura, variando conforme a espécie.

As amostras das embalagens TBV foram as que registraram maior alteração de pH. Esta diminuição de pH está de acordo com outros estudos com pescado marinho, peixe-espada preto (Pacheco, 1999) e robalo (Torrieri et al., 2006). Assim como, Masniyom et al., (2005) em mexilhões embalados a vácuo. A degradação do pescado geralmente é acompanhada por um aumento de pH, devido à acumulação de produtos resultantes de degradação autolítica e bacteriana como bases nitrogenadas, principalmente em pescados resfriados (Santos, 2008). Neste trabalho verificou-se que o efeito do vácuo e congelamento evitaram o aumento dos valores de pH, contribuindo para a sua redução. A diminuição de valores de pH poderá estar relacionada com a inibição de crescimento de bactérias nas embalagens a vácuo ou devido à acumulação

de ácido lático, produzido em condições anaeróbias a partir de glicogênio (Masniyom et al., 2005). Phapinyo et al. (2007), sugerem que o efeito tampão das proteínas do músculo e a liberação de aminoácidos resultantes da atividade proteolítica de microrganismos de deterioração aeróbios que pode levar a diminuição de pH. Outro fator que devemos considerar é que neste experimento o pescado foi processado após o período de *rigor mortis*, o pH foi obtido para amostras que já haviam passado por essa etapa, assim o aumento do pH esperado após o período de *rigor mortis* não foi observado, pois permaneceu entre 6,2 a 5,4 durante todo o período de estocagem. Esse fato pode contribuir para aumentar a vida útil dos filés de bijupirá, permitindo que ele permaneça em boas condições de consumo por mais tempo. Resultados semelhantes foram relatados por Rostanzad et al. (2011) em esturjão persa (*Acipenser persicus*) que o pH decresceu depois de 6 meses de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Figura 2.** Valores de TBARS em filés de bijupirá mantidos sob congelamento a  $-18 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , onde: “TA” (controle) e “TBV” (à vácuo).



Os valores de TBA estão apresentados na Figura 2. Foram utilizados como indicador do grau de oxidação lipídica, que quantificam o malonaldeído (mg MA/kg), um dos principais produtos formados durante o processo oxidativo. De acordo com Osawa et al. (2005), o valor de TBA, deve permanecer abaixo de 1,5 mg MA/kg de pescado, geralmente considerado como o limite.

Depois de 30 dias de armazenamento, diferenças significativas foram observadas nos valores TBA entre o tratamento TA e TBV ( $p < 0,05$ ). Os valores das amostras controle aumentaram acentuadamente do terceiro ao sexto mês de armazenamento

provavelmente devido à destruição de peróxidos, especialmente os aldeídos, que se formam em estágios mais avançados da oxidação lipídica (Chaijan et al., 2006).

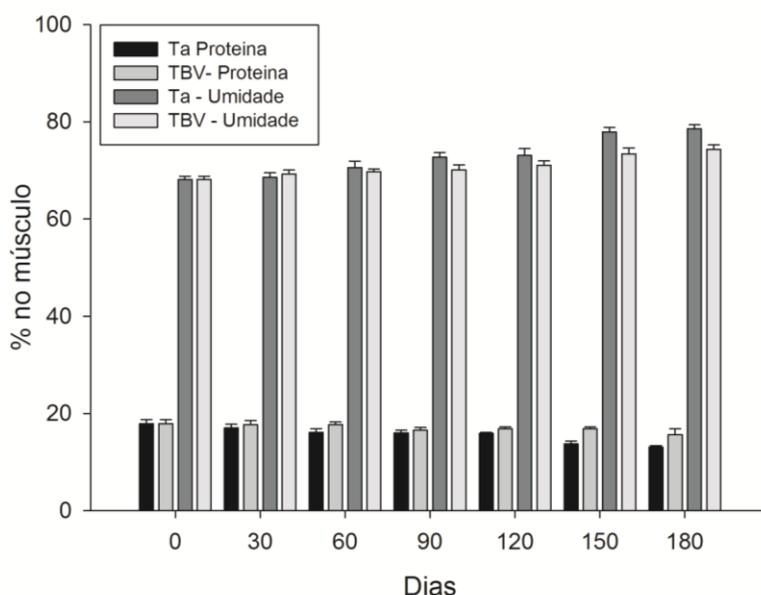
No trabalho em questão, esses valores de TBA foram crescentes ao longo do tempo de armazenamento, e os maiores valores foram obtidos nas embalagens sem o vácuo (TA). Os valores de TBA dos filés do bijupirá do presente estudo excederam o valor de 1,5 mg /kg para amostras controle (TA) a partir de 90 dias, enquanto que o tratamento (TBV) somente no final do tempo de armazenamento, 180 dias. Rostamzad et al., (2011) e Anelich et al., (2001) relataram menores valores de TBA em amostras que foram tratadas por vácuo como tentativa de diminuir a oxidação.

Conforme os resultados da Figura 2, confirmamos o proposto por Sant'ana e Mancini-Filho (2000), que descrevem que somente a diminuição da temperatura não é suficiente para impedir o processo de desenvolvimento da oxidação lipídica, que ocorre mesmo durante a estocagem de pescados congelados, pois o armazenamento em temperaturas bastante reduzidas não paralisa as reações oxidativas. Os resultados demonstraram que o uso do vácuo teve influência positiva sobre o retardo da oxidação lipídica e aumento da vida de prateleira de filés de bijupirá.

### **3.2 Análise de Umidade e Proteína**

As mudanças nos valores de umidade e proteínas no musculo dos filés de bijupirá armazenados a -18 ° C são apresentados na Figura3.

**Figura 3.** Valores do percentual de umidade e proteína em filés de bijupirá mantidos sob congelamento a  $-18 \pm 2$  °C, onde: “TA” (controle) e “TBV” (à vácuo).



Todas as amostras apresentaram um aumento do valor de umidade, mas a partir de 90 dias que apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ). Em relação às proteínas essas diferenças ocorreram após 120 dias ( $p < 0,05$ ).

Os valores de umidade do tratamento TBV foram significativamente inferiores a partir de 90 dias de armazenamento. Durante o armazenamento congelado de pescados, a oxidação lipídica tem mostrado contribuir para a desnaturação de proteína, além de mudanças na textura e umidade ( Pourashour et al., 2009).

Estudando o bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) Kristoffersen et al. (2006) verificaram que a perda de água de 11,1%, observada na fase pós-rigor não apresentou aumento da perda de água quando o pH era baixo, menor que 6,0, existindo assim a influencia do pH da fase pré-rigor. O conhecimento das propriedades funcionais da carne do bijupirá é importante porque alterações têm influencia na utilização e processamento de produtos onde as proteínas têm grande importância.

Uma das consequências da desnaturação da proteína tem sido associada à umidade no músculo do pescado, esta capacidade de retenção de água no tecido está fortemente relacionada com as proteínas miofibrilares. Portanto, um aumento da umidade pode ser um sinal da redução da capacidade de retenção de água, devido à desnaturação das proteínas (Suvanich et al., 2000). Este fenômeno leva a redução de agentes de sabor e valor nutricional (Rostamzad et al., 2011).

### 3.3 Análises de Cor e Textura

Na Tabela 1, apresenta-se os resultados dos valores de textura (dureza) e a evolução de cor para os filés de bijupirá embalados em função do tempo. A variação da textura dos filés ao longo do tempo foi significativa ( $p < 0,05$ ). Os valores das amostras em TA e TBV decresceram de 6,85N até 2,9 e 4,27N, respectivamente.

**Tabela 1.** Parâmetros de cor e textura (dureza) em função do tempo para amostras de bijupirá congelado. Os resultados são expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

Tempo (Dias)	Tratamento	Cor			Textura
		L*	a*	b*	
0	TA	62,09 $\pm$ 0,73	0,68 $\pm$ 0,15	1,04 $\pm$ 0,29	6,85 $\pm$ 0,51
	TBV	62,09 $\pm$ 0,73	0,68 $\pm$ 0,15	1,04 $\pm$ 0,29	6,85 $\pm$ 0,51
30	TA	63,06 $\pm$ 1,23	2,68 $\pm$ 0,66	1,51 $\pm$ 0,20	6,79 $\pm$ 0,61
	TBV	63,23 $\pm$ 0,72	0,35 $\pm$ 0,26	1,48 $\pm$ 0,15	6,88 $\pm$ 0,78
60	TA	63,35 $\pm$ 0,87	3,15 $\pm$ 0,32	1,85 $\pm$ 0,69	5,72 $\pm$ 1,20
	TBV	65,20 $\pm$ 0,63	0,29 $\pm$ 0,03	1,78 $\pm$ 0,26	5,92 $\pm$ 0,63
90	TA	64,78 $\pm$ 0,44	3,65 $\pm$ 0,75	2,93 $\pm$ 0,40	4,32 $\pm$ 0,15
	TBV	67,16 $\pm$ 0,44	0,95 $\pm$ 0,23	1,78 $\pm$ 0,58	5,37 $\pm$ 0,42
120	TA	65,04 $\pm$ 1,21	2,48 $\pm$ 0,20	3,35 $\pm$ 0,43	3,22 $\pm$ 0,26
	TBV	67,56 $\pm$ 0,23	0,93 $\pm$ 0,41	2,23 $\pm$ 0,17	4,79 $\pm$ 0,39
150	TA	65,92 $\pm$ 0,62	3,11 $\pm$ 0,94	3,86 $\pm$ 0,61	3,27 $\pm$ 0,24
	TBV	68,08 $\pm$ 0,51	1,20 $\pm$ 0,55	2,77 $\pm$ 0,42	4,48 $\pm$ 0,21
180	TA	66,64 $\pm$ 0,21	3,67 $\pm$ 1,05	5,32 $\pm$ 0,70	2,90 $\pm$ 0,13
	TBV	69,71 $\pm$ 0,71	1,52 $\pm$ 0,53	2,92 $\pm$ 0,15	4,27 $\pm$ 0,27

Os valores de resistência ao corte em TBV aumentaram a partir de 30 dias (6,88 N) diminuindo os seus valores após este dia e até ao final do teste. Neste estudo, houve um decréscimo acentuado na dureza após 60 dias de estocagem, o que indica o efeito do congelamento na textura em relação ao pescado fresco. Segundo Casas et al. (2006), essas alterações podem ocorrer, pois deve-se considerar a porção do filé de onde a amostra é retirada e o método utilizado para análise. Este resultado é ainda confirmado por estudos semelhantes em filés garoupa (Siah et al., 2007) cujos valores de dureza tendem a diminuir. A diminuição de valores de dureza é influenciada, sobretudo, pela autólise e desnaturação das proteínas presentes no músculo, durante o tempo de

armazenamento sob congelamento (Liu et al., 2010). Logo, a textura é característica muito importante para avaliação da qualidade dos alimentos em geral e do pescado em particular. Esta característica sofre alterações ao longo do tempo devido às reações de degradação autolítica e deterioração microbiológicas (Santos, 2008), que ocorrerão por influência do abate, da alimentação e da condição bioquímica das espécies como fatores que remetem a valores diferenciados nos parâmetros medidos (Roth et al., 2006; Kristoffersen et al., 2006).

A Tabela 1 apresenta os parâmetros de cor, as amostras embaladas em TA e TBV apresentam valores de  $L^*$  com tendência a aumentarem, o que significa que as amostras tenderam a aumentar a sua luminosidade, a perder cor.

A porcentagem da hemoglobina presente nestas porções musculares é a principal responsável pela luminosidade do peixe. Quanto maior essa porcentagem, mais escura será a carne do pescado (Santos, 2008; Torrieri et al., 2006). A luz refletida por estas proteínas insolúveis faz com que a carne dos filés pareça mais branca e mais opaca (Santos, 2008). Como os valores de pH decresceram, há favorecimento da alteração de conformação dos pigmentos respiratórios metamioglobina. Essas alterações podem afetar os pigmentos de mioglobina e hemoglobina, através de formação de metamioglobina e metahemoglobina tornando a coloração menos avermelhada e mais amarelada (Sarmiento, 2006), podendo ser evidenciado quando observamos os valores  $b^*$  no presente estudo.

Para as amostras embaladas em TA obtiveram-se valores elevados de  $a^*$ , o que significa que parece existir uma tendência para a amostra se tornar mais próxima do vermelho, mas esses valores de  $a^*$  tenderem a decrescer com 120 dias, ao contrário das amostras em TBV.

As amostras TA e TBV apresentaram os seus valores de  $b^*$  com tendência a aumentar, o que significa que estão apresentando tons mais amarelados. As alterações observadas em  $a^*$  e em  $b^*$  neste estudo estão de acordo com as descritas em outras pesquisas, como o trabalho com embalagens a vácuo em peixe-prego (Santos, 2008). Torrieri et al. (2006) em estudo da influência de embalagens a vácuo na vida-útil do robalo (*Dicentrarchus labrax*), os parâmetros  $a^*$  diminuiram e os valores do parâmetro  $b^*$  aumentaram durante o tempo de armazenamento, semelhantes ao estudo em questão. A cor é um atributo que sofre grandes alterações durante a degradação do pescado, portanto poderá ser influenciada por uma embalagem a vácuo, principalmente em

temperaturas de refrigeração ou em pescados congelados por períodos mais longos (Poli et al., 2006).

### 3.4 Análises Microbiológicas

A Tabela 2 apresenta as contagens de microrganismos em filés de bijupirá. Esta avaliação no fil considerou a ação do frio nos microrganismos. Dessa maneira, esta análise foi realizada como controle do processo de estocagem a frio, a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 180 dias. Observando-se os dados apresentados na Tabela 2, verificamos que o número de microrganismos manteve-se dentro dos limites ou padrões normais para pescado marinho de  $10^6$  a  $10^7$ (UFC/g) (ICMSF, 1986).

**Tabela 2.** Contagem de microrganismos em filés de bijupirá estocados a  $-18^{\circ}\text{C}$  por 180 dias.

Tempo (Dias)	Tratamento	Contagem (UFC/g)			<i>Salmonella sp</i>
		Mesófilos	Psicrotrofos	Coliformes (NMP/g)	
0	TA	$3,9 \times 10^2$	$3,8 \times 10^2$	<0,3	Ausência
	TBV	$2,7 \times 10^2$	$3,6 \times 10^2$	<0,3	Ausência
30	TA	$1,1 \times 10^3$	$1,5 \times 10^5$	<0,3	Ausência
	TBV	$2,6 \times 10$	$1,0 \times 10^3$	<0,3	Ausência
60	TA	$4,6 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	<0,3	Ausência
	TBV	$2,8 \times 10^2$	$7,5 \times 10^2$	<0,3	Ausência
90	TA	$6,2 \times 10^2$	$2,1 \times 10^5$	<0,3	Ausência
	TBV	$2,5 \times 10^2$	$6,0 \times 10^3$	<0,3	Ausência
120	TA	$1,0 \times 10^3$	$3,2 \times 10^6$	<0,3	Ausência
	TBV	$1,5 \times 10^2$	$8,2 \times 10^3$	<0,3	Ausência
150	TA	$5,3 \times 10^2$	$2,5 \times 10^5$	<0,3	Ausência
	TBV	$2,5 \times 10$	$4,5 \times 10^3$	<0,3	Ausência
180	TA	$6,3 \times 10^3$	$1,5 \times 10^7$	<0,3	Ausência
	TBV	$1,5 \times 10^3$	$5,5 \times 10^3$	<0,3	Ausência

Nas embalagens em TBV verificou-se um menor aumento do número de microrganismos mesófilos, que no caso dessas embalagens poderão estar relacionado com a ausência de oxigênio que funciona como fator inibitório para o desenvolvimento de microrganismos. Em relação aos microrganismos psicrotóxicos observou-se crescimento nos dois grupos de embalagens estudadas. Este resultados estão de acordo com outros estudos (Alak et al., 2010; Hudecová et al., 2010) que verificaram que os valores de microrganismos psicrotóxicos tendem a aumentar em função do tempo decorrido. Em amostras de bonito embaladas com atmosfera modificada, Alak et al.

(2010) obtiveram menores valores para amostras embaladas a vácuo do que para aquelas em atmosfera normal.

No entanto, a magnitude do efeito depende da população bacteriana inicial, da manipulação e do material de embalagem utilizados. Soccol et al. (2005) comparando o efeito da EAM na conservação de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), concluíram que o vácuo obteve melhor desempenho em relação ao ar.

Não foi detectada presença de *Salmonella* spp. (ausência em 25 g) em nenhum dos tratamentos. Para *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes o resultado foi inferior a 3 UFC/g em todos os tratamentos e tempos de armazenamento, de acordo com Compêndio de Normas e Padrões para Alimentos (BRASIL, 2002), o que mostra principalmente que as condições de manuseio foram adequadas e que contribuíram para prolongar a vida útil dos filés congelados.

#### **4. Conclusão**

Tomando em consideração todos os parâmetros de qualidade estudados neste trabalho, foi verificado que as determinações de pH não foram bons índices de avaliação da qualidade do bijupirá congelado, porém a textura instrumental, cor, TBA e as contagens microbiológicas foram bons parâmetros indicadores da qualidade do pescado. De acordo com os resultados, as amostras de embalagem sob condições de vácuo, foram satisfatórias para a redução da oxidação lipídica de filés de bijupirá congelados, preservando sua cor e reduzindo as alterações na textura. Conclui-se que os filés de bijupirá provenientes de piscicultura embalados sem o uso do vácuo têm um prazo de validade de até 90 dias, enquanto que com o uso do vácuo a sua vida útil para consumo pode chegar a 180 dias sob temperatura de congelamento.

#### **5. Referências**

ABABOUCHE L. Fisheries and Aquaculture topics. Composition of fish. Topics Fact Sheets. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome: FAO; 2005.

ALAK, G., HISAR, S. A., HISAR, O., KABAN, G. E KAYA, M. 2010. Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified

Atmosphere and Vacuum. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, Turkey, Vol. 16 (Suppl – A), S73 – S80.

AOAC. (2005). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists. (18<sup>th</sup> ed.) Gaithersburg, MD: Author.

ARO,T.L; LARMO, P.S; BACKMAN, C.H; KALLIO, H.P; TAHVONEN RL. 2005. Fatty acids and fat soluble vitamins in salted herring (*Clupea harengus*) products. J Agricult Food Chem.;53(5):1482-1488.

AUBOURG, S.R; RODRIGUEZ, A; GALLARDO, J.M. 2005. Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): effect of catching season and commercial presentation. Eur J Lipid Sci Technol. 107(5):316-323.

ANELICH, L.E., L.C. HOFFMAN AND M.J. SWANPOEL, 2001. The influence of packaging methodology on the microbiological and fatty acid profiles of refrigerated African catfish fillets. Journal of Applied Microbiology, 91: 22-28.

BENETTI, D.D., ORHUN, M.R., SARDENBERG, B., HANLON, B.O., WELCH, A., HOENIG, R., ZINK, I., RIVERA, J.A., DENLINGER, B., BACCOAT, D., PALMER, K. ;CAVALIN F.(2008). Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). Aquaculture Research. 39, 701-711.

BRASIL. 2002. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA. Pescados e derivados, Cap.7, seção 1. Brasília.

CASAS, C.; MARTINEZ, O.; GUILLEN, M.D.; PIN, C.; SALMERON, J. 2006. Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods. Food Control 17(7):511-515.

CHAIJAN, M., S. BENJAKUL, W. VISESSANGUAN AND C. FAUSTMAN, 2006. Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage Food Chemistry, 99: 83-91.

FAULK, C.K.; HOLT, G.J. (2005). Advances in rearing cobia (*Rachycentron canadum*) larvae in recirculation aquaculture systems: Live prey enrichment and green water culture. Aquaculture, 249, 231-243.

FAULK, C.K., KAISER, J. & HOLT, G.J. 2007. Growth and survival of larval and juvenile cobia *Rachycentron canadum* in a recirculating raceway system. Aquaculture, 270, 149 – 157.

- GRIGORAKIS, K., TAYLOR, K. D. A. E ALEXIS, M. N. 2003. Seasonal Patterns of Spoilage of Ice-stored Cultured Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*). Food Chemistry, Vol. 81, 263 – 268.
- HALLIER, A.; CHEVALLIER, S.; SEROT, T.; PROST, C. 2007. Influence of farming conditions on colour and texture of European catfish (*Silurus glanis*) flesh. Journal of the Science of Food and Agriculture 87(5):814-823.
- HUDECOVÁ, K. BUCHTOVÁ, H. E STEINHAUSEROVÁ, I. 2010. The Effects of Modified Atmosphere Packaging on the Microbiological Properties of Fresh Common Carp (*Cyprinus carpio L.*). Acta Veterinaria Brno, Vol. 79, 93 – 100.
- ICMSF. 1986. *International Commission On Microbiological Specifications For Foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*. 2nd ed. London: Blackwell Scientific Publications.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p. Versão eletrônica.
- JESUS, R.S. 1999. Estabilidade de “minced fish” de peixes amazônicos durante o congelamento. São Paulo: Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo. 105 p.
- KRISTOFFERSEN, S.; TOBIASSEN, T.; STEINSUND, V.; OLSEN, R. L. 2006. Slaughter stress, postmortem muscle pH and rigor development in farmed atlantic cod (*Gadus morhua*). International Journal of Food Science and Technology, Oxford, v. 41, n. 7, p. 861-864.
- LIAO, I.C., HUANG, T.S., TSAI, W.S., HSUEH, C.M., CHANG, S.L. & LEANO, E.M. 2004. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. Aquaculture, 237, 155 – 165.
- MACH, T.N.D.; NORTVEDT, R. 2013. Fillet composition and initial estimation of shelf life of cobia (*Rachycentron canadum*) fed raw fish and fish silage moist diets. Aquaculture Nutrition..
- MASNIYOM, P., BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. 2005. Collagen Changes in Refrigerated Sea Bass Muscle Treated with Pyrophosphate and Stored in Modified-atmosphere Packaging. European Food Research Technology, Vol. 220, 322 – 325.
- MINOLTA. 2007. Chroma meter CR-400/410 Instruction manual. Osaka (Japan).

- OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G. .2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova* 28(4):655-663.
- PACHECO, M. H. M. 1999. Peixe-espada Preto: Caracterização Nutricional e Conservação em Atmosferas Modificadas. Dissertação de Tese de Mestrado, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Porto.
- PHAPINYO, N., CHAOWALIT, T., TANPIPATTANAKUL, A., SOOKNET, K., KUMTHONG, A., WORAWATTANAMATEEKUL, W. E SMITH, J. P. (2007). Shelf-life of Refrigerated Soft Shell Mud Crab (*Scylla serrata Forskal*) by Ozone Water and Storage under Air and Modified Atmosphere Packaging. *Kasetsart Journal (National Science)* Vol. 41, 539 – 547.
- POLI, B.M. MESSINI, A.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; VIGIANI, V.; GIORGI, G.; VICENZINI, M. 2006. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air or prepared from whole fish stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*. v.41, p.444-454.
- POURASHOURI, P., B. SHABANPOUR, S.P. AUBOURG, G. ROHI AND A. SHABANI, (2009) An investigation of rancidity inhibition during frozen storage of wells catfish (*Silurus glanis*) fillets by previous ascorbic and citric acid treatment. *Journal of Food Science and Technology*, 44: 1503-1509.
- ROMARHEIM, O.H., ZHANG, C., PENN, C.Z., LIU, Y.J., TIAN, L.X., SKREDE, A.,KROGDAHL, Å. ; STOREBAKKEN, T. 2008. Growth and intestinal morphology in cobia (*Rachycentron canadum*) fed extruded diets with two types of soybean meal partly replacing fish meal. *Aquaculture Nutrition*. 14, 174 – 180.
- ROTH, B.; SLINDE, E.; ARILDSEN, J. 2006. Pre or post mortem muscle activity in atlantic salmon (*Salmo salar*): the effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. *Aquaculture*, Oxford, v. 257, n. 1-4, p. 504-510.
- ROSTAMZAD, H., B. SHABANPOUR, A. SHABANI AND H. SHAHIRI, (2011). Enhancement of the storage quality of frozen Persian sturgeon fillets by using of ascorbic acid. *International Food Research Journal*, 18: 109-116.
- SANTOS, J. M. S.2008. Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da Qualidade Física, Química e Microbiológica. Dissertação, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.
- SANT'ANA L.S.; MANCINFILHO, J. 2000. Influence of the addition of antioxidants in vivo on the fatty acid composition of fish fillets. *Food Chemistry*, v.68, p.175-178.

- SARTORI, A. G. O; AMANCIO, R.D. 2012. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. *Segurança Alimentar e Nutricional*, Campinas, 19(2): 83-93.
- SARMIENTO, A. M. L. 2006. Características Microbiológicas, Físico-químicas e Sensoriais de Filés de Tilápias (*Oreochromis niloticus*) Conservados em Atmosferas Modificadas sob Refrigeração. Pós-graduação em Ciências e Tecnologias de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- SIAH, W.M; ARIFF, W.M. 2007. Shelf-life of modified atmosphere packaged fresh grouper (*Epinephelus sp.*) fillets. *Asian Fisheries Science Society*. Vol. 20, 359-368.
- SIGURGISLADOTTIR, S.; HAFSTEINSSON, H.; JONSSON, A.; LIE, O.; NORTVEDT, R.; THOMASSEN, M.; TORRISSEN, O. 1999. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. *Journal of Food Science* 64 (1):99-104.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N.F. A. 1997. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. São Paulo: Livraria Varela.
- SHAROOZ, A; MOTALLEBI, A. 2012. Influence of vacuum packaging long term on some quality parameters of Cobia (*Rachycentrum canadum*) fillets during frozen storage. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 12 (4): 541-547.
- SOCCOL, M.C.H.; OETTERER, M.; GALLO, C.R.; SPOTO, M.H.F.; BIATO, D.O. 2005. Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. *Brazilian Journal of Food Technology*. v.8, n.1, p.7-15.
- SUVANICH, V., M. JAHNCKE AND D. MARSHALL, 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of Food Science*, 65: 24-29.
- TAHERI .S; MOTALLEBI .A.A. 2012. Influence of vacuum packaging and longterm storage on some quality parameters of cobia (*Rachycentroncanadum*) fillets during frozen storage. *American-Eurasian J. Agric. & Environ Sci.* 12(4):541-547.
- TORRIERI, E., CAVELLA, S., VILLANI, F. E MASI, P. 2006. Influence of Modified Atmosphere Packaging on the Chilled Shelf-life of Guttated Farmed Bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Food Engineering*, Vol. 77, 1078 – 1086.

WEBB, JR. K.A.; HITZFELDER, G.M., FAULK, C.K. &HOLT, G.J. 2007. Growth of juvenile cobia, *Rachycentroncanadum*, at three different densities in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, 264, 223 – 227.

WEBER, J. 2007. Estabilidade lipídica de filés de jundiá (*Rhamdia quelen*). 81p. Dissertação (Mestrado - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

ZAR, J.H. 1996. **Biostatistical Analysis**. 3a. ed., Prentice Hall, 662p

## **Capítulo 5.**

**Efeito de filmes nanocompósitos de isolado protéico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e nanoargilas sobre a qualidade de filés de bijupirá (*Rachycentron canadum*) refrigerados**

### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de filmes nanocompósitos de isolado protéico de corvina (*Micropogonias furnieri*) com argila organofílica sobre a qualidade dos filés de bijupirá (*Rachycentron canadum*) mantidos sob refrigeração. Inicialmente, foi obtido o isolado protéico de corvina (IPC) utilizando-se o processo variação de pH, a partir de subprodutos da industrialização de corvina. Os filmes biopoliméricos foram desenvolvidos pela técnica de *casting*. Foram testados três tipos de filmes, dois industriais e um preparado a base de IPC: TA (embalagem de etileno-álcool-vinílico - EVOH), TB (filme de policloreto de vinil - PVC), e TC (filme a base de IPC). As amostras embaladas foram mantidas sob refrigeração, na faixa de  $2 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , submetidas à análise nos tempos zero, 1, 7, 14, 21 e 30 dias de armazenamento refrigerado em estufa climatizada. Foram realizadas análises de pH, N-BVT, estabilidade lipídica e microbiológica. As menores médias de pH foi 6,30, de TBA 1,20 mgMA/kg e N-BVT 10,6 mg/100g observadas na embalagem TC. Do mesmo modo, o crescimento mais baixo de aeróbios mesófilos, *Staphilococcus* spp. e aeróbios psicrófilos foi registado nos filés que foram embalados com filme TC, e inferiores aos tratamentos TA e TB durante todo o julgamento. Como resultado, concluí-se que a utilização de filmes a base de IPC como revestimento de filés de bijupirá foi conveniente para a conservação de pescado, em comparação com os filmes comerciais.

**Palavras – chave:** Qualidade, filmes, vida-útil, bijupirá, isolado proteico

## ABSTRACT

### **Effect of films nanocomposite of protein isolated from *Micropogonias furnieri* and nanoclays on the quality of chilled cobia fillets (*Rachycentron canadum*).**

The objective of this study was to evaluate the effect of biofilm nanocomposite of protein isolate from *Micropogonias furnieri* with organoclay on the quality of cobia fillets (*Rachycentron canadum*) kept under refrigeration. The isolate protein (IP) was obtained using the pH change process from sub-products of *Micropogonias furnieri* industrialization. The polymeric films were developed by *casting* technique. Three types of films, two industrial and one prepared with IP were tested: TA (ethylene-vinyl alcohol film - EVOH) TB (polyvinylchloride film - PVC) and TC (IP film). The packed samples were kept under refrigeration in a range of  $2 \pm 1$  °C and were subjected to analysis at time zero, 1, 7, 14, 21 and 30 days of refrigeration under controlled conditions. Analysis of pH, N-BVT, lipid stability (TBA) and microbiologia were performed. The lower average of pH (6.30), TBA (1.20 mg MA/kg) and N-BVT (10.6 mg/100g) were observed in TC packaging, as well as the lower growth of aerobic mesophilic and psychrophilic bacterial. As a result, we concluded that the use of IP films is more convenient for the preservation of cobia fillets than the commercial films and more environmentally correct.

**Keywords:** Quality, films, shelf-life, cobia, protein isolate.

## **1. Introdução**

O interesse do cultivo do bijupirá (*Rachycentron canadum*) aumenta em virtude das vantagens desta espécie perante outras já cultivadas, sendo inclusive considerado tão ou mais importante que o salmão (*Salmo salar*). O bijupirá tem alta taxa de crescimento, em torno de 4 vezes mais rápido que o salmão, e ganho de massa, alcançando até 6 kg no primeiro ano de cultivo (Benetti et al., 2008; Cavalli e Hamilton, 2009). O aumento na busca por alimentos de origem marinha, principalmente pescado, tem provocado a elevação da quantidade de resíduos, geralmente descartados sem qualquer tipo de aproveitamento (Arnesen e Gildberg, 2007). Poucos dados a respeito

do processamento de bijupirá têm sido relatados, inclusive alternativas para o aproveitamento desses resíduos. Os mais recentes avanços tecnológicos, com posterior industrialização, trouxeram enorme desenvolvimento à economia baseada na aquicultura e pesca, e concomitantemente a quantidade de resíduos gerados no processamento também aumentou (Jayathilakan et al., 2012). Neste contexto, tem-se observado uma intensificação dos estudos voltados à utilização dos subprodutos de pescado para o aproveitamento do conteúdo proteico de maneira mais eficaz, o que torna o estudo da obtenção de isolados protéicos relevante.

Uma estratégia interessante para a indústria aquícola, na redução de resíduos, é a recuperação de determinados nutrientes, comercializáveis na forma de subprodutos a partir destes resíduos, que são geralmente utilizados para alimentação de peixes produção de fertilizantes orgânicos e fabricação de farinha (Arvanitoyannis e Kassavetti, 2008). No entanto, é possível aperfeiçoar as receitas ao se utilizar os resíduos de pescados para extração de isolados protéicos e filmes biodegradáveis para agregar maior valor comercial aos produtos pesqueiros (Wang et al., 2008, Cortez-Vega et al., 2013; Seibel e Souza-Soares, 2003).

A conservação de pescado processado exige, normalmente, tratamento físico ou químico para manter ou aumentar sua vida útil. A utilização de embalagens é imprescindível, visto que ela age como uma barreira entre o meio externo e o alimento, sem afeta-lo. A maioria das embalagens utilizadas são de filmes industriais, ou seja, matérias sintéticas não biodegradáveis que podem vir a agredir o meio ambiente (Santos e Oliveira, 2012). Uma solução para o problema ambiental seria o desenvolvimento de filmes a partir de matérias renováveis que possam substituir esses sintéticos, como a utilização de proteínas provenientes de resíduos de pescados (Cortez-Vega et al., 2013). As proteínas de pescado apresentam propriedades que são vantajosas no preparo de biofilmes, tais como habilidade para formar redes, plasticidade e elasticidade, apresentando boa barreira ao oxigênio; entretanto, sua barreira ao vapor de água é baixa em função da sua natureza hidrofílica. Estas propriedades podem ser melhoradas aplicando-se nanotecnologia, incluindo materiais, como as nanoargilas, exemplo da montmorilonita, que é um dos minerais argilosos mais abundantes e pesquisados, e argilas organofílicas, estas partículas de tamanho nanométrico, poderiam melhorar as propriedades mecânicas, de barreira a gases e à umidade, térmicas, ópticas e

transparência, quando comparadas com compostos poliméricos convencionais (Paiva et al., 2006; Rhim e Ng, 2007).

O isolamento de proteína é basicamente, um processo de extração que visa obter um produto livre de interferentes, mais concentrado, o qual, por isso tem outras propriedades e características de conservação e uso (Freitas, 2011). A preparação de concentrados ou isolados proteicos provenientes de subprodutos da indústria processadora de pescado, obtidos pela aplicação do processo de variação de pH (ou *pH shifting process*) tem recebido mais atenção nestes últimos anos (Fontana et al., 2009; Cortez-Vega et al., 2013). Este processo pode ser usado para qualquer espécie de pescado, com o objetivo de remover lipídio e aumentar o rendimento proteico do produto.

Os filmes biopoliméricos devem cumprir uma série de requisitos funcionais específicos e sua utilização deve-se principalmente ao seu baixo custo e às suas propriedades mecânicas. Estas propriedades são dependentes do material do isolado protéico utilizado, uso ou não de agente plastificante e, especialmente, das suas características estruturais. Seu uso em embalagem dos alimentos, protege, aumenta a sua vida útil e é considerada uma alternativa ambientalmente correta, pois reduz a exigência de utilização de plásticos, como materiais de embalagem (Moraru et al., 2003; Sorrentino et al., 2007; Sozer e Kokini, 2009).

Visto ao exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade do filé de bijupirá embalado com filmes nanocompósitos com montmorilonita a partir do isolado protéico de corvina.

## **2. Matérias e Métodos**

### **2.1 Matéria-prima e descrição do processo de obtenção do isolado proteico.**

A matéria-prima utilizada para obtenção dos filmes foi carne mecanicamente separada (CMS) proveniente dos subprodutos do processamento da corvina. O isolado protéico foi obtido utilizando processo de variação de pH (ou *pH shifting process*) (Nolsoe e Underland, 2009; Freitas, 2011) para solubilizar e isolar a proteína. A CMS foi homogeneizada com água destilada na proporção 1:9 (p:v) a 4 °C durante 60 segundos com agitador eixo-hélice (IKA, modelo RW 20DZM.n). Após a etapa de

homogeneização foi realizado o processo de solubilização alcalina da proteína. Foi empregado, como agente alcalinizante o hidróxido de sódio 1 N, o pH de solubilização foi de 11,2 à temperatura constante de 4 °C, controlada através de banho ultratermostático (QUIMIS, modelo 214 D2) durante 20 minutos sob agitação constante com agitador eixo-hélice (IKA, modelo RW 20DZM.n).

Após esta etapa foi realizada uma primeira centrifugação (SIGMA, modelo 6-15) que foi realizada a 9000x g por 20 minutos com o intuito de separar três fases: lipídios, proteínas solúveis e proteínas insolúveis, facilitando a retirada do sobrenadante.

A fase intermediária da centrifugação, correspondente às proteínas solúveis, foi submetida à precipitação isoelétrica no pH 5,2 a 4 °C sob agitação constante com agitador eixo-hélice (IKA, modelo RW 20DZM.n) durante 20 minutos. Logo foi realizada uma centrifugação (SIGMA, modelo 6-15) a 9000x g por 20 minutos para separar a fração insolúvel da solúvel, facilitando a coleta do precipitado, denominado de concentrado protéico.

O isolado protéico úmido de corvina foi submetido à liofilização onde as amostras foram mantidas inicialmente em ultra freezer (Indrel Ultra Freezer, IULT 90-D, -86 °C) à temperatura de -70 °C/24 horas, e logo liofilizadas (LIOBRAS, modelo L108) por 48 horas. Após a liofilização foi realizada a trituração no qual foi utilizado um triturador doméstico de facas duplas (Arno, modelo PL). O isolado protéico (IPC) foi armazenado em freezer com temperatura de -20 °C.

## **2.2 Preparação do filme**

A argila organofílica utilizada foi a MMT (Montmorilonita K10, Sigma-Aldrich) com tamanho de partícula de 100 nm. O plastificante utilizado foi o glicerol (Vetec, Química Fina). Os filmes poliméricos foram preparados pela técnica de *casting*, em que cada solução filmogênica (100 mL), inicialmente foi preparada de uma dispersão de isolado protéico (IPC) em água destilada. Esta dispersão aquosa foi mantida com agitação suave e constante por 20 minutos com agitador eixo-hélice (IKA, modelo RW 20 DZM.n) a 30 °C em banho ultratermostático (QUIMIS, modelo 214 D2), para hidratação do IPC. Posteriormente à hidratação, ajustou-se o pH da dispersão para 11,2 com adição de NaOH 1N (Merck) utilizando-se pHmetro de bancada (Marconi modelo

PA 200) e mantendo-se agitação constante por mais 10 minutos. Em seguida, foi adicionada a MMT e a temperatura foi elevada a 80 °C. Após a completa dissolução do IPC e da MMT, adicionou-se o glicerol previamente solubilizado em água destilada na temperatura da solução filmogênica (80°C), mantendo-se o pH em 11,2. Posteriormente, a solução filmogênica foi colocada em homogeneizador (Ultra-turrax IKA modelo T25) por 2 minutos; em seguida, foi espalhada em placas de Petri com diâmetro de 15 cm e submetida à secagem em estufa com circulação de ar (QUIMIS 314D 242) a 40°C ±1 °C por 12 horas. Após a secagem, os filmes nanocompósitos foram armazenados por 48h em dessecadores mantidos a 25°C ± 2°C e umidade relativa de 55% ± 2%.

### **2.3 Obtenção e preparo das amostras de pescado**

Foram utilizados 5 espécimes de bijupirá de aproximadamente 2,0±0,5 Kg provenientes de piscicultura intensiva (tanque-redes, *sistema near-shore*) do município de Ubatuba - SP, região Sudeste do Brasil. Os animais foram criados desde a fase juvenil com ração artificial seca extrusada, com 40% de proteína e suplementados com rejeitos da pesca. Os peixes foram capturados por meio de rede de despesca e abatidos por hipotermia (água/gelo) a 2 ± 1°C.

O preparo das amostras se deu por lavagem com água, seguida de filetagem (com retirada da pele) e lavagens adicionais com soluções de 3% de cloreto de sódio, para remover resíduos de sangue e impurezas e de 0,3% de hipoclorito de sódio, para redução microbiana. Os filés foram rapidamente imersos em solução de 10% de cloreto de sódio, drenados por 2 minutos em escurredores, pesados (balança Filizola) em porções de aproximadamente 100g ± 10g.

### **2.4 Embalagem**

As porções de filés foram embaladas individualmente em triplicada com três tipos de filmes: TA (EVOH) embalagens flexíveis multicamadas de alta barreira a gases, produzidas à base de copolímero de etileno e álcool vinílico; TB (PVC), embalagem comercial de Policloreto de vinila; TC (IPC) filmes à base de isolado proteico de corvina. Foi utilizado uma seladora automática, da marca TECMAQ, modelo AP - 450. As embalagens foram submetidas à refrigeração, à temperatura de 2±1°C e armazenados em estufa refrigerada (Incubadora B.O.D MA 415/S, MARCONI).

## **2.5 Avaliação dos filés embalados**

Os filés embalados e armazenados ( $2 \pm 1^\circ\text{C}$ ), foram avaliados nos tempos zero, 1, 7, 14, 21 e 30 dias conforme as análises indicadas.

## **2.6 Bases voláteis totais (N-BVT), substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e pH**

Nitrogênio total de base volátil (N-BVT) foi determinado por precipitação da proteína com ácido tricloroacético (TCA 7,5 %) utilizando o método de extração de micro Kjeldhal de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). Para determinação da quantidade de ácido tiobarbitúrico (TBA), foi utilizado método da AOAC (2005) com adaptações, por meio de precipitação com ácido tricloroacético, TCA 7,5 %. A determinação do pH foi realizado de acordo com as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), pela leitura em potenciômetro, utilizando 50g de filé do bijupirá homogeneizado em água destilada, na proporção 1:1.

## **2.8 Análises Microbiológicas**

Segundo metodologias recomendadas por Silva et al. (1997), foram realizadas análises microbiológicas para *Staphylococcus* coagulase positiva, salmonela (Detecção presuntiva), coliformes termotolerantes (número mais provável-NMP/g), psicrófilos e mesófilos.

## **2.9 Análise Estatística**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias foi feito pelo teste de Tukey com nível de significância de 5%, usando o software Estatística 7.0 (ZAR, 1996).

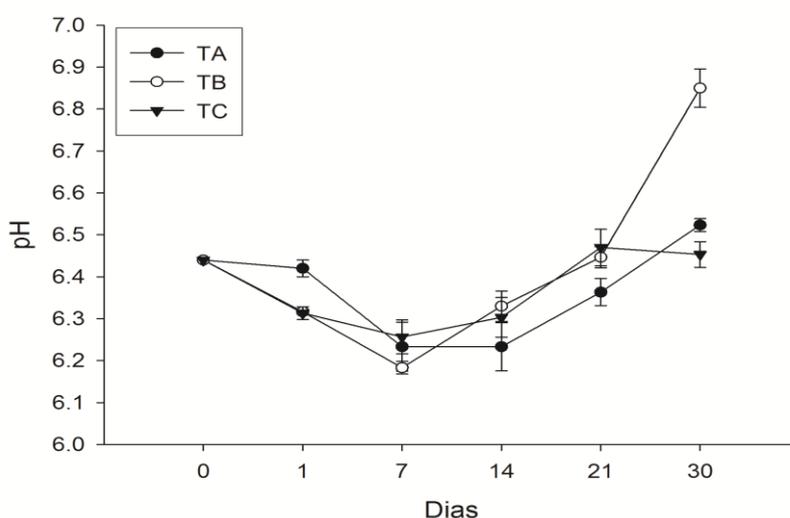
# **3. Resultados e Discussão**

## **3.1 Análise físico-química**

Os parâmetros físico químicos (pH, TBA, N-BVT) de filés de bijupirá foram significativos para os tratamentos ( $p < 0,05$ ) considerando a diferença entre os grupos de embalagens TA, TB e TC e os dias de armazenamento.

A Figura 1 apresenta os valores de pH dos filés de bijupirá embalados com diferentes filmes.

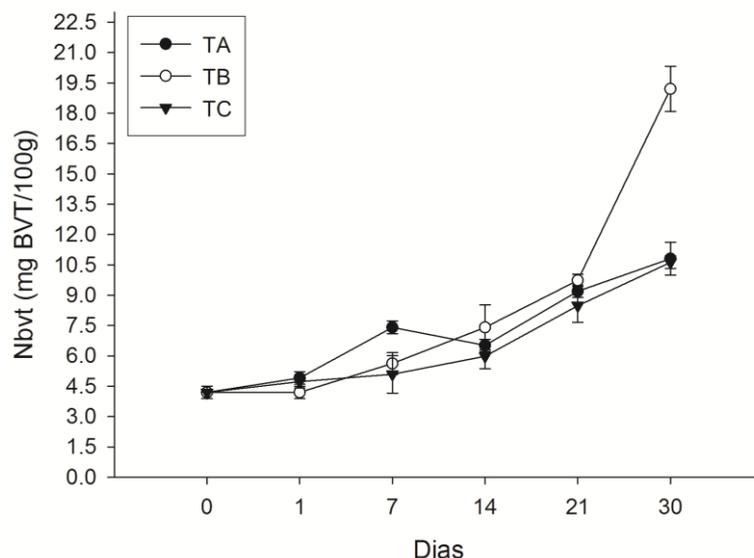
**Figura 1.** Valores de pH em filés de bijupirá embalados com diferentes filmes mantidos sob refrigeração a  $2 \pm 1$  °C, onde: TA (EVOH); TB (PVC); TC (Filme nanocompósito a base de isolado proteico de pescado).



Observou-se que os valores de pH de cada tratamento diminuiriam ligeiramente até ao sétimo dia do ensaio e depois começaram a aumentar (Figura 1). O menor valor de pH foi observado no grupo com os filés embalados com PVC no 7º dia de armazenamento ( $6,18 \pm 0,01$ ) e no final do experimento, no 30º dia, para os revestidos com filmes a base de isolado proteico ( $6,45 \pm 0,03$ ). Acredita-se que deve-se a presença do ácido que foi utilizado para a preparação da solução filmogênica. O ácido liberado pela embalagem propiciou esses valores mais baixos do que nas embalagens com filmes comerciais, e que poderiam ser substituídos por ácidos acético e ascórbico (ALAK, 2012).

Os valores de N-BVT em filés de bijupirá embalados em diferentes filmes são apresentados na Figura 2.

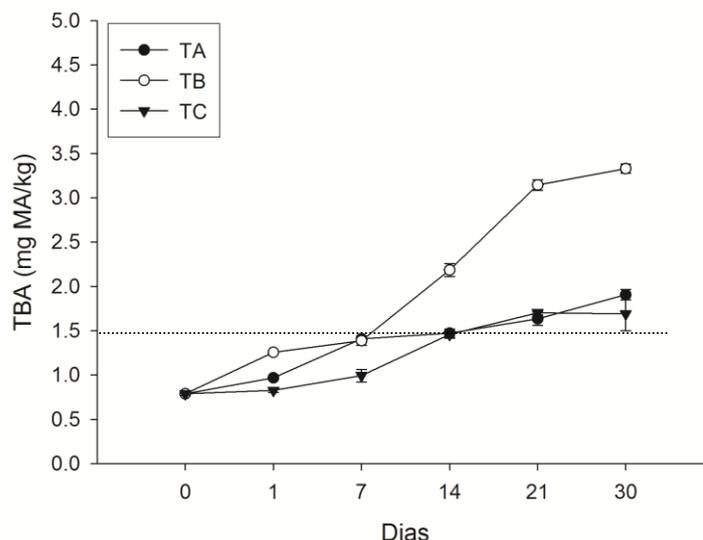
**Figura 2.** Valores de NBVT em filés de bijupirá embalados com diferentes filmes mantidos sob refrigeração a  $2 \pm 1$  °C , onde: TA (EVOH); TB (PVC); TC (Filme nanocompósito a base de isolado proteico de pescado).



Verificou-se que os valores de N-BVT dos tratamentos não excederam o valor crítico de 30 mg/100g no 30º dia de armazenagem (BRASIL, 2002). No entanto, os valores mais elevados foram obtidos no tratamento TB (Filmes de PVC),  $19,2 \pm 0,3$  mg/100g no último dia do período de armazenamento (Figura 2). Cuero (1999) relatou que os valores de N-BVT foram de 35% a 50% menores nos filés de bacalhau (*Gadus Morhua*) que foram revestidas com diferentes tipos de filmes a base de quitosana. Além disso, López-Caballero et. al. (2001) afirmam que os valores de N-BVT mantiveram-se constante durante o período de armazenamento de 25 dias, em salsichas de bacalhau que receberam revestimentos de filmes e foram processados sob alta temperatura e pressão. No presente estudo não foi possível encontrar diferenças para o N-BVT na eficiência dos filmes comerciais TA (EVOH) e TB (PVC) em relação à embalagem TC (filme a base de pescado), o que demonstra ser satisfatório para o controle deste parâmetro. Günlü et al. (2014) estudando o efeito de filmes comestíveis à base de quitosana na qualidade do filé da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerado, observaram efeitos satisfatórios e um incremento na vida-útil de 8 dias.

A Figura 3 apresenta os valores de TBA em filés de bijupirá embalados em diferentes filmes.

**Figura 3.** Valores de TBARS em filés de bijupirá embalados com diferentes filmes mantidos sob-refrigeração a  $2 \pm 1$  °C, onde: TA (EVOH); TB (PVC); TC (Filme nanocompósito a base de isolado protéico de pescado).



Outro parâmetro químico de avaliação da carne do pescado foi o valor de TBARS. Durante o período experimental de 30 dias, os valores de TBARS dos tratamentos apresentaram diferenças significativas entre si ( $p < 0,05$ ), este valor mostrou um aumento mais rápido no tratamento TB após o 14º dia do estudo (Figura 3). Shaidi et al. (2002) analisaram o efeito antioxidante da adição de filmes de quitosana em arenque (*Clupea harengus*) processado, observaram que demonstrou um efeito anti-oxidante e o valor de TBARS nas amostras que foram tratadas com estas coberturas diminuiu 61% em comparação aos tratamentos sem o filme, após oito dias de armazenagem. Neste estudo verificou-se uma diminuição de 45% em relação aos filmes de PVC após 30 dias de armazenamento refrigerado e foi observado que o tratamento com os filmes IPC apresentou comportamento semelhante aos embalados com EVOH. Alak (2012) verificou que a utilização de ácido acético no filme de revestimento de quitosana é eficiente para a conservação de pescado, diminuindo a oxidação lipídica.

### 3.2 Análises microbiológicas

As determinações microbiológicas foram realizadas visando avaliar as condições higiênico-sanitárias associadas aos procedimentos operacionais.

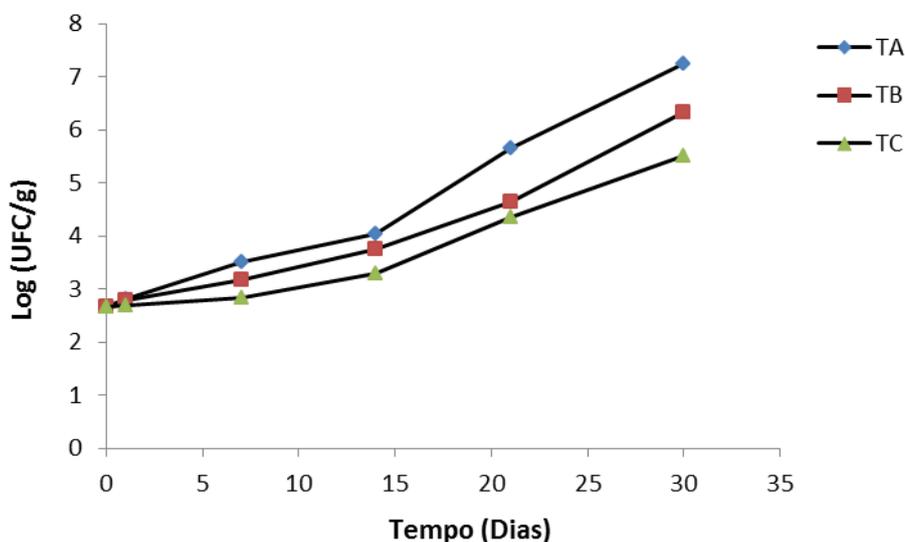
As bactérias do gênero *Salmonella* ssp. não aparecem originalmente em pescado, só sendo introduzida durante o manuseio ou contato com água contaminada (Bartholomeu et al., 2011). Não foi detectada a presença de *Salmonella* ssp. em nenhuma das amostras analisadas, indicando boas condições de higiene e segurança do produto.

Embora a legislação brasileira não estabeleça valores de referência para a contagem de *Escherichia coli* em pescado, a pesquisa desses microrganismos é um importante indicador da qualidade sanitária e adequação para o consumo humano de pescado (Bartholomeu et al., 2011). A presença de bactérias coliformes em uma amostra analisada demonstra que a mesma teve contato ou foi contaminada por matéria fecal, tornando-se potencialmente perigoso à saúde humana, por ser um veiculador de microrganismos patogênicos intestinais (Rodrigues et al., 2009; Vieira, 2003).

A contagem de *Escherichia coli* nos filés de bijupirá durante todo o experimento foram inferiores a  $0,3 \text{ NMP/g}^{-1}$  ou  $> 10^2 \text{ UFC/g}$  de amostra, evidenciando que os filés avaliados obtiveram boas práticas de manipulação, concordando com os padrões estabelecidos pelo ICMSF (1986) que mantêm o valor máximo de  $10^3 \text{ NMP.g}^{-1}$  para pescados frescos refrigerados a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  ou congelado a  $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ . Os resultados deste estudo discordam com os relatados por Manna et al. (2008) que relataram que em amostras de pescado fresco e mariscos preservados no gelo, encontraram valores superiores a  $10^2 \text{ UFC/g}$ , indicando que a presença de bactérias coliformes demonstram condições sanitárias inadequadas dos pescados avaliados.

As alterações microbiológicas para os microrganismos aeróbios mesófilos dos filés de bijupirá são apresentados na Figura 4. A contagem inicial para estes microrganismos foi de  $2,66 \text{ UFC/g}$  para ambas as amostras analisadas.

**Figura 4.** As alterações microbiológicas para os microrganismos aeróbios mesófilos em filés de bijupirá embalados em diferentes filmes, onde: TA (EVOH); TB (PVC); TC (Filme a base de isolado proteico de pescado).



É amplamente aceito que a carga microbiana inicial de pescados sofra variações dependendo das condições da água e temperatura. A maioria da literatura disponível sobre diferentes espécies de pescado relatam contagens microbianas de 2-6  $\log^{10}$  UFC/g. As contagens microbianas de filés de pescado são normalmente mais elevadas do que aqueles com o pescado inteiro, devido a sua manipulação no processo de beneficiamento e possível contaminação cruzada (Lu et al., 2009; Vieira, 2003).

Com o passar dos dias de armazenamento verificou-se um aumento na contagem de aeróbios mesófilos sendo que o tratamento TC (recoberto com filmes a base de IPC) foi o que apresentou o menor aumento em 30 dias de armazenamento ( $5,5 \text{ UFC/g}^{-1}$ ), seguida do TB (armazenamento em filme de PVC) ( $6,32 \text{ UFC/g}^{-1}$ ). O tratamento (TA) foi o que apresentou maior contagem microbiana para os microrganismos aeróbios mesófilos ( $7,74 \text{ UFC/g}^{-1}$ ). Chytiri et al. (2004) observaram que a contagem inicial de aeróbios mesófilos em filés de pescado trutas arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) foram de 2,5 a 3,8  $\log \text{ UFC/g}^{-1}$ , estes resultados foram semelhantes aos encontrados neste estudo para o tempo inicial. Lu et al. (2009) relataram que a contagem inicial para microrganismos aeróbios mesófilos foi de 4,28  $\log \text{ UFC/g}^{-1}$  em filés cabeça-de-cobra (*Channa argus*) revestidos com alginato de cálcio e EDTA (ácido etileno diamino tetracético), esses resultados discordam do presente trabalho, pois apresentam contagens bem superiores quando comparados com o bijupirá, onde em todos os tratamentos nas

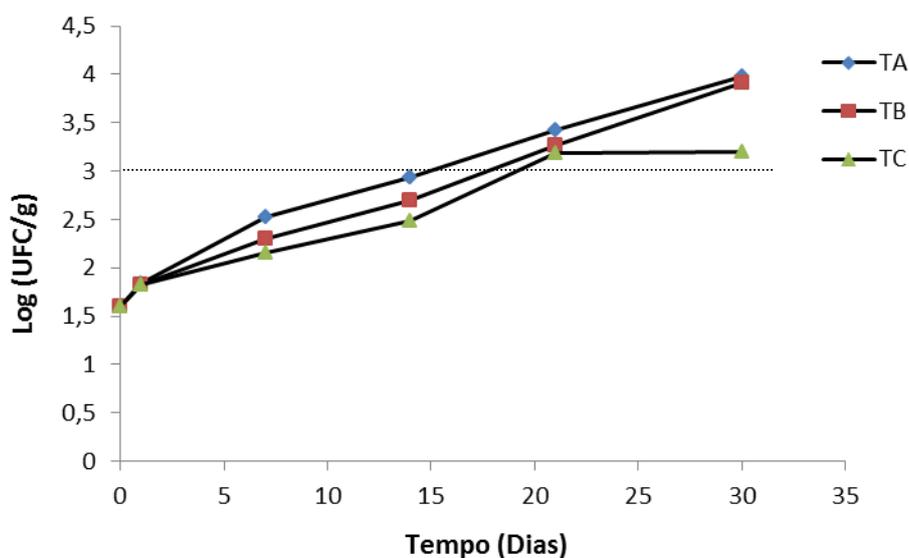
amostras foram encontradas contagens inferiores para os microrganismos aeróbios mesófilos no primeiro dia de armazenamento.

Phadke et al. (2012) trabalhando com filés de atunídeos (*Scomberomorus guttatus*) e filés de corvina (*Otolithus ruber*) revestidos com solução protéica feita a partir de carne de bonito (*Scomberomorus guttatus*) e carne de corvina (*Otolithus ruber*), respectivamente, obtiveram um maior aumento na contagem de aeróbios mesófilos na amostra controle, sendo que os filés analisados revestidos com as soluções protéicas tiveram menor contagem microbiana em 18 dias de armazenamento sob congelamento quando comparados com filmes convencionais. Esses resultados concordam com o presente trabalho, pois, quando se utilizou filmes nanocompósitos à base de IPC como revestimento obteve-se menor contagem de aeróbios mesófilos em 30 dias de armazenamento refrigerado.

Rebouças (2005) afirma que a manipulação inadequada representa um risco potencial saúde, pois, a partir desta etapa, microrganismos patogênicos tais como *Staphylococcus* spp. podem contaminar o pescado.

Na Figura 5 são apresentados os valores encontrados dos microrganismos *Staphylococcus* spp. para os filés de bijupirá quando armazenados em  $2 \pm 1$  °C durante 30 dias.

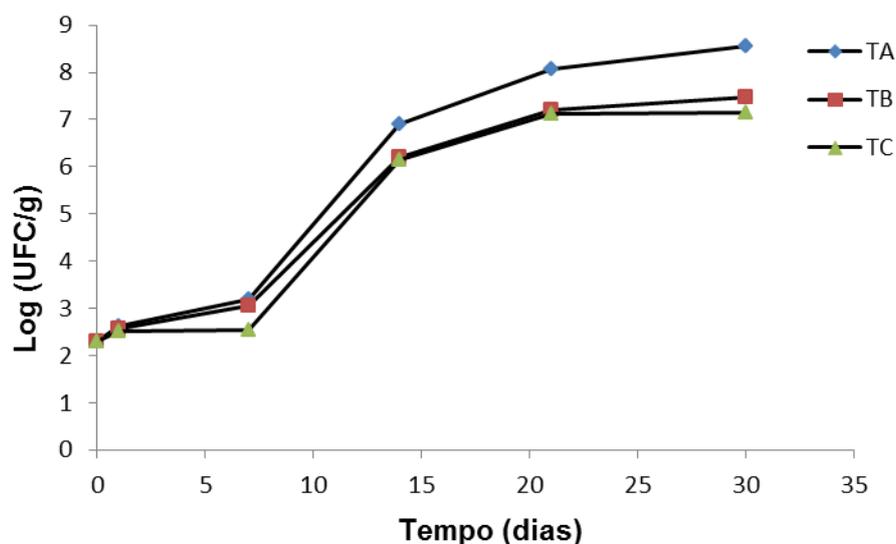
**Figura 5.** Gráfico de crescimento de microrganismos *Staphylococcus* spp. em filés de bijupirá embalados em diferentes filmes, onde: TA (EVOH); TB (PVC); TC (Filme a base de isolado proteico de pescado).



A legislação brasileira estabelece um limite máximo para *Staphylococcus* coagulase positiva de  $10^3$  a  $10^4$  Log UFC/g de amostra para pescado fresco e refrigerado (BRASIL, 2001). No presente estudo todos os tratamentos atingiram o limite máximo microbiológico em 14 dias. Os três tratamentos aplicados obtiveram um aumento microbiano similar sendo que o tratamento TC utilizando isolado protéico de corvina como revestimento foi o que apresentou menor contagem microbiana.

Na Figura 6 é apresentado o gráfico de crescimento para os microrganismos aeróbios psicrófilos para os filés de bijupirá quando armazenados em  $2 \pm 1$  °C durante 30 dias.

**Figura 6.** Gráfico de crescimento para os microrganismos aeróbios psicrófilos em filés de bijupirá embalados em diferentes filmes, onde: TA (EVOH); TB (PVC); TC (Filme a base de isolado proteico de pescado).



A legislação brasileira não estabelece limites para aeróbios psicrófilos, mas altas contagens destes microrganismos contribui para a redução da vida útil do produto. A ICMSF estabelece padrões entre  $10^6 - 10^7$  UFC/g<sup>-1</sup> para o pescado estar seguro para o consumo (ICMSF, 1986). A fim de aumentar a vida útil de um produto, as contagens microbianas iniciais devem ser reduzidas utilizando rigorosas condições de higiene pela indústria (Fernández et al., 2009). As amostras de filés de bijupirá tiveram uma contagem inicial para microrganismos aeróbios psicrófilos de 2,3 log UFC/g<sup>-1</sup>. Estes resultados foram melhores quando comparados com Jeon et al. (2002) que encontraram

uma contagem inicial de 3,7 log UFC/g<sup>-1</sup> em amostras de filés de bacalhau (*Gadus Morhua*).

O crescimento de microrganismos aeróbios psicrófilos foi maior em 30 dias para embalagem TA (8,55 log UFC/g<sup>-1</sup>), seguida da amostra TB (7,47 log UFC/g<sup>-1</sup>) e amostra TC (7,15 log UFC/g<sup>-1</sup>).

Lu et al. (2009) encontraram um menor crescimento de microrganismos aeróbios psicrófilos em filés de cabeça-de-cobra (*Channa argus*) revestidos com 3% de alginato em 7 dias de armazenamento a 4 °C. Esses resultados concordam com os resultados do presente trabalho, pois pode-se verificar um aumento na vida útil quando os filés de bijupirá foram revestidos com filmes nanocómpósitos a base de IPC.

Os resultados do presente trabalho também concordam com os resultados encontrados por Jeon et al. (2002), pois o uso de revestimentos de quitosana e ácido acético aumentaram a vida útil dos filés de bacalhau, sendo que o limite de 10<sup>-7</sup> foi ultrapassado em 6 dias de armazenamento para esses filés quando foi utilizado quitosana como revestimento. Já no presente trabalho os filés de bijupirá quando aplicado filmes nanocómpósitos a base de IPC como revestimento a vida útil foi de aproximadamente 21 dias, quando relacionando com os demais parâmetros de qualidade.

#### **4. Conclusão**

Considerando-se os dados físicos e químicos obtidos com os revestimentos com filmes nanocompósitos a base de IPC, verificamos que é uma alternativa aos métodos de preservação de pescados em embalagens tradicionais. No entanto sobre os parâmetros microbiológicos o efeito não foi tão positivo, mas ainda sim superiores aos outros filmes comerciais. Portanto, concluímos que os filmes nanocompósitos produzidos a partir de IPC com argila montmorilonita (MMT) obtiveram vida-útil de 14 dias sob-refrigeração quando utilizados como embalagem de revestimento em filés de bijupirá, se tornando uma alternativa viável e aparentemente ecológica.

## 5. Referências

- ALAK, G . The Effect of Chitosan Prepared in Different Solvents on the Quality Parameters of Brown Trout Fillets (*Salmo trutta fario*) . *Food and Nutrition Sciences*, , 3, 1303-1306, 2012.
- ARNESEN, J.A; A. GILDBERG, 2007. Extraction and characterization of gelatine from Atlantic salmon (*Salmo salar*) skin Bioresour. Technology. 98: 53-57.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; KASSAVETI, A. 2008. Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses International Journal of Food Science & Technology, 726–745.
- BARTHOLOMEU, D.A.F.S., DALLABONA, B.R., MACEDO, R.E.F. and KIRSCHNIK, P.G. Contaminacao microbiologica durante as etapas de processamento de file de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Archives of Veterinary Sci., 16, 21-30. 2011.
- BENETTI, D.D., ORHUN, M.R., SARDENBERG, B., HANLON, B.O., WELCH, A., HOENIG, R.,ZINK, I., RIVERA, J.A., DENLINGER, B., BACCOAT, D., PALMER, K. ;CAVALIN F. 2008. Advances in hatcheryandgrow-out technology of cobia *Rachycentroncanadum*(Linnaeus). Aquaculture Research. 39, 701-711.
- BRASIL. 2001. Ministerio da Saude. Resolucao RDC no 12, de 02 de janeiro de 2001. *Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*. Brasília, DF, 10 jan. 2001.Secao 1, p. 46-53.
- BRASIL. 2002. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal-RIISPOA. **Pescados e derivados**, Cap.7, seção 1. Brasília.
- CAVALLI, R.O.; HAMILTON, S. 2007. A piscicultura marinha no Brasil - Afinal,quais as espécies boas para cultivar? Panorama da Aquicultura, 17(104): 50-55.
- CAVALLI, R. O.; HAMILTON, S. 2009. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.6, p.64-69.
- CHANG, D. O Cultivo de bijupirá em Taiwan. A escolha de um peixe de carne branca para consumidores exigentes. Panorama da Aquicultura 13(79): 43-49. 2003.
- CHYTIRI S, CHOULIARA I, SAVVAIDIS IN ;KONTOMINAS MG, Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology*, 21:157–165, 2004.

- CORTEZ-VEGA, W. R.; BAGATINI, D. C.; SOUZA, J. T.A; PRENTICE, C. 2013. Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: Avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira. *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas, v. 16, n. 2, p. 90-98.
- CUERO, R. G. "Antimicrobial Action of Exogenous Chito-san, Chitin and Chitinases," In: P. Jolles and R. A. A. Muzarelli, Eds., *Chitin and Chitinases*, Birkhauser, Basel, pp. 315-333. 1999.
- FERNANDEZ, K., ASPE, E. and ROECKEL, M. 1999. Shelf-life extension on fillets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) using natural additives, super chilling and modified atmosphere packaging. *Food Control*, 20, 1036 - 1042.
- FONTANA A.; CENTENARO G.S; PALEZI, S.C; PRENTICE, C.H. 2009. Obtenção e avaliação de concentrados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*) processados por extração química. *Quím. Nova* vol.32.
- FREITAS I. R. 2011. Otimização do processo de obtenção de isolados protéicos provenientes de pescado de baixo valor comercial..Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Curso de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2008. 1020 p. Versão eletrônica.
- ICMSF. 1986. *International Commission On Microbiological Specifications For Foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications*. 2nd ed. London: Blackwell Scientific Publications.
- JAYATHILAKAN, K.; SULTANA, K.; RADHAKRISHNA, K.; BAWA, A.S. 2012 Utilization of by products and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *J. Food Science Technology*., Volume 49, Issue 3, pp 278-293.
- JEON, Y. J.; KAMIL, J. Y. V. A. AND SHAHIDI, F. Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and Atlantic Cod. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 50, 5167-5178, 2002.
- KYUNG K. W.; THOMAS, R. W. "Antioxidative Activity of Chitosans with Varying Molecular Weights," *Food Chemistry*, , pp. 308-313. Vol. 101, 2007.

- LÓPEZ-CABALLERO, M. E. GÓMEZ-GUILLÉN M. C., PÉREZ- MATEOS, M.; MONTERO, P. “A Chitosan-Gelatin Blend as a Coating for Fish Patties,” *Food Hydrocolloids*, , pp. 303-311. Vol. 19, 2005.
- LU, F.; LIU, D.; YE, X.; WEI, Y. AND LIU, F. Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 848-854. 2009.
- MANNA, S.K., DAS, R. and MANNA, C. Microbiological quality of finfish and shell fish with special reference to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157. *J. of Food Science.*, 73, 283 - 291. 2008.
- MONTERREY-QUINTERO, E. S.; SOBRAL, P. J. A. 2000. Preparo e caracterização de proteínas miofibrilares de tilápia-do-Nilo para elaboração de biofilmes. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, p. 179-189.
- MORARU, C.; PANCHAPAKESAN, C.; HUANG, Q.; TAKHISTOV, P.; LIU, S.; KOKINI, J. 2003. Nanotechnology: A new frontier in food science. *Food Technology*, Chicago, v. 57, n. 12, p. 24-29.
- OSAWA, C.C.; FELÍCIO, P.E.; GONÇALVES, L.A.G.. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova* 28(4):655-663. 2005.
- OUATTARA. B. SIMARD, , R. E. PIETTE G.. BEGIN A .; HOLLEY, R. A “Inhibition of Surface Spoilage Bacteria in Proc-essed Meats by Application of Antimicrobial Films Pre-pared with Chitosan,” *International Journal of Food Mi-crobiology*, pag. 139-148. Vol. 62, 2000.
- PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; GUIMARÃES, T. R. 2006. Propriedades mecânicas de nanocompósitos de polipropileno e montmorilonita organofílica. *Polímeros*, Campinas, v. 16, p. 136-140.
- PAN, J. Um jeito taiwanês de criar bijupirá. O olhar de um brasileiro sobre o cultivo comercial do bijupirá em Peng Hu, Taiwan. *Panorama da Aquicultura* 15(90): 36-39. 2005.
- PHADKE, G.; PAGARKAR, A.; REDDY, V. K.; MEENA, D. K. Microbiological quality changes in protein dispersion coated seer fish (*Scomberomorus guttatus*) fillets during chilled and frozen storage. *Continental J. Food Science and Technology* 6 (2): 43 - 48, 2012.
- REBOUÇAS, R.H. Staphylococcus coagulase positiva em camarão marinho sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) comercializado na feira-livre de pescadao do Mucuripe. monografia. Universidade Federal do Ceará, 2005.

- RHIM, J. W.; NG, P. K. W. 2007. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, London, v. 47, p. 411-433.
- RODRIGUES, J. R. D. D.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Avaliação da qualidade das águas de duas áreas utilizadas para recreação do rio Piracuama-SP. *Revista Biociências*, Taubaté, v. 15, n.2, p. 88-94, 2009.
- SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, M. B. P. P. 2012. Revisão: Alimentos frescos minimamente processados embalados em atmosfera modificada. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 15, n. 1, p. 1-14.
- SEIBEL, N. F.; SOUZA-SOARES, L. A. 2003. Produção de silagem química com resíduos de pescado marinho. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 6, n. 2, p. 333-337.
- SHAIKI FKAMIL, J.; JEON Y. J.; KIM, S. K. "Antioxidant Role of Chitosan in Cooked Cod (*Gadus morhua*) Model System," *Journal of Food Lipids*, pp. 57-64. Vol. 9, 2002.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N.F. A. 1997. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela.
- SORRENTINO, A.; GORRASI, G.; VITTORIA, V. 2007. Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology*, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 84-95.
- SOZER, N.; KOKINI, J. L. 2009. Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in Biotechnology*, Oxford, v. 27, n. 2, p. 82-89.
- VIEIRA, 2003. Regina Helena Silva dos Fernandes. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática*. São Paulo, livraria Varela.
- ZAVAREZE, E.R.; PRENTICE, C.H.; SOUZA-SOARES, L.A.; ASSIS, L.M.; 2012 Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*. Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109.
- ZAR, J.H. 1996. **Biostatistical Analysis**. 3a. ed., Prentice Hall, 662p.

## Discussão Geral

O pescado é um alimento bastante perecível, que passa por inúmeras mudanças após a sua morte. O músculo do peixe vivo saudável é tido como estéril uma vez que o seu sistema imunológico previne o crescimento bacteriano, quando ocorre a morte por captura ou abate, o sistema imunológico deixa de funcionar e as bactérias presentes nas brânquias, pele e intestino poderão proliferar. A microbiota dos produtos da pesca é composta pela sua flora natural e da flora proveniente do processamento (LYHS, 2009). O manuseio e armazenamento do pescado em gelo – método mais corrente no circuito comercial - originam alterações no número, distribuição e composição da sua microbiota. Portanto, a perda do frescor ocorre devido à degradação do músculo do pescado, que se inicia pela complexa combinação de processos bioquímicos, químicos e físicos. Durante os primeiros dias de estocagem em gelo, as enzimas endógenas, principalmente das vísceras e superfície do peixe, promovem a perda gradual de frescor, resultando na produção de substâncias com odor desagradável, e criam um meio favorável ao metabolismo bacteriano. A partir daí, as bactérias proliferam no músculo do pescado, acelerando o processo de deterioração (JESUS, 1999; ALASALVAR et al. 2011). Nos primeiros dias de gelo, a população está concentrada na superfície e a penetração no tecido dos músculos ocorre em sítios “pele/músculo” onde apresente cortes que permitam a migração. As camadas de músculo expostas como filés são mais vulneráveis à “penetração” bacteriana (SIKORSKI et al., 1990). No presente estudo, analisando diversos parâmetros de qualidade no pescado armazenado em gelo (pH, N-BVT, análises microbiológicas e histológicas) e a tabela sensorial verifica-se que a pontuação necessária para considerar o bijupirá em condição de consumo ficou entre 15 - 19 dias, após era considerado impróprio para o consumo humano. Mas, observa-se que esses parâmetros de análise de qualidade podem variar quando se analisam determinadas porções de pescado. Por exemplo, flutuações dos valores de N-BVT e pH, em pesquisa realizada por Chytiri et al. (2004), com a truta (*Onchorrhynchus mykiss*) procedente da piscicultura, estocada em gelo, na forma inteira eviscerada e fileteada, mostram que o N-BVT ficou entre 14,11 a 20,16 mg N/100g para a amostra inteira e 18,11 a 26,06 para os filés, não servindo como indicador da qualidade durante estocagem em gelo. Já o pH esteve entre 6,28 a 6,51, não mostrando alteração estatisticamente significativa durante o período de estocagem. No presente, em relação

aos atributos sensoriais as partes mais afetadas no processo de deterioração foram a descoloração das brânquias e a perda da convexidade dos olhos, este com 07 dias já estavam opaco, com 13 dias de estocagem já se apresentava côncavo e com 22 dias sua aparência já apresentava pontos escuros. Nielsen e Grenn (2007) ao desenvolver esquema sensorial para *Morone saxatilis* x *Morone chysops*, detectaram descoloração e pontos avermelhados ao longo das nadadeiras ventral e anal das brânquias e área ventral. Portanto verificam-se, que se faz necessário a elaboração de esquema sensorial para cada espécie, fato compartilhado também por Nunes e Batista (2004) e Sant'Ana et al., (2011) que determinaram o esquema MIQ para espécies marinhas.

O Método do Índice de Qualidade (MIQ) se mostrou como bom indicador do frescor do bijupirá. Quando associado ao MIQ a aplicabilidade de um indicador de temperatura e tempo fotocromico (TTI) para monitorar a temperatura e vida-útil do bijupirá armazenado em gelo comprova os experimentos e se torna uma ferramenta comercial importante. Numa sociedade de consumo onde cada vez mais dominam os agentes econômicos que se colocam na vanguarda da técnica e da inovação e que apresentam ao consumidor final um leque amplo e rico de opções, conseguir apontar alternativas aos sistemas e produtos existentes é uma ferramenta importante que permite estar um passo à frente da concorrência. A indústria brasileira sempre enfrentou os desafios da competição internacional e não pode deixar de apostar no crescimento das suas exportações, legislando favoravelmente, fazendo um uso consciente e inteligente dos recursos naturais e das tecnologias disponíveis e potencializando ao máximo os acordos comerciais preferenciais existentes com outros países. Assim, utilizando etiquetas anexadas às amostras de bijupirá, fator não testado em contato direto com o pescado por outros pesquisadores, se configurou um rótulo de vida-útil dinâmico que pode assegurar aos consumidores o ponto real de qualidade, tornando-se um instrumento inovador para monitorar a cadeia do frio do bijupirá resfriado.

Já o estudo do efeito da embalagem sobre a qualidade e o tempo de conservação útil de filé de bijupirá além dos resultados físicos esperados, verifica-se que a cor é um dos atributos que sofre grandes alterações durante a degradação do pescado e poderá ser influenciada por uma atmosfera modificada. A utilização de embalagens com 100% CO<sub>2</sub> revelou uma maior variação de cor no período compreendido entre a amostra normal de AR e a em EAM, essas amostras embaladas em AR apresentam valores de L\* a aumentar, o que significa que as amostras tendem a aumentar a sua luminosidade, ou seja, a perder cor. As embalagens com dióxido de carbono se

mostraram mais escuras com tons amarelos e comercialmente não tão atrativas como as amostras a vácuo. Quanto maior a percentagem de mioglobina mais hemoglobina, mais escuro será o pescado, portanto é a principal responsável pela luminosidade dos mesmos. No caso da embalagem com 100% CO<sub>2</sub>, a possível acidificação do músculo devido, entre outros fatores à dissolução de CO<sub>2</sub> na amostra, provoca a desnaturação das proteínas sarcoplasmáticas que se tornam insolúveis e provocam a liberação de água (Santos, 2008; Torrieri et al., 2006). E conforme os valores de pH decrescem, há favorecimento da alteração de conformação dos pigmentos de mioglobina e hemoglobina, através de formação de metamioglobina e metahemoglobina tornando a coloração menos avermelhada e mais amarelada (SARMIENTO, 2006). Os valores de cor para as amostras em vácuo e em 100% CO<sub>2</sub> apresentados neste estudo indicam que ambas as formas de conservação alteram a coloração. As alterações observadas em chroma a\* e em b\* neste estudo estão de acordo com as descritas em outros estudos, com peixe prego (*Echinorhinus brucus*) e em robalo (*Dicentrarchus labrax*) (SANTOS, 2008; TORRIERI et al., 2006). Outro fator, a textura é uma característica muito importante para avaliação da qualidade dos alimentos em geral e do pescado em particular, no presente sofreu alterações ao longo do tempo devido às reações de degradação autolítica e deterioração microbiológica (SANTOS, 2008).

Buscando manter a qualidade por mais tempo a um custo reduzido na embalagem, sugere-se o uso do vácuo para os filés de bijupirá congelado. Durante os 180 dias de estocagem congelada, os filés apresentaram valores de coliformes totais, mesófilos e psicotróficos relativamente baixos e com ausência de coliformes termo-tolerante e salmonela. Não houve comprometimento da qualidade, o que garantiu que apresentavam condições higiênico-sanitária, de acordo com a legislação brasileira. Ao final do experimento, foram obtidos valores constantes para as contagens microbiológicas, em comparação aos valores obtidos antes do congelamento, comportamento este típico quando armazenado em condições de congelamento. Em razão da baixa temperatura ocorre a paralisação do desenvolvimento microbiano. Os resultados microbiológicos e físicos obtidos indicam a eficiência do congelamento em reduzir o crescimento dos microrganismos, em consequência do tempo de armazenagem, o que constitui uma forma de estender a vida útil do bijupirá aplicando uma tecnologia relativamente simples e eficiente.

No sentido de apresentar possibilidade de aproveitamento do bijupirá e o uso de isolado protéico na elaboração de filmes nanocompósitos como ferramenta para elaboração de embalagens “ecologicamente” mais corretas. Os filmes elaborados com isolado protéico de corvina (*Micropogonias furnieri*) mostraram ser eficazes frente a matérias já comercializados, considerando uma vida-útil de até 14 dias para os filés sobre temperatura de refrigeração e que também poderiam ser preparados com resíduos do processamento do bijupirá. Por exemplo, Phadke et al., (2012) trabalhando com filés de atunídeo (*Scomberomorus guttatus*) e filés de corvina (*Otolithus ruber*) revestidos com solução protéica feita a partir de carne de bonito (*Scomberomorus guttatus*) e dos resíduos do processamento da carne de corvina (*Otolithus ruber*), verificaram que os filés analisados revestidos com as soluções protéicas tiveram menor contagem microbiana em 18 dias de armazenamento em congelamento quando comparados com filmes convencionais. O que nos possibilita utilizar os resíduos do processamento do bijupirá também na elaboração desses filmes. Os resultados do presente trabalho também concordam com os resultados encontrados por Jeon et al. (2002), que utilizaram revestimentos de quitosana e ácido acético aumentaram a vida útil dos filés de bacalhau.

Os resultados do presente estudo tomando em consideração todos os parâmetros de qualidade, indicam que o bijupirá inteiro armazenado em gelo possui um prazo de vida-útil de aproximadamente 15 dias. Quando associado a indicador inteligente de tempo/temperatura (ITT's), configura-se um rótulo de vida-útil dinâmico que pode auxiliar os consumidores na identificação da qualidade real do produto quando armazenado em gelo. Além disso, quando processado minimamente na forma de filés e embalado em atmosfera modificada refrigerada (100 % de CO<sub>2</sub>) podem manter a estabilidade das características químicas, físicas e microbiológicas por até 21 dias e quando congelado em embalagens com EAM a vácuo por até 180 dias. Além de ser uma matéria prima usual para ser revestida com filmes nanocompósitos a base de pescado e uma alternativa viável na elaboração de isolados protéicos para produção dos mesmos filmes de revestimento, quando sua cadeia estiver totalmente consolidada.

## Referências

- ALAK, G., HISAR, S. A., HISAR, O., KABAN, G. E KAYA, M. 2010. Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, Turkey*, Vol. 16 (Suppl – A), S73 – S80.
- ALASALVAR, C., SHALIDI, F., MIYASLITA, K. E WANASUNDARA, U. 2011. *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. Blackwell Publishing Ltd. UK.
- CORTEZ-VEGA, W. R; BAGATINI, D. C.; SOUZA, J. T.A; PRENTICE, C. 2013. Biofilmes nanocompósitos obtidos de isolado proteico de corvina (*Micropogonias furnieri*) e Montmorilonita: Avaliação das propriedades físicas, mecânicas e de barreira. *Brazilian Journal food Technology*. Campinas, v. 16, n. 2, p. 90-98.
- CHYTIRI, S.; CHOULIARA, I.; SAVVAIDIS, I.N.; KONTOMINAS, M.G. 2004. Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout. *Food Microbiology* 21(2):157-165.
- JEON, Y. J.; KAMIL, J. Y. V. A. AND SHAHIDI, F. 2002. Chitosan as an Edible Invisible Film for Quality Preservation of Herring and Atlantic Cod. *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, 50, 5167-5178.
- JESUS, R.S. 1999. Estabilidade de "minced fish" de peixes amazonicos durante o congelamento. Tese (Doutorado). Fac.Ciencias Farmacêuticas ,USP, São Paulo, 105 p.
- LYHS, U. 2009. Microbiological Methods. In: Oehlenschläger, J. e Rebhein, H. (Eds.). *Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity*. Wiley-Blackwell. West Sussex, 318 – 348.
- NIELSEN, D.; GREEN, D. 2007. Developing a Quality Index grading tool for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* ;*Morone chrysops*) based on the Quality Index Method. *International Journal of Food Science & Technology* 42(1):86-94.
- NUNES, M.L.; BATISTA, I. 2004. Aplicação do índice de qualidade (QIM) na avaliação da fescura do pescado. Instituto de Investigação da Pesca do Mar – IPMar. 4p.
- PHADKE, G.; PAGARKAR, A.; REDDY, V. K.; MEENA, D. K. 2012. Microbiological quality changes in protein dispersion coated seer fish (*Scomberomorus guttatus*) fillets during chilled and frozen storage. *Continental J. Food Science and Technology* 6 (2): 43 – 48.

- SANT'ANA, L. S., SOARES, S., & VAZ-PIRES, P. 2011. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). *Food Science and Technology*, 44, 2253-2259.
- SANTOS, J. M. S. 2008. Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da Qualidade Física, Química e Microbiológica. Dissertação, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.
- SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A.; BURT, J. R. 1990. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura *In*: Z. E. Sikorski (Ed.), *Tecnología de los Productos del Mar: Recursos, Composición nutritiva y conservación*. Acribia, Zaragoza, España, p. 73-102.