SHEYLA CRISTINA VARGAS

**Influência de diferentes métodos de insensibilização pré-abate sobre
parâmetros físicos, químicos e sensoriais da carne refrigerada e
congelada de bijupirá (*Rachycentron canadum*)**

Versão corrigida da Tese de Doutorado
apresentada à Faculdade de Zootecnia
e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo, como parte
dos requisitos para obtenção do título
de Doutora em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e
Produtividade Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria
Macedo Viegas.

Pirassununga
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

Vargas, Sheyla Cristina
V297i Influência de diferentes métodos de insensibilização
pré-abate sobre parâmetros físicos, químicos e sensoriais da
carne refrigerada e congelada de bijupirá.
(Rachycentron canadum) / Sheyla Cristina Vargas. --
Pirassununga, 2015.
83 f.
Tese (Doutorado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Zootecnia.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientadora: Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo
Viegas.

1. Eletronarcose 2. Narcose por CO₂ 3. Hipotermia
4. Abate sem sofrimento 5. Aquicultura. I. Título.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus queridos pais Wilson e Marlene Vargas que sempre respeitaram as minhas escolhas com muito carinho e entusiasmo e, principalmente pelos sacrifícios que fizeram para que eu atingisse meus objetivos.

Dedico também ao meu noivo Ricardo Felipe Baldi, cujo otimismo contagia e a perseverança renova as forças! Obrigada meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas por ter me aceitado como sua orientada, pelas diversas oportunidades de aprendizado que me proporcionou e pela confiança depositada em mim durante todo o curso de Doutorado.

Ao técnico do laboratório de Aquicultura da FZEA, José Apolinário Ferraz, pelo incansável empenho durante a execução deste trabalho. Por estar comigo nos momentos mais difíceis, no trabalho árduo, nos imprevistos, nas complicações, nos momentos de angústias. Por dividir comigo a sua experiência, por ser sempre o meu ombro amigo. Por jamais ter hesitado quando precisei de sua ajuda. Do nosso trabalho surgiu uma grande amizade!

A Profa. Dra. Giuliana Parisi pela acolhida na Università degli Studi di Firenze. Por ter me proporcionado uma das experiências que mais me engrandeceram profissional e pessoalmente.

Ao funcionário da UNIFI Antonio Bonelli, "mio carissimo Tonino", pela amizade, pela paciência com o meu escasso italiano, por ter me ensinado todas as suas minúcias e precisões para se obter bons resultados.

Aos colegas de laboratório Rachel A. Prehl, Mariene Natori, Adriana Bordignon, Júlio Guerra Segura, Adja Medeiros, Ana Beatriz Santos de Oliveira, Ana Carolina, Stephanie Uribe Gonçalves, por terem sempre me ajudado em todas as tentativas e etapas da execução deste trabalho e por terem se tornado bons amigos. Foi um prazer trabalhar com vocês!

Aos Drs. Paulo Roberto Campagnoli de Oliveira Filho, Pamela Montes Girao e Fábio Rosa Sussel pela ajuda neste trabalho, enquanto aqui estiveram.

Ao Prof. Dr. Paulo José do Amaral Sobral por ceder o laboratório de Tecnologia de alimentos para a execução das análises de cor, textura e desnaturação proteica em especial a técnica Ana Monica quinta Barbosa Bittante pela ajuda na execução das análises.

A Prof^a. Dra. Judite Lapa Guimarães e a Prof.^a Dra. Mariza Melo pela ajuda na execução do projeto.

Ao Prof. Dr. Julio Balieiro pela colaboração nas análises estatísticas.

Ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo pelo suporte para realização dos experimentos.

A minha querida irmã, Doutoranda Flávia Carolina Vargas pela ajuda, os conselhos, as conversas sem os quais eu não teria concluído este trabalho. Além de ter me dado uma das maiores alegrias da minha vida, a minha sobrinha Joanna, e ao querido amigo Doutorando Lucas Arantes pela dedicação e amizade.

Aos meus queridos amigos que por, felizmente serem muitos, não listarei todos os nomes, mas que foram essenciais na torcida e no afeto, os quais represento nos nomes das doces amigas Ana Luiza Gonçalves, Ana Paula Perine, Renata

de Freitas Mohalen, Melissa Romano, Erika Hisatugo, Beatriz Azevedo, que mesmo na distancia acalmam meu coração, me fazem rir e me fazem sentir amada.

Aos meus tios e primos, que não cansam de demonstrar seu orgulho e entusiasmo por cada etapa que supero. Valeu Primos de Penca!

Ao Programa de Pós-graduação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos desta universidade pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa concedida.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior o Ministério Da Pesca e Aquicultura e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pelo financiamento da pesquisa

Influência de diferentes métodos de insensibilização pré-abate sob parâmetros físicos, químicos e sensoriais da carne refrigerada e congelada de bijupirá (*Rachycentron canadum*)

VARGAS, S.C. **Influência de diferentes métodos de insensibilização pré-abate sobre parâmetros físicos, químicos e sensoriais da carne refrigerada e congelada de bijupirá (*Rachycentron canadum*)**. 2015. 118f Tese (Doutorado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015

Resumo: A aquicultura no Brasil encontra-se numa fase de crescimento, principalmente com o cultivo intensivo de espécies de interesse comercial. Os peixes são abatidos por imersão em gelo e água, ou por asfixia em gelo, métodos que comprovadamente não causam a imediata perda de função cerebral e podem ter consequências prejudiciais à qualidade da carne. Desta forma, tornam-se necessários estudos que identifiquem a melhor forma de insensibilização para peixes, que proporcionem ao mesmo tempo menor sofrimento e maior qualidade da carne. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar influência da insensibilização pré abate por eletronarcose, narcose por CO₂ e hipotermia sobre a qualidade da carne de bijupirá e estudar a estabilidade da carne sob o resfriamento e congelamento, mensurando as principais variáveis físico-químicas e sensoriais utilizadas tanto na indústria e na pesquisa. Para isso foram realizados dois experimentos, onde no primeiro noventa exemplares foram submetidos aos três tratamentos. Após a insensibilização os peixes foram abatidos por sangria e mantidos resfriados a 4°C durante 21 dias. As amostras foram coletadas após a determinação da morte do animal (hora 0), 5 horas e aos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento. Os dados foram submetidos à ANOVA e constatada diferença significativa ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Foram avaliados o índice de rigor, pH muscular, bases nitrogenadas voláteis (BNV), propriedades dielétricas, análise sensorial, degradação do ATP muscular. O tempo decorrido para a insensibilização dos animais foi bastante diferente (eletronarcose: 2 segundos; narcose CO₂: 31 minutos; hipotermia: 17,5 minutos). A coloração das brânquias apresentou diferença significativa ($P < 0,05$). Peixes insensibilizados por hipotermia apresentaram maior velocidade de degradação de adenosina trifosfato e maior velocidade de formação de hipoxantina, animais insensibilizados por eletronarcose apresentaram maior velocidade aumento de

valor de K. No segundo experimento os peixes foram submetidos a cada um dos tratamentos, e quando constatado o estado de insensibilização aparente, precedia-se com o corte dos arcos branquiais, filetagem, congelamento ultrarrápido, embalagem e manutenção em freezer -18°C por 180 dias. A cada 60 dias amostras foram coletadas para avaliação de perda de água por gotejamento, perda de água por cocção, oxidação lipídica, desnaturação proteica, pH muscular, contração do filé, cor e alteração dos ácidos graxos durante o congelamento. A intensidade de vermelho foi maior nos peixes insensibilizados por eletronarcose ($P>0,05$). Foi constatado que o congelamento ultrarrápido é capaz de mascarar as perdas de qualidade decorrentes do estresse pré-abate. Nenhum dos tratamentos foi capaz de interferir significativamente ($P>0,05$) na degradação destes ácidos. Para os índices de saudabilidade estudados, houve diferença significativa entre os tratamentos tanto na relação n6/n3, peixes insensibilizados por eletronarcose apresentam melhores médias para índices trombogênico e aterogênico. Conclui-se que a eletronarcose pode ser uma boa opção para o abate de bijupirás, por causar insensibilização aparente rápida e com mínimo de sofrimento sem perda de qualidade da carne.

Palavras chave: eletronarcose, narcose por CO₂, hipotermia, bem-estar, aquicultura.

Influence of different methods of pre-slaughter stunning on physical, chemical and sensory parameters of chilled and frozen cobia (*Rachycentron canadum*) meat

VARGAS, S.C. **Influence of different methods of pre-slaughter stunning on physical, chemical and sensory parameters of chilled and frozen cobia (*Rachycentron canadum*) meat.** 2015. 118f. Tese (Doutorado). Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015

Summary: Aquaculture in Brazil is growing phase, particularly with the intensive cultivation of commercial species. The fish are killed by immersion in ice and water, or by asphyxiation in ice, proven methods that do not cause immediate loss of brain function and may have adverse consequences on meat quality. Thus it becomes necessary studies to identify the best way to fish stunning, which provide the same, less pain and better quality of the meat. The objective of this study was to evaluate the influence of pre slaughter by electro stunning, CO₂ narcosis and hypothermia on the quality of cobia meat and study the stability of the meat in cooling and freezing, measuring the main physical and chemical variables and sensory used both in industry and research. For this two experiments were conducted, where the first ninety copies were submitted to three treatments. After stunning the fish were slaughtered by bleeding and kept refrigerated at 4°C for 21 days. Samples were collected after determination of the death of the animal (time 0), 5 hours and 1, 7, 14 and 21 days of storage. The data were submitted to ANOVA and found significant differences ($P < 0.05$), means were compared by Tukey test. We evaluated the accuracy index, muscle pH, volatile nitrogenous bases (VBN), dielectric properties, sensory evaluation, muscle ATP degradation. The elapsed time for the stunning of animals was quite different (electronarcosis: 2 seconds; CO₂ narcosis: 31 minutes; hypothermia: 17.5 minutes). The color of the gills showed a significant difference ($P < 0.05$). Fish were stunned by hypothermia showed greater speed of adenosine triphosphate degradation of hypoxanthine and higher speed of training, animals were stunned by electro showed greater speed increasing value K. In the second experiment, fish were subjected to each treatment, and when the verified state of apparent stunning if preceded with cutting the gill arches, filleting, ultra-fast freezing, packaging and maintenance in freezer -18 ° C for 180 days. Every 60 days samples were collected for assessment of loss of

water drip water loss by cooking, lipid oxidation, protein denaturation, muscle pH, fillet contraction, color and alteration of fatty acids during freezing. The red intensity was higher in fish numb by electro ($P > 0.05$). It was found that the ultrafast freezing is able to mask the quality losses associated with the pre-slaughter stress. none of the treatments were able to interfere significantly ($P > 0.05$) in the degradation of these acids. For the healthiness indices studied, there was a significant difference between treatments in both the relationship $n6/n3$, fish stunned by electro have better averages for thrombogenic and atherogenic index. It concludes that electro can be a good option for slaughtering bijupirás, to cause rapid apparent stunning and with minimal suffering no loss of meat quality.

Key-words: electronarcosis, CO₂ narcosis, hypothermia, welfare, aquaculture.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. A SITUAÇÃO DA AQUICULTURA NO MUNDO E NO BRASIL	4
2.2. VALOR NUTRICIONAL E OS BENEFÍCIOS DA INGESTÃO DE PESCADO	5
2.3. O BIJUPIRÁ.....	6
2.4. ABATE DE PEIXES.....	7
2.4.1. <i>Demanda de Mercado e Ética</i>	7
2.4.2. <i>Senciência e Bem-estar</i>	8
2.4.3. <i>Metodologias de Abate e Insensibilização de Peixes</i>	9
2.5. QUALIDADE DE PESCADO REFRIGERADO E CONGELADO	10
2.5.1. <i>Rigor mortis</i>	11
2.5.2. <i>Cor</i>	12
2.5.3. <i>Capacidade de Retenção de Água, Perda de Água por Cocção e por Descongelamento</i>	14
2.5.4. <i>pH</i>	14
2.5.5. <i>Bases Nitrogenadas Voláteis</i>	15
2.5.6. <i>Desnaturação Proteica</i>	17
2.5.7. <i>Degradação de Lipídios (TBARS e Lipídios Totais)</i>	18
2.5.8. <i>Degradação do ATP e seus Catabólitos</i>	19
2.5.9. <i>Análise Sensorial e Propriedade Dielétricas</i>	19
3. OBJETIVOS.....	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1. LOCAL DE EXECUÇÃO DO PROJETO.....	21
4.2. OBTENÇÃO DOS PEIXES	22
4.3. PROCEDIMENTOS DE INSENSIBILIZAÇÃO - TRATAMENTOS.....	22
5. EXPERIMENTO I: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INSENSIBILIZAÇÃO PRÉ-ABATE SOB PARÂMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS E SENSORIAIS DA CARNE REFRIGERADA DE BIJUPIRA	23
5.1. MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1.2. <i>Avaliação sensorial do frescor</i>	23
5.1.3. <i>Índice de rigor mortis (IR):</i>	23
5.1.4. <i>pH Muscular</i>	23
5.1.5. <i>Cor instrumental</i>	24
5.1.6. <i>Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV)</i>	24
5.1.7. <i>Propriedades dielétricas</i>	24

5.1.8. Contração do filé	24
5.1.9. Degradação de ATP e seus catabólitos	25
5.1.10. Análise Estatística	26
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6.1. PARÂMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUA E TEMPO PARA INSENSIBILIZAÇÃO	27
6.2 ÍNDICE DE RIGOR	28
6.3. PH MUSCULAR	29
6.4. PROPRIEDADES DIELÉTRICAS	31
6.5. ANÁLISE SENSORIAL	32
6.6 BASES NITROGENADAS VOLÁTEIS (BNV)	37
6.7. COMPRIMENTO E ALTURA DO FILÉ	39
6.8. DEGRADAÇÃO DE ATP E CATABÓLITOS.....	40
7. CONCLUSÕES	47
8. EXPERIMENTO II: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INSENSIBILIZAÇÃO PRÉ-ABATE SOB PARÂMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS E SENSORIAIS DA CARNE REFRIGERADA DE BIJUPIRA	48
8.1. MATERIAL E MÉTODOS	48
8.1.1. Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV)	48
8.1.2. Cor instrumental	48
8.1.3. Oxidação Lipídica	49
8.1.4. Desnaturação Proteica	49
8.1.5. Capacidade de retenção de água e a perda na cocção foi e perda de água por gotejamento	49
8.1.6. Lipídios Totais e Degradação de Ácidos Graxos	49
9. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
9.1. BASES NITROGENADAS VOLÁTEIS TOTAIS (BNV)	51
9.2 OXIDAÇÃO LIPÍDICA	52
9.3. DESNATURAÇÃO PROTEICA	54
9.4. PERDA DE ÁGUA POR GOTEJAMENTO, PERDA DE ÁGUA POR COCÇÃO E CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA.....	57
9.5. COR L*, A* E B*	60
9.6. LIPÍDIOS TOTAIS E DEGRADAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS.....	63
9.6.1. Ácidos Graxos Polinsaturados	65
9.6.1. Índices de Saudabilidade	68
9.6.2. Relação n6/n3	68
9.6.3. Índice Trombogênico e Índice Aterogênico	69
10. CONCLUSÕES	72

11. DIFICULDADES ENCONTRADAS.....	73
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:Índice de Rigor (IR) de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).....	29
Figura 2: pH muscular de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).	30
Figura 3: Propriedades Dielétricas de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).	31
Figura 4: Escore para o aspecto das Brânquias de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	33
Figura 5: Aspecto da pele (a), odor da pele (b), odor das brânquias (c) e elasticidade do músculo (d) de Bijupirá) submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob re refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).	34
Figura 6: Aspecto dos olhos de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).	35
Figura 7: Odor da cavidade abdominal, aspecto dos órgãos, peritônio, cor da coluna vertebral, aspecto da carne e cor da carne de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).	36
Figura 8: Aceitação global de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).	37
Figura 9: Bases Nitrogenadas Voláteis de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).....	38
Figura 10: Comprimento de filés de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504 horas). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).	39

Figura 11: Degradação de Adenosina trifosfato de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	40
Figura 12: Degradação de Adenosina difosfato de músculo de Bijupirás (submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	41
Figura 13: Degradação de Adenosina monofosfato de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	42
Figura 14: Degradação de inosina monofosfato de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	43
Figura 15: Degradação de Inosina de músculo de Bijupirás (<i>Rachycentron canadum</i>) submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate (Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	43
Figura 16: Degradação de hipoxantina de músculo de Bijupirás (<i>Rachycentron canadum</i>) submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate (Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	45
Figura 17: Valor de K de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).	46
Figura 18: Comportamento de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNV) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.	52
Figura 19: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBA) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.	53
Figura 20: Temperatura de desnaturação da Miosina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.	54

Figura 21: Temperatura de desnaturação da Actina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	55
Figura 22: Entalpia de desnaturação da Actina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	56
Figura 23: Entalpia de desnaturação da Miosina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	56
Figura 24: Perda de Água por Gotejamento (PPG) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	58
Figura 25: Perda de Água por Cocção (PAC) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	59
Figura 26: Capacidade de Retenção de Água (CRA) filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	59
Figura 27: Transparência de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.	61
Figura 28: Intensidade de Amarelo de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	62
Figura 29: Intensidade de vermelho de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO ₂ estocados por 180 dias.....	62
Figura 31: Alteração de C:18:3 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias...	65
Figura 32: Alteração de C20:5 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias...	66
Figura 33: Alteração de C22:5 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias...	66
Figura 34: Alteração de C22:6 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias...	67
Figura 35: Alteração de C18:2 n6 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias...	67

Figura 36: Alteração de C20:4 n6 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias...	68
Figura 37: Relação n6/n3 de filés de Bijupirás, submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate.	69
Figura 38: Índice Trombogênico de filés de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate	70
Figura 39: Índice Aterogênico de filés de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate.	71

1. INTRODUÇÃO

A orientação sobre qualidade de carne tornou-se mais importante quando os produtores passaram a se dedicar mais na busca de harmonia entre as características do produto e exigências dos consumidores. A consciência sobre a qualidade do consumidor não se limita as características intrínseca do produto, mas visam principalmente às características extrínsecas, tais como meio ambiente e aspectos de bem-estar animal relacionados à produção (KNOWLES et al., 2008).

Nos países desenvolvidos há uma demanda crescente por processos denominados abates humanitários, sendo criadas organizações voltadas para o bem-estar dos animais, como a American Society for the Prevention of Cruelty to Animals – ASPCA e Humane Slaughter Association, ambas americanas, ou ainda a Human Slaughther Association no Reino Unido.

Abate humanitário pode ser definido como o conjunto de procedimentos técnicos e científicos que garantam o bem-estar dos animais desde o embarque na propriedade rural até a operação de sangria no frigorífico. Além disso, o abate de animais deve ser realizado sem sofrimento desnecessário, e condições humanitárias devem prevalecer em todos os momentos precedentes ao abate (BRASIL, 2000). Na verdade, não apenas o abate, mas todo o manejo pré-abate deve seguir as normas que garantam um produto de melhor aceitação no mercado consumidor.

No Brasil, a preocupação com o bem-estar dos peixes durante os processos produtivos encontra-se em seus passos iniciais, sendo praticamente desconhecidos para consumidores, produtores e a legislação vigente. O processo de criação destes animais ainda é repleto de lacunas sobre quais medidas podem promover condições adequadas de bem-estar, dificultando assim a possibilidade da implantação de uma política eficaz para o abate de peixes.

O pescado contribui com aproximadamente 25% da oferta mundial da proteína de origem animal (SEBRAE, 2009). Entretanto, as perdas do pescado na pós-captura causadas pela deterioração, atingem cerca de 10 a 12 milhões de toneladas/ano, e ainda aproximadamente mais 20 milhões de toneladas de

peixes/ano são descartados no mar, prejudicando a segurança alimentar – termo utilizado para garantir que todos tenham acesso físico e econômico ao alimento básico que necessitam (FAO, 2007).

Uma das etapas de produção mais críticas para manter a qualidade do pescado é o processo de abate (RIBAS et al., 2007), pois o estresse associado a este manejo afeta diretamente na resolução do *rigor mortis*, proporcionando principalmente diminuição da vida de prateleira do produto final (ROBB; KESTIN; WARRISS, 2000). Além do abate, as próprias características químicas e estruturais da carne do pescado provocam aceleradas alterações, que proporcionam deterioração mais rápida do pescado (MELO FRANCO e LANDGRAF, 1996) em relação a outros animais de criação terrestres.

Alguns métodos de atordoamento por eletronarcose ou por adição de gases em misturas de água e gelo, visando um abate mais eficiente, são aplicados por indústrias européias para o abate de truta (*Oncorhynchus mykiss*) e salmão (*Salmo salar*). Por exemplo, é prática comum neste continente expor algumas espécies a um período prolongado de sofrimento com métodos de abate como a hipotermia para o robalo (*Dicentrarchus labrax*) ou com a imersão em gelo e asfixia no ar, como acontece com o turbot (*Psetta maxima*)(KNOWLES et al., 2008).

Com métodos como esses, simples observações comportamentais isoladas, tais como o comportamento de fuga, podem indicar que os procedimentos não são ideais em termos de bem-estar animal (KNOWLES et al., 2008). Atordoamento elétrico imediatamente após a captura é visto como um método que promove o bem-estar do peixe no momento do abate, através da indução a um estado de inconsciência imediata, que persiste até que o animal esteja morto (KNOWLES et al., 2008). No caso do abate promovido através da aplicação de uma corrente elétrica é notório que, apesar da promoção da morte ser rápida, alguns aspectos de qualidade de carne são comprometidos devido à possibilidade da ruptura de vasos sanguíneos dos tecidos musculares que, além de interferirem nos aspectos sensoriais de aceitação do produto, também podem comprometer a sua estabilidade durante o período de conservação seja este por refrigeração ou congelamento (DIGRE et al, 2010).

Dentre as espécies marinhas com potencial para cultivo em nosso país destaca-se o bijupirá, *Rachycentron canadum*, único representante da família *Rachycentridae*. De acordo com Chang (2003), esta espécie apresenta um rápido crescimento podendo alcançar de 6 a 8kg em um ano de cativeiro. A carne é considerada saborosa e de ótimo valor nutricional, além de apresentar características de peixe para a pesca esportiva, faz com que seja uma espécie com grande potencial de criação.

Apesar de ainda ser pouco estudado no Brasil, o cultivo desta espécie pode se beneficiar da tecnologia desenvolvida no exterior, visto que já existe produção comercial em países asiáticos e no continente americano (SANCHES, 2007; BENETTI et al., 2008). No entanto os produtores brasileiros ressentem-se do desenvolvimento de técnicas para o abate e o processamento do bijupirá, com a elaboração de produtos que atendam às necessidades do mercado consumidor e proporcionem a consolidação da cadeia produtiva desta espécie no Brasil.

Diante do exposto torna-se evidente que a pesquisa de métodos de abates para peixes ainda cursa seus passos iniciais principalmente no que se refere à diversidade de espécies de peixes marinhos e dulcícolas de interesse comercial, cada qual com suas particularidades ambientais, características comportamentais e organolépticas que devem ser consideradas no momento da escolha do método de abate a ser aplicado, primando por um procedimento que cause o menor sofrimento possível e que promova parâmetros de qualidade adequados com as necessidades de um mercado consumidor cada vez mais exigente. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da insensibilização por eletronarcose, narcose por CO₂ e hipotermia sobre a qualidade da carne de bijupirá e estudar a sua estabilidade durante o armazenamento sob o resfriamento por 21 dias e sob congelamento por 180 dias.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A Situação da Aquicultura no Mundo e no Brasil

Estima-se que as atividades de pesca e aquicultura em 2013 atingiram um novo recorde mundial, com 160 milhões de toneladas contra as 157 milhões de toneladas do ano anterior. Enquanto isso, as exportações atingiram 136 milhões de dólares, segundo o Subcomitê de Comércio Pesqueiro da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (RITTENSCHÖBER; NOWAK; CHARRONDIÈRE, 2013).

A aquicultura é responsável pela produção de quase 50% de todo peixe consumido mundialmente. Além disso, é o setor de produção de alimentos que mais cresceu nas últimas décadas em todo o planeta e vem se firmando como uma das grandes responsáveis pela manutenção e sustentabilidade da produção alimentar global (EMBRAPA, 2013). De todos os setores da produção animal, a aquicultura é a atividade que cresce mais rapidamente. A taxa de crescimento anual da aquicultura a partir de 1970 tem sido em média de 9% aproximadamente, superior à da pesca extrativa (1,4%) e a de criação de animais para a produção de carnes (2,8%) (EMBRAPA, 2013). A produção aquícola mundial continua crescendo, embora mais lentamente do que na década de 1980 e 1990, mas ainda assim, a aquicultura tem se expandido, e passou de “quase insignificante” para “totalmente competitiva” com a quantidade de pescado produzido pela captura, principalmente no referente à produção de alimento humano. Aquicultura também evoluiu em termos de inovação tecnológica e adaptações para atender às exigências de mercado, cerca de 600 espécies aquáticas são criados em cativeiro em todo o mundo por expressiva variedade de sistemas de produção e instalações de diferentes níveis de sofisticação tecnológica, utilizando água doce, água salobra e água do mar (FAO, 2012).

O Brasil, com a sua dimensão territorial, a maior diversidade ictiológica do mundo e a disponibilidade de recursos hídricos que possui, ainda é importador de pescado para atendimento à demanda nacional. Assim é

necessário produzir o salto tecnológico na aquicultura brasileira que possa preencher o déficit de produção vigente e dentro de uma visão de cadeia produtiva que abranja do produtor ao consumidor (RESENDE, 2009).

2.2. Valor Nutricional e os Benefícios da Ingestão de Pescado

O pescado de maneira geral, seja o peixe inteiro ou os seus derivados, representa uma valiosa fonte de proteínas e micronutrientes essenciais para uma alimentação equilibrada e manutenção da saúde. Em 2009, estes produtos foram responsáveis por 16,6 % do consumo da população mundial de proteína animal e de 6,5 % de toda a proteína consumida. Em todo o mundo o peixe alimenta cerca de 3,0 bilhões de pessoas, representando 20 % do seu consumo de proteína animal. As diferenças entre os países desenvolvidos e em desenvolvimento são evidentes na participação dos peixes como fonte de proteína animal na alimentação humana - apesar dos níveis relativamente mais baixos de consumo de peixe nos países em desenvolvimento, a participação do peixe foi significativa, com 19,2 %, e em países de baixa renda e déficit de produção de alimentos foi de 24,0 % (FAO, 2012).

Os peixes e os seus produtos destacam-se nutricionalmente de outros alimentos de origem animal. Eles 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 dos peixes 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). As proteínas contêm todos os aminoácidos essenciais para o ser humano e, assim como as proteínas do leite, do ovo e de carnes de mamíferos, têm elevado valor biológico. Adicionalmente, são excelentes fontes de aminoácidos lisina, metionina e cisteína, encontrados em baixa quantidade em dietas a base de grãos de cereais (HALL et al., 2007).

Na alimentação humana, os ácidos graxos tais como linoleico e ácido linolênico - importantes para a prevenção de doenças de pele - são considerados como essenciais, pois não podem ser sintetizados pelo organismo. Em peixes marinhos, esses ácidos graxos constituem apenas cerca de 2% do total de lipídeos - uma porcentagem pequena em comparação com muitos óleos vegetais. No entanto, os óleos de peixe contêm outros ácidos graxos "essenciais" poli-insaturados, que atuam da mesma forma como os ácidos linoleico e araquidônico. Como membros da família de ácido linolênico (primeira ligação dupla na terceira posição, w-3 contados a partir do grupo metil terminal), eles também têm benefícios neurológicos em crianças em crescimento. Um desses ácidos graxos, ácidos eicosapentaenóico (C20:5 n3), tem atraído considerável atenção dos cientistas a partir da descoberta de que estes compostos têm papel significativo na diminuição do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e no desenvolvimento do cérebro fetal (RITTENSCHOVER; NOWAK; CHARRONDIERE, 2013).

2.3. O Bijupirá

Bijupirá ou Cobia (*Rachycentron canadum*), pertencente à família Rachycentridae é um peixe pelágico, migratório, carnívoro amplamente distribuído, particularmente em águas tropicais, subtropicais e temperadas. Estão presentes nos oceanos Atlântico, Índico e Pacífico, com exceção de toda costa leste do Oceano Pacífico e da costa europeia (SHAFFER; NAKAMURA, 1989).

Podendo atingir um peso máximo de 75 kg, e 1,80 m de comprimento, esta espécie ganhou importância na aquicultura há uma década, especialmente para cultivo intensivo e semi-intensivo em gaiolas onde a principal razão para o seu sucesso nesta atividade é a sua rápida taxa de crescimento atingindo cerca de 5-6 kg dentro de 1 ano e 8-10 kg em 16 meses. Outra razão para o sucesso é a sua grande aceitação no mercado por ter carne de qualidades muito peculiares utilizados principalmente como sashimi, cozido, frito ou assado e cozido em sopas em países do Sudeste Asiático (ROBINSON; BARNABAS; NATHAN, 2012).

A produção comercial de bijupirá teve início a partir dos anos 90 em Taiwan com o domínio da tecnologia para a produção de juvenis em larga escala (LIAO et al., 2004). Posteriormente outros países como Estados Unidos, México e Brasil passaram a cultivar esta espécie, entretanto, grande parte da produção ainda é concentrada na China e Taiwan, sendo a produção mundial de bijupirá igual a 23 mil toneladas (SAMPAIO; TESSER; JÚNIOR, 2010).

A existência de tecnologia desenvolvida para o cultivo de bijupirá no exterior permite eliminar várias etapas básicas de pesquisa para este fim no Brasil, porém é importante adequar à tecnologia disponível para a realidade brasileira. A introdução desta espécie na piscicultura marinha do Brasil é um marco para o desenvolvimento da atividade, pois além da pesquisa desenvolvida nos laboratórios brasileiros, houve uma adesão imediata da classe empresarial (SAMPAIO; TESSER; JÚNIOR, 2010), onde diversas iniciativas de grande, médio e pequeno porte têm sido observadas em todo o litoral brasileiro.

2.4. Abate de peixes

2.4.1. Demanda de Mercado e Ética

O crescimento significativo da produção aquícola e o aumento contínuo da demanda por produtos pesqueiros em todo o mundo, dado o papel econômico tremendo que a indústria tem e continuará a ter, remetem ao bem-estar dos peixes de cativeiro, atenção crescente. O bem-estar dos peixes é uma questão importante para a indústria, não apenas para a percepção do público, marketing e aceitação do produto, mas também muitas vezes em termos de eficiência de produção, qualidade e quantidade (ASHLEY, 2007).

Conflitos entre conceitos de bem-estar e produtividade em peixes existem, onde os procedimentos associados ao bem-estar tem sua aplicabilidade, erroneamente reduzida ao nível de peixes individualmente. No entanto, organizações, como o Farm Animal Welfare Comittee (FAWC) (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2004; FARM ANIMAL WELFARE COMMITTEE, 2014), e a Humane Slaughter Association (HSA) (HUMAN

SLAUGHTER ASSOCIATION, 2014) publicaram recomendações sobre o bem-estar dos peixes de criação, o que evidencia que esta é uma área em crescimento, onde faltam dados científicos capazes de identificar e preencher as lacunas para fundamentar futuras diretrizes e legislação potencial, sempre que necessário. É, portanto, essencial que haja uma boa comunicação entre as últimas pesquisas científicas publicadas, recomendações de veterinários e experiências práticas da indústria da aquicultura (ASHLEY, 2007).

2.4.2. Senciência e Bem-estar

Devido à ampla distribuição geográfica da produção de peixes no mundo, o rápido desenvolvimento e a grande diversidade de espécies, não é possível determinar um protocolo abrangente das práticas de abate. No entanto, a importância do tema é significativa do ponto de vista do bem-estar, uma vez que se estima que 37 a 120 bilhões de peixes criados em cativeiro foram abatidos em 2010 (MOOD; BROOKE, 2012), principalmente através de métodos que foram desenvolvidos para conciliar a conveniência, custo e qualidade do produto, mas com pouca ou nenhuma consideração sobre bem-estar. Mesmo agora, com um amplo consenso científico de que os peixes são senescentes (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY, 2014) e têm a capacidade de sofrer, há pouca evidência de aperfeiçoamento dos métodos de abate sobre a maioria das fazendas de peixes em todo o mundo. Globalmente, a aquicultura do salmão é a única exceção geral para essa observação. As descrições de alguns dos métodos de abate usados para uma variedade de espécies comumente cultivados encontram-se nas últimas publicações da European Food Safety Authority (Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos) (EFSA) (LINES; SPENCE, 2012).

O termo bem-estar é utilizado num sentido amplo, e pode ser definido de várias maneiras. No entanto, existem três definições amplas, muitas vezes utilizadas: a baseada em sentimento, a baseada nas funções e a definição baseada na natureza. Além disso, uma quarta definição baseada na integridade pode ser utilizada (LUND; ROCKLINSBERG, 2001). O conceito de bem-estar dos peixes é bastante complexo quando comparado às demais espécies animais. A definição de bem-estar relacionada à aquicultura se refere

como o oposto do sofrimento, onde a tolerância é observada através do conjunto de condições físicas, fisiológicas e comportamentais negativas, e, sobretudo, a experiência subjetiva do indivíduo nestas condições (HUNTINGFORD et al., 2007).

Peixes têm órgãos sensoriais capazes de detectar estímulos nocivos, vias sensoriais para processamento desses estímulos e mecanismos cerebrais que processam esta informação e geraram respostas comportamentais a condições positivas e negativas (QUABIUS; BALM; WENDELAAR BONGA, 1997). Assim melhor estratégia para uma avaliação fiável do bem-estar/sofrimento dos peixes e seu impacto sobre a qualidade do produto é uma abordagem multidisciplinar que leva em conta o comportamento animal e os diferentes processos bioquímicos e fisiológicos, *ante mortem* e *post mortem*, envolvidos (POLI, 2008).

2.4.3. Metodologias de Abate e Insensibilização de Peixes

A aquicultura moderna deve ser uma atividade direcionada a produção de alimentos seguros. Com o continuado crescimento mundial desta atividade, aumentam as discussões sobre o potencial negativo que a mesma pode gerar, tanto em termos de agressões ao meio ambiente, como sobre o bem-estar animal (VIEGAS et al., 2012). Ao longo da criação de peixes podem-se evidenciar condições estressantes, desde as fases iniciais até a captura e abate. Esses efeitos podem ser minimizados através da adoção de práticas adequadas de manejo, onde, existe a possibilidade de aumentar a qualidade e o bem-estar dos peixes através da escolha cuidadosa do método de abate (LYU et al., 2013).

O não cumprimento de um protocolo adequado pode ocasionar uma queda na qualidade do produto final a ser comercializado. Técnicas de abate na aquicultura são diversas e as espécies de pescado têm respostas variadas frente aos diferentes métodos utilizados. O aspecto do pescado ou do filé (consistência, aroma e frescor) e vida-útil são somente algumas das características significativamente influenciadas pelo método de atordoamento/morte adotado para os peixes (ROBB; WOTTON; VAN DE VIS, 2002). Apesar de trabalhos relacionados ao manejo pré-abate e métodos de

abate em peixes oriundos da aquicultura e seus efeitos sobre a qualidade da carne sejam objeto de estudos crescente no mundo todo, no Brasil existem pouquíssimos grupos de pesquisadores que façam esta abordagem (OLIVEIRA FILHO et al., 2015; VARGAS et al., 2013; VIEGAS et al., 2012).

Em geral, os peixes são abatidos por imersão em gelo e água, por asfixia em gelo ou corte das brânquias sem insensibilização prévia, métodos que comprovadamente não causam a imediata perda de função cerebral além de serem considerados inaceitáveis por associações de proteção animal (HUMAN SLAUGHTER ASSOCIATION, 2014). A maior parte dos métodos comerciais atualmente utilizados não é satisfatória, pois os peixes ainda estão conscientes logo após a hipotética fase de atordoamento, apresentando comportamento de tentativa de fuga. Outros métodos são considerados humanitários somente se aplicados de maneira correta, como no caso de atordoamento elétrico (salmão, e enguia), e perfuração cerebral (salmão e linguado) (VAN DE VIS et al., 2003).

2.5. Qualidade de Pescado Refrigerado e Congelado

O pescado é avaliado pelos consumidores com um rigor maior do que muitos outros alimentos, pois estes devem estar sempre frescos, com boa aparência e possuir uma qualidade excelente. A avaliação da aparência, do odor e até mesmo a avaliação da degustação fazem parte da análise sensorial onde é possível definir a qualidade do pescado através dos órgãos sensoriais humanos. No entanto, não é apenas com o uso da análise sensorial que se define a qualidade do pescado, mas também em uma série de outras variáveis químicas e biológicas que precisam ser analisadas e determinadas para a classificação e identificação do que é apto para consumo ou não (FERNANDES; TOMASI; PESSATTI, 2006).

As alterações *post-mortem* que afetam direta e fortemente a qualidade e a vida de prateleira do pescado são a degradação de proteínas, a degradação do ATP, alterações de pH, oxidação lipídica, a produção trimetilamina (TMA-N) e as bases nitrogenadas voláteis (BNV), que são produzidos por ação bacteriana, além de alterações na textura, capacidade de retenção de água e cor (OCAÑO-HIGUERA et al., 2009). Todas essas variáveis são afetadas pelo

método de insensibilização adotado no momento do abate, o que faz deste procedimento um importante passo na definição da qualidade do produto final.

Além disso, sabe-se que a orientação sobre qualidade de carne tornou-se mais importante quando os produtores passaram a se dedicar na busca de harmonia entre as características do produto e exigências dos consumidores e que a consciência do consumidor a respeito da qualidade não se limita às características intrínsecas do produto, mas também considera as características extrínsecas, tais como meio ambiente e aspectos relacionados ao bem-estar animal (LAMBOOIJ et al., 2008), aumentando ainda mais a relevância do processo de insensibilização dentro da cadeia produtiva do pescado, uma vez que este procedimento também irá afetar a percepção do consumidor no momento da escolha (CONCOLLATO et al., 2014).

2.5.1. *Rigor mortis*

O fenômeno de *rigor mortis* consiste na mudança da textura da carne do pescado, passando de macia e flexível (pré-rigor), para rígida e inflexível (rigor completo) e novamente macia, porém não tão flexível (pós-rigor) (SIKORSKI, 1978). O método mais utilizado para medir o índice de *rigor mortis* é o desenvolvido por Bito et al. (1983), o qual avalia a diminuição da curvatura inicial do pescado durante o período de pré-rigor até o *rigor mortis* total (VIEGAS et al., 2012).

O desenvolvimento do *rigor mortis* no pescado é um fenômeno que persiste, normalmente por um dia ou mais. O momento em que se instala e desaparece varia com a espécie, temperatura, manuseio, tamanho e condição fisiológica do animal (HUSS; ABABOUC; GRAM, 2003). Durante a instalação do *rigor mortis* ocorre uma união irreversível dos filamentos de actina e miosina, formando o complexo actomiosina. Após a resolução deste estado, o músculo relaxa e recupera a sua flexibilidade inicial, mas não a sua elasticidade (PONS-SÁNCHEZ-CASCADO et al., 2006). O início precoce do *rigor mortis*, como resultado do manuseio inadequado e estressante no período pré-abate, pode ocorrer enquanto o peixe ainda está na linha de produção (BERG; ERIKSON; NORDTVEDT, 1997).

Os peixes expostos ao estresse respondem com uma reação de luta ou de fuga, que geralmente envolve rápida contração muscular levando a transformação de energia por via anaeróbica. Em situações normais, as condições aeróbicas e pH são restaurados quando o animal se recupera, mas se o estresse ocorreu imediatamente antes do abate, as alterações do processo anaeróbio irão prevalecer, pois a circulação sanguínea não é mais funcional. Devido a isso, os processos de rigor em peixes estressados foram iniciados a partir de um estado metabólico completamente diferente no músculo, e também vai se desenvolver mais rapidamente do que em peixes não estressados (STIEN et al., 2005).

O processamento de tais peixes durante o *rigor mortis* deve ser evitado, pois este fenômeno pode acarretar efeitos negativos sobre a qualidade do filé. Peixes filetados antes do início da rigidez cadavérica têm propriedades que diferem dos animais filetados durante e após o rigor. Estas propriedades são consideradas favoráveis em termos de qualidade de carne (SKJERVOLD et al., 2001).

O *rigor mortis* é o processo físico mais importante no período *post-mortem*, que se caracteriza pela diminuição, a níveis abaixo do crítico, da adenosina trifosfato (ATP) existente no músculo assim como a diminuição do pH. Um dos passos mais críticos para a manutenção da qualidade na indústria aquícola é o procedimento de abate/insensibilização. A insensibilização por hipotermia somada à diminuição do estresse atrasa a instalação do *rigor mortis*, gerando um intervalo de tempo longo o suficiente para a filetagem e processamento pré-rigor, evitando que o peixe seja filetado enquanto a musculatura esteja rígida aumentando a possibilidade de ruptura do filé (RIBAS et al., 2007). Uma das principais vantagens de peixes em cativeiro sobre os peixes capturados é o alto nível de controle, que permite que o abate ocorra em e tempo e local pré-determinados, tornando possível processar a carne antes da instalação do enrijecimento muscular (STIEN et al., 2005).

2.5.2. Cor

A cor é a percepção de que resulta a partir da detecção da luz após a sua interação com um objeto e é afetada por três entidades: a composição

física e química do objeto, a composição espectral da fonte de luz que ilumina o objeto, e a sensibilidade espectral do olho do espectador. Como todo mundo é sensível à cor dos alimentos, o apetite é estimulado ou inibido, em relação quase direta, com a reação do observador a cor. A cor que vemos indica claramente o sabor que vai provar (ARISTOY et al., 2010).

No processamento de alimentos e na culinária, a cor serve como uma sugestão para o cozimento de alimentos e está correlacionada com alterações de aroma e sabor. Em geral, cor e aparência afetam a percepção de outras modalidades sensoriais do consumidor (HOWGATE, 2011). A aparência de peixes e produtos cárneos é um fator essencial, segundo a qual os consumidores julgam a sua aceitação. No entanto, a cor dos alimentos não é estável, na medida em que muda com a diminuição do frescor.

A cor dos produtos é a propriedade física responsável por causar as primeiras impressões durante a avaliação de qualidade, sendo muitas vezes a única variável considerada pelo consumidor no momento da compra. As alterações autolíticas e microbiológicas que ocorrem durante a degradação provocam alteração da cor. Outros fatores que podem levar a alteração da cor de um produto de pescado são as condições de criação, no caso de animais provenientes de aquicultura (HALLIER et al., 2007).

O atordoamento/abate elétrico é reconhecido como uma forma rápida e eficiente de induzir inconsciência e insensibilidade em peixes (LAMBOOIJ et al., 2006; ROBB; ROTH, 2003). No entanto, lesões como fraturas de vértebras e ruptura das artérias dorsal podem ocorrer gerando danos, como manchas de sangue e hemorragias na carne de peixes abatidos/atordoados por eletricidade (ROBB; ROTH, 2003).

A ocorrência dessas lesões parece estar associada com a força do campo elétrico aplicado, condutividade da água, frequência, forma da onda elétrica, duração da corrente e espécie de peixe abatida (DIGRE et al., 2009).

2.5.3. Capacidade de Retenção de Água, Perda de Água por Cocção e por Descongelamento

Perdas em água podem ocorrer por meio de evaporação, perda de gotejamento, ou durante o cozimento. Tais perdas inevitavelmente produzirão contração da carne. O conteúdo de água e sua distribuição tem uma profunda influência sobre as propriedades da carne, especialmente em sua textura, suculência, firmeza e aparência. Grande parte da água contida no músculo é aprisionada nas estruturas da célula, incluindo os espaços intra e extra miofibrilares (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

Como o avanço do *rigor mortis*, o espaço para a água nas miofibrilas é reduzido, forçando o fluido para os espaços extras miofibrilares onde é mais facilmente perdido como gotejamento. A maior parte da água dentro de uma fibra muscular é livre e a água menos móvel é ligada às proteínas musculares. Muito pouco da água é retida pelas próprias proteínas miofibrilares; é a estrutura desenvolvida pelas miofibrilas, que mantém sua maior parte. Durante o cozimento, ocorre a degradação dos filamentos grossos e o encolhimento lateral da fibra muscular seguido por contração longitudinal. As perdas de água no músculo cozido aumentam a concentração de seus componentes estruturais e tecido conjuntivo, o que aumenta a dureza da carne (OLSEN et al., 2013)

Uma das muitas formas de descrever a qualidade de peixe é medida para aferir a capacidade do músculo em reter a água. Este é um atributo importante por várias razões: redução de peso devido à perda de água é de importância econômica, o exsudado amarelo é pouco atraente para os consumidores e, finalmente, a água é importante para a textura(OLSSON; OLSEN; OFSTAD, 2003).

2.5.4. pH

O conhecimento das alterações de pH no processamento de alimentos é fundamental para a produção de produtos seguros, com alto padrão de qualidade e valor agregado. Durante o processamento de alimentos, o valor de pH afeta muitos fenômenos e processos tais como propriedades de proteína

como desnaturação, gelificação, atividades enzimáticas, crescimento e mortalidade de micro-organismos, germinação ou inativação de esporos de bactérias e reações químicas, tais como a reação de Maillard (ANDRÉS-BELLO et al., 2013).

Os métodos de abate estressantes para peixes acarretam em um rápido consumo nas suas reservas de glicogênio e ATP por via anaeróbica, produzindo ácido lático e conseqüentemente, diminuindo o pH da carne (RAHMANIFARAH; SHABANPOUR; SATTARI, 2011). Valores iniciais baixos de pH *post-mortem* estão associados ao alto estresse *ante-mortem* (LINES; KESTIN, 2005; MORZEL; SOHIER; VAN DE VIS, 2003; POLI et al., 2003). Assim, os animais que se esforçam antes e durante o abate entram em *rigor mortis* mais rapidamente (BAGNI et al., 2007; BERG; ERIKSON; NORDTVEDT, 1997), afetando a qualidade do pescado e diminuindo a vida de prateleira (BOSWORTH et al., 2007).

2.5.5. Bases Nitrogenadas Voláteis

O frescor do pescado pode ser avaliado por métodos sensoriais, microbiológicos ou físico-químicos, no entanto, devido à subjetividade dos métodos sensoriais e à demora e custo elevado para execução de testes microbiológicos, métodos químicos que quantifiquem os produtos derivados da atividade enzimática endógena e bacteriana têm sido desenvolvidos nesta avaliação. Muitos índices químicos para controle de qualidade de peixes, moluscos e crustáceos estão baseados nas alterações quantitativas ou qualitativas de compostos da fração nitrogenada não proteica do músculo (ARISTOY et al., 2010). Esta fração engloba substâncias de baixo peso molecular de diversas origens. A atividade enzimática pode causar uma alteração na concentração destes compostos ou originar outros diferentes. A detecção de alterações progressivas destas substâncias no músculo do pescado durante o armazenamento é o primeiro requisito para considerar tais substâncias como potenciais índices de frescor (SILVA, 2008).

O consumo de alimentos que contêm altas concentrações de bases nitrogenadas tem sido associado a efeitos tóxicos e constitui um perigo potencial para a saúde. Os compostos principais envolvidos nestes efeitos tóxicos são a histamina e a tiramina. A histamina é a amina biogênica mais significativas em peixes e seus produtos. É o componente principal de "intoxicação por histamina" causada pelo consumo de peixes contendo altos níveis de histamina e outras BNV.

Embora o controle de BNV em frutos do mar tenha sido frequentemente realizado por causa de seu envolvimento em intoxicação alimentar, a determinação destes índices também tem sido proposto como um índice de qualidade para detectar a deterioração de pescado. BNVs são usados como índices de controle de qualidade, porque eles passam por mudanças durante o processamento e armazenamento dos peixes. Elas encontram-se em níveis muito baixos em peixe fresco; sua formação tende a aumentar durante o armazenamento, e está associada com a deterioração bacteriana. A formação de BNVs em frutos do mar é causada principalmente pela descarboxilação enzimática microbiana de aminoácidos livres. Esta formação é afetada pela presença de substrato e enzimas, bem como por micro-organismos que afetam a quantidade e tipo de enzimas presentes no pescado, além das condições de processamento e armazenamento (ORAL et al., 2008).

No entanto, o valor de BNV em produtos de pescado processados ou mesmo, minimamente processados, no ponto de rejeição pode ser muito variável. Isto porque o processamento pode levar a alteração da flora microbiana, a principal contribuidora para o aumento deste valor (CAKLI et al., 2006; GOULAS; KONTOMINAS, 2005).

De fato, com a determinação do BNV é determinada, ao mesmo tempo, a presença de várias substâncias, o que pode conferir uma maior validade a este parâmetro, como índice de qualidade. No entanto, pelo fato de algumas substâncias só se formarem numa fase tardia da degradação, este é normalmente referido como sendo um valor indicativo da degradação e não de frescor. Não existe uma relação proporcional entre o tempo de armazenamento e o teor de BNV, já que este apresenta valores mais ou menos constantes no

início, aumentando muito apenas quando o produto se encontra próximo ou após o ponto de rejeição sensorial (PANTAZI et al., 2008).

Outra limitação em relação à utilização do teor de BNV como índice de degradação está relacionada com as diferenças que se podem encontrar entre espécies, época do ano, habitat, entre outros (PONS-SÁNCHEZ-CASCADO et al., 2006), A determinação do BNV pode ser realizada segundo métodos baseados na microdifusão ou na destilação, ou através de métodos baseados na análise por injeção em fluxo (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001).

2.5.6. Desnaturação Proteica

A desnaturação das proteínas é uma alteração na estrutura original da proteína, sem que haja rompimento ou alterações de ligações químicas primárias, que ligam os aminoácidos entre si. Os agentes causadores da desnaturação proteica são classificados em físicos (calor, atrito, irradiação ultravioleta, ultrassom, etc.) e químicos (sais, solventes orgânicos, detergentes e pH) (SGARBIERI, 1996).

A estrutura nativa das proteínas é estabilizada por forças moleculares internas, que são reduzidas através da ação de um dos agentes causadores supracitados, gerando uma transição do tipo ordem-desordem, quando as proteínas são desenroladas, ocorrendo um fenômeno conhecido como desnaturação. Esse fenômeno é uma transição de fase de primeira ordem, e pode ser caracterizado pela temperatura (T_d) e entalpia de desnaturação (ΔH_d) (FURUKAWA; SOBRAL; HABITANTE, A.M.Q.B. GOMES, 2004).

Durante o armazenamento as principais consequências da desnaturação das proteínas, principalmente da actina e da miosina, é a redução da propriedade de ligação com a água no processamento subsequente, cujos produtos finais podem se apresentar ressecados, com perda de suculência e textura (SIKORSKI, 1978). A desnaturação das proteínas é também responsável por mudanças nas propriedades funcionais dos alimentos, sendo que o aquecimento causa, em geral, uma melhora na textura e nas propriedades nutricionais de digestibilidade e valor biológico (SGARBIERI,

1996). O grau de desnaturação das proteínas pode ser medido por diversos indicadores como atividade ATP-ase da miosina, solubilidade, disponibilidade de grupos sulfídricos (ARISTOY et al., 2010), viscosidade, fluorescência e análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC) (ARISTOY et al., 2010; FURUKAWA et al., 2004), sendo este último, muito usado.

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma técnica usada na determinação de dados termodinâmicos, energia e temperatura de desnaturação das proteínas de alimentos sob alguma condição de processamento industrial (ARISTOY et al., 2010). Existe muita variação de temperatura de desnaturação das proteínas miofibrilares miosina e actina dependendo do animal em estudo. Segundo Herrera et al. (2001), o pico de temperatura entre 30 a 60°C geralmente está associado à desnaturação da miosina e proteínas sarcoplasmáticas, enquanto que a desnaturação da actina geralmente está associada à temperatura de 65 a 85°C. Quanto mais adaptado ao clima tropical é um peixe, maior foi a temperatura de desnaturação da miosina de seu músculo (MASSA et al., 2005).

2.5.7. Degradação de Lipídios (TBARS e Lipídios Totais)

O estresse pré-abates pode desencadear a formação de compostos químicos capazes de iniciar e propagar a oxidação de lipídios (CONCOLLATO et al., 2014; SATTARI et al., 2010), que é uma das principais causas da deterioração da qualidade do alimentos marinhos, contribuindo para a formação de *off-flavors*.

O armazenamento congelado é conhecido por estar associado com processos de oxidação de lipídio em peixe, nos quais diferentes tipos de enzimas endógenas podem ser envolvidos. Congelamento e descongelamento podem causar lise de mitocôndrias e lisossomos e alterar a distribuição de enzimas e fatores que afetam a taxa de reações enzimáticas nos tecidos, de modo que danos à deterioração dos peixes congelados podem ser aceleradas (ORTIZ et al., 2009).

A legislação brasileira não impõe valor máximo de TBARS para descarte de pescado. No entanto em peixes já degradados e com valores altos de TBARS, pode haver a formação de compostos tóxicos - como cetonas, aldeídos, alcoóis, ácidos e hidrocarbonetos - além de formação de *off flavors* que comprometem a aceitação do produto (GIOVANINI; SARTORI; AMANCIO, 2012).

2.5.8. Degradação do ATP e seus Catabólitos

Os produtos da degradação da adenosina trifosfato (ATP) são quantificados com o intuito de monitorar o frescor do pescado, pois logo após a morte do animal, o ATP presente no músculo é rapidamente degradado até Inosina monofosfato (IMP) através de enzimas endógenas. A reação seguinte é mais lenta e consiste na degradação do IMP em inosina e hipoxantina, para a qual são necessárias enzimas como a IMP fosfohidrolase e a inosina ribohidrolase que têm origem bacteriana (ÓLAFSDÓTTIR et al., 2004). Como a concentração destas enzimas aumenta com o período de armazenamento devido ao desenvolvimento bacteriano, a degradação do ATP nos demais catabólitos é bem correlacionada com a perda de frescor do pescado.

A quantidade de energia muscular (ATP), no período *post-mortem* depende do estado nutricional e da exposição dos peixes a procedimentos estressantes durante o processo de abate. O estresse pré-abate acelera a instalação do rigor mortis assim como o tempo requerido para o alcance do seu nível máximo afetando também características relacionadas a qualidade, tais como textura de filé que pode ser alterada negativamente. (ERIKSON; BEYER; SIGHOLT, 1997; ROBB; KESTIN; WARRISS, 2000; STIEN et al., 2005).

2.5.9. Análise Sensorial e Propriedade Dielétricas

A análise sensorial ou avaliação sensorial é uma ciência que utiliza os sentidos humanos (visão, olfato, tato, paladar, audição), para avaliar as características ou atributos de um produto. É uma ferramenta intensamente utilizada pelas indústrias de alimentos (PONS-SÁNCHEZ-CASCADO et al., 2006). A análise sensorial é atualmente a metodologia mais importante usada

na pesquisa de avaliação frescor de peixe. Na União Europeia, o método oficial para determinar o frescor de peixe cru utilizado pelos serviços de inspeção e da pesca industrial é a análise sensorial (decisão do Conselho da UE no. 103/76, janeiro 1976) (PARISI; FRANCI; POLI, 2002). Este método consiste em um teste descritivo que leva em consideração três classes diferentes: E (Extra, escore 3), A (escore 2) e B (escore 1 ou 0). Neste esquema, o peixe de classe E são da mais alta qualidade, enquanto os peixes B não são adequados para o consumo humano e são descartados. Outros métodos têm sido propostos para a análise sensorial, tais como o Método de Índice de Qualidade (QIM), destinado a eliminar alguns dos problemas inerentes à utilização do regime da UE (MARTINSDBTTIR et al., 1997).

Uma variedade de diferentes métodos de análise pode ser utilizada para medir a alteração de frescor em peixe, que começam a atuar logo que o peixe morre. Análise sensorial, química, métodos bioquímicos, físicos e microbiológicos são usados para monitorar e avaliar a frescor de pescado (PARISI; FRANCI; POLI, 2002), sendo a análise sensorial o método mais utilizado enquanto os demais são métodos que requerem a destruição da matéria prima o que implica em perdas para a indústria (VARGAS et al., 2013). Ainda, a análise sensorial requer um número adequado de provadores com experiência suficiente; além disso, é um método dispendioso, demorado e subjetivo. Por esta razão, há alguns anos, a pesquisa vem direcionando sua atenção ao estudo e criação de métodos alternativos para determinar frescor do peixe. Estes métodos utilizam instrumentos para medir parâmetros que estão ligados aos processos degenerativos *post-mortem* que ocorrem e, portanto, para monitorar a progressão do frescor em peixes (HUSS; ABABOUC; GRAM, 2003). Um dos métodos de avaliação do frescor de pescado é a medição das propriedades dielétricas que mensura os parâmetros elétricos da carne de peixe (resistência, condutividade e capacitância) por meio de um equipamento chamado Freshness Meter.

Apesar de algumas falhas o Freshness Meter tem sido indicado para a aplicação no estudo de vida de prateleira de peixes inteiros (BARBOSA; VAZ-PIRES, 2004; ŠIMAT et al., 2012; SIMEONIDOU; GOVARIS; VARELTZIS, 1998; TEJADA, 2006). O valor operacional deste equipamento é regido pela

faixa de capacidade de condução dielétrica do peixe e pode ser utilizado para indicar o processo de deterioração e prazo de validade remanescente em peixe fresco inteiro (TEJADA, 2006).

3. OBJETIVOS

1. Avaliar o efeito de três métodos de insensibilização, hipotermia, eletronarcose e asfixia por CO₂ sobre as alterações *post-mortem* e qualidade da carne do bijupirá (*Rachycentron canadum*);
2. Monitorar as mudanças de frescor de bijupirá mantido sob refrigeração e as alterações da qualidade de filés mantidos sob congelamento.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo é parte do projeto REDE DE COOPERAÇÃO PARA O APROVEITAMENTO INTEGRAL DO BIJUPIRÁ – “BIJUPIRÁ PLUS” - que tem como unidades envolvidas: Universidade Federal do Rio Grande - Programa de Pós-Graduação de Engenharia e Ciência de Alimentos; Universidade de São Paulo/FZEA – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia; Universidade Federal de Pernambuco – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas e EMBRAPA MEIO-NORTE – Unidade de Execução de Pesquisa. Este trabalho foi realizado em 2 etapas descritas posteriormente.

4.1. LOCAL DE EXECUÇÃO DO PROJETO

O experimento foi realizado parte em Ubatuba – SP, na base Clarimundo de Jesus pertencente ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, e parte no Departamento de Zootecnia da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA) da Universidade de São Paulo (USP), campus de Pirassununga – SP.

4.2. OBTENÇÃO DOS PEIXES

Os exemplares foram obtidos de uma produção comercial no município de Ubatuba – SP, e Angra dos Reis – RJ, para a primeira e segunda etapa, respectivamente.

4.3. PROCEDIMENTOS DE INSENSIBILIZAÇÃO - TRATAMENTOS

Este estudo foi executado em dois experimentos, ambos os contaram com os seguintes procedimentos de insensibilização dos bijupirás:

- a) *Eletronarcore*: os peixes (n=30) foram colocados em uma caixa plástica com capacidade de 120L, preenchida com água salinizada (0,03%), para melhorar a condutividade elétrica que foi de 700 μ S e submetida à aplicação de uma corrente elétrica de 155 V e 7,3A, durante 3min, até a insensibilização dos animais.
- b) *Narcore por CO₂*: os peixes (n=30) foram alojados em uma caixa plástica com capacidade de 120L, repleta de água em temperatura ambiente, na qual foi borbulhado CO₂ com auxílio de pedra porosa por aproximadamente 30min, até a insensibilização dos animais.
- c) *Hipotermia*: os peixes (n=30) foram imersos em caixa plástica com capacidade de 120L, contendo água e gelo na proporção de 1:1, por 14min até a constatação da insensibilização dos animais.

Estas três metodologias são fruto da experiência de trabalhos anteriores desenvolvidos no laboratório de Aquicultura da Faculdade de Zootecnia da Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, coordenados pela Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas e publicados por Oliveira Filho et al., 2015 e Vargas et al., 2013.

5. EXPERIMENTO I: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INSENSIBILIZAÇÃO PRÉ-ABATE SOB PARÂMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS E SENSORIAIS DA CARNE REFRIGERADA DE BIJUPIRA

5.1.MATERIAL E MÉTODOS

Após a insensibilização, todos os peixes foram submetidos às seguintes operações: sangria em gelo por aproximadamente 3 minutos, marcação com etiquetas, pesagem, medida do ponto D_0 (para o cálculo do Índice de Rigor - IR), e em seguida colocados em câmara frigorífica (10°C) em caixas com cobertura de gelo. Foram realizadas amostragens para avaliação de frescor, pH ocular e muscular dorsal, degradação de ATP, cor instrumental, textura instrumental, bases nitrogenadas voláteis e avaliações sensoriais, nos tempos zero, 3 e 5 horas após a morte, e aos 3, 5, 7, 9, 12 e 14 e 21 dias após a morte.

5.1.2. Avaliação sensorial do frescor

A avaliação sensorial dos bijupiráss submetidos a diferentes métodos de insensibilização foi realizada por cinco julgadores treinados nos diferentes pontos de amostragem de acordo com esquema oficial da União Europeia (Regulamento da União Europeia, CEE 103/76 modificado pelo Regulamento 2406/96), no qual estabelece quatro níveis de qualidade do pescado (E – extra, A – fresco, B – sem frescor, rançoso, O - deteriorado). As amostragens foram feitas nos tempos 1, 7, 14 e 21 dias de armazenagem.

5.1.3. Índice de *rigor mortis* (IR):

O índice de rigor-mortis foi determinado nos períodos 0h, 5h e 7, 14 e 21 dias de armazenagem resfriada segundo metodologia descrita por Bito et al., (1983).

5.1.4. pH Muscular

As medidas de pH foram realizadas com o auxílio de um peagâmetro de bancada em três filés esquerdos de cada tratamento, previamente triturados e homogeneizados com água destilada, nos períodos 0h, 5h e 7, 14 e 21 dias de armazenagem resfriada.

5.1.5. Cor instrumental

Foi medida através de um colorímetro portátil (Miniscan XE, Hunterlab), previamente calibrado com padrão branco e preto antes de cada análise, operando com fonte de luz D65, ângulo de observação de 10° e abertura de célula de medida de 30 mm. A cor foi expressa utilizando-se os padrões de cor do sistema CIELab – “Comission Internationate de L'Eclairage”: L^* (luminosidade), a^* (intensidade da cor vermelho-verde) e b^* (intensidade da cor amarela-azul).

5.1.6. Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV)

As bases nitrogenadas voláteis (BNV) foram determinadas de acordo com Howgate, (1976) em três filés de cada tratamento nos períodos 0h, 5h e 7, 14 e 21 dias de armazenagem resfriada.

5.1.7. Propriedades dielétricas

Essa avaliação foi realizada utilizando Freshness Meter (Distell) que converte medidas elétricas de atividade celular em uma escala de leitura decimal. As leituras diminuem à medida que progride a deterioração.

5.1.8. Contração do filé

A variação do comprimento do filé foi realizada com o filé direito de três peixes de cada tratamento, com o auxílio de um paquímetro digital (Starrett, 799ª series) nas horas 0 e 5 e nos dias 1, 4, 7, 12 e 18 de armazenagem a 4°C. Na hora 0 (zero) os peixes foram filetados e estes filés armazenados sob refrigeração a 4°C e em cada período amostral a medida de contração do filé era realizada nestas amostras. A porcentagem de variação do comprimento do filé foi obtida pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Contração} = 100 - (C \times 100/C0)$$

Onde:

C = comprimento final do filé.

C0 = comprimento inicial do filé.

5.1.9. Degradação de ATP e seus catabólitos

Em cada período de amostragem da carne refrigerada (0, 5, 24h e 7, 14 e 21 dias) foi coletado 1g do músculo da parte dorsal do filé esquerdo de cada peixe (três por tratamento) desprezando-se as partes vermelhas da musculatura. O músculo foi homogeneizado com 10mL de solução de Ácido Perclórico 0,6M dentro de um tubo falcon mantido em recipiente com gelo, com o auxílio de um Turrax (Turratec, Tecnal) por 20s a 18.000r.p.m.. O homogeneizado foi filtrado em papel filtro (Whatman nº1) e adicionados 600µL do filtrado com 600µL de solução tampão de fosfato (pH 7,6) em microtubos com capacidade de 1500µL e centrifugados durante 3min. O sobrenadante foi armazenado em nitrogênio líquido até serem transportadas ao Departamento de Cêncicia de Produção Agroalimentar e do Ambiente - Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA) - da Universidade de Florença, Itália. para leitura em cromatógrafo líquido de alta precisão (High Precision Liquid Chromatography, HPLC) de acordo com Burns; Kee; Irvine, (1985).

Os padrões utilizados para obtenção do tempo de retenção de cada metabólito foram: Hipoxantina (Hx), adenosina trifosfato (ATP), adenosina monofosfato (AMP), inosina monofosfato (IMP) e inosina (INO) adquiridos na forma purificada (Sigma Aldrich).

As condições da análise estão descritas a seguir:

- Bomba injetora: Beckman System 125-S, detector UV-Vis 166, comprimento de onda UV ($\lambda = 254\text{nm}$), interface analógica 406;
- Coluna: Grace Smart RP 18 5u (ID 4.6; comprimento 250mm – C18; porosidade 120 Å; área de superfície 220m²/g; Carga de carbono 10%);
- Loop: 20µL
- Método: isocrático
- Fase Móvel: Tampão KH₂PO₄, 0.06M, pH 7, filtrado em filtro de nitrato de celulose (porosidade 0.45µm, Sartorius, Germany) e degasados sob vácuo. Esta solução era feita semanalmente e armazenada a 4°C.
- Fluxo: 0,5mL/min

O valor de K foi calculado segundo a fórmula sugerida por Karube et al. (1984).

$$K (\%) = [(HxR + Hx)/(ATP + ADP + AMP + IMP + INO + Hx)] * 100$$

Foi realizada avaliação dos parâmetros de qualidade da água durante os três procedimentos de insensibilização com o auxílio de uma sonda multi-parâmetro (Horiba multi-parâmetros, modelo U-10). O comportamento dos animais durante a exposição a cada metodologia e o tempo necessário para a imobilização dos peixes foi também observado cuidadosamente desde o momento da aplicação de cada método até a insensibilização aparente, com o objetivo de avaliar o quais métodos apresentavam maior reação aflitiva, comportamento de fuga e reações estressantes durante a aplicação da insensibilização.

A insensibilização aparente foi determinada pela ausência de reflexos ao estímulo da linha lateral, com um alfinete e pela ausência de movimentação ocular durante o movimento de inversão de dorso do peixe como sugerido no protocolo de Kestin et al, (2002).

5.1.10. Análise Estatística

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) com nível de significância de 5%. Para médias diferentes foi utilizado o teste de Tukey a 5% de significância em esquema fatorial, sendo 3 x 5 para o experimento com peixe refrigerado e 3 x 4 para o experimento com peixe congelado. Foram realizadas regressões para os fatores quantitativos com interação significativa.

Os dados foram analisados com o uso do Modelo Linear Generalizado com auxílio do programa SAS 2004. *SAS/STAT User's Guide (Release 9.1)* SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Parâmetros de qualidade de água e tempo para insensibilização

Os tempos decorridos para a insensibilização dos peixes em cada método de abate assim como a variação das variáveis de qualidade de água durante a aplicação de cada tratamento encontram-se na Tabela 1.

Para o método eletronarcose os valores de pH, oxigênio dissolvido e temperatura (7,6; 8,12 mg/L; 23,5°C respectivamente) mantiveram-se estáveis durante toda a aplicação da corrente elétrica e dentro do esperado para a água utilizada. A salinidade observada neste tratamento (0,03%) ocorreu devido a diluição da água marinha com água onde os peixes foram imersos para a aplicação da corrente com o intuito de diminuir a condutividade elétrica (0,7 mS) evitando danos ao equipamento.

Tabela 1: Tempo para insensibilização aparente (IA), tempo de exposição ao método (EM), e parâmetros de qualidade de água utilizada para diferentes métodos de insensibilização pré-abate bijupirás.

			PARAMETROS DE QUALIDADE DE ÁGUA					
Tratamento	IA	EM		OD	TEMP	CE	pH	SAL
				(mg/L)	(°C)	(mS)		(%)
Eletronarcose	2 s	3 min	INÍCIO	8,12	23,4	0,7	7,6	0,03
			FINAL	8,12	23,4	0,7	7,6	0,03
Narcose por CO ₂	31min	48 min	INÍCIO	8,12	23,4	0,023	4,6	30
			FINAL	8,12	23,4	0,101	4,8	30
Hipotermia	17, 5min	17,5 min	INÍCIO	19,2	1,4	0,005	6,6	30
			FINAL	19,1	1,7	0,026	5,9	30

No método de narcose por CO₂, o gás foi borbulhado na água até que a mesma atingisse o pH de 4,6, indicando a saturação do gás. O valor de oxigênio dissolvido não apresentou queda durante a aplicação do tratamento e os outros parâmetros como condutividade elétrica (início: 0,023 mS; final: 0,101

mS), temperatura (início:23,4°C; final: 23,4°C) e salinidade (início:30%; final: 30%) mantiveram-se dentro do que era esperado.

No abate por eletronarcose a temperatura da água foi mantida entre 1,4 e 1,7°C durante toda a aplicação do tratamento. O oxigênio dissolvido na água apresentou valores bastante altos (início: 19,22mg/Lfinal: 19,18mg/L) como é esperado para água de baixa temperatura(PROENÇA; BITTENCOURT, 1994)

A insensibilização aparente foi observada quando todos os peixes submetidos a cada tratamento apresentavam-se com o ventre voltado para cima e sem apresentar movimentação de opérculos. No método de eletronarcose este fato foi observado rapidamente, pois em apenas 2 segundos nenhum dos peixes apresentava qualquer sinal de movimento, porém para garantia de que todos viessem a óbito, a corrente foi mantida por 3 minutos.

Os animais abatidos por asfixia por CO₂ na água levaram 17,5 minutos para deixarem de apresentar sinais de movimento e durante todo este tempo apresentavam movimentação intensa de fuga e “boquejavam” na superfície da água. Depois deste período alguns animais voltavam a apresentar atividade muscular vigorosa, movimentação de opérculo e movimentação ocular quando retirados da água para avaliação destes comportamentos, que só cessaram completamente aos 48 minutos de exposição ao CO₂. Além da acidificação do ambiente, a saturação do dióxido de carbono na água provavelmente torna o oxigênio indisponível para os peixes uma vez que foi observado que os valores de OD encontravam-se dentro dos ideais para a espécie, apesar dos peixes apresentarem comportamento de asfixia.

6.2 Índice de Rigor

Para a variável índice de rigor (IR) não houve diferença significativa entre os tratamentos ($P>0,05$) (Figura 1) . No entanto este parâmetro variou durante o tempo de armazenagem, não havendo, porém a possibilidade de ajustar um modelo matemático aos dados. Já na primeira hora após a insensibilização e abate, observou-se que a maioria dos animais encontrava-se em estado de Rigor pleno (100%). Tal fato pode ter ocorrido, principalmente pelo manejo inadequado dos animais nos momentos antecedentes ao experimento. Apesar da preparação prévia de equipamentos e equipe, a

despesca dos animais foi realizada de forma amadora pelos funcionários da piscicultura, o que comprometeu parte dos resultados. Ainda assim pode-se dizer que a instalação e resolução do IR foi semelhante para os três tratamentos como também foi verificado por Acerete et al., (2009) e Gasco et al., (2014) estudando o abate de robalo (*Dicentrarchus labrax*) e tenca (*Tinca tinca*) por meio de narcose por CO₂ e asfixia em gelo, respectivamente.

Outros autores estudando a eletronarcose como método de insensibilização, afirmam que este tipo de tratamento, apesar de causar menos sofrimento aos animais promove a instalação mais precoce do rigor-mortis (CONCOLLATO et al., 2014).

Figura 1: Índice de Rigor (IR) de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$).

6.3. pH muscular

Para a variável pH muscular não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos. Houve uma queda de 6,3 logo após a morte dos animais para 6,1 às 5 horas após o abate e para 6,06 às 24h após abate. Após este período aumentou progressivamente atingindo 6,3 aos 21 dias de armazenagem (Figura 2).

Há dois principais processos envolvidos na conversão de músculo em carne após a morte do peixe: a acidificação do tecido e o desenvolvimento do rigor mortis. Para uma boa qualidade de carne geralmente é considerado que o início do rigor deve ser adiado ao máximo e deve ocorrer com a menor temperatura possível, e a queda do valor do pH inicial deve ser atrasada e um valor mínimo deve ser alcançado em baixa temperatura. Para pescado fresco o pH ideal varia entre 6 e 6,8 (HERNÁNDEZ et al., 2009). Ainda segundo este mesmo autor, à medida que o pescado se deteriora os valores de pH aumentam e podem atingir 7,2.

Figura 2: pH muscular de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$).

Diversos autores relatam que qualquer tipo de tensão *ante mortem* provoca rápida depleção de glicogênio, levando a um aumento de ácido láctico nos músculos do peixe e que o pH é afetado pela atividade no período pré-abate (CONCOLLATO et al., 2014; GASCO et al., 2014). No presente estudo os valores de pH se mantiveram entre 6,06 e 6,5, nos 21 dias de observação, o que indica que nenhum dos tratamentos testados comprometeu a variável e que o método de conservação utilizado foi eficaz para a manutenção do pH.

Resultados similares foram encontrados por Knowles et al., (2008) comparando o abate de pregado (*Psetta máxima*) com hipotermia e eletronarcose, para os quais não foi encontrada diferença entre os valores de pH duas horas após o abate (6,82 e 6,79 respectivamente). Além disso, estes

mesmos autores verificaram que a taxa de diminuição do pH para esta espécie conservada sob refrigeração em 24 horas após o abate é a mesma para os dois tipos tratamentos.

Gasco et al., (2014) também não verificaram diferença significativa de pH, entre os métodos de insensibilização eletronarcose, narcose por CO₂, hipotermia e percussão, encontrando valores de pH de 6,09; 6,08; 6,07 e 6,02, respectivamente, quando testaram a estabilidade da carne de tenca (*Tinca tinca*).

6.4. Propriedades Dielétricas

Para as medidas dielétricas não houve diferença significativa ($P>0,05$) entre os métodos de insensibilização testados neste trabalho com o bijupirá (Figura 3). A medida das propriedades dielétricas, com tendência de queda dos valores que se ajustaram a um modelo de regressão quadrática, demonstrou que nenhum dos tratamentos foi capaz de prolongar a vida de prateleira de Bijupiras mantidos sob refrigeração.

Figura 3: Propriedades Dielétricas de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).

O intervalo de valores do Freshness Meter é comandado pela gama de propriedades dielétricas do peixe e pode ser utilizado para indicar o processo de deterioração e período de vida útil restante em todo o peixe fresco. Cada espécie de peixe teria uma gama diferente de propriedades dielétricas (ŠIMAT et al., 2012). Alguns autores sugerem valores maiores ou iguais a 11 para espécies marinhas cultivadas como indicativas de frescor absoluto, ou seja, peixe estocado por no máximo 4 dias no gelo, e um valor de 6 como limite para o consumo (LOUGOVOIS; KYRANAS; KYRANA, 2003). Outros trabalhos, no entanto, concluem que o teor de lipídios pode explicar as diferenças entre peixes magros e gordos, onde os primeiros apresentam propriedades dielétricas mais altas durante todo o período de conservação quando comparado com os demais (ŠIMAT et al., 2012), afirmação que vem de encontro com os valores obtidos neste experimento, uma vez que o Bijupirá, uma espécie magra, e apresentou os escores de propriedade dielétrica mais altas que 11 na hora 0 (12,688), e atingindo 8,377 aos 21 dias (504 h) de conservação, escore maior que o valor de 6 pelos autores citados anteriormente como o limite para consumo.

6.5. Análise Sensorial

No presente estudo organizou-se a avaliação sensorial de forma que todos os provadores avaliassem os peixes na mesma sequência em que os resultados foram descritos a seguir, primeiro observando os parâmetros externos do peixe, depois a cavidade abdominal e órgãos internos e finalmente o filé.

Para os parâmetros externos avaliados é possível notar que, apenas o aspecto das brânquias (Figura 4) apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$), possivelmente devido às características de cada método de insensibilização utilizado. Sendo as brânquias um órgão muito irrigado e responsável pelas trocas gasosas, ele é diretamente afetado pelos três tratamentos testados aqui. No caso da hipotermia, tratamento que apresentou melhor aspecto de brânquias durante todo o período de conservação, pode-se inferir que a vaso constrição causada pelo frio reteve no órgão maior volume de sangue, melhorando o seu aspecto.

Para eletronarcose, tratamento intermediário neste parâmetro, o processo de manutenção da coloração das brânquias se deve ao insulto elétrico causado pela corrente no momento da insensibilização. Este insulto causa uma forte e rápida contração muscular (VARGAS et al., 2013), retendo o sangue no órgão.

Já no caso da narcose por CO₂ o processo deixa de ser mecânico como nos demais tratamentos, e passa a ser fisiológico. A presença do dióxido de carbono na água forma ácido carbônico, diminuindo o pH do ambiente e impedindo que ocorra a troca de gases da respiração pelas brânquias, estafando o órgão que perde seu aspecto sadio (SETH et al., 2013).

Figura 4: Escore para o aspecto das Brânquias de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

Para os demais parâmetros externos não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Figura 5). Odor da pele, aspecto da pele, odor das brânquias e elasticidade do músculo se mantiveram na classe extra até o sétimo dia de observação, e atingiram a classe A ao final do experimento (Figura 5).

Figura 5: Aspecto da pele (a), odor da pele (b), odor das brânquias (c) e elasticidade do músculo (d) de Bijupirá submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).

O aspecto dos olhos dos peixes também não apresentou diferença estatística entre os tratamentos ($P>0,05$), porém já no início das avaliações apresentou classificação B (Figura 6) sendo o único parâmetro externo a atingir classe B com pontuação 0. Isso se deve ao manejo de transporte dos animais, que foi inadequado, muito estressante, devido à falta de estrutura no local na unidade de produção, um reflexo do amadorismo dos produtores de peixe no Brasil, o que pode comprometer o crescimento da atividade, mesmo com o potencial do país e os estímulos do governo.

Nesta avaliação os pontos de demérito considerados pelos provadores para os parâmetros relacionados com a aparência dos olhos (clareza, forma, visibilidade da íris e presença de sangue), são afetados forte e diretamente pelo manejo inadequado, pois o olho é um órgão extremamente sensível e exposto (OZOGUL; OZOGUL, 2004).

Figura 6: Aspecto dos olhos de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).

Na avaliação dos parâmetros internos do corpo do bijupirá, os resultados foram muito similares, não havendo diferença significativa entre os tratamentos ($P>0,05$). Todos partiram da classe E (escore 3) e mantiveram-se nesta condição até o sétimo dia de estocagem. Ao fim de 21 dias de armazenagem (504 horas) atingiram a classe A (escore 2) (Figura 7). Isto permite inferir que a conservação sob refrigeração em gelo foi capaz de preservar o frescor interno dos peixes, no entanto não se pode afirmar que os métodos de insensibilização comprometeram os atributos internos de observação sensorial.

Figura 7: Odor da cavidade abdominal, aspecto dos órgãos, peritônio, cor da coluna vertebral, aspecto da carne e cor da carne de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$).

Finalmente para aceitação global sabe-se que o estresse compromete significativamente este parâmetro (HANSEN et al., 2012), que é a somatória de tudo que foi avaliado durante a análise sensorial. Aqui, mais uma vez, não houve diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$), e para todos os métodos de insensibilização testados os peixes apresentaram classificação extra (escore 3) logo após o abate, passaram para classificação A (escore 2) no dia 7, e atingiram classificação B (escore 1 ou 0) aos 21 dias de estocagem (Figura 7), ou seja, não estavam mais aptos para o consumo. Segundo a regressão linear que explica a evolução deste parâmetro, a partir do 12º dia de estocagem (300h) este produto já perde a qualidade para consumo segundo a avaliação sensorial. No entanto, uma vez que este protocolo resulta da avaliação de vários peixes, abrangendo peixes de água doce e salgada, alguns parâmetros muito específicos, não satisfazem plenamente as necessidades da avaliação (OLIVEIRA FILHO et al., 2015).

Figura 8: Aceitação global de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).

Diversos autores também não encontraram diferença significativa entre métodos de insensibilização e a avaliação sensorial segundo o esquema da UE, estudando métodos e espécies diversas (OLIVEIRA FILHO et al., 2015; VARGAS et al., 2013), seguramente devido a incapacidade do método em identificar particularidades de cada espécie, principalmente referentes à coloração, considerando habitat e hábito alimentar da espécie estudada. Assim recomenda-se que para este tipo de estudo seja elaborado previamente o Método de Índice de Qualidade da espécie a ser estudada.

6.6 Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV)

Não houve diferença significativa ($P>0,05$) para interação entre os tratamentos no estudo de BNV analisadas em músculo dos peixes armazenados em gelo (Figura 9), ou seja, todos os tratamentos tiveram o mesmo comportamento durante os 21 dias de estocagem. No entanto, houve elevação significativa ($P<0,05$) no teor de BNV no período de estocagem, que partiu de 21,02mg.100g⁻¹ logo após o abate e atingindo 31,45mg.100g⁻¹ aos 21 dias (504h) de estocagem.

Figura 9: Bases Nitrogenadas Voláteis de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h). Não houve efeito de tratamento ($P > 0,05$).

Vargas et al., (2013) estudando os mesmos métodos de insensibilização pré-abate para matrinxãs durante 18 dias de estocagem sob refrigeração, encontraram valores médios bastante inferiores aos encontrados no presente estudo (narcose por CO₂: 17.76 mg.100g⁻¹; hipotermia: 17.89 mg.100g⁻¹; eletronarcose: 19,02 mg.100g⁻¹). Este fato se deve a maior facilidade de degradação apresentada por peixes marinhos, pois apresentam maiores teores de nitrogênio não proteico e aminoácidos livres, que são fontes ideais para a decomposição bacteriana (CONTRERAS-GUZMÁN, 2002). Lyu et al.,(2013), estudando o abate de jack mackere (*Trachurus symmetricus*) por meio de percussão na cabeça, asfixia em gelo e asfixia no ar encontraram valores de BNV de 8,68 mg.100g⁻¹ logo após o abate, mas com o decorrer da estocagem em gelo, os peixes dos diversos tratamentos apresentaram comportamentos diferentes, e a asfixia no ar, método notoriamente mais agressivo para o animal, levou à maior taxa de BNV (32,4 mg.100g⁻¹)

Chang e Wong, (2012) afirmam que para filés de bijupirás resfriados e frescos, ou seja, nos momentos subsequentes a morte, os valores de BNV devem ser de aproximadamente 15 mg.100g⁻¹, que é o valor indicado para que o peixe possa ser consumido cru, uma das formas mais apreciadas de consumo desta espécie no exterior. Assim, os tratamentos estudados não tiveram influência sobre este parâmetro de qualidade, além de ter atingido, aos 18 dias, o valor de descarte de pescado para consumo humano determinado pelo Regulamento de Inspeção e Industrialização de Produtos de Origem Animal, que é de 30 mg.100g⁻¹.

6.7. Comprimento e Altura do Filé

Não houve diferença significativa para altura dos filés entre tratamentos e nem dentro do tempo de estocagem, porém para comprimento todos os tratamentos apresentaram comportamento semelhante, variando ($P>0,05$) apenas dentro do tempo de estocagem (Figura 10) que diminuiu de 28,27 % logo após o abate, e atingiu 24,45 % aos 21 dias de estocagem (504 h).

Figura 10: Comprimento de filés de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504 horas). Não houve efeito de tratamento ($P>0,05$).

No momento da morte, os músculos de peixes estão relaxados, macios e tem uma estrutura elástica. Aos poucos, os músculos tornam-se mais rígidos, mudam sua forma geométrica e diminuem de tamanho. A taxa de encolhimento do filé depende das espécies (MØRKØRE et al., 2008) e do tempo de filetagem. Se filetados antes da instalação do rigor mortis, os peixes tendem a apresentar maiores valores de contração do filé, pois a musculatura é separada da estrutura óssea que normalmente impede tal retração. Diversos autores relatam as diferenças em relação a peixes filetados antes ou depois do rigor principalmente quanto à qualidade da técnica de filetagem (GASCO et al., 2014). Outro fator que deve ser considerado é que a duração prolongada de corrente elétrica ou estresse dão origem precoce a instalação do rigor mortis, e consequentemente, ao aumento da contração filé (LINES; KESTIN, 2004).

6.8. Degradação de atp e catabólitos

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) para a degradação da adenosina trifosfato (ATP) e de todos os seus catabólitos entre os três tratamentos, tanto para interação quanto para o tempo de conservação. Para a degradação do ATP (Figura 11), os peixes insensibilizados por eletronarcose e narcose por CO_2 demonstraram degradação mais abrupta deste composto, quando comparados com a insensibilização por hipotermia, o que poderia sugerir que estes dois tratamentos são mais estressantes para os animais, o primeiro por causar forte contração muscular e o segundo por promover prolongado período de agonia e movimentação de fuga até que ocorra a insensibilização. No entanto alguns autores afirmam que a hipotermia causa imobilidade no peixe, preservando as reservas de glicogênio e ATP, porém sem causar perda de consciência (GASCO et al., 2014), o que pode ser considerado abate não humanitário.

Figura 11: Degradação de Adenosina trifosfato de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

O ATP e os seus metabolitos têm sido usados como indicadores de frescor em diversas espécies; no entanto, os valores dos padrões de nucleotídeos do seu catabolismo podem variar, de espécie para espécie de acordo com relatos de diversos autores (KUDA et al., 2007; MASSA et al., 2005; SHIOYA; TAKEMURA; YAMAGUCHI, 2011). No presente estudo os valores iniciais de ATP foram de 4,90 $\mu\text{Mol/g}$ para narcose por CO_2 e 3,57 $\mu\text{Mol/g}$ para eletronarcose, similares aos encontrados por Tuckey, Forster; Gieseg, (2010), estudando salmão Chinook, (*Oncorhynchus tshawytscha*) abatidos sem estresse, submetidos a insensibilização prévia com anestésico, enquanto que os abatidos sem insensibilização apresentaram valores bastante baixos ($0,43 \mu\text{molg}^{-1}$) assim como os peixes insensibilizados por hipotermia neste trabalho ($1,71 \mu\text{Mol/g}$).

As concentrações de adenosina difosfato (ADP) no músculo de bijupirá, começaram a subir ancialmente no sétimo dia de estocagem, conforme o ATP foi sendo degradado para os peixes insensibilizados por hipotermia e eletronarcose, enquanto que os animais insensibilizados atraves de narcose por CO_2 apresentaram menores níveis e pouca variação entre as médias para degradação deste catabólito (Figura 13).

Figura 12: Degradação de Adenosina difosfato de músculo de Bijupirás (submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

Segundo Cappeln e Jessen, (2002) o AMP, adenosina monofosfato, é deaminado quase que instantaneamente à inosina monofosfato (IMP). No presente estudo a concentração deste catabólitos passam a aumentar suas concentrações simultaneamente à partir do 14º dia de estocagem (336h) (Figura 14 e Figura 15), porém em velocidades diversas, onde os peixes insensibilizados por hipotermia apresentam menor velocidade de formação.

Figura 13: Degradação de Adenosina monofosfato de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

Figura 14: Degradação de inosina monofosfato de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

Figura 15: Degradação de Inosina de músculo de Bijupirás (*Rachycentron canadum*) submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate (Hipotermia, Eletroanestesia e Narcose por CO₂ e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

Durante o metabolismo *post-mortem* do ATP, a Inosina monofosfato (IMP) formada, atua como um realçador do sabor do pescado. A hipoxantina

(Hx), resultante das etapas finais da degradação do ATP, porém rapidamente formada em condições de manipulação adversas antes e durante o abate, confere um sabor amargo à carne, sendo considerada como um contribuinte para o *off-flavor* no pescado (OZOGUL; OZOGUL, 2004). Tuckey et al,(2010) afirmam que peixes estressados apresentaram concentrações elevadas de IMP, que este composto reduz durante o armazenamento.

Esta tendência tem sido demonstrado em outros estudos sob uma gama de condições de armazenamento e procedimentos pré-abate (KUDA et al., 2007; TUCKEY; FORSTER; GIESEG, 2010; ZAMPACAVALLLO et al., 2014), no entanto, neste estudo, a concentração deste nucleotídeo permaneceu elevada ao fim dos 21 dias de observação, sendo que as maiores concentrações de IMP se deram no 14º dia de estocagem para os peixes insensibilizados por eletronarcose e narcose por CO₂, enquanto que na hipotermia, esse composto se manteve estável (Figura 16). A concentração de hipoxantina, alcançou o maior valor na narcose por CO₂ enquanto para a eletronarcose manteve baixa elevação e para hipotermia manteve-se estável dentro do período de estocagem observado (Figura 17).

Figura 16: Degradação de hipoxantina de músculo de Bijupirás (*Rachycentron canadum*) submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate (Hipotermia, Eletroanestesia e Narcose por CO₂ e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

O valor de K é definido como a razão entre a soma de IMP mais Hx e a soma do ATP e seus catabólitos, expresso em percentagem, amplamente utilizado como um dos índices de frescor para avaliar a mudança de qualidade de peixe cru (ERIKSON; BEYER; SIGHOLT, 1997).

O aumento do valor de K permite identificar o pescado que tem uma vida útil mais prolongada. A diferença entre a vida de prateleira, em gelo, de diferentes espécies de pescado pode chegar até 10 dias, ou seja, até que o valor de K atinja 20%. A quantidade de energia muscular (ATP), no período *post-mortem* depende do estado nutricional e da exposição dos peixes a procedimentos estressantes durante o processo de abate.

No presente estudo os peixes de todos os tratamentos apresentaram elevação do valor de K dentro do tempo de estocagem (Figura 17), porém apenas os peixes insensibilizados por narcose por CO₂ mantiveram esta variável abaixo de 20%, limite indicado para o consumo de pescado fresco (KAMALAKANTH et al., 2011; KO; HSU, 2001; TUCKEY; FORSTER; GIESEG, 2010).

Figura 17: Valor de K de músculo de Bijupirás submetidos a diferentes tipos de insensibilização pré-abate e estocados sob refrigeração durante 21 dias (504h).

7. CONCLUSÕES

As três metodologias de insensibilização utilizadas neste trabalho são eficientes para a insensibilização de bijupirás sob o ponto de vista da estabilidade da carne desta espécie quando armazenada refrigerada, uma vez que quando comparadas ao método tradicional de insensibilização, a hipotermia, não houve prejuízos aos parâmetros de qualidade, uma vez que apenas os parâmetros aspectos dos olhos e das brânquias apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, porém, Semp comprometer o tempo de prateleira do produto e tão pouco a sua aceitação.

Os peixes insensibilizados por narcose por CO₂ apresentaram maior velocidade de degradação de ATP. Para ADP, IMP e Hx os tratamentos que apresentaram maior velocidade de formação destes compostos foram hipotermia, narcose por CO₂ e eletronarcose respectivamente. A insensibilização por eletronarcose promoveu rápida formação dos compostos AMP e INO, quando comparada aos demais tratamentos. Para o valor de K, apenas a insensibilização feita através de narcose por CO₂ foi capaz de manter este índice dentro do limite indicado para consumo de pescado.

Para os aspectos referentes ao bem-estar animal a eletronarcose apresenta-se como uma metodologia eficiente e segura na insensibilização do bijupirá, pois provoca rápida insensibilização, sem promover sofrimento demasiado e desnecessário ao animal, atendendo os preceitos básicos de abate humanitário para animais de açougue.

8. EXPERIMENTO II: INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MÉTODOS DE INSENSIBILIZAÇÃO PRÉ-ABATE SOB PARÂMETROS FÍSICOS, QUÍMICOS E SENSORIAIS DA CARNE REFRIGERADA DE BIJUPIRA

8.1. MATERIAL E MÉTODOS

Nesta etapa os peixes foram submetidos aos mesmos tratamentos do primeiro experimento e Após a constatação da insensibilização através do protocolo proposto por Kestin e Robb (2002), os peixes foram submetidos à sangria em gelo por meio do corte dos arcos branquiais. Foi realizada filetagem, identificação, embalagem, transporte, congelamento ultrarrápido com duração de 20min, até a obtenção da temperatura interna de -20°C , e depois os mesmos foram mantidos em freezer doméstico a temperatura de -18°C por 180 dias. Em cada ponto amostral os filés de cada tratamento eram previamente descongelados em BOD, com temperatura constante de 4°C por 24h, assim o dia 0 de estocagem refere-se ao 2º dia (48h) após o abate, que foi o tempo necessário para a realização de todos os procedimentos descritos anteriormente.

8.1.1. Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV)

As bases nitrogenadas voláteis (BNV) foram determinadas em três filés de cada tratamento durante o período de armazenagem sob congelamento de acordo com Howgate, (1976).

8.1.2. Cor instrumental

A medida de cor instrumental foi realizada em três filés esquerdos, com o auxílio de um colorímetro portátil (Miniscan XE, Hunterlab), previamente calibrado com padrão branco e preto antes de cada análise, operando com fonte de luz D65, ângulo de observação de 10° e abertura de célula de medida de 30 mm. A cor foi expressa utilizando-se os padrões de cor do sistema CIE $L^*a^*b^*$, (1976) onde: L^* expressa luminosidade, a^* , a intensidade da cor de vermelho a verde e b^* a intensidade da cor amarela a azul.

8.1.3. Oxidação Lipídica

Medida através das do desenvolvimento de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico segundo Tarladgis, Watts e Younathan, (1960).

8.1.4. Desnaturação Proteica

Medida por calorímetro diferencial de varredura DSC-TA2010, com controlador TA5000 (TA Instruments), pela metodologia descrita por Furukawa et al., (2004).

8.1.5. Capacidade de retenção de água e a perda na cocção foi e perda de água por gotejamento

Para avaliar a capacidade de retenção de água e a perda na cocção foi e perda de água por gotejamento foi utilizado o método descrito por Grau e Hamm, (1957).

8.1.6. Lipídios Totais e Degradação de Ácidos Graxos

Em cada ponto amostral as amostras foram coletadas e liofilizadas por 72 horas. Posteriormente foram mantidas em nitrogênio líquido até serem transportadas ao Departamento de Cêncicia de Produção Agroalimetar e do Ambiente - Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente (DISPAA) - da Universidade de Florença, Itália.

A análise de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foi realizada utilizando o método modificado de Morrison e Smith, (1964). Os lipídios foram saponificados com KOH 0,5M em metanol, e os ácidos graxos (AG) foram hidrolisados por adição de HCl 2 N. Os ésteres metílicos foram preparados por transmetilação, utilizando fluoreto de boro-metanol a uma concentração de 14%. AG metilados foram dissolvidos em éter de petróleo, secos, e finalmente recuperado através de retroevaporação em 1mL de hexano. A composição de AG foi determinada por cromatografia em fase gasosa (CG) utilizando um cromatógrafo de gás Varian GC 430 (Agilent, Palo Alto, CA, EUA) equipado com um detector de ionização de chama e uma coluna capilar Supelco

Omegawax TM 320 (30m × 0,32ID mm, 0,25mm e filme de polietileno glicol de fase ligada; Supelco, Bellefonte, PA, EUA). A temperatura do forno foi mantida a 100°C durante 2min, aumentou para 160°C ao longo de 4min a uma taxa de 12°C/min, e depois aumentada para 220°C ao longo de 14min a uma taxa de 3°C/min e mantida a 220°C durante 25min. O injetor e as temperaturas do detector foram fixados em 22°C e 300°C, respectivamente. Um microlitro da amostra em hexano foi injetada na coluna com o gás transportador (Hélio) mantida a um fluxo constante de 1,5mL/min. A razão de separação foi de 1:20min.

Os cromatogramas foram analisados com auxílio do software Galaxie Chromatography Data System 1.9.302.952 (Agilent). Os ácidos graxos foram identificados por comparação do tempo de retenção com a mistura FAME padrão FAME componente Supelco 37 (Supelco). Os AGs foram quantificados através de curvas de calibração usando ácido tricosanóico (C23:0) (Supelco) como referência e expressos em porcentagem.

Através dos dados do perfil lipídico, foi determinada a qualidade nutricional da fração lipídica do Bijupirá liofilizado através de dois índices: aterogenicidade (IA), trombogenicidade (IT). Para tal avaliação, foram utilizados os seguintes cálculos sugeridos por (T.L.V.; D.A.T., 1991):

Índice de Aterogenicidade

$$(IA) = [(C12:0 + (4 \times C14:0) + C16:0)] / (\sum AGMI + \sum n6 + \sum n3)$$

Índice de Trombogenicidade

$$(IT) = (C14:0 + C16:0 + C18:0) / [(0,5 \times \sum AGMI) + (0,5 \times \sum n6 + (3 \times \sum n3) + (\sum n3 / \sum n6)]$$

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

9.1. Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNV)

Para peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNV atinge 5 a 10mg.N.100 g⁻¹ de carne; peixes com frescor razoável podem atingir até 15 a 25mg.N.100 g⁻¹. No início da putrefação, este teor pode variar de 30 a 40mg.N.100 g⁻¹ e, quando bastante deteriorado, tal conteúdo deve encontrar-se acima de 50mg.N.100 g⁻¹ (ØSTLI et al., 2013). No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece o valor de 30mg.N.100 g⁻¹ como limite máximo de BNVT para pescado fresco, exceto para elasmobrânquios (BRASIL, 2000)

Neste trabalho, a variável BNV não diferiu significativamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos e apresentou queda durante o período de conservação sob congelamento, variando entre 11,31mg.N.100 g⁻¹ no primeiro ponto amostral, atingindo 9,44mg.N.100 g⁻¹ no último ponto (Figura 18), provavelmente devido a dinâmica experimental utilizada neste experimento onde em cada ponto amostral foram utilizados indivíduos diferentes, mas esta queda pode ser considerada como um comportamento de estabilidade tendo em vista a sua pequena variação, sempre dentro ou bastante próxima do limite considerado para peixes em excelente estado de conservação. Uma vez que, com o avançar da degradação espera-se que os níveis de BNV aumentem, pois este parâmetro indica justamente a formação de compostos altamente tóxicos, tais como incluindo a amónia, monoetilamina, dimetil- amina, trimetilamina, e outras aminas biogênicas provenientes da degradação microbiana de compostos proteicos ou não (CHANG; WONG, 2012) pode-se afirmar que o método de congelamento rápido e a manutenção em freezer comum foram suficientes para a manutenção do frescor do pescado. Além disso, é importante ressaltar que nenhum dos métodos de insensibilização pré-abate fez com que o pescado atingisse o valor máximo de BNV indicado pelo Regulamento Da Inspeção Industrial e Sanitária De Produtos De Origem Animal- RIISPOA (30mg.100g⁻¹) para descarte de pescado, assim como o observado por Vargas et al. (2013), em seu estudo com matrinxãs, submetidas

aos mesmos métodos de insensibilização pré-abate, porém estocadas sob refrigeração.

Os resultados obtidos aqui foram expressivamente melhores que os de Mi et al. (2012), que obtiveram $26,79\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de BNV em filés de carpas capim (*Ctenopharyngodon Idellus*) insensibilizadas por narcose por CO_2 após 35 dias de congelamento, ou ainda que os de Matos et al., (2010) estudando o estresse pré-abate em dourada (*Sparus aurata*) que atingiram um valor de $71,8\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ após 33 dias de estocagem.

Figura 18: Comportamento de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNV) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO_2 estocados por 180 dias.

9.2 Oxidação Lipídica

A oxidação lipídica de produtos marinhos é causada por auto-oxidação e é avaliada pelo teor de malondialdeído (MDA), que é um produto secundário deste tipo de degradação. O valor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) é amplamente utilizado como um indicador do grau de oxidação lipídica (CAI et al., 2014). Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que não houve diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$), no entanto o comportamento deste parâmetro variou dentro do tempo de conservação conforme a Figura 19.

Figura 19: Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBA) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO₂ estocados por 180 dias.

Nazemroaya; Sahari; Rezaei, (2009) estudando o comportamento da gordura corporal de filés congelados de cavala (*Scomberomorus commersoni*) e tubarão-flamengo (*Carcharhinus dussumieri*) encontraram nesta segunda espécie valores que variaram entre 0,4 a 0,8mg MA/Kg durante 6 meses de estocagem sob congelamento. Tal fato permite inferir que o Bijupirá tem o perfil lipídico muito similar as espécies de cação, ou seja, baixo teor de gordura corporal, o que favorece seu congelamento, já que este tipo de armazenamento está associado a processos de oxidação de lipídio em peixes, onde diferentes tipos de enzimas endógenas podem ser envolvidas, favorecendo o fenômeno de rancidez oxidativa (VELIOĞLU; TEMIZ; BOYACI, 2015). Contudo, o congelamento e o descongelamento podem causar lise de mitocôndrias e lisossomos e alterar a distribuição de enzimas e fatores que afetam a taxa de reações enzimáticas nos tecidos, de modo que danos à deterioração do peixe congelados podem ser aceleradas (ORTIZ et al., 2009).

A partir dos 120 dias de estocagem, o TBARS passa a apresentar um comportamento de queda, inesperado uma vez que este tipo de substâncias não são decompostas com o tempo de estocagem. O que explica este evento é o fato de o TBARS não ser muito específico quando pouca quantidade de MDA é formada durante o processo de peroxidação lipídica, o que ocorre em

processos de congelamento eficaz(BERTOLIN et al., 2010; KARLSDOTTIR et al., 2014) .

9.3. Desnaturação Proteica

Os métodos de insensibilização não influenciaram significativamente ($P>0,05$) na desnaturação de proteínas, onde todos os tratamentos tiveram comportamentos idênticos e variaram apenas dentro do tempo de observação.

O termograma de bijupirá mostrou duas transições endotérmicas bem definidas. O primeiro pico foi observado a temperaturas entre 53 e 55°C, correspondente à desnaturação da miosina, enquanto que a desnaturação de actina corresponde ao segundo pico a 74 e 75,5°C. Não houve efeito significativo ($P>0,05$) dos métodos de insensibilização, sobre a temperatura ou a entalpia de desnaturação das proteínas estudadas, porém ambas variáveis apresentaram comportamentos distintos ao longo do período de observação (Figura 20, Figura 21, Figura 22 e Figura 23), onde para de a temperatura de degradação da actina não possibilitou elaborar um modelo matemático que explicasse este comportamento. Roth et al. (2014) também não encontraram nenhuma mudança significativa de desnaturação da miosina e actina durante o armazenamento refrigerado de linguado (*Scophthalmus maximus*).

Figura 20: Temperatura de desnaturação da Miosina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO₂ estocados por 180 dias.

A análise de DSC pode ser particularmente útil para distinguir peixes frescos de congelados (MATOS et al., 2011), talvez por isso, o presente estudo não tenha sido capaz de identificar as diferenças entre os métodos de insensibilização aplicados, uma vez que após o abate, todos os filés foram submetidos ao congelamento ultra rápido.

Tironi (2007) estudando o congelamento e descongelamento de Robalo (*Dicentrarchus labrax*) percebeu apenas pequenas alterações em relação ao músculo fresco, quando não apresentam alterações significativas, indicando que não há alterações na estabilidade térmica das proteínas musculares correspondentes, enquanto que para peixes congelados, este parâmetro foi ligeiramente menor. Ainda neste mesmo estudo, a entalpia desnaturação não apresentaram mudanças significativas, sugerindo ausência de desnaturação da miosina, proteínas sarcoplasmáticas, e actina, devido ao tratamento de congelamento/descongelamento.

Figura 21: Temperatura de desnaturação da Actina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO₂ estocados por 180 dias.

Figura 22: Entalpia de desnaturação da Actina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO₂ estocados por 180 dias.

Figura 23: Entalpia de desnaturação da Miosina de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO₂ estocados por 180 dias.

O conhecimento a degradação proteica do músculo de peixes associado ao estresse pré-abate ainda é uma ferramenta pouco utilizada na literatura (MATOS et al., 2011), dificultando a compreensão dos dados obtidos no presente estudo.

9.4. Perda de Água Por Gotejamento, Perda de Água Por Cocção e Capacidade de Retenção de Água

A capacidade de carne fresca para reter a umidade é uma das características mais importantes de qualidade de matérias-primas, pois além da perda de peso dos produtos, acarretando em perdas comerciais, ocorre também a perda nutricional, pois no exudato perdido, encontram-se proteínas e lipídios hidrossolúveis (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). O teor e temperatura de congelamento, a duração do armazenamento congelado e teor e método de descongelamento são fatores citados por afetarem a perda de água no músculo (CHEVALIER et al., 1999).

No presente trabalho foram estudadas as três principais variáveis relativas à perda de água muscular em peixes que foram discutidas a seguir. Para perda de água por gotejamento (PPG) não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($P < 0,05$), no entanto esta variável mostrou aumento significativo ao longo do período de estocagem, variando de 1,20% no tempo 0, e atingindo 11,69% de perda aos 180 dias de estocagem) (Figura 24).

Figura 24: Perda de Água por Gotejamento (PPG) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletroanestesia e Anestesia por CO₂ estocados por 180 dias.

A quantidade de água perdida durante o processo de descongelamento reduz a qualidade do pescado devido à perda de nutrientes e ao favorecimento do crescimento bacteriano e se dá devido aos cristais de gelo desenvolvidos durante a armazenagem congelada, que perfuram as células e aumentam a quantidade de água no ambiente extracelular (OLSSON; OLSEN; OFSTAD, 2003).

Bjørnevik e Solbakken, (2010) observaram uma maior PPG em filés de bacalhau (*Gadus morhua*) congelado, submetidos a estresse pré-abate do que em peixes não estressados, no entanto estes autores tiveram um período amostral de 14 dias, pois afirmam que os períodos prolongados de congelamento são capazes de mascarar eventuais danos gerados pelo manejo pré-abate inadequado ou por método de insensibilização ineficiente. Mi et al., (2012) comparando o efeito do resfriamento e do congelamento para carpa capim (*Ctenopharyngodon Idellus*) encontraram valores de PPG 4,0 a 4,7% superiores para o segundo método de processamento, porém sem atingir os valores verificados neste estudo (11,69% aos 180 dias de estocagem) (Figura 24). Lerfall et al., 2015) e Roth et al., (2009) também não encontraram relação entre o estresse pré-abate e a PPG em salmão do atlântico (*Salmo salar*).

Figura 25: Perda de Água por Cocção (PAC) de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO2 estocados por 180 dias.

Para perda de água por cocção os tratamentos foram diferentes entre si ($P < 0,05$) e apresentaram comportamentos diversos ao longo do tempo de estocagem, onde os peixes insensibilizados por eletronarcose apresentaram maiores médias e maior elevação da PAC ao longo do tempo, enquanto os de mais tratamentos tem comportamento similar e mantém a média de perda de água por cocção constante durante o período de estocagem (Figura 25).

Figura 26: Capacidade de Retenção de Água (CRA) filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO2 estocados por 180 dias.

No presente estudo, os três tratamentos diferiram entre si para a avaliação de CRA, onde a narcose por CO₂ apresentou menor capacidade de

retenção de água durante todo o período de conservação (Figura 26). Este fato se deve a ação do CO₂, pois este interfere no transporte de oxigênio sanguíneo resultando na alteração do metabolismo que deixa de ser aeróbico e passa a ser anaeróbico, esgotando as reservas de ATP muscular, acelerando a formação de ácido láctico e, conseqüentemente, levando a uma diminuição do pH muscular (VARGAS et al., 2013). Isso explica a diminuição rápida do pH pós *mortem* que resulta em um início precoce de *rigor mortis* (BJØRLYKKE et al., 2013) acelerando a desnaturação de proteínas musculares resultando menor capacidade de retenção de água (CONCOLLATO et al., 2014).

9.5. Cor L*, a* e b*

Estresse pré-abate é conhecido por afetar cor filé devido à glicólise post-mortem e pelo desenvolvimento e instalação precoce do *rigor mortis* (MISIMI et al., 2008). No presente estudo a luminosidade (L) e a intensidade de amarelo (b*) não foram significativamente ($P>0,05$) afetadas pelos métodos de insensibilização testados (Figura 27 e Figura 28). Para intensidade de vermelho (a*) houve diferença significativa entre os tratamentos ($P<0,05$) onde os peixes insensibilizados por eletronarcose apresentaram maiores médias da coloração vermelha, durante todo o período amostral (Figura 29).

Figura 27: Transparência de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO₂ estocados por 180 dias.

O Estresse pré-abate aumenta a luminosidade do filé (ROBB; KESTIN; WARRISS, 2000; ROTH et al., 2009), como foi verificado no presente estudo. A carpa comum, (*Cyprinus carpio*), insensibilizada por narcose CO₂ também apresentaram maior transparência, porém apresenta maior intensidade de vermelho (RAHMANIFARAH; SHABANPOUR; SATTARI, 2011). Digre et al, (2011) afirmam que valores mais elevados de a* logo após o abate são resultado da tentativa de fuga, quando o sangue sai do intestino e concentra-se nos músculos, aumentando assim a intensidade de vermelho nos filés. No entanto, outros autores afirmam que peixes insensibilizados por eletronarcose podem apresentar elevados valores de a* devido a intensidade do insulto elétrico no momento da insensibilização, que pode romper vasos sanguíneos musculares, comprometendo a aparência do filé (LINES et al., 2003; MORZEL; SOHIER; VAN DE VIS, 2003; ROBB et al., 2002; VARGAS et al., 2013)

Figura 28: Intensidade de Amarelo de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO_2 estocados por 180 dias.

A intensidade da coloração amarela parece estar mais relacionada ao tipo de processamento manejo pós-abate, que com o estresse pré-abate, por ter ligação com a oxidação de lipídios e mioglobina durante a estocagem (TOLSTOREBROV; EIKEVIK; INDERGÅRD, 2014)

Figura 29: Intensidade de vermelho de filés congelados de Bijupirás abatidos por Hipotermia, Eletronarcose e Narcose por CO_2 estocados por 180 dias.

9.6. Lipídios Totais e Degradação de Ácidos Graxos

A **Erro! Fonte de referência não encontrada.** traz os principais ácidos graxos que foram identificados nos peixes utilizados para este estudo. Pode-se notar que a composição inicial em ácidos graxos dos animais dos três grupos já era bastante diferente, ainda que todos tenham sido submetidos ao mesmo sistema de criação e tenham recebido a mesma dieta.

Tabela 2: Perfil de ácidos graxos e os índices de Saudabilidade de lipídios de filés de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate (g.100g-1).

Ac. Graxo	Tratamentos				Erro Padrão
	Hipotermia	Eletronarcorese	Narcorese por CO ₂	Significância	
C14:0	0,552 ^a	0,712 ^a	0,796 ^a	ns	0,054
C16:0	2,723 ^a	3,584 ^a	3,713 ^a	ns	0,204
C18:0	0,870 ^a	1,115 ^a	1,232 ^a	ns	0,074
ΣSFA	4,144^a	5,410^a	5,741^a	ns	0,068
C16:1n7	0,744 ^a	0,827 ^a	0,954 ^a	ns	0,061
C18:1n9	3,315 ^a	3,492 ^a	3,816 ^a	ns	0,197
C18:1n7	0,580 ^a	0,688 ^a	0,806 ^a	ns	0,054
C20:1n9	0,202 ^a	0,281 ^a	0,301 ^a	ns	0,017
C22:1n11	0,062 ^b	0,092 ^a	0,094 ^a	**	0,002
ΣMUFA	4,902^a	5,380^a	5,970^a	ns	0,065
C18:2n6 (LA)	0,638 ^a	0,914 ^a	1,431 ^b	**	0,046
C20:4n6	0,132 ^a	0,190 ^{ab}	0,207 ^b	*	0,011
ΣPUFA n6	0,770^b	1,104^{ab}	1,637^a	*	0,072
C18:3n3 (ALA)	0,137 ^a	0,199 ^{ab}	0,255 ^b	*	0,013
C20:5n3 (EPA)	0,171 ^a	0,341 ^b	0,569 ^c	**	0,020
C22:5n3	0,051 ^a	0,125 ^a	0,271 ^b	**	0,013
C22:6n3 (DHA)	0,466 ^a	0,785 ^b	1,219 ^c	**	0,039
ΣPUFA n3	0,824^c	1,449^b	2,313^a	*	0,029
Índices de Saudabilidade					
Razão n6:n3*	0,781 ^c	0,887 ^b	1,125 ^a	**	0,074
LA:ALA	4,617 ^b	4,673 ^b	5,621 ^a	**	0,080
IA	0,507 ^b	0,735 ^a	0,818 ^a	**	0,019
IT	0,181 ^b	0,233 ^{ab}	0,320 ^a	*	0,020
HH	1,173 ^b	1,386 ^b	2,138 ^a	**	0,043

Letras minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos. SFA, ácidos graxos saturados; MUFA, ácidos graxos monoinsaturados; PUFA, ácidos graxos poliinsaturados; LA, o ácido linoleico; ALA, ácido alfa-linolênico; EPA, ácido eicosapentaenoico; DHA, ácido docosahexaenóico; IA, índice aterogênico; IT, índice trombogênico; HH, relação hipocolesterolêmicos/hipercolesterolêmicos. Significância dentro critério: * P<0,05; ** P<0,01; ns, não significativo. *A Razão n6:n3 apresentada na tabela leva em consideração todos os n6 e n3 encontrados no músculo dos peixes estudados e não só os evidenciados neste trabalho.

Os ácidos graxos mais abundantes encontrados nos exemplares de Bijupirá utilizados neste estudo foram os MUFA, que representaram 46,07%, seguidos pelos SFA com 38,94%% dos ácidos graxo totais. Os PUFA representaram 14,98% dos ácidos graxos totais.

Na literatura existem poucos trabalhos que relacionem os métodos de insensibilização de peixes com a degradação de ácidos graxos. Os estudos são mais voltados à dieta dos peixes ou a contribuição nutricional do pescado à saúde humana, com o objetivo de como manter as características benéficas já conhecidas dos lipídios presentes neste alimento durante o processo de conservação. Assim, pouco se sabe sobre o efeito do estresse pré-abate na estabilidade deste componentes.

Os ácidos graxos saturados (SFA) possuem como característica elevar os níveis de LDL-colesterol e reduzir os níveis de HDL-colesterol, o que contribui para a elevação dos riscos de doença coronariana. No entanto, esses ácidos não apresentam o mesmo efeito hipercolesterolêmico (TONIAL et al., 2011). Os ácidos graxos saturados que apresentam maior poder hipercolesterolêmico ou aterogênico são os ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0) e láurico (12:0), em ordem decrescente de atividade. O ácido esteárico (18:0), apesar de saturado, parece não possuir efeito sobre as lipoproteínas sanguíneas (TONIAL et al., 2010). Os principal SFA encontrado nos peixes utilizados neste trabalho foi o C14:0 e C18:0, os quais não apresentaram comportamentos significativamente distintos entre os tratamentos ($P > 0,05$), apenas no decorrer do tempo de estocagem variaram em uma escala bastante reduzida ($P < 0,05$) , e C16:0 que não apresentou diferença significativa nem entre tratamentos e nem dentro do tempo de conservação, por isso não tem os dados apresentados aqui. Estes resultados permitem inferir que nenhum dos tratamentos comprometeu a estabilidade destes componentes nos músculos dos peixes durante o período de observação.

9.6.1. Ácidos Graxos Polinsaturados

Como n-3 PUFAs, especialmente aqueles com 20 a 22 átomos de carbono, encurtam o processo de biossíntese dos ácidos eicosanóides, o seu elevado conteúdo de lipídios pode prevenir eficazmente o aparecimento e desenvolvimento de doenças cardiovasculares, tal como foi confirmado por estudos clínicos (LARSEN; EILERTSEN; ELVEVOLL, 2011). Os principais PUFAs n3 encontrados neste estudo foram o C:18:3n3, C20:5n3, C22:5n3 e C22:6n3, cujas concentrações aumentaram significativamente ($P < 0,05$) dentro do tempo de estocagem porém não sofreram interferência dos métodos de insensibilização utilizados (Figura 30, Figura 31, Figura 32 e Figura 33).

Figura 30: Alteração de C:18:3 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias.

Figura 31: Alteração de C20:5 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias.

Figura 32: Alteração de C22:5 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias.

Figura 33: Alteração de C22:6 n3 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias.

Os principais PUFA n6 encontrados neste estudo foram o C18:2 n6 e C20:4 n6, cujas concentrações aumentaram significativamente ($P < 0,05$) dentro do tempo de estocagem porém não sofreram interferência dos métodos de insensibilização utilizados (Figura 34 e Figura 35).

Figura 34: Alteração de C18:2 n6 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias.

Figura 35: Alteração de C20:4 n6 de carne congelada de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate estocados por 180 dias.

O ácido linoleico (LA), ômega-6 (n-6) é precursor do ácido araquidônico (AA, 20:4n-6), um ácido graxo importante no crescimento fetal, controle da pressão sanguínea e controle da agregação plaquetária (TONIAL et al., 2010). O ácido LNA é o precursor dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 (n-3) como o ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e docosaexaenoico (DHA, 22:6n-3), que estão diretamente envolvidos na redução de fatores de risco associados a doenças cardiovasculares, psoríase, depressão e diabetes . Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que os métodos de insensibilização utilizados não foram capazes de comprometer a estabilidade destes nutrientes dentro do período de estocagem observado.

9.6.1. Índices de Saudabilidade

9.6.2. Relação n6/n3

As razões n6/n3 têm sido utilizadas com frequência para analisar o teor nutricional de óleos e gorduras, sendo recomendados pelo Departamento de Saúde da Inglaterra (DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY., 1994) valores menores que 4,0. No presente estudo, os peixes utilizados nos

três tratamentos tiveram valores iniciais da relação n-6/n-3 significativamente diversos (hipotermia: 0,781; eletronarcose: 0,887; narcose por CO₂:1,125) (P<0,05), no entanto a diferença observada durante o período de estocagem pode ser atribuída aos métodos de insensibilização aplicados a cada grupo uma vez que o comportamento para esta observação houve diferença significativa (P<0,05) (Figura 36). Os peixes insensibilizados por eletronarcose e narcose por CO₂, apresentaram queda na relação n6/n3, favorecendo a qualidade nutricional deste produto enquanto os peixes abatidos por hipotermia mantiveram esta relação estável, sem ganhos nutricionais para esta relação.

Figura 36: Relação n6/n3 de filés de Bijupirás, submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate.

9.6.3. Índice Trombogênico e Índice Aterogênico

Os índices de aterogenicidade e trombogenicidade (IA e IT, respectivamente) indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, ou seja, quanto menores os valores de IA e IT, maior é quantidade de ácidos graxos anti-aterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e, consequentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de

doenças coronarianas (ZHENG et al., 2009). Neste estudo, os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) encontrados no Bijupirá (Figura 37 e Figura 38) foram 0,507 e 0,181, bastante próximos aos encontrados para salmão (*Salmo salar*) 0,56 na forma *in natura* (0,50 e 0,23g.100g⁻¹), indicando que o consumo destas espécies pode prevenir o aparecimento de doenças coronarianas (TONIAL et al., 2010). Apesar de não haver valores recomendados para os índices de aterogenicidade e trombogenicidade, considera-se que valores mais baixos exprimem uma relação de ácidos graxos mais favoráveis em termos de saúde. Sendo assim, a redução nos valores destes índices representa um efeito benéfico para a saúde humana, uma vez que previnem surgimento de doenças coronarianas (TUFAN; KORAL; KÖSE, 2013).

Figura 37: Índice Trombogênico de filés de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate

Figura 38: Índice Aterogênico de filés de Bijupirás submetidos a diferentes métodos de insensibilização pré-abate.

10. CONCLUSÕES

As variações ocorridas nos parâmetros DSC, TBARS e BNV , na prática indicam estabilidade da matéria prima estudada, nos permitindo afirmar que os métodos estudados não interferiram na qualidade do produto final, sob o ponto de vista químico.

As variáveis intensidade de vermelho, capacidade de retenção de água perda de água por cocção são negativamente afetadas pela eletronarcose, porem sem comprometer o aspecto a vida de prateleira do produto, quando comparada aos demais métodos de insensibilização.

A relação da variação dos ácidos graxo com os métodos de insensibilização ainda precisa ser melhor investigada.

Não havendo prejuízos a qualidade do produto e mostrando-se mais eficaz segundo os preceitos de bem-estar animal, a eletronarcose é o método mais indicado para a insensibilização pré-abate de bijupirás.

11. DIFICULDADES ENCONTRADAS

Para a execução deste trabalho a principal dificuldade foi a obtenção dos peixes. Apesar de muitos programas de incentivo para o cultivo da espécie, pode-se observar que os produtores ainda não recebem o fomento de forma adequada e utilizam de conhecimento empírico para executar a produção, comprometendo o desenvolvimento da atividade e do meio ambiente, uma vez que, muitos cultivos são instalados em locais inapropriados e de forma amadora.

Este fator impede que a execução do experimento seja feita com todos os seus primores, uma vez que um trabalho nessas proporções requer infraestrutura e suporte apropriados para que os resultados sejam proporcionais ao empenho que é dedicado a ele.

12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACERETE, L. et al. Comparison of two stunning/slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 287, n. 1-2, p. 139–144, fev. 2009.

ANDRÉS-BELLO, A. et al. Effect of pH on Color and Texture of Food Products. **Food Engineering Reviews**, v. 5, n. 3, p. 158 – 170, 9 maio 2013.

ARISTOY, M. C. et al. **Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis**. [s.l.] Taylor & Francis Group, 2010.

ASHLEY, P. J. Fish welfare: Current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 104, n. 3-4, p. 199–235, maio 2007.

BAGNI, M. et al. Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v. 263, n. 1-4, p. 52–60, mar. 2007.

BARBOSA, A.; VAZ-PIRES, P. Quality index method (QIM): development of a sensorial scheme for common octopus (*Octopus vulgaris*). **Food Control**, v. 15, n. 3, p. 161–168, abr. 2004.

BERG, T.; ERIKSON, U.; NORDTVEDT, T. S. Rigor Mortis Assessment of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) and Effects of Stress. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 3, p. 439–446, 1997.

BERTOLIN, T. E. et al. Antioxidantes naturais na prevenção da oxidação lipídica em charque de carne ovina. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 02, p. 83–90, 21 jul. 2010.

BJØRLYKKE, G. A. et al. Slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the presence of carbon monoxide. **Fish physiology and biochemistry**, v. 39, n. 4, p. 871–9, ago. 2013.

BJØRNEVIK, M.; SOLBAKKEN, V. Preslaughter stress and subsequent effect on flesh quality in farmed cod. **Aquaculture Research**, p. 467–474, mar. 2010.

BRASIL. **REGULAMENTO TÉCNICO DE MÉTODOS DE INSENSIBILIZAÇÃO PARA O ABATE HUMANITÁRIO DE ANIMAIS DE AÇOUGUEO**
TitleMinistério da Agricultura. Instrução Normativa nº.3, de 07 de janeiro de 2000., 2000.

BURNS, G. B.; KEE, P. J.; IRVINE, B. B. Objective procedure for fish freshness evaluation based on nucleotide changes using a HPLC system. **Canadian Technical Reports of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 1373, p. 35, 1985.

CAI, L. et al. Physicochemical responses and quality changes of red sea bream (*Pagrosomus major*) to gum arabic coating enriched with ergothioneine

treatment during refrigerated storage. **Food chemistry**, v. 160, p. 82–9, 1 out. 2014.

CAKLI, S. et al. Comparison of the shelf lives of map and vacuum packaged hot smoked rainbow trout (*Onchoryncus mykiss*). **European Food Research and Technology**, v. 224, n. 1, p. 19–26, 21 mar. 2006.

CAPPELN, G.; JESSEN, F. ATP , IMP , and Glycogen in Cod Muscle at Onset and During Development of Rigor Mortis. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 67, n. 3, p. 991–995, 2002.

CHANG, H.; WONG, R. Textural and biochemical properties of cobia (*Rachycentron canadum*) sashimi tenderised with the ultrasonic water bath. **Food Chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1340–1345, jun. 2012.

CHEVALIER, D. et al. High Pressure Thawing of Fish – Whiting / : Influence of the Process Parameters on Drip Losses. p. 25–31, 1999.

CONCOLLATO, A. et al. Effect of carbon monoxide for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) slaughtering on stress response and fillet shelf life. **Aquaculture**, v. 433, p. 13–18, set. 2014.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. [s.l: s.n.].

DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY. Nutritional aspects and cardiovascular disease: report on health and social subjects. **HMSO, London**, n. 46, p. 1–178, 1994.

DIGRE, H. et al. Electrical stunning of farmed Atlantic cod *Gadus morhua* L.: a comparison of an industrial and experimental method. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 1190–1202, nov. 2009.

EMBRAPA. **A aquicultura e a atividade pesqueira**. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/index.php3?sec=aquic:::27>>. Acesso em: 26 mar. 2014.

ERIKSON, U.; BEYER, A. R.; SIGHOLT, T. Muscle High-Energy Phosphates and Stress Affect K-Values during Ice Storage of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, p. 43–47, jan. 1997.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare on a request from the Commission related to welfare aspects of the main systems of stunning and killing the main commercial species of animals 1 Adopted on the 15 th of June 2004. **The EFSA Journal (2004)**, v. 45, p. 1–29, 2004.

FAO. **THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE** Rome, 2012.

FARM ANIMAL WELFARE COMMITTEE. **Opinion on the Welfare of Farmed Fish**. Disponível em: <<http://fishcount.org.uk/farmed-fish-welfare/farmed-fish-slaughter/uk-fawc-calls-for-eu-to-end-inhumane-farmed-fish-slaughter>>.

FERNANDES, A. M. DA R.; TOMASI, M.; PESSATTI, M. L. SYSTEM TO EVALUATE FISH QUALITY. **Revista Produção Online**, v. 6, p. 71–95, 2006.

FURUKAWA, V. A.; SOBRAL, P. J. A.; HABITANTE, A.M.Q.B. GOMES, J. D. F. Análise térmica da carne de coelhos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 265–269, 2004.

FURUKAWA, V. A. V. A. et al. Análise térmica da carne de coelhos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 265–269, 2004.

GASCO, L. et al. Effects of different slaughtering methods on rigor mortis development and flesh quality of tench (Tinca tinca). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 30, p. 58–63, 24 jun. 2014.

GIOVANINI, A.; SARTORI, D. O.; AMANCIO, R. D. Pescado : importância nutricional e consumo no Brasil. **REVISTA SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL**, v. 2, n. 19, p. 83–93, 2012.

GOULAS, A. E.; KONTOMINAS, M. G. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (Scomber japonicus): biochemical and sensory attributes. **Food Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 511–520, dez. 2005.

GRAU, R.; HAMM, R. Ubers das Wasserbindungsvermogen des Saugetiermuskels. **Mitt. Uber die bestimmung der wasserbindung der muskels. Zeitschr fur Lebens. Untersuchung Forschung**, v. 105, p. 446–460, 1957.

HALL, G. M. et al. **Fish processing: sustainability and new opportunities**. 2011. ed. Oxford: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2007.

HALLIER, A. et al. Influence of farming conditions on colour and texture of European catfish (Silurus glanis) flesh. **Journal os the Science od Food ans Agriculture**, n. 87, p. 814–823, 2007.

HANSEN, A. Å. et al. The effect of crowding stress on bacterial growth and sensory properties of chilled Atlantic salmon fillets. **Journal of food science**, v. 77, n. 1, p. S84–90, jan. 2012.

HERNÁNDEZ, M. D. et al. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (Argyrosomus regius) fillets during ice storage. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 237–245, maio 2009.

HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Torry Research Station. Aberdeen**, v. 4, p. 564, 1976.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat science**, v. 71, n. 1, p. 194–204, set. 2005.

HUMAN SLAUGHTER ASSOCIATION. **Online Guide to humane harvesting of fish**. Disponível em: <<http://www.hsa.org.uk/downloads/media-release-online-guide-humane-handling-of-fish.pdf>>.

HUNTINGFORD, F. et al. The implications of a feelings-based approach to fish welfare: a reply to Arlinghaus et al. **Fish and Fisheries**, v. 8, n. 3, p. 277–280, set. 2007.

HUSS, H. H.; ABABOUC, L.; GRAM, G. **Assessment and management of seafood safety and quality**. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003.

KAMALAKANTH, C. K. et al. Effect of high pressure on K-value, microbial and sensory characteristics of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) chunks in EVOH films during chill storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 12, n. 4, p. 451–455, out. 2011.

KARLSDOTTIR, M. G. et al. Effect of thermal treatment and frozen storage on lipid decomposition of light and dark muscles of saithe (*Pollachius virens*). **Food Chemistry**, v. 164, p. 476–484, 2014.

KNOWLES, T. G. et al. Effect of electrical stunning at slaughter on the quality of farmed turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture Research**, v. 39, n. 16, p. 1731–1738, nov. 2008.

KO, W. C.; HSU, K. C. Changes in K value and microorganisms of tilapia fillet during storage at high-pressure, normal temperature. **Journal of food protection**, v. 64, n. 1, p. 94–8, jan. 2001.

KUDA, T. et al. Effects of freshness on ATP-related compounds in retorted chub mackerel *Scomber japonicus*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 7, p. 1186–1190, set. 2007.

LAMBOOIJ, E. et al. Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility. **Aquaculture**, v. 254, n. 1-4, p. 388–395, abr. 2006.

LAMBOOIJ, E. et al. A humane protocol for electro-stunning and killing of Nile tilapia in fresh water. **Aquaculture**, v. 275, n. 1-4, p. 88–95, mar. 2008.

LARSEN, R.; EILERTSEN, K.-E.; ELVEVOLL, E. O. Health benefits of marine foods and ingredients. **Biotechnology advances**, v. 29, n. 5, p. 508–18, 2011.

LERFALL, J. et al. Pre-mortem stress and the subsequent effect on flesh quality of pre-rigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during ice storage. **Food Chemistry**, v. 175, p. 157–165, 2015.

LIAO, I. C. et al. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. **Aquaculture**, v. 237, n. 1-4, p. 155–165, ago. 2004.

LINES, J. A; SPENCE, J. Safeguarding the welfare of farmed fish at harvest. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 153–62, fev. 2012.

LINES, J.; KESTIN, S. Electrical stunning of fish: the relationship between the electric field strength and water conductivity. **Aquaculture**, v. 241, n. 1-4, p. 219–234, nov. 2004.

LINES, J.; KESTIN, S. Electric stunning of trout: power reduction using a two-stage stun. **Aquacultural Engineering**, v. 32, n. 3-4, p. 483–491, abr. 2005.

LOUGOVOIS, V. P.; KYRANAS, E. R.; KYRANA, V. R. Comparison of selected methods of assessing freshness quality and remaining storage life of iced gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Research International**, v. 36, p. 551–560, 2003.

LUND, V.; ROCKLINSBERG, H. Outlining a conception of animal welfare for organic farming systems. **Journal of Agricultural and Environmental Ethics**, v. 14, p. 391–424, 2001.

LYU, F. et al. Effect of slaughter methods on the quality of Chilean jack mackerel (*Trachurus murphyi*) during refrigerated storage. **Journal of Food Science and Technology**, p. 2–7, 23 ago. 2013.

MASSA, A. E. et al. Postmortem changes in quality indices of ice-stored flounder (*Paralichthys Patagonicus*). **Journal of Food Biochemistry**, v. 29, p. 570–590, 2005.

MATOS, E. et al. Effect of harvesting stress and slaughter conditions on selected flesh quality criteria of gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v. 305, n. 1-4, p. 66–72, jul. 2010.

MATOS, E. et al. Effect of harvesting stress and storage conditions on protein degradation in fillets of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*): A differential scanning calorimetry study. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 270–276, maio 2011.

MI, H. et al. Comparison of Superchilling and Freezing on the Microstructure, Muscle Quality and Protein Denaturation of Grass Carp (*Ctenopharyngodon Idellus*). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 37, p. no–no, 20 abr. 2012.

MOOD, A.; BROOKE, P. **Estimating the Number of Farmed Fish Killed in Global Aquaculture Each Year.** Disponível em: <fishcount.org.uk/published/std/fishcountstudy2.p>.

MØRKØRE, T. et al. Impact of starvation and handling stress on rigor development and quality of Atlantic salmon (*Salmon salar* L). **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 231–238, jun. 2008.

MORRISON, W. R.; SMITH, L. M. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. **The Journal of Lipid Research**, v. 5, n. 13, p. 600–608, 1964.

MORZEL, M.; SOHIER, D.; VAN DE VIS, H. Evaluation of slaughtering methods for turbot with respect to animal welfare and flesh quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 1, p. 19–28, 1 jan. 2003.

NAZEMROAYA, B. S.; SAHARI, M. A.; REZAEI, M. Effect of frozen storage on fatty acid composition and changes in lipid content of *Scomberomorus commersoni* and *Carcharhinus dussumieri*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 25, p. 91–95, 2009.

OCAÑO-HIGUERA, V. M. M. et al. Postmortem changes in cazon fish muscle stored on ice. **Food Chemistry**, v. 116, n. 4, p. 933–938, out. 2009.

ÓLAFSDÓTTIR, G. et al. Multisensor for fish quality determination. **Food Science and Technology**, v. 15, p. 86 – 93, 2004.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C. et al. How stunning methods affect the quality of Nile tilapia meat. **CyTA - Journal of Food**, n. May, p. 1–7, 15 maio 2015.

OLSEN, S. H. et al. Capture induced stress and live storage of Atlantic cod (*Gadus morhua*) caught by trawl: Consequences for the flesh quality. **Fisheries Research**, v. 147, p. 446–453, out. 2013.

OLSSON, G. B.; OLSEN, R. L.; OFSTAD, R. Post-mortem structural characteristics and water-holding capacity in Atlantic halibut muscle. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 125–133, fev. 2003.

ORAL, N. et al. Application of antimicrobial ice for extending shelf life of fish. **Journal of food protection**, v. 71, n. 1, p. 218–22, jan. 2008.

ORTIZ, J. et al. Rancidity development during the frozen storage of farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Effect of antioxidant composition supplied in the diet. **Food Chemistry**, v. 115, n. 1, p. 143–148, 2009.

ØSTLI, J. et al. How fresh is fresh? Perceptions and experience when buying and consuming fresh cod fillets. **Food Quality and Preference**, v. 27, n. 1, p. 26–34, jan. 2013.

OZOGUL, Y.; OZOGUL, F. Effects of slaughtering methods on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) stored in ice and MAP. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 3, p. 211–216, 1 jul. 2004.

PANTAZI, D. et al. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. **Food microbiology**, v. 25, n. 1, p. 136–43, fev. 2008.

PARISI, G.; FRANCI, O.; POLI, B. M. Application of multivariate analysis to sensorial and instrumental parameters of freshness in refrigerated sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during shelf life. **Aquaculture**, v. 214, n. 1-4, p. 153–167, nov. 2002.

PASTORIZA, L. et al. Influence of sodium chloride and modified atmosphere packaging on microbiological, chemical and sensorial properties in ice storage of slices of hake (*Merluccius merluccius*). **Food Chemistry**, v. 61, n. 1, p. 23–28, 1998.

POLI, B. M. et al. Preliminary results on quality and quality changes in reared meagre (*Argyrosomus regius*): body and fillet traits and freshness changes in refrigerated commercial-size fish. **Aquaculture International**, v. 11, p. 301–311, 2003.

POLI, B. M. Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality. **Italian Journal of Animal Science**, v. 8, p. 139–160, 2008.

PONS-SÁNCHEZ-CASCADO, S. et al. Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. **Food Control**, v. 17, n. 7, p. 564–569, jul. 2006.

PROENÇA, J.C.E.M; BITTENCOURT, P. R. L. **Manual de Piscicultura tropical**, Brasília, 1994. Brasília: Ministério do Meio Ambiente e da Amazônia Legal, 1994.

QUABIUS, E. S.; BALM, P. H.; WENDELAAR BONGA, S. E. Interrenal stress responsiveness of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) is impaired by dietary exposure to PCB 126. **General and comparative endocrinology**, v. 108, n. 3, p. 472–82, dez. 1997.

RAHMANIFARAH, K.; SHABANPOUR, B.; SATTARI, A. Effects of Clove Oil on Behavior and Flesh Quality of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) in Comparison with Pre-slaughter CO₂ Stunning, Chilling and Asphyxia. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 11, p. 139–147, 2011.

RIBAS, L. et al. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: Stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, n. 1-4, p. 250–258, set. 2007.

RITTENSCHÖBER, D.; NOWAK, V.; CHARRONDIÈRE, U. R. Review of availability of food composition data for fish and shellfish. **Food chemistry**, v. 141, n. 4, p. 4303–10, 15 dez. 2013.

ROBB, D. H. .; KESTIN, S. .; WARRISS, P. . Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 182, n. 3-4, p. 261–269, fev. 2000.

ROBB, D. H. .; ROTH, B. Brain activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) following electrical stunning using various field strengths and pulse durations. **Aquaculture**, v. 216, n. 1-4, p. 363–369, fev. 2003.

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

ROTH, B. et al. The influence of anaerobic muscle activity, maturation and season on the flesh quality of farmed turbot. **Aquaculture International**, v. 18, n. 3, p. 461–474, 21 abr. 2009.

RUIZ-CAPILLAS, C. .; MORAL, A. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius*, L) stored in ice. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 7, p. 1030–1032, 2001.

SAMPAIO, L. A.; TESSER, M. B.; JÚNIOR, W. W. Avanços da maricultura na primeira década do século XXI : piscicultura e carcinocultura marinha. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 102–111, 2010.

SATTARI, A. et al. Industrial dry electro-stunning followed by chilling and decapitation as a slaughter method in Claresse ® (*Heteroclinus* sp .) and African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture**, v. 302, n. 1-2, p. 100–105, 2010.

SETH, H. et al. Physiological responses and welfare implications of rapid hypothermia and immobilisation with high levels of CO₂ at two temperatures in Arctic char (*Salvelinus alpinus*). **Aquaculture**, v. 402-403, p. 146–151, jul. 2013.

SGARBIERI, V. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, Degradações, Modificações**. São Paulo/SP: Varela, 1996.

SHIOYA, I.; TAKEMURA, S.; YAMAGUCHI, T. Ventilation of seawater during bleeding suppresses the occurrence of burnt meat in yellowtail *Seriola quinqueradiata*. **Fisheries Science**, v. 77, n. 5, p. 817–822, 3 ago. 2011.

SIKORSKI, Z. . Protein changes in muscle foods due to freezing and frozen storage. **International Journal of Refrigeration**, v. 1, n. 3, p. 173–180, set. 1978.

SILVA, L. K. S. DA. Otimização e padronização do uso da metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. VII, p. 139 – 144, 2008.

ŠIMAT, V. et al. 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**, v. 28, n. April 2010, p. 95–101, 2012.

SIMEONIDOU, S.; GOVARIS, A.; VARELTZIS, K. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. **Food Research International**, v. 30, n. 1, 1998.

SKJERVOLD, P. O. et al. Effects of pre- , in- , or post-rigor filleting of live chilled Atlantic salmon. **Aquaculture**, v. 194, p. 315–326, 2001.

STIEN, L. H. et al. The effects of stress and storage temperature on the colour and texture of pre-rigor filleted farmed cod (*Gadus morhua* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, n. 12, p. 1197–1206, set. 2005.

T.L.V., U.; D.A.T., S. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v. 338, p. 985–992, 1991.

TARLADGIS; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T. Distillation method for determination of malonaldehyde in rancid food. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 37, n. 1, p. 44–48, 1960.

TEJADA, M. Evaluation of Two Quality Indices Related to Ice Storage and Sensory Analysis in Farmed Gilthead Seabream and Seabass. **Food Science and Technology International**, v. 12, n. 3, p. 261–268, 1 jun. 2006.

TIRONI, V.; A., L.; M., DE L. Effects of Pressure-Shift Freezing and Pressure-Assisted Thawing on Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Quality. **Journal of Food Chemistry and Toxicologi**, v. 72, n. 7, p. 381–387, 2007.

TONIAL, I. B. et al. Caracterização físico-química e perfil lipídico do salmão (*Salmo salar* L.). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, p. 93–98, 2010.

TUCKEY, N. P. L.; FORSTER, M. E.; GIESEG, S. P. Effects of rested harvesting on muscle metabolite concentrations and K-values in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) fillets during storage at 15 degrees C. **Journal of food science**, v. 75, n. 5, p. C459–64, jun. 2010.

TUFAN, B.; KORAL, S.; KÖSE, S. The Variations in Proximate Chemical Composition and Fatty Acid Profile in Different Parts of the Thornback Ray (*Raja clavata*) Caught from Black Sea, Turkey. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 22, n. February 2015, p. 83–95, 2013.

VAN DE VIS, H. et al. Is humane slaughter of fish possible for industry? **Aquaculture Research**, v. 34, n. 3, p. 211–220, fev. 2003.

VARGAS, S. C. et al. Evaluation of different stunning methods on aspects of animal welfare and meat quality of matrinxã (*Brycon cephalus*). **Itlian Journal of Food Sacionce**, v. 25, p. 255–263, 2013.

VELIOĞLU, H. M.; TEMİZ, H. T.; BOYACI, I. H. Differentiation of fresh and frozen-thawed fish samples using Raman spectroscopy coupled with chemometric analysis. **Food chemistry**, v. 172C, p. 283–90, 1 abr. 2015.

VIEGAS, E. M. M. et al. Métodos de abate e qualidade da carne de peixe. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, p. 41–50, 2012.

ZAMPACAVALLLO, G. et al. Evaluation of different methods of stunning/killing sea bass (*Dicentrarchus labrax*) by tissue stress/quality indicators. **Journal of Food Science and Technology**, 8 abr. 2014.

ZHENG, X. et al. Physiological roles of fatty acyl desaturases and elongases in marine fish: Characterisation of cDNAs of fatty acyl $\Delta 6$ desaturase and elovl5 elongase of cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 290, n. 1-2, p. 122–131, maio 2009.