

**UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
MEDICINA VETERINÁRIA: HIGIENE VETERINÁRIA  
E PROCESSAMENTO TECNOLÓGICO DE  
PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL**

**CLAUDIA EMÍLIA TEIXEIRA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DOS  
PROCESSOS DE IRRADIAÇÃO E ATMOSFERA  
MODIFICADA NA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA,  
FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DO FILÉ DE TILÁPIA  
(*Oreochromis niloticus*) RESFRIADO**

**Niterói / RJ  
2009**

**CLAUDIA EMÍLIA TEIXEIRA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DOS PROCESSOS DE  
IRRADIAÇÃO E ATMOSFERA MODIFICADA NA QUALIDADE  
BACTERIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DO FILÉ DE TILÁPIA  
(*Oreochromis niloticus*) RESFRIADO.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Professor Dr. SÉRGIO BORGES MANO  
Co-orientadora: Professora Dra. MÔNICA QUEIROZ DE FREITAS  
Co-orientadora: Professora Dra. ELIANE TEIXEIRA MÁRSICO

Niterói/RJ  
2009

**CLAUDIA EMÍLIA TEIXEIRA**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO COMBINADO DOS PROCESSOS DE  
IRRADIAÇÃO E ATMOSFERA MODIFICADA NA QUALIDADE  
BACTERIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL DO FILÉ DE TILÁPIA  
(*Oreochromis niloticus*) RESFRIADO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor. Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal.

Aprovada em março de 2009

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Sérgio Borges Mano – Orientador  
Universidade Federal Fluminense

---

Profa. Dra. Mônica Queiroz de Freitas – Co-orientadora  
Universidade Federal Fluminense

---

Profa. Dra. Eliane Teixeira Mársico – Co-orientadora  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof. Dr. José Carlos Albuquerque do Prado Carvalho  
Centro Universitário Plínio Leite

---

Prof. Dr. Helio de Carvalho Vital  
Centro Tecnológico do Exército

Niterói / RJ  
2009

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais José Luiz Teixeira e Maria Emília Pinheiro Teixeira, ao meu irmão Alexandre José Teixeira e ao meu companheiro Ricardo Cavalcanti Ribas pela compreensão, apoio e incentivo na realização deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Sérgio Borges Mano, meu eterno orientador e amigo de tantos anos, pelos ensinamentos, pela paciência e confiança depositada.

À minha Co-Orientadora Professora Eliane Teixeira Mársico pelo exemplo de profissionalismo, por me ajudar a passar pelos momentos difíceis de uma forma mais amena, e acima de tudo, pela atenção e confiança.

À Professora Mônica Queiroz de Freitas, Coordenadora do Curso de Pós-Graduação, pela co-orientação na análise sensorial e estatística, e pela atenção dispensada.

Aos Professores e amigos Geraldo Abreu de Oliveira, Sérgio Carmona de São Clemente e Henrique Silva Pardi pelo apoio durante a minha trajetória profissional.

Ao Centro Tecnológico do Exército pela autorização para o uso do irradiador e a todos os funcionários que realizaram a irradiação das amostras.

Ao Professor Hélio de Carvalho Vital por disponibilizar o acesso ao Centro Tecnológico do Exército, e em especial, pelo interesse em compartilhar os seus conhecimentos, pela atenção e carinho.

Ao Professor e amigo José Carlos Albuquerque do Prado Carvalho pelo apoio, indispensável em vários momentos, e pela atenção durante a realização do experimento.

À Mestranda Sabrina da Costa Silva não somente pela realização das análises microbiológicas, mas pela responsabilidade e esmero com que esta tarefa foi executada.

Ao Professor Robson Maia Franco, grande exemplo profissional, pelo carinho e boa vontade em ensinar.

Ao Centro Universitário Plínio Leite – Campus Itaboraí, na pessoa do Coordenador do Curso de Medicina Veterinária, Professor Walker Nunes Chagas, pelo fornecimento da matéria-prima utilizada na pesquisa e pelo incentivo, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

Ao Professor e amigo Alúcio Pinto Sturm, responsável pela escolha do tema do experimento e grande incentivador da produção de tilápias, pelo apoio, carinho e paciência para ouvir.

Às técnicas do Setor de Alimentos do Centro Universitário Plínio Leite – Campus Itaboraí, Neuza Aires Maldonado e Kastiliane Souza Pereira pela boa vontade, competência e responsabilidade na filetagem das amostras.

Ao técnico Rafael de Farias Vieira e funcionários do Setor de Produção Animal do Centro Universitário Plínio Leite – Campus Itaboraí, Sebastião Dias Filho, Renato de Barros Gomes, Luis Carlos Assunção de Oliveira e Ailson Marques de Oliveira pela disposição e competência no processamento das amostras.

À secretária do Centro Universitário Plínio Leite – Campus Itaboraí, Tatiane de Souza Azevedo pelo apoio e carinho durante a realização do trabalho.

Aos amigos da turma do Doutorado Sílvia Conceição Reis Pereira Mello e Fernando Joaquim Xavier Alves pela troca de experiências, pelo apoio e carinho durante a realização do trabalho.

À Carlos Frederico Guimarães, técnico do Laboratório de Controle físico-químico pelos ensinamentos nas análises e ajuda no preparo de reagentes.

Ao secretário da Pós-Graduação Drausio de Paiva Ferreira pela ajuda e atenção em vários momentos durante a realização do Curso.

Aos meus pais, exemplos de vida e responsáveis pela minha formação moral e profissional.

Em especial ao meu companheiro Ricardo Cavalcanti Ribas, agradeço pela imensa paciência e carinho dedicados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, sem o qual não seria possível a realização do presente trabalho.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização do presente trabalho, o agradecimento do autor.

*"Nossas lutas diárias nos levam a alegrias,  
dores e sofrimento. Mas tenha confiança em si  
mesmo, e guerreie até sua última gota de suor,  
pois a recompensa é inigualável e infinita".*

*Goethe*

## SUMÁRIO

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**, p. 9

**LISTA DE TABELAS**, p. 11

**RESUMO**, p. 12

**ABSTRACT**, p. 13

**1 INTRODUÇÃO**, p. 14

**2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, p. 18

2.1 POTENCIAL DA AQUICULTURA NACIONAL, p. 18

2.2 TILÁPIA DO NILO, p. 20

2.3 DETERIORAÇÃO DO PESCADO, p. 21

**2.3.1 Aspectos microbiológicos**, p. 22

**2.3.2 Aspectos físico-químicos**, p. 25

**2.3.3 Aspectos sensoriais**, p. 31

2.4 EMBALAGEM COM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 32

**2.4.1 Histórico**, p. 34

**2.4.2 Gases empregados na embalagem com atmosfera modificada**, p. 35

2.5 IRRADIAÇÃO, p. 43

**2.5.1 Histórico**, p. 52

**2.5.2 Aplicação do processo de irradiação em pescados**, p. 54

2.6 PROCESSOS COMBINADOS DE CONSERVAÇÃO, p. 57

**3 MATERIAL E MÉTODOS**, p. 59

3.1 MATERIAL, p. 59

**3.1.1 Obtenção e processamento das amostras**, p. 59

**3.1.2 Análises físico-químicas**, p. 60

**3.1.3 Análises bacteriológicas**, p. 60

**3.1.4 Avaliação sensorial**, p. 60

3.2 MÉTODOS, p. 61

**3.2.1 Obtenção e processamento das amostras**, p. 61

**3.2.2 Análises físico-químicas**, p. 62

3.2.2.1 Determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, p. 62

3.2.2.2 Bases voláteis totais, p. 63

3.2.2.3 pH, p. 64

**3.2.3 Análises bacteriológicas**, p. 64

3.2.3.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, p. 64

3.2.3.2 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas, p. 64

**3.2.4 Avaliação sensorial**, p. 65

**3.2.5 Análise estatística**, p. 65

**4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**, p. 67

4.1 NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO, p. 67

4.2 BASES VOLÁTEIS TOTAIS, p. 72

4.3 pH, p. 77

4.4 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS, p. 81

4.5 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS PSICOTRÓFICAS, p. 86

4.6 ANÁLISE SENSORIAL, p. 89

**5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES**, p. 94

**6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, p. 96

**7 APÊNDICES**, p. 106

7.1 DESPESCA DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) POR REDE DE ARRASTO REALIZADA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE, p. 107

7.2 DEPURAÇÃO DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) REALIZADA EM TANQUE NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE, p. 107

7.3 INSENSIBILIZAÇÃO DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) EM CAIXAS DE FIBROCIMENTO COM ÁGUA HIPERCLORADA A 10 ppm E GELO NA PROPORÇÃO DE 1:1 REALIZADA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE, p. 107

7.4 DESCABEÇAMENTO, EVISCERAÇÃO E RETIRADA DA PELE DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) COM AUXÍLIO DE ALICATE REALIZADO NA ÁREA SUJA DO CENTRO DE AQUICULTURA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE, p. 108

- 7.5 FILETAGEM DOS TRONCOS (*Oreochromis niloticus*) COM AUXÍLIO DE FACAS NA ÁREA LIMPA DA FÁBRICA PILOTO ELMO RAMPINI DE SOUZA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE, p. 108
- 7.6 MÁQUINA TERMOSELADORA MARCA TECMAQ MODELO AP 450 UTILIZADA PARA EMBALAR AS AMOSTRAS A VÁCUO E EM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 109
- 7.7 IRRADIADOR DE PESQUISA DO CTE<sub>x</sub> UTILIZADO PARA IRRADIAR AS AMOSTRAS, p. 109
- 7.8 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM AEROBIOSE E NÃO IRRADIADO NO 1º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 110
- 7.9 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM AEROBIOSE E IRRADIADO COM DOSE DE 1,5 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 110
- 7.10 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM AEROBIOSE E IRRADIADO COM DOSE DE 3,0 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 111
- 7.11 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO A VÁCUO E NÃO IRRADIADO NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 111
- 7.12 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DO FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO A VÁCUO E IRRADIADO COM DOSE DE 1,5 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 112
- 7.13 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO A VÁCUO E IRRADIADO COM DOSE DE 3,0 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 112
- 7.14 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA E NÃO IRRADIADO NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 113
- 7.15 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADO COM DOSE DE 1,5 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 113
- 7.16 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADO COM DOSE DE 3,0 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO (1,0±1,0°C), p. 114
- 7.17 PROTOCOLO DA DETERMINAÇÃO DE NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO PELO MÉTODO DE DESTILAÇÃO, p. 115
- 7.18 PROTOCOLO DA ANÁLISE DE BASES VOLÁTEIS TOTAIS PELO MÉTODO DE MICRODIFUSÃO EM PLACA DE CONWAY, p.117

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** Radura: símbolo internacional da irradiação de alimentos, f. 49
- Figura 2** Ficha de avaliação sensorial com escala hedônica de 9 pontos, tendo como extremos 1 (desgostei extremamente) e 9 (gostei extremamente) apresentada aos provadores, f. 66
- Figura 3** Representação gráfica dos resultados da análise de Número de Substâncias Reativas ao ácido Tiobarbitúrico (mg de aldeído malônico/kg) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ), f. 68
- Figura 4** Representação gráfica dos resultados da análise de Número de Substâncias Reativas ao ácido Tiobarbitúrico (mg de aldeído malônico/kg) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada); D (não irradiadas); E (irradiadas a 1,5 kGy); F (irradiadas a 3,0 kGy), f. 69
- Figura 5** Representação gráfica dos resultados da análise de bases voláteis totais (mg de N-BVT/100g) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ), f. 73
- Figura 6** Representação gráfica dos resultados da análise de bases voláteis totais (mg de N-BVT/100g) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada); D (não irradiadas); E (irradiadas a 1,5 kGy); F (irradiadas a 3,0 kGy), f. 74
- Figura 7** Representação gráfica dos valores de pH obtidos das amostras de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ), f. 78

- Figura 8** Representação gráfica dos valores de pH obtidos das amostras de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada); D (não irradiadas); E (irradiadas a 1,5 kGy); F (irradiadas a 3,0 kGy), f. 80
- Figura 9** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ), f. 82
- Figura 10** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada), f. 83
- Figura 11** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ), f. 87
- Figura 12** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada), f. 88

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resultados da análise de Número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (mg de aldeído malônico/kg) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias, f. 67
- Tabela 2.** Resultados da análise de bases voláteis totais (mg de N-BVT/100g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias, f. 72
- Tabela 3.** Valores de pH obtidos das amostras embaladas em diferentes atmosferas, irradiadas e não irradiadas e mantidas sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias, f. 77
- Tabela 4.** Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias, f. 82
- Tabela 5.** Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias, f. 86
- Tabela 6.** Médias e desvio padrão dos escores resultantes do teste de aceitação em escala hedônica de nove pontos, para o atributo “cor”, de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias, f. 90
- Tabela 7.** Médias e desvio padrão dos escores resultantes do teste de aceitação em escala hedônica de nove pontos, para o atributo “aparência geral”, de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias, f. 92

## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito combinado da irradiação e da atmosfera modificada nas características bacteriológicas, físico-químicas e sensoriais de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*) resfriado. As amostras de filé de tilápia foram acondicionadas em atmosfera modificada com mistura de gases de 40% de CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) e 60% de N<sub>2</sub> (nitrogênio), a vácuo e embalagem plástica com alta permeabilidade a gases. A seguir, estas foram irradiadas com as doses de 0, 1,5 e 3,0 kGy. A amostra controle (não irradiada) foi embalada em bolsas plásticas de alta permeabilidade a gases. As amostras foram armazenadas em refrigerador doméstico à temperatura de 1,0±1,0°C e analisadas em intervalos de 5 dias, do 1º até o 30º dia de armazenamento. Os filés foram submetidos a contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas. As análises físico-químicas incluíram: determinação de pH, bases voláteis totais (BVT) e número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Na avaliação sensorial, um grupo de 30 julgadores realizou o teste de aceitação dos atributos cor e aparência geral aos dias 1º, 10º e 20º de armazenamento, com base na escala hedônica de nove pontos. Os dados da análise sensorial foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), que avaliou a existência ou não de diferenças entre as amostras ao nível de 5% de significância. Para verificar quais tratamentos diferiram entre si, foi aplicado o teste de Tukey. Os resultados das análises demonstraram que os filés embalados a vácuo ou em atmosfera modificada e irradiados apresentaram as menores contagens bacterianas, com níveis aceitáveis durante todo o período de armazenamento. O processo de irradiação elevou os valores de TBARS das amostras embaladas em aerobiose, sendo este aumento proporcional à dose absorvida. Por outro lado, observou-se que o emprego combinado da embalagem a vácuo e irradiação foi eficaz na redução dos valores de TBARS das amostras. Na avaliação sensorial, verificou-se uma redução na aceitação dos filés de tilápia em atmosfera modificada. Em contraste, constatou-se uma melhor aceitação das amostras irradiadas embaladas a vácuo e em atmosfera modificada. Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que a utilização da embalagem a vácuo combinada com o processo de irradiação foi mais eficiente na manutenção da qualidade de filés de tilápia resfriados especialmente a dose de 1,5 kGy.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, tilápia, refrigeração, atmosfera modificada, irradiação, validade comercial

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of irradiation and modified atmosphere on the bacteriological, physicochemical and sensorial characteristics of refrigerated Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. Samples of Tilapia fillets were either vacuum-packed or stored in a modified atmosphere containing a mixture of 40% CO<sub>2</sub> (carbon dioxide) and 60% N<sub>2</sub> (nitrogen) inside plastic bags and irradiated with doses of 0, 1.5 and 3.0 kGy. Control samples (nonirradiated) were stored in plastic bags highly permeable to gases. All samples were kept in domestic refrigerators at a temperature of 1.0±1.0°C and were analyzed every five days from day 1 until day 30 of storage. The fillets were submitted to heterotrophic aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria counts. Physical-chemical analyses were performed for pH, total volatile bases (TVB) and measurement of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). As part of acceptance tests, 30 judges evaluated color and general appearance on days 1, 10 and 20 of storage using a nine-point hedonic scale. Such data were submitted to a statistical analysis of variance (ANOVA) in order to determine significant differences between the samples at a 5% confidence level. In addition, Tukey's test was used to infer if differences between treatments were significant. The irradiated fillets, either vacuum-packed or in the modified atmosphere, exhibited lower bacterial counts that remained below acceptable levels throughout the storage period. TBARS values in the samples packed in aerobiosis were found to increase with dose in contrast to the lower ones found in the samples that had been vacuum-packed and irradiated. Packaging in the modified atmosphere was found to reduce the acceptance of the nonirradiated Tilapia fillets, although an improvement in acceptance was determined for all irradiated samples packed in vacuum or in the modified atmosphere. Based on such results, it was concluded that packaging in vacuum used in combination with irradiation efficiently maintained the quality of refrigerated fillets especially at the dose of 1,5 kGy.

Key words: *Oreochromis niloticus*, Tilapia, refrigeration, modified atmosphere, irradiation, shelf life

## 1 INTRODUÇÃO

No século XX, a tilápia (*Oreochromis niloticus*), originária da África, foi introduzida na maioria dos países do mundo. Atualmente, é considerada uma das espécies mais importantes da aquicultura, devido às suas características reprodutivas, genéticas e, principalmente, mercadológicas.

Superadas em produção apenas pelas carpas, as tilápias ocupam posição de destaque entre as espécies de água doce cultivadas. No Brasil, a produção anual de tilápia está próxima de 30 a 40 mil toneladas, representando 38% da produção de pescado. Estes números colocam o Brasil como um dos principais produtores de tilápia da América Latina, atrás apenas do México (KUBITZA, 2000).

A partir de 2006, o Brasil passou a ocupar o sexto lugar como produtor mundial de tilápia, superado pela China, Egito, Filipinas, Tailândia e Taiwan. Porém, os países asiáticos não são concorrentes diretos do Brasil, pois vendem tilápia inteira, de 300 a 500 gramas, ou filés congelados, com qualidade *standard*, ou seja, produtos com valor de mercado bem inferior ao do filé fresco, que são produzidos a baixo custo. Os concorrentes diretos do Brasil, produtores de filé fresco de qualidade superior são: Equador, Costa Rica e Honduras. O Brasil ocupa o quarto lugar em volume de exportações de filé de tilápia para os Estados Unidos da América (EUA), que atualmente é o maior comprador mundial.

No Brasil, o pescado de água doce é comercializado predominantemente *in natura*, fresco, eviscerado e, em menor escala, na forma de filé ou industrializado. Nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul do país, os principais canais de comercialização dos peixes produzidos em cativeiro ainda são os pesqueiros particulares (90%), e apenas 10% passam por algum processo de industrialização. Entretanto, as perspectivas atuais apontam para um aumento na comercialização de pescados *in natura* na forma de filé resfriado ou congelado e aumento no consumo de produtos industrializados.

O pescado em geral, é um alimento muito perecível quando comparado com outros alimentos *in natura*, pois apresenta condições intrínsecas que propiciam a multiplicação microbiana, como uma elevada atividade de água e pH próximo da neutralidade, além da predominância de gorduras insaturadas, o que facilita a instalação do ranço oxidativo.

A embalagem em atmosfera modificada (EAM) pode aumentar a validade comercial do pescado, preservando a sua qualidade, além de propiciar o transporte a mercados distantes, incrementar o seu valor comercial e, principalmente, reduzir as perdas econômicas. Basicamente o mecanismo de ação da embalagem com atmosfera modificada na extensão da validade comercial de alimentos consiste na modificação da atmosfera à qual os microrganismos são expostos, alterando sua velocidade de crescimento, além de controlar a atividade enzimática e oxidação das gorduras.

O processo de irradiação é considerado um método eficiente de conservação de alimentos por reduzir o número de microrganismos patogênicos e deteriorantes, sem que as características sensoriais e nutricionais do alimento sejam alteradas significativamente. É, comprovadamente, um processo capaz de reduzir eficazmente a carga microbiana de alimentos, cuja utilização apresenta como uma de suas vantagens o tratamento de alimentos já em suas embalagens finais refrigeradas, evitando assim riscos de recontaminação. Por outro lado, possui como desvantagem a alteração química dos lipídeos com formação de radicais livres e conseqüente modificações das características sensoriais.

A partir da década de 90, com a globalização, houve uma demanda crescente para o consumo de alimentos frescos, nutritivos e com aparência próxima do produto *in natura*, porém com a segurança microbiológica e físico-química garantida. Para atender a esta nova exigência do mercado, diversos pesquisadores sugerem que a união de múltiplas barreiras, como embalagens sob atmosfera modificada, irradiação e manutenção em temperaturas de refrigeração, pode atuar com mais eficiência para manter a qualidade microbiológica, físico-química e sensorial dos alimentos por um prazo maior. Além disso, espera-se que o uso da embalagem a vácuo e atmosfera modificada com mistura gasosa de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e ausência de O<sub>2</sub>, possam preservar o produto de efeitos sensoriais indesejáveis produzidos pela irradiação, como alterações dos lipídeos e conseqüentes modificações sensoriais.

De acordo com as considerações supracitadas, o objetivo geral do presente estudo foi avaliar o efeito da irradiação e da atmosfera modificada nas características bacteriológicas, físico-químicas e sensoriais de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*) resfriado. Especificamente, pesquisou-se a influência dos métodos de conservação combinados (embalagem em diferentes atmosferas e irradiação) na extensão da validade comercial através de análises bacteriológicas e físico-químicas e nas alterações químicas dos lipídeos do filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*) resfriado, assim como, o efeito da irradiação e da atmosfera modificada nas características sensoriais.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

A presente revisão visa a fornecer informações sobre a espécie pesquisada, aspectos da qualidade do pescado, assim como, o emprego da embalagem com atmosfera modificada e a utilização do processo de irradiação na conservação de alimentos.

### **2.1 POTENCIAL DA AQUICULTURA NACIONAL**

O Brasil apresenta grande potencial para a produção de pescado através da aquicultura, tendo em vista, a extensa faixa costeira, que, privilegiadamente, inclui ricas bacias hidrográficas, dentre as quais, destaca-se a Amazônica, que armazena 8% da água doce do mundo. Merecem ainda destaque os 5 milhões de hectares de águas represadas em açudes (no Nordeste) e reservatórios construídos para a geração de energia hidroelétrica ou para abastecimento urbano e, também, seus mais de 8 mil quilômetros de costa que possibilitam uma enorme e variada atividade de aquicultura de espécies marinhas (NUNES, 2002).

O potencial pesqueiro do Brasil, segundo estimativa da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO), é da ordem de 4 milhões de toneladas (FAO, 1998).

A aquicultura é uma das atividades zootécnicas que vêm se destacando no Brasil como alternativa econômica para o pequeno e médio produtor, sendo propícia ao aproveitamento de áreas improdutivas, transformando-as e elevando sua potencialidade e produtividade. Atualmente, o processo de industrialização de pescado proveniente da piscicultura vem crescendo de forma constante com o surgimento de indústrias de beneficiamento, que visam ao aprimoramento no processo de obtenção de filés (OLIVEIRA et al., 2006).

Segundo Pereira et al. (1999), mundialmente, a piscicultura vem assumindo importância cada vez maior na produção de alimentos, com uma taxa de crescimento em torno de 10% ao ano.

No Brasil, a tilapicultura firmou-se como atividade empresarial a partir da década de 1980, quando surgiram os empreendimentos pioneiros. O Paraná foi o primeiro estado brasileiro a organizar de forma racional a atividade, inclusive com a implantação de frigoríficos especializados em beneficiamento de tilápia, com destaque para os municípios de Toledo e Assis Chateaubriand. Desta forma, este estado tornou-se rapidamente o maior produtor da espécie, até 2003, quando o Ceará despontou no cenário nacional como maior produtor, produzindo 13.000 toneladas, enquanto no mesmo ano o Paraná produzia 12.782 toneladas (JÚNIOR; JÚNIOR, 2008).

Em 2004, o Ceará consolidou a sua liderança como produtor de tilápia, aumentando para 18.000 toneladas a produção e distanciando-se ainda mais do segundo produtor, ao produzir 6.000 toneladas a mais que o Paraná (que no ano citado produziu apenas 11.922 toneladas). Em 2006 os principais estados produtores de tilápia foram Ceará (26,1%), Paraná (17,3%), São Paulo (14,1%), Bahia (10,3%) e Santa Catarina (10,3%) (ibid).

A carne das espécies de pescado cultivado apresenta um grande potencial de mercado, pois esse produto industrializado ou in natura pode atender às necessidades do consumidor nos seguintes aspectos: a) nutricionais (rico em proteínas e ácidos graxos insaturados); b) sensoriais (sabor agradável, suave e característico); c) conveniência (fácil preparo); e, d) aspectos econômicos (com preços acessíveis) (FERREIRA et al., 2002).

O Brasil atualmente ocupa o 25º lugar como produtor mundial de pescado, sendo que este aumento se deve, em parte, à criação da Secretaria Nacional de Pesca e Aqüicultura, que fornece aos pescadores maiores conhecimentos no que diz respeito ao aproveitamento de toda a cadeia produtiva, além de elaborar campanhas de incentivo à produção e consumo de pescado (LIBRELATO; SHIKIDA, 2008).

## 2.2 TILÁPIA DO NILO

As tilápias, espécies de origem africana, foram introduzidas no Brasil a partir de 1953, com a importação da Tilápia rendalli, proveniente do Congo Belga. Em 1971, foram importadas as espécies Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e a Tilápia da Zanzibar (*Oreochromis honorum*), que apresentam características essenciais para a piscicultura, tais como, rusticidade, precocidade, boa aceitação pelo consumidor e alto valor de mercado (PEREIRA et al., 1999).

A Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) pertence à família Ciclidae, gênero *Oreochromis*, espécie *Oreochromis niloticus*. Lund e Figueira (1989) descrevem que esta espécie apresenta escamas grandes, pouco brilhantes, nítidas listras verticais e ainda possui colorações esbranquiçadas no ventre e prateada no dorso.

A Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é considerada um peixe onívoro, não muito exigente quanto ao teor de oxigênio presente na água e a temperatura da água de cultivo pode variar de 20° a 30°C, embora possa tolerar temperaturas de aproximadamente 12°C, além de adaptar-se muito bem ao meio salobro (SOUZA; FILHO, 1985).

Uma das tilápias mais procuradas no Brasil para cultivo é a chitralada, conhecida principalmente como tailandesa, linhagem desenvolvida no Japão e melhorada no Palácio Real de Chitral na Tailândia. Esta linhagem foi introduzida no Brasil em 1996, a partir de alevinos doados pelo “Asian Institute of Technology” (AIT) e, nos últimos anos, vem sofrendo processo de melhoramento genético no Brasil. Essa variedade da tilápia do Nilo tornou-se bastante atraente em todo o país por apresentar boa adaptabilidade em diversas condições ambientais, boa conversão alimentar, possuir alta rusticidade, carne de textura firme, sem espinhos e boa aceitação no mercado (WAGNER, 2004).

O filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), segundo Kubitzka (2000), possui em média 75% de água, entre 3,4 a 8,5% de lipídios, 20% de proteína e 2% de minerais. O mesmo autor informa que a composição em nutrientes na carne dos peixes pode variar em função da composição da dieta, do manejo alimentar, da idade e do tamanho dos peixes.

Nos experimentos com Tilápias híbridas (cruzamento do macho de Tilápia do Nilo com a fêmea de Tilápia *honorum*) objetivando a determinação da composição centesimal, Netto (1984) observou os seguintes resultados: 79,79% de umidade,

1,10% de cinzas, 1,37% de lipídios e 18,58% de proteína. Ao comparar os componentes nutricionais dos peixes de água doce com os peixes marinhos, pode-se observar que não existem muitas diferenças, pois, conforme estudos feitos por Sikorski (1994), os músculos dos peixes contêm de 50 a 85% de água. Já os lipídios, estão presentes em todos os tecidos, tanto no tecido subcutâneo de peixes gordos, como no fígado e gônadas maduras, sendo os ácidos graxos presentes representados por 25% de saturados, 30 a 60% de monoinsaturados e 10 a 40% de polinsaturados. O teor de proteína varia entre 11 a 24%, dependendo da espécie do pescado e do estado nutricional.

Dentre as principais espécies de peixes cultivadas, as tilápias se destacam pela carne de excelente qualidade. Nos EUA, um painel formado por 10 degustadores profissionais colocou o filé de tilápia cultivada no topo de uma lista, de acordo com o critério de satisfação geral, seguida de filé de salmão, da truta arco-íris, do bagre-do-canal e da carpa-capim. Estes profissionais fizeram uma descrição bem detalhada dos diferentes aspectos de textura e sabor do filé da tilápia (*Oreochromis niloticus*). Em síntese, este peixe apresenta carne sem espinho, de cor branca, textura firme, aspecto fibroso, suculento e sabor delicado. Todas estas características fazem da tilápia (*Oreochromis niloticus*) um peixe que se ajusta aos mais diferentes tipos de condimentação, formas de preparo e apresentação (KUBITZA, 2000).

### 2.3 DETERIORAÇÃO DO PESCADO

Dentre os produtos de origem animal, o pescado, de um modo geral, é um dos mais susceptíveis ao processo de deterioração, porque apresenta um pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, altos teores de nutrientes facilmente utilizáveis por microrganismos e de lipídios insaturados, rápida ação das enzimas autolíticas e alta atividade metabólica da microbiota (SIVERTSVIK et al., 2002).

Franco e Landgraf (1996) explicam que a deterioração do pescado pode ocorrer através de autólise, oxidação, atividade bacteriana ou ainda pela combinação desses três processos.

A velocidade da deterioração pode ser retardada ou inibida com o armazenamento em baixas temperaturas. A deterioração do pescado fresco é

principalmente microbiana, porém alterações físico-químicas, como, a auto-oxidação e hidrólise dos lipídeos também resultam em odor e sabor desagradáveis (SIVERTSVIK et al., 2002).

### 2.3.1 Aspectos microbiológicos

O desenvolvimento bacteriano é um dos principais fatores que levam à deterioração do pescado. Inicialmente, os microrganismos estão presentes no trato intestinal, brânquias e limo superficial, mas, após sua captura, novas fontes de contaminação, como o gelo, a manipulação e o contato com equipamentos, modificam ou aumentam a microflora. A grande maioria desses microrganismos apresenta atividade proteolítica ou lipolítica contribuindo, portanto, para a desintegração dos tecidos e para uma série de transformações bioquímicas indesejáveis que levam finalmente à total decomposição do pescado (NETTO, 1984).

A microbiota predominante do pescado é determinada pelos fatores intrínsecos, como, o pH *post mortem* da carne, presença de óxido de trimetilamina e outros componentes nitrogenados não protéicos e fatores extrínsecos, como por exemplo, temperatura, higiene na manipulação e atmosfera da embalagem (SIVERTSVIK et al., 2002).

O processo de deterioração de origem bacteriana pode ser resumido nas seguintes etapas: aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não protéicas são utilizados pelos microrganismos logo após o término do *rigor mortis*. *Pseudomonas* e *Shewanella*, principalmente, multiplicam-se originando produtos com aroma desagradável, como, bases voláteis e gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S), alterando assim a composição do substrato (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Os mesmos autores ainda explicam que a microbiota do pescado é influenciada pelo seu habitat, sendo um dos principais fatores de seleção a temperatura. Tendo em vista que ela raramente ultrapassa 20°C ao longo do ano, as condições são mais favoráveis ao desenvolvimento de uma microbiota psicrófila do que a uma estritamente mesófila.

Segundo Sivertsvik et al. (2002), a microbiota do pescado proveniente de águas temperadas é predominantemente aeróbia psicrófila ou Gram-negativa anaeróbia facultativa, como por exemplo, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*,

*Shewanella putrefaciens*, *Flavobacterium*, *Vibrio* e *Aeromonas*. *Vibrio* e *Shewanella putrefaciens* necessitam de sódio para sua multiplicação e são típicas da microflora de pescados marinhos, enquanto *Aeromonas* são mais encontradas em peixes de água doce. Entretanto, *Shewanella putrefaciens* tem sido isolada do meio ambiente de pescado de água doce e várias bactérias gram-positivas têm sido identificadas em pescados e produtos derivados, como, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium* e *Lactobacillus*. Na microbiota de peixes tropicais, em comparação com peixes de águas frias, predominam bactérias Gram-positivas.

Franco e Landgraf (1996) ainda explicam que, entre os gêneros que fazem parte da microbiota natural do pescado, podem ser citados *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrio* e *Micrococcus*. Os mais importantes na deterioração desses alimentos são os gêneros *Pseudomonas* e *Shewanella*, principais responsáveis pelas alterações sensoriais do pescado devido à formação de trimetilamina, ésteres, substâncias voláteis redutoras e outros compostos com aroma pronunciado. As principais espécies envolvidas no processo são *P. fluorescens*, *P. fragi* e *Shewanella putrefaciens*. Esses gêneros são importantes, não somente por apresentarem natureza psicotrófica, mas principalmente, pela capacidade que têm de utilizar substâncias nitrogenadas não protéicas em seu desenvolvimento.

Na pele, brânquias e intestinos do pescado encontra-se uma carga microbiana maior, sendo que contagens de  $10^2$  a  $10^7$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) são consideradas normais para a superfície do pescado. Já nas brânquias e intestinos contagens típicas situam-se de  $10^3$  a  $10^9$  UFC. O músculo do pescado é estéril até o momento da captura e abate, porém, rapidamente, é contaminado por microrganismos provenientes da pele, intestinos, equipamentos e manipulação. Durante o armazenamento sob refrigeração, psicotróficos (*Pseudomonas* e *Shewanella*) dominam a microbiota a partir de 1 a 2 semanas da estocagem. Em temperaturas elevadas, predomina a microbiota mesofílica (*Vibrionaceae*) e em peixes oriundos de águas poluídas, as *Enterobacteriaceae* (SIVERTSVIK et al., 2002).

Kraft e Rey (1979) armazenaram amostras em temperaturas de 16° a 22°C por 1 a 2 dias e a 2°C por 11 dias e, observaram que a contagem bacteriana foi maior e a deterioração mais rápida nas amostras mantidas em baixas temperaturas por 11 dias com predominância da microbiota psicotrófica.

Alguns microrganismos podem ser classificados de acordo com a temperatura ideal de multiplicação em mesófilos, que têm a temperatura ótima de multiplicação entre 25° e 40°C, mínima entre 5° e 25°C e máxima entre 40° e 50°C e psicotróficos, que têm a capacidade de se desenvolverem entre 0° e 7°C. A contagem de mesófilos é geralmente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos, podendo indicar deficiência durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura. Uma alta contagem de mesófilos significa, portanto, que houve condições para que esses microrganismos se multiplicassem. As contagens de psicotróficos permitem avaliar o grau de deterioração de alimentos refrigerados. A maioria dos alimentos apresenta alterações sensoriais detectáveis com números superiores a 10<sup>6</sup> UFC/g, sendo que para alguns são necessários 10<sup>7</sup> ou 10<sup>8</sup> UFC/g (FRANCO E LANDGRAF, 1996)

Para Kraft e Rey (1979) os microrganismos psicotróficos multiplicam-se em baixas temperaturas, porém a temperatura ótima de crescimento está na faixa de 10° a 30°C. Os mesmos autores observaram que microrganismos psicotróficos possuem maior atividade enzimática quando se multiplicam em baixas temperaturas.

A microbiota inicial do pescado estocado em gelo é muito heterogênea, porém com o tempo, psicotróficos, principalmente, *Pseudomonas* e *Moraxella* predominam devido a uma competição natural (ASHIE et al., 1996).

No processo de deterioração do pescado, microrganismos psicotróficos como *Pseudomonas*, rapidamente metabolizam aminoácidos livres com formação de amônia. A proteólise não é relevante nos primeiros estágios da deterioração devido a alta concentração de aminoácidos livres que aparentemente, inibem as proteinases, porém passa a ocorrer nos estágios finais da deterioração quando a maior parte destes aminoácidos livres foram metabolizados (PEDROSA-MENABRITO; REGENSTEIN, 1988).

Bactérias psicotróficas (*Alteromonas*, *Flavobacterium*) produzem a enzima óxido de trimetilamina redutase que reduz o óxido de trimetilamina (OTMA) a trimetilamina (TMA), sendo este um dos principais componentes relacionados ao odor característico de pescado considerado de baixa qualidade ou em deterioração. Entretanto, quantidades significativas de TMA não são produzidas até as bactérias atingirem a fase de multiplicação que coincide com o fim do *rigor mortis* (PEDROSA-MENABRITO; REGENSTEIN, 1988; OGAWA; MAIA, 1999; SIVERTSVIK et al., 2002).

De acordo com Sivertsvik et al. (2002), em atmosferas com baixa tensão de oxigênio, bactérias aeróbias utilizam OTMA para sua multiplicação.

Nos estágios finais da deterioração do pescado, aminoácidos que contêm enxofre como metionina, cistina e cisteína são decompostos por bactérias do gênero *Pseudomonas*, *Alteromonas* dentre outros, resultando na formação de compostos como gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S) e metilmercaptana (CH<sub>3</sub>SH) que alteram as características sensoriais (OGAWA; MAIA, 1999; SIVERTSVIK et al., 2002).

Os principais microrganismos patogênicos encontrados em pescado proveniente de água contaminada são *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* e *Shigella*. Uma das vantagens da piscicultura é o monitoramento da qualidade da água, não somente em relação aos microrganismos, mas também no controle de outros contaminantes como metais pesados e pesticidas (SOCCOL; OETTERER, 2003).

Librelato e Shikida (2008) avaliaram a qualidade de filés de tilápia comercializados no município de Toledo (PR) utilizando análises microbiológicas para contagem total de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas. A contagem de mesófilos variou de  $0,7 \times 10^2$  a  $1,5 \times 10^4$  UFC/g e de psicrotróficos de  $1,5 \times 10^4$  a  $2,9 \times 10^5$  UFC/g. Como a legislação brasileira não prevê limites para contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas para filés de pescado, os autores concluíram baseados em valores descritos na literatura, que as amostras apresentaram uma boa qualidade higiênico-sanitária, pois os resultados foram inferiores a  $10^6$  UFC/g.

### **2.3.2 Aspectos físico-químicos**

As reações *post mortem* podem ser classificadas, de acordo com os metabólitos gerados, como: modificações das propriedades físicas dos músculos, degradação dos carboidratos, degradação dos nucleotídeos e modificações das proteínas (CONTRERAS-GUSMAN, 1994).

O baixo teor de tecido conjuntivo em pescado e a composição deste tecido, pobre em elastina, tornam o músculo bastante susceptível ao ataque enzimático (NETTO, 1984).

Kai e Morais (1988) explicam que, com a morte do peixe, os sistemas que controlam os processos vitais cessam, ocorrendo o chamado *rigor mortis*. Até o

término do *rigor mortis* não se inicia a deterioração bacteriana, pois o pH durante a rigidez é menos propício ao desenvolvimento bacteriano. Quanto mais tempo a rigidez for prolongada, maior será o período de conservação do pescado. O *rigor mortis* é abreviado pelo esgotamento de glicogênio na captura do pescado e temperaturas elevadas, sendo prolongado pela redução do pH e resfriamento adequado.

Devido à parada da oxigenação após a captura do pescado, a glicogenólise ocorre por via anaeróbica com formação de ácido lático. Este, se presente em quantidade suficiente, acidifica o pH e, conseqüentemente, retarda a multiplicação microbiana. Geralmente o pH no final do *rigor mortis* encontra-se entre 6,2 a 6,5, porém dependendo da espécie de pescado há uma variação nestes valores (PEDROSA-MENABRITO; REGENSTEIN, 1988).

Ao final do *rigor mortis*, ocorre a proteólise, ou seja, a ação de enzimas nas proteínas da carne, com desprendimento de metabólitos voláteis, como as bases nitrogenadas e a amônia, responsáveis pelo odor característico desta fase. Após iniciar a autólise, a deterioração é rápida, pois as bactérias encontram excelente substrato para sua multiplicação (OETTERER, 2008).

Segundo dados descritos por Kubitza (2000), os peixes submetidos a um intenso estresse pré-abate entram e saem do estado de *rigor mortis* mais rapidamente, pois sob condições de estresse, ocorre uma redução nas reservas de glicogênio dos peixes e menor acúmulo de ácido lático na musculatura, fazendo com que o pH da carne fique próximo da neutralidade, acelerando a ação das enzimas musculares, o desenvolvimento de bactérias e a conseqüente degradação da carne. Sendo assim, quanto maior for a duração do período de *rigor mortis*, mais lentas serão as alterações nas características da carne e maior será o prazo comercial do produto após o processamento.

De acordo com o mesmo autor, a despesca nas unidades de produção deve ser rápida e os peixes não devem permanecer por muito tempo na rede. O abate deve ser feito por choque térmico em água limpa, com gelo em quantidade suficiente para manter a temperatura da água no abate ao redor de 4° a 6°C.

Socol (2002) recomenda o abate da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sem estresse, baseado no fato de que a degradação de ATP (trifosfato de adenosina), medida pela relação ATP/IPM (monofosfato de inosina), atinge o valor de 0,893 após 24h, enquanto que com estresse, este mesmo valor ocorre após 10h.

O *rigor mortis* pleno em peixes estressados é atingido em 12h a 0°C e nos não estressados, em 24h.

A decomposição do ATP ocorre por ação enzimática, com a formação em cadeia dos seguintes metabólitos: adenosina difosfato (ADP), adenosina monofosfato (AMP), inosina monofosfato (IMP), inosina (Ino ou HxR) e hipoxantina (Hx). Após a formação da inosina, a carne do pescado se apresenta insípida e a formação da hipoxantina confere um sabor amargo (PEDROSA-MENABRITO; REGENSTEIN, 1988).

O valor do índice K avalia o estado de conservação do pescado através da concentração dos compostos formados na decomposição do ATP, de tal modo que, quanto maior o valor de K, menor o frescor do pescado. O valor de K pode ser calculado pela seguinte fórmula:  $K\% = 100 \times (Hx + HxR) / (IMP + HxR + Hx)$ . Em geral, existe grande diferença entre as espécies na velocidade de formação destes metabólitos (OGAWA; MAIA, 1999; SIVERTSVIK et al., 2002).

Segundo Oetterer (2008), o *rigor mortis* do pescado pode durar de 2 a 18 horas, com um pico às 6 horas, porém sua duração é variável e depende da espécie do pescado, do tipo de captura, da higiene do processo e da temperatura do pescado. O pós-rigor se instala a partir do momento em que a actomiosina é degradada por enzimas proteolíticas, sendo que a catepsina tem alta atividade. Há o amolecimento da carne e, com a degradação protéica, há formação de peptídeos e aminoácidos livres. Nesta fase, há a ação rápida dos microrganismos, com formação de substâncias nitrogenadas voláteis. O estado do peixe é crítico quando as bases nitrogenadas voláteis chegam a 100 mg/ 100g.

Segundo Pereira et al. (2001), os compostos nitrogenados formados na deterioração do pescado são denominados bases voláteis totais, como TMA (Trimetilamina), DMA (Dimetilamina) e amônia, dentre outros.

No início do processo degradativo, a base volátil mais representativa é a amônia, originária dos produtos da desaminação dos derivados do ATP. Posteriormente, a amônia, proveniente da degradação de outros compostos nitrogenados, como aminoácidos, juntamente com a trimetilamina, formada a partir do óxido de trimetilamina, passam a se fazer presente (OGAWA; MAIA, 1999).

Siqueira (2001) explica que, devido ao acúmulo das bases voláteis no processo final de deterioração, os valores de pH do músculo do pescado aumentam de forma lenta logo após a captura e rapidamente na fase final. Porém, mudanças

de pH devido à deterioração diferem marcadamente com a variedade do pescado e da época do ano.

Segundo o RIISPOA, o pH da carne externa do pescado deve ser inferior a 6,8 e o pH da carne interna inferior a 6,5 (BRASIL, 2008).

Reddy et al. (1994) explicam que o pH do filé de tilápia fresco é de aproximadamente 6,22.

Em experimento realizado por Guimarães et al. (1988), os valores encontrados para o pH do músculo da tilápia eviscerada e conservada em gelo, variaram de 6,9 a 7,9, enquanto que, para o músculo da tilápia inteira submetida ao mesmo tratamento, os valores do pH tiveram uma variação de 6,9 a 8,2. A elevação do pH no músculo das tilápias inteiras foi, provavelmente, devido a uma autólise, seguida de contaminação bacteriana, visto que as amostras ainda continham o tubo digestivo.

De acordo com o RIISPOA, o máximo aceitável de bases voláteis totais (BVT) para o pescado ser considerado fresco é de 0,030 g de nitrogênio por 100g de carne (BRASIL, 2008). O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco também preconiza quantidades inferiores a 30 mg de nitrogênio por 100g de carne para o peixe apto para consumo, porém exclui os elasmobrânquios (BRASIL, 1997).

Ogawa e Maia (1999) relatam que peixes considerados em excelente estado de frescor, o teor de BVT varia de 5 a 10 mg/100g de carne; peixes com média conservação podem atingir até 15 a 25 mg/100g de carne, sendo que no estágio inicial da deterioração, este teor pode ir até 30 a 40 mg/100 g e, em estágios mais avançados, tal conteúdo geralmente encontra-se acima de 50 mg/100g.

Vários autores questionam a utilização desse parâmetro para avaliação do pescado de água doce, que possui quantidades mínimas de óxido de trimetilamina e, conseqüentemente, apresentam baixos valores de BVT, mesmo quando o pescado não mais apresenta características sensoriais aceitáveis (RODRIGUES, 2008).

Para o músculo da tilápia nilótica eviscerada conservada em gelo, os valores de BVT encontrados por Guimarães et al. (1988) foram de 8,80 mgN/100g no 1º dia e 26,05 mgN/100g no 21º dia de estocagem, enquanto que para as tilápias inteiras, foram de 8,80 mgN/100g no 1º dia e 28,60 mgN/100g no 21º dia de estocagem em gelo.

Albuquerque et al. (2004) avaliaram o estado de frescor de tilápias abatidas por hipotermia e armazenadas em gelo por 18 dias e, concluíram que os valores de pH variaram de 6,18 a 6,77, com aumento significativo entre 5<sup>o</sup> e 12<sup>o</sup> dias de armazenamento, provavelmente devido ao acúmulo de metabólitos produzidos pela hidrólise bacteriana, como, trimetilamina e amônia. Os valores de BVT variaram de 18,38 a 21,40 mg N-BVT/100g e, do 6<sup>o</sup> dia em diante, apesar das alterações sensoriais observadas, todos os valores encontraram-se abaixo do estabelecido pela legislação brasileira, indicando que esta análise é pouco sensível para pescado de água doce.

Os lipídios de pescado contêm grande quantidade de ácidos graxos altamente insaturados, que são susceptíveis a oxidação. A reação se realiza por um mecanismo de formação de radicais livres e se caracteriza por um período de indução, seguido por absorção de oxigênio, com formação de peróxidos, hidroperóxidos e compostos secundários, os quais conferem alteração das características sensoriais. A velocidade da reação é catalisada pela luz, calor, irradiação e metais pesados e pode ser retardada pela adição de antioxidantes, que atuam rompendo a cadeia de radicais livres ou decompondo os peróxidos. O perigo alimentar envolvido na ingestão de lipídios de pescado oxidados é atribuído a decomposição de peróxidos com formação de compostos secundários e reações que podem ocorrer no organismo humano. Em geral, o efeito nocivo dos óleos de pescado oxidados reflete danos secundários devidos à formação de radicais livres a partir de decomposição dos peróxidos, tendo estes a capacidade de destruir as vitaminas A e E (OGAWA; MAIA, 1999).

Ainda com relação à oxidação lipídica, Huss (1997) considera que um dos processos de deterioração química mais importantes do pescado constitui-se de alterações que ocorrem na fração lipídica do peixe. Os processos de oxidação, que são autocatalíticos, envolvem o oxigênio e os lipídios insaturados. O primeiro passo leva à formação de peróxidos, que não conferem nenhum sabor, mas podem levar ao aparecimento de colorações castanhas ou amarelas no tecido do peixe. O peróxido produz hidroperóxido e a degradação de hidroperóxidos origina a formação de compostos voláteis, como aldeídos, cetonas, álcoois e ácidos carboxílicos, que determinam um extenso espectro de odores e sabores, dentre eles, um forte sabor de ranço.

A qualidade do alimento não é afetada até que os compostos voláteis sejam formados. O aldeído mais comumente citado como produto da oxidação lipídica é o malonaldeído, um dialdeído com 3 átomos de carbono, que reage com o 2-ácido tiobarbitúrico produzindo coloração vermelha medida espectrofotometricamente (ARAÚJO, 2001).

Osawa et al. (2005) ainda explicam que a rancidez ou oxidação de lipídios, além de gerar produtos indesejáveis sob o ponto de vista sensorial, destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais. O teste de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) quantifica, dentre outras substâncias, o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poliinsaturados, formado durante o processo oxidativo. Para pescado e produtos à base de peixe, o teste é um dos mais adequados na avaliação da rancidez, apesar da reação não ser específica e estar sujeita à ação de interferentes.

Uma das formas de quantificar as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico é através da destilação, onde o alimento é destilado com ácido e o ácido tiobarbitúrico é adicionado à porção do destilado, seguido de aquecimento para o desenvolvimento máximo de cor e medição espectrofotométrica. Porém, a destilação, apesar de muito usada, resulta em valores mais altos, pois o aquecimento da amostra durante seu procedimento pode induzir à oxidação, aumentando a quantidade de aldeídos ou ainda acelerando a reação, resultando em valores mais elevados de TBARS (OSAWA et al., 2005).

A maioria dos estudos sobre oxidação de pescado é voltada para espécies de peixes gordurosos, os quais são mais susceptíveis à rancificação. Embora a tilápia seja um peixe de carne branca com baixo teor de gordura, também é susceptível a oxidação das gorduras devido a predominância de ácidos graxos polinsaturados na sua composição. Os valores de TBARS da tilápia pode variar de 0,20 a 0,80 mg de malonaldeído/kg (HUANG et al., 1998).

Velloso (2004) encontrou valores de 0,08 a 0,14 mg de malonaldeído/kg em amostras de filé de tilápia, quando avaliadas em relação às substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico. Não há na Legislação Brasileira padrões estabelecidos para a análise de TBARS.

Ke et al. (1984) estudaram valores de TBARS para várias espécies de pescado, e concluíram que valores inferiores a 0,57 mg de malonaldeído/kg indicam baixas

taxas de rancidez, entre 0,65 a 1,44 como levemente rançosos e valores superiores a 1,51 como rançosos e inaceitáveis.

Al-Kahtani et al. (1996) indicam valores abaixo de 3,0 mg de malonaldeído/kg para pescado como limite aceitável para consumo.

### **2.3.3 Aspectos sensoriais**

A avaliação sensorial é definida como uma disciplina científica, empregada para evocar, medir, analisar e interpretar reações características do alimento, percebidas através dos sentidos da visão, olfato, paladar, tato e audição (BEIRÃO et al., 2000).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (BRASIL, 1997) indica as características sensoriais que o pescado fresco deve apresentar: aparência, que deverá estar isenta de toda e qualquer evidência de decomposição, manchas por hematomas, coloração distinta à normal para a espécie considerada, incisões ou rupturas das superfícies externas; escamas: unidas entre si e fortemente aderidas à pele, translúcidas e com brilho metálico; pele: úmida, tensa e bem aderida; mucosidade: deve ser aquosa e transparente; olhos: devem ocupar a cavidade orbitária e ser brilhantes e salientes; opérculo: rígido, deve oferecer resistência à sua abertura; brânquias: de cor rosa ao vermelho intenso, úmidas e brilhantes, ausência ou discreta presença de muco; abdome: tenso, sem diferença externa com a linha ventral, a sua evisceração, o peritônio deverá apresentar-se muito bem aderido às paredes, as vísceras inteiras, bem diferenciadas, brilhantes e sem dano aparente; músculos: aderidos aos ossos fortemente e de elasticidade marcante; odor, sabor, cor: característicos de cada espécie.

A carne do pescado fresco é translúcida, porém com o início do processo de deterioração tende a ficar opaca. A coloração da carne branca do pescado varia de branco leitoso a cinza, e a carne escura torna-se castanha. As alterações na textura são diminuição da elasticidade e aumento da maciez, devido a desintegração estrutural, conseqüente do relaxamento do tecido conjuntivo e da fragmentação das miofibrilas (SIKORSK, 1990).

As alterações nas características sensoriais de pescados variam consideravelmente dependendo da espécie e do método de conservação. Entretanto, geralmente no processo de deterioração, as modificações sensoriais

podem ser divididas em quatro fases: fase 1: pescado fresco com odor e sabor próprios; fase 2: perda do odor e sabor, o pescado apresenta-se insípido; fase 3: a textura apresenta-se flácida e surgem os odores anormais, tais como, odor a frutas, mofo; fase 4: em estágios mais avançados predominam os odores desagradáveis (amoniacal e sulfúrico) e sabores ácido, amargo e de ranço. As fases 1 e 2 são causadas, principalmente, por reações autolíticas e, as fases 3 e 4 por atividade bacteriana (CHURCH, 1998).

Filés de tilápia deteriorados apresentam odor sulfídrico, textura flácida, intenso muco na superfície e coloração amarelada (REDDY et al., 1994).

Na análise sensorial, pode-se determinar a aceitabilidade e a qualidade dos alimentos, com auxílio dos sentidos humanos como paladar e olfato. Para avaliar-se a qualidade devem ser levadas em consideração as propriedades sensoriais, as quais são essenciais no momento da venda e consumo do produto (ROSA, 2004).

Para a análise de aceitação e preferência, segundo Simões et al. (1998), pode-se utilizar a escala hedônica de nove pontos, que vai desde “gostei muitíssimo” até “desgostei muitíssimo”. Adotando-se essa escala, a análise pode ser dividida em etapas e com diferentes atributos, sendo que os provadores recebem informações suficientes para que possam ter a capacidade de dar uma nota para cada amostra experimentada e os resultados possam ser analisados posteriormente por testes estatísticos.

A avaliação sensorial é considerada subjetiva, uma vez que depende dos órgãos dos sentidos, da experiência e capacidade de julgamento do analista, estando ainda sujeita à influência de fatores externos, que incluem o local de avaliação, estado emocional e de saúde do analista (BEIRÃO et al., 2000).

## 2.4 EMBALAGEM COM ATMOSFERA MODIFICADA

Entende-se por atmosfera modificada o acondicionamento de um determinado alimento em uma embalagem com composição gasosa diferente do ar, hermeticamente fechada. Essas embalagens são pouco permeáveis aos gases e o seu interior é formado por uma atmosfera pobre em oxigênio e rica em dióxido de carbono (MANO, 1997).

De acordo com Genigeorgis (1985), as duas categorias de atmosfera modificada mais empregadas na preservação dos alimentos são: modificação da

atmosfera através de técnica de embalagem, como embalagem a vácuo e modificação da atmosfera através de enriquecimento da embalagem pela adição de uma mistura de gases.

Como Parry (1995), Soccol e Oetterer (2003) descrevem, a embalagem a vácuo é a forma mais simples de uso de atmosfera modificada. O produto embalado a vácuo é acondicionado em um filme de baixa permeabilidade ao oxigênio, o ar é retirado da embalagem e esta é soldada. A atmosfera gasosa na embalagem a vácuo é reduzida, mas provavelmente é alterada durante a estocagem pela atividade microbiana que utiliza o oxigênio ( $O_2$ ) residual levando a um acréscimo de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) na embalagem de 10 a 20%.

O acondicionamento em embalagem com atmosfera modificada a vácuo é um processo tecnológico de preservação de alimentos que, em essência, consiste na exposição dos alimentos à ausência de ar, controlando o desenvolvimento de microrganismos, a ação enzimática e a oxidação, principais mecanismos de deterioração de alimentos. Esta tecnologia permite um incremento significativo na oferta de pescado, com maior qualidade e a baixo custo (PRENTICE; SAINZ, 2005).

Os mesmos autores constataram que filés de carpa-capim embalados a vácuo e armazenados a  $2^{\circ}C$  apresentaram, aos 60 dias, menos de 30mg de N-BVT/100g e os filés a vácuo armazenados a  $8^{\circ}C$  apresentaram, aos 60 dias, valores de BVT menores que 60mg de N-BVT/100g. Contudo, os filés que não utilizaram embalagens a vácuo deterioraram mais rapidamente, chegando aos sete dias de armazenamento já sem condições de consumo. O comportamento do pH foi bastante semelhante ao observado nos resultados de BVT, pois os valores de pH dos controles (sem vácuo) foram maiores que os valores dos filés embalados a vácuo. Os valores de TBARS e de peróxidos foram pouco significativos em termos da conservação deste produto, devido ao fato da carpa ser um peixe magro. Porém, os controles (sem uso de vácuo) apresentaram valores maiores para esses índices que os filés embalados a vácuo, o que pode ser facilmente justificado pelo fato da presença de oxigênio catalisar as reações oxidativas.

É muito importante também destacar, que existem dois sistemas de criação de atmosfera modificada, que são os meios ativos e os meios passivos de modificação. No meio ativo, ocorre a retirada do ar e então, é colocada uma mistura gasosa com dióxido de carbono, oxigênio e nitrogênio; no meio passivo, a troca

gasosa, isto é, a mudança de atmosfera, ocorre por meio do próprio alimento, pela sua respiração (AZEREDO et al., 2000).

Segundo Sarantópoulos e Soler (1994), a atmosfera modificada consiste na alteração da atmosfera ao redor de um produto alimentício, com a finalidade de aumentar sua vida útil. A substituição do ar atmosférico por uma mistura de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) e oxigênio ( $\text{O}_2$ ) pode propiciar maior durabilidade, evitando a degradação dos alimentos, pois estas misturas inibem o crescimento microbiano e evitam o ranço produzido por enzimas bacterianas e por oxidação.

Um dos fatores que mais influenciam a eficiência da embalagem com atmosfera modificada na extensão do prazo comercial de alimentos são as propriedades do filme plástico empregado. Este deve possuir, principalmente, baixa permeabilidade para manter a mistura gasosa no espaço interno da embalagem e evitar perdas de umidade e, resistência mecânica para evitar perfurações. Os polímeros mais utilizados são poliéster (nylon), polipropileno, cloreto de polivinil, etilvinil álcool e polietileno. Como um polímero não é capaz de apresentar todas as propriedades necessárias à embalagem com atmosfera modificada, utiliza-se uma combinação destes. O poliéster ou nylon confere resistência mecânica à embalagem, etilvinil álcool ou cloreto de polivinil são responsáveis pela baixa permeabilidade e o polietileno pela capacidade de selar a embalagem através de solda. Exemplos de combinações de polímeros adequadas para alimentos incluem nylon + polietileno, nylon + cloreto de polivinil + polietileno e nylon + etilvinil álcool + polietileno (SMITH et al., 1990).

#### **2.4.1 Histórico**

De acordo com Stiles (1990), o emprego de atmosfera modificada para incrementar a vida útil não é um conceito novo na conservação de alimentos. A ação conservadora do  $\text{CO}_2$  já é conhecida desde o século passado. Entretanto, estas investigações básicas não foram utilizadas para prolongar a vida útil de frutas, carnes e pescados até as décadas de 20 e 30. Em 1922, foi estudado o efeito de diferentes concentrações de  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$  em distintas temperaturas para avaliar o crescimento dos fungos causadores de apodrecimento em frutas. Em 1927, estudou-se o efeito da modificação da atmosfera sobre o prazo de estocagem de frutas. Estes experimentos iniciais deram lugar ao armazenamento comercial em

atmosferas controladas com maçãs. Entre 1932 e 1933, verificou-se que o pescado inteiro ou em filés podia conservar-se o dobro do tempo, quando armazenado em atmosfera contendo um mínimo de 25% de CO<sub>2</sub>. Entretanto, com uma concentração de 80% de CO<sub>2</sub>, foram observadas modificações indesejáveis do aspecto e da textura.

A partir de 1960, a embalagem em atmosfera modificada foi utilizada visando prolongar a vida útil dos alimentos perecíveis durante sua distribuição. Ainda na década de 60, foi implantado o sistema *cryovac*, que era um sistema a vácuo que reduzia o nível de oxigênio nas embalagens para prolongar a vida útil do alimento (BRODY, 1996).

Em 1969, Clark e Lentz (1969) descreveram que o enriquecimento da atmosfera com 20% de CO<sub>2</sub> era bastante eficaz para inibir o crescimento da microbiota psicotrófica gram-negativa, responsável pela alteração da carne resfriada. Na década de 70, teve início pesquisas mais apuradas sobre a embalagem em atmosferas modificadas para ampliar a vida útil de carnes bovina, suína e aves.

Nos anos oitenta, os gases protetores começaram a ser empregados para conservação de produtos de pastelaria e pratos prontos (BRODY, 1996).

#### **2.4.2 Gases empregados na embalagem com atmosfera modificada**

A escolha da mistura gasosa usada é influenciada pela microbiota capaz de crescer no produto, pela sensibilidade do alimento ao O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, e estabilização do pigmento requerido. Os gases normalmente utilizados em embalagens com atmosfera modificada são aqueles encontrados na atmosfera: O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> (ROSA, 2004).

A presença de O<sub>2</sub> é muito importante na estocagem de carnes frescas, pois mantém o pigmento mioglobina da carne na sua forma oxigenada, a oximioglobina, conferindo à carne fresca sua cor vermelha brilhante. Para certos produtos, entretanto, a presença de O<sub>2</sub> pode causar rancidez oxidativa ou problemas na coloração (por exemplo, peixe gordo e carnes curadas, respectivamente), além de estimular o crescimento das bactérias aeróbias (PARRY, 1995).

O mesmo autor explica que a mioglobina pode ter três formas, em função do oxigênio no ambiente que envolve a carne. São elas: a mioglobina reduzida (Mb),

que tem a cor vermelha e é responsável pela cor da carne imediatamente após o corte, ou da carne em embalagens a vácuo (conservada na ausência do ar), a oximioglobina ( $MbO_2$ ), de cor vermelho brilhante, típica de carne completamente oxigenada; e a metamioglobina ( $Mb^+$ ), que é parda e é formada pela oxidação dos pigmentos de formação férrica.

Na presença de  $O_2$ , podem ocorrer alterações oxidativas no pescado, induzindo a formação de aldeídos, cetonas e álcoois. A mistura de gases empregada depende da porcentagem de lipídeos do pescado, ou seja, peixes com alta porcentagem de gordura devem ser embalados em meio livre de  $O_2$  para prevenir problemas de rancificação (SOCCOL, 2002).

Parry (1995) explica que a presença do oxigênio em embalagens com atmosfera modificada para pescado não é necessária, devido à menor quantidade de mioglobina.

Apesar da indicação de ausência de  $O_2$  na mistura de gases empregada para pescado, muitos pesquisadores relatam valores baixos de TBARS nas amostras embaladas com atmosfera contendo  $O_2$ , sugerindo assim, que o oxigênio da mistura gasosa não acelera a rancificação (STAMMEN et al., 1990).

Sivertsvik et al. (2003) e Soccol; Oetterer (2003) explicam que a introdução de  $O_2$  nas embalagens com atmosfera modificada para pescado fresco pode reduzir a exsudação das amostras acondicionadas com altas concentrações de  $CO_2$  e inibir a ação de bactérias que reduzem OTMA a TMA, pois muitas bactérias específicas da deterioração do pescado empregam o OTMA como acceptor terminal de elétrons durante a respiração anaeróbica.

O Nitrogênio é um gás inerte, com baixa solubilidade, tanto em meio aquoso, como lipídico. Não exerce função sobre os microrganismos, é utilizado em menores concentrações que o  $CO_2$ , para expulsar o  $O_2$  da embalagem, retardando assim, indiretamente, a rancidez oxidativa e o desenvolvimento de microrganismos aeróbios responsáveis pela deterioração. Além disso, evita o colapso da embalagem promovido pela absorção de  $CO_2$ , devido à sua baixa solubilidade e menor permeabilidade através da embalagem em relação ao  $O_2$  e  $CO_2$  (CHURCH, 1993; SOCCOL; OETTERER, 2003).

De acordo com Clark e Lentz (1973), o  $CO_2$  é um gás incolor, inodoro e altamente solúvel em água e lipídeos e, quando se dissolve pode originar sabor

ácido. Além disso, é bacteriostático e fungistático a valores superiores a 10% de atmosfera, exercendo um forte efeito inibidor sobre o crescimento bacteriano.

Os mesmos autores explicam que o CO<sub>2</sub> inibe bactérias deteriorantes, gram-negativas, tais como *Pseudomonas* e *Shewanella*, que provocam perda de cor e odores desagradáveis em pescado. Porém, não retarda o crescimento de todos os microrganismos, sendo que o crescimento de bactérias ácido-lácticas aumenta na presença de CO<sub>2</sub> e em níveis baixos de O<sub>2</sub>. O efeito inibidor do CO<sub>2</sub> é mais efetivo a baixas temperaturas devido ao aumento da solubilidade, ou seja, a solubilidade do CO<sub>2</sub> é inversamente proporcional à temperatura de armazenamento.

Fernando et al. (1995) alertam que com a inibição da flora psicrotrófica aeróbia Gram-negativa, a multiplicação de microrganismos mais resistentes ao CO<sub>2</sub> pode ser favorecida devido a ausência de microrganismos competidores.

Amostras de filés de “Cod” embalados em atmosfera modificada com 40% de CO<sub>2</sub> e ausência de O<sub>2</sub>, e em aerobiose foram armazenados por 16 dias sob refrigeração e realizado a contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas. A amostra controle (embalada em aerobiose) apresentou no 4º dia de estocagem a contagem de 10<sup>6</sup> UFC/g e no 16º dia 10<sup>8</sup> UFC/g, já a amostra embalada em atmosfera modificada apresentou no 4º dia 10<sup>4</sup> UFC/g e no 16º dia 10<sup>6</sup> UFC/g (STAMMEN et al., 1990).

O CO<sub>2</sub> é solúvel tanto em meio aquoso como lipídico e é principalmente responsável pelo efeito bacteriostático e fungistático. A ação do CO<sub>2</sub> sobre a microbiota tem sido atribuída à redução de pH, devido à dissolução do CO<sub>2</sub> no meio, às alterações da permeabilidade celular bacteriana e à inibição enzimática, resultando no prolongamento da fase de adaptação e no aumento do tempo de geração dos microrganismos, o que reduz a taxa de crescimento, além de uma mudança na microbiota, levando à predominância de microrganismos de menor potencial de deterioração (SARANTÓPOULOS; SOLER, 1994).

A ação bacteriostática do CO<sub>2</sub> é influenciada pela sua concentração, pela carga microbiana inicial do alimento e pela temperatura de armazenamento. A absorção do CO<sub>2</sub> reduz o pH de pescado em geral de 6,6 para 6,2 (SOCCOL; OETTERER, 2003; SIVERTSVIK et al., 2003).

Sarantópoulos (1991) descreve que a concentração de CO<sub>2</sub> nas embalagens não afeta apenas os microrganismos, mas também pode causar alterações na cor e no sabor dos alimentos. Além disso, atmosferas com altas concentrações de CO<sub>2</sub>

podem acarretar o colapso da embalagem, pois este permeia o material de embalagem mais rapidamente do que o  $O_2$  e  $N_2$  e se dissolve na água e na gordura do alimento.

A princípio, qualquer combinação de dióxido de carbono pode ser empregada em atmosfera modificada. A combinação exata depende do teor de água e gordura do produto, da contagem inicial microbiana e da embalagem utilizada, sendo que, quanto maior a concentração de dióxido de carbono, maior será a vida útil do produto. Concentrações de 40 a 60% de  $CO_2$  são mais freqüentemente empregadas em pescado (STAMMEN et al., 1990; BRODY, 1996).

Segundo Parry (1995) e Sivertsvik et al. (2002), para diminuir a deterioração bacteriana, é necessária a introdução de dióxido de carbono em altas porcentagens, em conjunto com o armazenamento do alimento em baixas temperaturas, pois quanto menor a temperatura, maior é a solubilidade do  $CO_2$  na água e gordura dos alimentos.

Alguns trabalhos demonstram que o aumento da temperatura diminui a solubilidade do  $CO_2$  e aumenta o crescimento microbiano, de forma proporcionalmente maior, em relação ao produto acondicionado em embalagem com alta permeabilidade a gases. Este fato pode ocorrer, pois microrganismos anaeróbios facultativos e aeróbios patogênicos resistentes a ação antimicrobiana do  $CO_2$ , mas que não se multiplicam em baixas temperaturas de armazenamento têm seu crescimento favorecido devido a temperatura de abuso (ASHIE et al., 1996; SOCCOL; OETTERER, 2003).

Quanto mais cedo for introduzido o dióxido de carbono no alimento, maior será sua validade comercial, pois se a exposição da carne ao  $CO_2$  ocorre na fase logarítmica de crescimento dos microrganismos, o efeito do dióxido de carbono é reduzido em aproximadamente 30%. Porém, se a introdução for feita antes da fase logarítmica, a validade comercial pode se estender em 50% (ZEITOUN; DEBEVERE, 1993).

O monóxido de carbono (CO) tem sido utilizado na mistura de gases empregada nas embalagens com atmosfera modificada. O CO é um gás incolor e inodoro que se liga fortemente a mioglobina da carne, formando carboximioglobina, um pigmento estável e de coloração vermelha. Com o uso de CO o  $O_2$  pode ser removido da mistura gasosa e a concentração de  $CO_2$  aumentada para conferir maior efeito bacteriostático e, conseqüentemente, maior prazo comercial. Vários

estudos com carne bovina, suína e de aves concluíram que o uso de baixas concentrações de CO (0,4% a 1%) melhora a cor da carne, porém concentrações acima de 2% conferem uma cor vermelha artificial (VIANA et al., 2005).

De acordo com Stammen et al. (1990) e Church e Parsons (1995), com a dissolução do CO<sub>2</sub> há a formação de ácido carbônico que causa redução de pH e sabor ácido aos alimentos. Como a redução do pH é proporcional a concentração de CO<sub>2</sub>, muitos pesquisadores não indicam a análise de pH para avaliar o estado de conservação de alimentos embalados com atmosfera modificada.

O aumento da exsudação em carnes embaladas em atmosfera modificada é causado pela dissolução do CO<sub>2</sub> na superfície, devido a redução do pH, e conseqüente diminuição na capacidade das proteínas em reter água. Altas concentrações de CO<sub>2</sub> (> 60%) podem provocar mudanças sensoriais, como alteração da textura e cor da carne (PARRY, 1995; SOCCOL; OETTERER, 2003).

Durante a estocagem o pescado resfriado perde naturalmente de 1 a 3% de “drip”, com a embalagem com atmosfera de CO<sub>2</sub> a perda de “drip” aumenta para aproximadamente 14% (CHURCH, 1998).

O mesmo autor explica que a descoloração do pescado é outro fator negativo em embalagens com altas concentrações de CO<sub>2</sub> e baixa de O<sub>2</sub> devido a formação de metamioglobina.

As principais modificações sensoriais que ocorrem em pescado embalado com atmosfera de CO<sub>2</sub> são odor ácido, descoloração, perda de “drip” e alteração da textura. O odor ácido é causado pelo crescimento de bactérias ácido-láticas e rapidamente dissipado quando o produto é exposto ao ar; a descoloração ocorre devido ausência de O<sub>2</sub> na atmosfera, sendo mais significativo em peixes com carne escura; a acidificação do pH leva a maior perda de “drip” e, conseqüentemente, a textura do pescado apresenta-se mais amolecida (STAMMEN et al., 1990).

Os mesmos autores ainda explicam que em amostras de pescado embaladas com atmosfera modificada, os valores de BVT e TMA permanecem baixos durante todo o período de estocagem, devido principalmente, as alterações da microbiota e a redução de oxigênio na embalagem.

Sivertsvik et al. (2002) concluíram, a partir de experimentos, que a análise de BVT para avaliação do estado de conservação de pescado acondicionado em embalagem com atmosfera modificada não possui uma boa correlação com a

análise sensorial, pois as amostras apresentaram baixos valores de BVT quando as características sensoriais já não se mostravam aceitáveis.

Baixos valores de BVT encontrados em pescados embalados com atmosfera de CO<sub>2</sub> durante todo o período de estocagem devem-se ao efeito bacteriostático sobre a microbiota, que conseqüentemente, provoca a redução na produção de bases voláteis totais. Além disso, a ausência de O<sub>2</sub> das misturas gasosas também interfere na microbiota presente, dificultando assim a produção de amônia. Os autores afirmam que o mecanismo de deterioração do pescado embalado com atmosfera modificada difere do pescado embalado em aerobiose, não sendo a produção de BVT um bom indicador de deterioração (ibid).

Soccol (2002) avaliou em seu experimento amostras de filé de tilápia embaladas a vácuo e com atmosfera de 60% CO<sub>2</sub>:40% O<sub>2</sub>. Os valores de BVT não foram afetados, significativamente, pelos tratamentos e pelo período de armazenamento, e apresentaram valores abaixo do estabelecido pela Legislação Brasileira (30 mg de N-BVT/100g). A amostra controle apresentou no 1º, 7º, 13º e 20º dias de armazenamento sob refrigeração, os valores de 14,00 mg de N-BVT/100g, 13,30 mg de N-BVT/100g, 14,00 mg de N-BVT/100g e 18,90 mg de N-BVT/100g, as amostras embaladas a vácuo 14,70 mg de N-BVT/100g, 12,60 mg de N-BVT/100g, 15,17 mg de N-BVT/100g e 17,03 mg de N-BVT/100g e as amostras embaladas com atmosfera modificada 13,07 mg de N-BVT/100g, 11,90 mg de N-BVT/100g, 13,07 mg de N-BVT/100g e 16,57 mg de N-BVT/100g, respectivamente.

No experimento realizado por Poli et al. (2006) o filé de robalo embalado em atmosfera modificada com 40% de CO<sub>2</sub> e 60% de N<sub>2</sub> apresentou-se pálido após 2 dias de armazenamento sob refrigeração, provavelmente, devido a formação do ácido carbônico que desnaturou a mioglobina. No mesmo trabalho os pesquisadores avaliaram a contagem de bactérias aeróbias mesófilas das amostras embaladas em atmosfera modificada (MAP) e embaladas em aerobiose (AR): 1º dia MAP (3,8 log UFC/g), AR (3,9 log UFC/g); 5º dia MAP (4,2 log UFC/g), AR (7,6 log UFC/g) e 8º dia MAP (5,8 log UFC/g), AR (8,6 log UFC/g), e concluíram que a mistura gasosa utilizada aumentou a validade comercial dos filés.

Sivertsvik et al. (2003) avaliaram filé de salmão congelado, embalado em atmosfera modificada com 60% de CO<sub>2</sub> e 40% de N<sub>2</sub>, e concluíram que o efeito combinado dos métodos de conservação utilizados aumentou o prazo comercial do

filé para 24 dias, não tendo sido observadas modificações na textura e na exsudação do produto.

Smith et al. (1990); Church e Parsons (1995), sugerem para pescado gordo armazenado com a temperatura de 0° a 2°C, a mistura gasosa com 60% de CO<sub>2</sub>, 40% de N<sub>2</sub> e ausência de oxigênio para retardar alterações dos lipídeos. Para pescado magro indicam uma mistura com 40% de CO<sub>2</sub>, 30% de N<sub>2</sub> e 30% de O<sub>2</sub> com objetivo de minimizar a descoloração do pescado e, principalmente, exsudação já que peixes magros têm uma maior propensão devido a grande quantidade de água na sua composição.

O efeito de atmosferas modificadas sobre a validade comercial de filés de tilápia embalados em filmes com alta barreira e armazenados a 4°, 8° e 16°C foi avaliado por Reddy et al. (1995). Os autores observaram que os filés de tilápia embalados com 75% CO<sub>2</sub>:25% N<sub>2</sub> e mantidos a 4°C tiveram prazo comercial de 25 dias e, em temperaturas de 8° e 16°C, 13 dias apresentando características sensoriais aceitáveis. As amostras controle (100% ar) apresentaram-se próprias para consumo até 9 dias mantidas a 4°C e de 3 a 6 dias armazenadas em temperaturas de 8° e 16°C.

Os mesmos autores indicam a imersão de filés de pescado em solução de cloreto de sódio, previamente ao acondicionamento em atmosfera modificada, para reduzir a exsudação na embalagem causada pela redução de pH.

Smith et al. (1990) relatam que peixes, principalmente marinhos, acondicionados em embalagens com elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> e ausência O<sub>2</sub> e, armazenados em temperaturas de abuso por tempo prolongado, podem ter o risco do crescimento de bactérias anaeróbicas como o *Clostridium botulinum*. Para minimizar este risco indicam a inclusão de pequenas quantidades de O<sub>2</sub> na embalagem. Entretanto, trabalhos mais recentes explicam que não há evidências que a introdução de O<sub>2</sub> na embalagem minimize os riscos de crescimento de anaeróbios, pois muitos destes microrganismos são anaeróbios facultativos (SOCCOL; OETTERER, 2003).

Masniyom et al. (2002) relatam que os valores de TBARS aumentam proporcionalmente a concentração de CO<sub>2</sub> na embalagem. Os autores sugerem que devido a dissolução do CO<sub>2</sub> no músculo, há uma alteração da permeabilidade das membranas celulares interferindo no seu potencial antioxidante.

Valores elevados de TBARS encontrados em filés de pescado embalados com atmosfera modificada indicam que o CO<sub>2</sub> pode funcionar como catalisador para a instalação do ranço oxidativo. Filés de robalo embalados em atmosfera com 40% de CO<sub>2</sub> e 60% de N<sub>2</sub> e armazenados na temperatura de 2±1°C por 8 dias apresentaram valores mais elevados de TBARS (0,425 mg de aldeído malônico/kg) em comparação com a amostra controle embalada em aerobiose (0,101 mg de aldeído malônico/kg) (POLI et al., 2006).

Trutas embaladas em atmosfera com 80% de CO<sub>2</sub> e 20% de N<sub>2</sub> e armazenadas a 1,7°C apresentaram validade comercial de 20 dias, enquanto que o mesmo produto acondicionado em aerobiose manteve-se viável por 12 dias (ASHIE et al., 1996).

Amostras de filés de bagre foram embaladas em aerobiose, em atmosferas com variações nas concentrações de CO<sub>2</sub> (25% e 80%), complementados com N<sub>2</sub>, ausência de O<sub>2</sub> e armazenadas nas temperaturas de 2° e 8°C por 4 semanas. Os autores observaram que as amostras com 80% de CO<sub>2</sub> e armazenadas a 2°C apresentaram um aumento de 3 semanas no prazo comercial e um decréscimo no pH de 6,2 para 5,6 na segunda semana. A partir da segunda semana o pH aumentou, atingindo 6,8 na quarta semana de estocagem. Observaram também que os filés apresentaram uma coloração pálida devido ausência de O<sub>2</sub> e, conseqüente, conversão da oximioglobina em metamioglobina. Nos filés embalados com 25% de CO<sub>2</sub> e em aerobiose não ocorreu redução do pH. Não foi observado nas amostras crescimento de *Clostridium botulinum* (SILVA; WHITE, 1994).

Reddy et al. (1994) avaliaram filé de tilápia embalados em diferentes atmosferas (75% CO<sub>2</sub>:25% N<sub>2</sub>; 50% CO<sub>2</sub>:50% N<sub>2</sub>; 25% CO<sub>2</sub>:75% N<sub>2</sub>; 100% ar) e armazenados a 4°C. Os filés embalados em aerobiose apresentaram aos 9 dias de estocagem, alterações nas características sensoriais, pH acima de 6,6 e contagem de 8 log UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas. Com o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> na embalagem, o prazo comercial do filé de tilápia aumentou para 13 dias com atmosfera de 25% de CO<sub>2</sub>, 21 dias com atmosfera de 50% de CO<sub>2</sub> e 30 dias para 75% de CO<sub>2</sub> com características sensoriais aceitáveis. Os valores de pH foram 6,3 para os filés embalados com 25% de CO<sub>2</sub> e 50% de CO<sub>2</sub>, e 6,0 para os filés com 75% de CO<sub>2</sub>. A acidificação do pH ocorreu, provavelmente, devido a dissolução do CO<sub>2</sub> e não apresentou uma boa correlação com a deterioração do pescado.

Reale et al. (2008) avaliaram filés de robalo embalados com atmosfera de 60% CO<sub>2</sub>:35% N<sub>2</sub>:5% O<sub>2</sub> e armazenados a 2±1°C por 10 dias. A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas demonstrou um prazo comercial de 7 dias. Os valores de TBARS foram baixos, sendo o valor máximo encontrado de 0,3 mg malonaldeído/kg no 10º dia de armazenamento, provavelmente devido a alta concentração de CO<sub>2</sub> e baixa de O<sub>2</sub> na mistura gasosa.

## 2.5 IRRADIAÇÃO

De acordo com a RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001, a irradiação de alimentos é um processo físico de tratamento que envolve a exposição dos alimentos a doses controladas e distintas de radiação ionizante para os diferentes gêneros alimentícios, já embalados ou a granel. Essa energia eletromagnética penetrará nos alimentos com finalidades sanitária, fitossanitária e tecnológica, e ainda de acordo com esta mesma resolução, a dose mínima absorvida pelo alimento deve ser o suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima deverá ser inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais do alimento (BRASIL, 2001).

Esta resolução ainda estabelece que, em relação à rotulagem dos alimentos irradiados, além dos dizeres exigidos para os alimentos em geral e específicos do alimento, deve constar no painel principal a seguinte informação: "ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO", com as letras de tamanho não inferior a um terço (1/3) do da letra de maior tamanho nos dizeres de rotulagem e, quando um produto irradiado for utilizado como ingrediente em outro alimento, esta informação deverá constar na lista de ingredientes, entre parênteses, após o nome do mesmo. No caso de produtos a granel, tal informação deverá constar em notas fiscais e nos locais onde estiverem expostos à venda. Por fim estabelece também que alimentos em geral não devem ser re-irradiados, exceto quando apresentarem baixo conteúdo hídrico e com o objetivo de combater a re-infestação por insetos. Em casos de surtos, o Ministério da Saúde poderá definir uma dose mínima a ser utilizada em um determinado alimento (BRASIL, 2001).

Santos et al. (2003) descrevem a irradiação como um método de pasteurização a frio, porque a variação de temperatura nos alimentos processados é insignificante, e a energia necessária no tratamento por irradiação é cerca de 50

vezes menor do que a requerida no tratamento térmico que visa a controlar as doenças causadas por microrganismos patogênicos e parasitos, principalmente, em alimentos que são consumidos crus ou parcialmente processados.

Dantas (1999) relata que a irradiação é feita em uma instalação especial com paredes de até 2 m de espessura de concreto pesado e portas de chumbo, que não permitem que a radiação atinja o meio ambiente ou os operadores, sendo a fonte radioativa encapsulada em tubos de aço inoxidável. Os alimentos, embalados ou a granel, são movimentados para dentro e para fora da câmara de irradiação por esteiras, onde passarão pelo campo de radiação de forma controlada com precisão, para absorver a quantidade de energia necessária para o tratamento. Todo o processo é controlado pelos operadores por meio de um console situado fora da câmara de irradiação.

De acordo com a Universidade de São Paulo/Centro de Energia Nuclear na Agricultura (USP/CENA) (2002), o processo de irradiação é influenciado pela temperatura, umidade e tensão de oxigênio do meio, assim como, pelo estado físico do material a ser irradiado. Por este motivo, para cada produto a ser irradiado, são estabelecidos procedimentos específicos e diferentes doses de irradiação.

A quantidade de energia ionizante à qual um dado material é exposto denomina-se dose absorvida e é definida como sendo a energia absorvida por unidade de massa desse material (dose absorvida = energia absorvida/massa), sendo que a dose absorvida é expressa em grays (Gy) ou kilograys (kGy) (VITAL; JUNIOR, 2008).

A taxa de dose é a energia absorvida pelo alimento por unidade de tempo e dividida por sua massa, sendo expressa em kGy/hora (fontes de cobalto-60 e de césio-137) ou kGy/segundo (aceleradores de elétrons) (DIEHL, 1995).

De acordo com a Empresa Brasileira de Radiações (EMBRARAD) (2001) e Miyagusku et al. (2003), as doses recebidas pelos alimentos podem ter finalidades diferentes e serem classificadas como: a) Radurização: utiliza doses baixas (em média de 50 a 1000Gy, podendo dizer que 1Gy equivale a 1Joule/kg, onde, 1Gy = 0,001kGy ou 1kGy = 1000 Gy), com a finalidade de inibir brotamentos (batata, cebola, alho), retardar o período de maturação e de deterioração fúngica de frutas e hortaliças, controle de infestação por insetos e ácaros (cereais, farinhas, frutas) e controle de parasitas em carnes frescas (Cisticercose, por exemplo). b) Radicidação ou radiopasteurização: usa doses intermediárias (de 1 a 10 kGy) com o fim de

pasteurizar sucos, retardar a deterioração de carnes frescas, controle de microrganismos como, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp., *Listeria* spp., *E.coli* (principalmente, o sorotipo *E.coli* O157:H7, comuns em carne bovina), dentre outros, prolongando a vida útil. c) Radapertização ou esterilização: usa doses elevadas (10 a 70 kGy) na esterilização de carnes e outros produtos processados. Também tem ação contra esporos, como os do *Clostridium botulinum*.

Geralmente, os alimentos são irradiados embalados e os materiais mais utilizados são plástico (polietileno), vidro e papel. As embalagens desempenham as funções principais de prevenção à reinfestação microbiana ou por insetos e exclusão do oxigênio (VITAL; JUNIOR, 2008).

Um dos principais objetivos da irradiação é conservar os alimentos e reduzir a microbiota ou eliminar patógenos, tanto aqueles que se desenvolvem no próprio alimento, como aqueles que possam ser adquiridos durante a manipulação e/ou armazenamento. O processo de irradiação também inibe brotamentos em bulbos e tubérculos, retarda processos de maturação de frutas e vegetais, aumenta a qualidade sanitária e estende a validade comercial de produtos de origem animal (FRANÇA, 2000).

Segundo USP/CENA (2002) e Möller (2004), a irradiação retarda os processos orgânicos que provocam o apodrecimento e também inibe a maturação de algumas frutas e legumes. Também pode impedir a divisão de células vivas, tais como bactérias, leveduras e fungos, alterando suas estruturas moleculares e provocando sua ruptura. Parasitas, insetos e seus ovos e larvas são destruídos ou se tornam estéreis em virtude de alterações moleculares, assim como, ocorre em esporos.

A irradiação também oferece uma alternativa para eliminação do emprego dos agrotóxicos em alimentos. Muitos países utilizam a irradiação em frutas e vegetais em substituição aos pesticidas (THAKUR; SINGH, 1995).

Doses intermediárias de irradiação eliminam colônias de bactérias patogênicas, como *Salmonella*, *Escherichia coli*, inclusive o sorotipo O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria*, *Campylobacter*. Doses elevadas (iguais ou superiores a 10 kGy) são usadas na descontaminação de especiarias e condimentos, e esporos de bactérias como *Clostridium botulinum* e *Bacillus cereus*

podem ser inativados pela aplicação de doses de 31 kGy e 46 kGy, respectivamente (VITAL; JUNIOR, 2008).

Santos et al. (2003) explicam que a radiação ionizante atinge o alimento, danificando os ácidos nucléicos das bactérias, principalmente o DNA, levando à morte celular.

A sobrevivência de células microbianas ao processamento com radiação ionizante depende de alguns fatores, que incluem a natureza e extensão do dano direto produzido ao DNA. Além disso, a resistência das células à radiação também depende de condições ambientais extracelulares, tais como, o pH, a temperatura, a presença ou ausência de oxigênio, bem como a composição química do alimento no qual a célula está presente (DIEHL, 1995; MONK et al., 1995).

Com doses crescentes de radiação, o número de microrganismos sobreviventes tende a decrescer exponencialmente. Alimentos de origem animal, apresentam redução de 3 a 5  $\log_{10}$ , ao serem tratados com doses entre 1,5 kGy e 7kGy. Alimentos congelados exigem doses maiores para redução da microbiota do que resfriados. Por exemplo, a carne de frango resfriada é tratada com 3kGy para redução da microbiota e aumento da vida útil, enquanto que para a congelada recomenda-se a dose de 7kGy (VITAL; JUNIOR, 2008).

A microbiota gram-negativa é mais sensível a baixas doses de irradiação em relação a gram-positiva. Entretanto, a *Salmonella* spp. dentre as bactérias gram-negativas patogênicas, tem se mostrado a mais resistente à radiação ionizante. Outros patógenos bacterianos gram-negativos, incluindo *Escherichia coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila* e *Campylobacter* spp. apresentam, relativamente, baixa resistência à radiação ionizante (ASHIE et al., 1996).

Miyagusku et al. (2003) afirmam que a aplicação de doses de radiação ionizante aos alimentos pode causar diferentes alterações físicas, sensoriais e químicas, devido às diferenças na composição dos alimentos, assim como, devido a outros tratamentos empregados previamente, durante ou depois da irradiação. As alterações sensoriais são as mais comuns, principalmente após o uso de doses elevadas, sendo que alguns alimentos são mais susceptíveis que outros.

As mudanças químicas produzidas pela irradiação podem causar efeitos na cor e aroma dos alimentos. A extensão desses efeitos depende, principalmente, do tipo de alimento irradiado, da dose e tempo de irradiação e de outros fatores como a temperatura durante o processo (BORSA et al., 2004).

De acordo com Brewer (2004) mudanças na cor de carnes irradiadas ocorrem em função da susceptibilidade das moléculas de mioglobina em relação às alterações químicas desenvolvidas e energia desprendida durante o processo de irradiação. A cor ideal de alimentos durante a irradiação pode ser mantida através da adição de antioxidantes, emprego de embalagens com atmosfera modificada e controle da temperatura.

Em experimentos realizados por Xuetong et al. (2004) com carne de peru e bovina irradiados observou-se aumento da tonalidade vermelha.

Landgraf (2000) relata que, se as doses forem adequadamente controladas, as alterações sensoriais são praticamente imperceptíveis, com uma discreta variação na cor ou no aroma, de forma que os alimentos apresentam-se semelhantes aos não irradiados, podendo ser consumidos, transportados ou armazenados imediatamente após o tratamento.

Chirinos et al. (2002) relatam que radicais livres formados em carne bovina fresca, devido à grande atividade aquosa na mesma, podem reagir com as moléculas do próprio alimento, originando compostos com odor e paladar desagradáveis.

Durante o processo de irradiação, formam-se radicais livres que podem causar alterações, como o ranço, principalmente em alimentos ricos em gordura. Entretanto, a formação destes também pode ocorrer em outros processamentos tecnológicos de alimentos. Em quantidade extremamente reduzida, formam-se também subprodutos chamados radiolíticos, como a glicose, ácido fórmico e dióxido de carbono, que estão presentes naturalmente nos alimentos e são inofensivos à saúde (MÖLLER, 2004).

Azevedo et al. (2004) explicam que, em alimentos ricos em gordura, pode ocorrer a formação de uma substância chamada ciclobutanona, sendo que esta apresenta propriedades capazes de promover alteração celular ou até mesmo alterações no material genético celular, entretanto, afirmam também que as chances de tal substância ser formada em quantidade significativa são baixíssimas, visto que seriam necessárias doses excessivamente elevadas para tal ocorrência.

As principais alterações químicas que ocorrem devido à irradiação são: a produção de compostos voláteis, os quais são responsáveis por alterações das características sensoriais, e a formação de radicais livres, que causam a autoxidação dos lipídeos da carne na presença de oxigênio. Este fenômeno torna-se

mais importante quando o produto exposto contém ácidos graxos polinsaturados (URBAIN, 1986).

Vital e Junior (2008) explicam que as alterações indesejadas resultantes da irradiação de produtos ricos em lipídeos, como a rancificação oxidativa, podem ser minimizadas com a diminuição da dose, exclusão do oxigênio e resfriamento ou congelamento do alimento durante o processo de irradiação e no armazenamento.

De acordo com Lee et al. (1996), altas temperaturas durante a irradiação e doses de até 10kGy têm acarretado aumento no valor de TBARS (número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e no valor de peróxido de alguns alimentos.

Mulder (1984) explica que doses acima de 5 kGy podem causar efeitos sensoriais indesejáveis, recomendando assim, irradiação em condições de congelamento e dose de 3,9 kGy para eliminar *Salmonella*.

Entretanto, de acordo com o mesmo autor, a técnica não é recomendada para todos os alimentos, porque alguns produtos são sensíveis e sofrem modificações em seu aspecto, principalmente os alimentos ricos em gordura, que podem apresentar mudanças na cor, odor e desenvolvimento de sabor de ranço, e ter sua aceitação prejudicada pelo consumidor. Nesses casos, é indicado o uso de outras técnicas de tratamento, ou ainda a combinação dessas com a irradiação.

As vitaminas B<sub>1</sub>, E, A, C, K, B<sub>6</sub> e B<sub>2</sub> são as mais sensíveis a radiação, enquanto a vitamina D apresenta-se mais estável. Os sais minerais e elementos traços não são significativamente afetados pela radiação. O emprego de atmosfera modificada e baixas temperaturas podem contribuir para reduzir as perdas nutricionais (VITAL; JUNIOR, 2008).

Spolaore et al. (2001) relatam que os carboidratos podem sofrer degradação ou hidrólise, sendo convertidos em complexos nutricionais mais simples, sem comprometimento nutricional significativo. Entretanto, alguns alimentos ricos em sacarina podem apresentar sabor desagradável e diminuição da qualidade nutricional, e acrescentam ainda que, para evitar perdas nutricionais com a irradiação em doses mais elevadas, pode-se realizar a mesma em baixas temperaturas (-20°C a -40°C) ou a vácuo.

Azevedo et al. (2004) relatam que em alimentos irradiados as embalagens podem apresentar a “radura” que é o símbolo que indica que o produto foi tratado por irradiação (Figura 1). Os alimentos irradiados servidos em estabelecimentos

como restaurantes não necessitam de nenhum rótulo ou declaração no cardápio, pois o alimento oferecido, obviamente já sofreu algum outro tipo de processamento.



**Figura 1.** Radura: símbolo internacional da irradiação de alimentos.  
Fonte: Azevedo et al. (2004).

De acordo com a Empresa Brasileira de Radiações (EMBRARAD) (2001), a irradiação é um tratamento economicamente viável para grandes ou pequenas quantidades de produtos e constitui um dos processos mais rápidos de esterilização existentes na atualidade. A radiação gama apresenta alto poder de penetração, e o produto pode ser tratado em sua embalagem final. Como a instalação irradiadora é automatizada, o processo é facilmente monitorado, apresentando como fator variável o tempo de exposição. Além disso, não necessita de quarentena ou de tratamento pós-esterilização, pois a irradiação não deixa resíduos e não produz substâncias tóxicas.

A Universidade de São Paulo/Centro de Energia Nuclear na Agricultura (USP/CENA) (2002) destaca como vantagens da irradiação o fato de ser um processo a frio, que permite descontaminar alimentos congelados, sem causar efeitos indesejáveis em suas propriedades sensoriais e físico-químicas. Ainda relata que o processo pode ser usado para tratar uma grande variedade de alimentos, numa considerável faixa de tamanhos e formas, com pouca ou nenhuma manipulação, devido ao alto poder de penetração. A utilização da irradiação pode facilitar a distribuição e venda de frutas frescas, vegetais e carnes em virtude do aumento da vida útil desses produtos, sem alterar a sua qualidade. O processo pode substituir os tratamentos químicos, que deixam resíduos nos alimentos; pode substituir o uso dos aditivos químicos em alimentos e tornar desnecessário o uso de

produtos químicos usados para a desinfestação de frutas após a colheita como, por exemplo, o brometo de metila, cujo uso está condenado. Além disso, a irradiação pode acarretar uma diminuição do tempo de cozimento de certos alimentos, principalmente desidratados e permite atingir organismos (ovos e larvas de insetos, parasitas) no interior dos alimentos.

Santos et al. (2003) relatam que a radiação gama pode ser utilizada na inibição do brotamento em cebolas, batatas, retardamento do amadurecimento de frutas e vegetais e na pasteurização e esterilização de vários produtos alimentícios devido à sua alta capacidade de penetração. Por outro lado, as irradiações produzidas pelos raios X e feixes de elétrons apresentam poder de penetração menor, o que dificulta seu emprego na área de alimentos, embora de acordo com Spolaore et al. (2001), sejam empregadas com eficácia no tratamento de grandes volumes de produtos alimentícios de pequenas dimensões, como no caso de grãos.

De acordo com a RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001, radiação ionizante é qualquer radiação capaz de promover a ionização de átomos de materiais submetidos a ela sendo que, para o mesmo regulamento, a fim de garantir a segurança dos alimentos expostos à mesma, são consideradas apenas as radiações abaixo do limiar capaz de causar reações nucleares que poderiam induzir radioatividade nos mesmos (BRASIL, 2001).

Santos et al. (2003) afirmam que a irradiação pode ser realizada em alimentos congelados e que causa poucas alterações nos componentes dos alimentos, não muito diferentes daquelas produzidas por outros processos utilizados normalmente como desidratação, entre outros.

No Brasil, de acordo com a RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001, as fontes de radiação devem ser autorizadas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e devem seguir os seguintes padrões: a. Isótopos radioativos emissores de radiação gama: cobalto-60 e cézio-137; b. Raios X gerados por máquinas que trabalham com energias de até 5 MeV (Mega elétron-Volts); c. Elétrons gerados por máquinas que trabalham com energias de até 10 MeV (BRASIL, 2001).

As fontes gama utilizadas na irradiação de alimentos são o cobalto-60 e o cézio-137. O cobalto-60 tem meia-vida de 5,27 anos e decai para o níquel 60, que é estável, por meio da emissão de dois fótons gama (1,17 e 1,33 MeV) e de uma partícula beta (0,31 MeV). É produzido artificialmente, por meio da irradiação de barras de cobalto 59 em reatores nucleares, tem a grande vantagem de ser insolúvel

em água e em comparação a outras fontes com a mesma atividade, fornece a mesma dose em um tempo 7 vezes menor. Devido às vantagens citadas, os irradiadores gama comerciais utilizam, em sua absoluta maioria, fontes de cobalto-60 (HERNANDES et al., 2003).

Os mesmos autores explicam que o cézio-137 tem meia-vida de 30 anos, decai para o bário 137, que é estável, por meio da emissão de duas partículas beta (0,51 e 1,18 MeV) e emissão de um fóton gama (0,66 MeV), além de ser solúvel em água. Em virtude disso, é triplamente encapsulado em aço inoxidável. Seu uso como fonte para irradiação foi muito difundido no início dos anos 70, principalmente pela grande disponibilidade, visto ser um produto de fissão de reatores nucleares, que naquela época estava disponível em grande quantidade devido às atividades da indústria de reprocessamento de combustível. Sua maior desvantagem é ser solúvel em água, o que acarreta risco de contaminação do meio-ambiente. Entretanto, pode ser utilizado como fonte de reatores de pesquisa, uma vez que sua meia-vida é alta permitindo sua utilização por longos períodos.

Landgraf (2000) relata a falta de informação por parte do mercado consumidor como um fator limitante para sua aceitação. Leal (2005) também afirma que a irradiação é absolutamente segura e a desinformação e o preconceito ainda prejudicam a disseminação dessa tecnologia.

Hernandes et al. (2003) informam que alimentos irradiados não se tornam radioativos, pois em nenhum momento entram em contato direto com a fonte radioativa (ou seja, não são contaminados). Além disso, as energias das radiações utilizadas não são suficientes para induzir radioatividade (não ativam) nos alimentos. Todo o processo de irradiação de alimentos segue normas pré-estabelecidas, que garantem a segurança e visam preservar a qualidade dos alimentos.

Os alimentos irradiados têm sido bem recebidos pelos consumidores nos EUA, uma vez que este tratamento, sozinho ou combinado com outros, é eficiente quando se deseja aumentar a segurança dos alimentos, visto que reduz o número de microrganismos presentes, dentre eles os patogênicos e, conseqüentemente, diminui os prejuízos sociais e econômicos (SANTOS et al., 2003)

Leal (2005) explica que a propensão do consumidor para comprar alimentos irradiados nos EUA aumentou consideravelmente, graças a uma campanha educativa.

Segundo Ornellas et al. (2006), há uma correlação positiva entre a conscientização sobre o assunto e a disposição para comprar, sendo que, em sua pesquisa de opinião, 85% dos consumidores já haviam ouvido falar sobre a irradiação de alimentos e 70% deles demonstraram desejo em comprar estes produtos. Em um questionário, houve justificativas positivas para a aquisição de alimentos irradiados, sendo a questão sanitária a mais importante delas. Além disso, os estudos de atitude e testes de compra permitiram concluir que, quando é oferecida a oportunidade de esclarecimentos sobre a expectativa de benefícios e os menores riscos à saúde, os consumidores aceitam bem os alimentos irradiados. Contudo, a maioria das pessoas não tem tido esta opção e seus conhecimentos são limitados sobre esta tecnologia.

Por fim, com a crescente demanda mundial por alimentos cada vez mais seguros, o uso desta tecnologia acabaria também por melhorar as relações econômicas do país, uma vez que atenderia às exigências dos países importadores, aumentando, portanto, sua competitividade no mercado externo e, conseqüentemente, os lucros (LEAL, 2005).

### **2.5.1 Histórico**

A irradiação é uma tecnologia de preservação de alimentos que despertou o interesse dos pesquisadores em saúde pública há mais de 100 anos e começou a ser utilizada logo após a descoberta da radioatividade pelo francês Henry Becquerel, em 1895. Nos Estados Unidos (EUA), o Instituto de Tecnologia de *Massachusetts* vem realizando pesquisas nessa área desde 1899 e, em 1905, foram adquiridas nos EUA e na Inglaterra as primeiras patentes desse processo, com a finalidade de eliminar as bactérias. Cientistas alemães e franceses mostraram interesse pelo assunto a partir de 1914 (MELLO, 2000).

Em 1929, foi lançada na França uma patente para a preservação de alimentos por meio de processamento com radiação de alta energia. Entretanto, os resultados dessas pesquisas não foram satisfatórios, pois o processo de irradiação provocava alterações que comprometiam a aceitação do produto pelos consumidores (MELLO, 2000; MIYAGUSKU et al., 2003).

Em 1950, quando as Forças Armadas norte-americanas procuravam uma alternativa para a conservação de alimentos destinados às tropas, que reduzisse a

necessidade de refrigeração, foi desenvolvido nos EUA um programa coordenado pela Comissão de Energia Atômica com pesquisas aplicadas à irradiação de alimentos, no qual os benefícios trazidos por tal procedimento foram relatados. Em 1955, o Departamento Médico do Exército Americano avaliou a segurança dos alimentos comumente irradiados na dieta americana (SPOLAORE et al., 2001).

Após muitas pesquisas, o *Food and Drug Administration* (FDA) autorizou na década de 60 o emprego da irradiação em batatas, farinha de trigo e trigo, destinados à alimentação humana. Em 1970, a *National Aeronautics and Space Administration* (NASA) adotou a irradiação de carnes para o consumo no espaço, prática que se estende até os dias de hoje. Em 1980, a FDA seguiu aprovando o uso dessa tecnologia no tratamento de especiarias e temperos, frutas frescas, carne suína, substâncias secas e desidratadas. Entretanto, só em 1990, aprovou o uso em carcaças de frango, estendendo a utilização desta tecnologia para diversos alimentos (SPOLAORE et al., 2001; ORNELLAS et al., 2006).

A partir de 1964, a Organização Mundial de Saúde (OMS), em conjunto com a FAO e a *International Atomic Energy Agency* (IAEA) começou a acompanhar os resultados dos estudos realizados em irradiação de alimentos, através de uma série de reuniões com especialistas de diversos países do mundo. Já em 1980, estas organizações posicionaram-se favoravelmente sobre a salubridade de alimentos irradiados, desde que submetidos a uma dose máxima de 10 kGy (quilogray). Em setembro de 1997, houve a última reunião, onde ficou estabelecido que a OMS recomendava a irradiação de alimentos em doses que não comprometessem suas características sensoriais. O processo é utilizado até os dias de hoje em muitos países (MELLO, 2000; CHIRINOS et al., 2002).

Nos EUA, as agroindústrias podem irradiar a carne vermelha desde fevereiro de 2000, enquanto que a carne de frango já vem sendo irradiada desde 1993 e a suína recebe o tratamento há mais tempo, desde 1985. Embora a técnica seja utilizada já há algum tempo no setor, a oferta de carne irradiada está ao alcance de mercados limitados (SANTOS et al., 2003)

Ornellas et al. (2006) relatam que, no Brasil, as primeiras pesquisas com irradiação de alimentos foram feitas na década de 50 pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) em Piracicaba, São Paulo.

A irradiação foi aprovada no Brasil em 1973, pelo Decreto nº 72718. Posteriormente, a irradiação de vários produtos foi regulamentada pelas Portarias nº 9 de 1985 e nº 30 de 1989 (BRASIL, 1973; REIS, 2001).

Com a Resolução RDC nº 21 de 26/01/2001 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), que aprovou o Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos e revogou as Portarias nº 09 de 08/03/1985 e nº 30 de 25/09/1989, tem havido uma expansão desse quadro e o interesse constante de irradiar diversos gêneros alimentícios (BRASIL, 2001).

Os países membros da FAO, *World Health Organization* (WHO) e IAEA estabeleceram um novo órgão internacional em 1990, o *International Consultative Group on Food Irradiation* (ICGFI), para documentar, atualizar as informações e fornecer subsídios tecnológicos e científicos para a aprovação internacional da irradiação de alimentos. Desde então, todo o progresso dessa tecnologia tem sido tema de várias conferências internacionais abordando aspectos da saúde pública, segurança microbiológica, transformações químicas, instalações e tecnologia de irradiadores, assim como, esclarecimentos aos consumidores e regulamentação de produtos e dosagens (MIYAGUSKU et al., 2003; AZEVEDO et al., 2004).

De acordo com o ICGFI, nos últimos anos, a radiação tem se destacado como técnica promissora entre os recursos atuais disponíveis para a preservação de alimentos. Cerca de 500 mil toneladas por ano de vários produtos alimentícios são irradiadas em todo mundo. Países como Argentina, Bélgica, Chile, Dinamarca, Estados Unidos, França, Hungria, Holanda, Japão e outros, utilizam a irradiação para diminuir o risco de toxinfecções alimentares e aumentar o prazo comercial de seus alimentos. Parcela significativa dos norte-americanos já consome carnes e frutas irradiadas e, na América do Sul, a Argentina vende para o Mercosul, morangos, cebolas e frangos irradiados (FRANÇA, 2000; MIYAGUSKU et al., 2003).

### **2.5.2 Aplicação do processo de irradiação em pescado**

A irradiação aplicada com doses de 0,75 a 2,5 kGy prolonga a validade comercial tanto de pescado marinho como de água doce. Entretanto, como a irradiação favorece a oxidação das gorduras, é mais indicada para pescado magro (ASHIE et al., 1996).

Segundo Siqueira (2001), a utilização das radiações associada às técnicas complementares de refrigeração em alimentos minimamente processados derivados de tilápia, prolonga o tempo de vida comercial do produto, além de conferir boa aceitação sensorial para os atributos de aparência, aroma, cor e textura.

O mesmo autor analisou os aspectos físico-químicos e microbiológicos de amostras de filé de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*) irradiadas a 5 kGy e não irradiadas, armazenadas sob refrigeração na faixa de  $-0,5^{\circ}$  à  $-2^{\circ}\text{C}$  durante 30 dias. Concluiu que as amostras irradiadas mantiveram-se próprias para o consumo por 30 dias, enquanto que as amostras não irradiadas apresentaram alterações a partir do 10º dia.

Amostras de filé de tilápia irradiadas com doses de 1,0, 2,2 e 5,0 kGy, mostraram-se favoráveis quanto aos aspectos de aparência e aroma por até 20 dias de armazenamento sob refrigeração (COZZO et al., 2003).

Al-Kahtani et al. (1996) analisaram as características físico-químicas de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) irradiados com dose de 1,5, 3,0, 4,5, 6,0 e a 10 kGy e não irradiados e estocados por 20 dias à temperatura de  $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Os valores de BVT rapidamente aumentaram na amostra controle (não irradiada) atingindo 30 mgN/100g aos 12 dias de armazenamento. Nas amostras irradiadas os valores de BVT foram reduzidos nos primeiros 16 dias de estocagem e atingiram o limite de 30 mgN/100g aos 20 dias. Os valores de TBARS aumentaram proporcionalmente com a dose de irradiação. O valor máximo encontrado na amostra controle foi de 0,6 mg malonaldeído/kg aos 16 dias de armazenamento e nas amostras irradiadas também com 16 dias, variando de 0,4 a 1,0 mg malonaldeído/kg de acordo com a dose de irradiação. No último dia de armazenamento houve um declínio nos valores de TBARS de todas as amostras, provavelmente devido a formação de compostos secundários da oxidação lipídica não reativos com ácido tiobarbitúrico ou pela interação covalente do malonaldeído com os grupos aminas livres presentes em proteínas.

Amostras de camarão branco do pacífico foram irradiadas nas doses de 1,0 e 3,5 kGy, armazenadas a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 21 dias e avaliadas em relação a formação de compostos oriundos da oxidação lipídica através da análise de TBARS. Observou-se que as amostras irradiadas com 3,5 kGy apresentaram a partir do 21º dia aumento de 0,64 mg malonaldeído/kg para 1,20 mg malonaldeído/kg, e a amostra controle

apresentou drástica redução dos níveis de TBARS a partir do 7º dia de armazenamento (LOPES, 2006).

Filés de tilápia irradiados com as doses de 1,0 e 2,2 kGy mantidos na temperatura de 0,5 a 1°C foram avaliados no 1º e no 20º dias de armazenamento. Os valores de TBARS da amostra controle foram de 0,26 mg de aldeído malônico/kg e 0,36 mg de aldeído malônico/kg respectivamente. As amostras irradiadas a 1,0 kGy apresentaram resultados de 0,3 e 0,4 mg de aldeído malônico/kg, e as amostras irradiadas a 2,2 kGy 0,4 e 0,9 mg de aldeído malônico/kg (SIQUEIRA, 2001).

Abu-Tarboush et al. (1996) avaliaram tilápia irradiada com as doses de 1,5, 3,0, 4,5, 6,0 e 10,0 kGy e armazenadas por 20 dias a temperatura de  $2\pm 2^\circ\text{C}$  e concluíram que doses de 3 e 4,5 kGy aumentaram a aceitabilidade sensorial (aparência, odor e textura) e a qualidade microbiológica da tilápia. A amostra controle apresentou uma validade comercial de 12 dias e as amostras irradiadas com doses de 3 e 4,5 kGy apresentaram um aumento de 8 dias na validade comercial em relação a amostra controle, ou seja, 20 dias.

Várias espécies de peixes sub-tropicais foram irradiados nas doses de 1, 3 e 5 kGy, armazenados a 2°C e avaliados por 3 semanas. A dose de 1 kGy resultou na redução de 1,5 a 4 log na contagem total de bactérias mesófilas. A qualidade sensorial diminuiu com o aumento da dose de irradiação. Doses acima de 3 kGy alteraram as características sensoriais de algumas espécies, principalmente peixes de carne branca, que apresentaram alteração no odor, diminuição da suculência e aparência seca. Os autores concluíram que a irradiação com dose de 1 kGy aumentou a validade comercial de várias espécies de pescado sem alterar a qualidade sensorial (POOLE et al., 1994).

O pescado irradiado apresenta valores baixos de BVT quando comparados com amostras não irradiadas, pois a radiação reduz a carga microbiana e, conseqüentemente, a decomposição do óxido de trimetilamina (AHMED et al., 1997).

Ghadi e Venupogal (1991) concluíram a partir dos resultados de suas pesquisas que a dose de irradiação de 1,5 kGy aumentou a validade comercial da cavalinha mantida sob refrigeração de 12 para 25 dias, e que o risco de contaminação por *Clostridium botulinum* é diminuído quando o pescado é embalado previamente à irradiação.

Reale et al. (2008) avaliaram filés de robalo irradiados com dose de 3 kGy e armazenados a  $2\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 10 dias. A contagem total de bactérias aeróbias mesófilas demonstrou um prazo comercial acima de 10 dias. Os valores de TBARS foram baixos, sendo o valor máximo encontrado de 0,4 mg malonaldeído/kg no 10º dia de armazenamento.

## 2.6 PROCESSOS COMBINADOS DE CONSERVAÇÃO

O emprego, simultaneamente, de dois ou mais métodos de conservação é considerado mais eficiente no aumento da validade comercial e na manutenção da qualidade dos alimentos, pois um método pode compensar a limitação do outro. A combinação de embalagem com atmosfera modificada e baixas doses de irradiação tem demonstrado ser mais efetivo na preservação dos alimentos do que os métodos aplicados individualmente. Filés de bagre embalados com atmosfera modificada e não irradiados tiveram um prazo comercial de 10 dias, no entanto a validade dos filés embalados com atmosfera modificada e irradiados com baixas doses foi de 30 dias (ASHIE et al., 1996).

A irradiação pode ser utilizada juntamente com outros métodos de conservação de alimentos, como, refrigeração, tratamento térmico e embalagem em atmosfera modificada, a fim de prolongar, consideravelmente, a vida útil de alguns alimentos durante o período de armazenamento, refrigerados ou não, sendo necessário um envase perfeito que não permita uma nova contaminação (ROSA, 2004).

O emprego de doses de irradiação acima de 3 kGy em pescados favorece a instalação da oxidação lipídica, uma vez que estes possuem altas concentrações de ácidos graxos insaturados. Porém, quando se utiliza baixas doses combinadas com ausência de oxigênio, os processos oxidativos são minimizados (GHADI; VENUPOGAL, 1991).

Thakur e Singh (1995) indicam embalar o alimento a vácuo, irradiar com baixas doses e armazenar sob refrigeração para minimizar os efeitos negativos da irradiação, como a oxidação das gorduras e destruição de vitamina E.

Kusmider et al. (2002) estudaram os efeitos do uso da irradiação e embalagem em atmosfera modificada em carne bovina e, concluíram que os métodos combinados reduziram os efeitos negativos da irradiação, como o aumento

dos valores de TBARS (rancidez oxidativa) e alterações sensoriais, principalmente, em relação a cor e odor.

De acordo com Lambert et al. (1991) o emprego de atmosfera modificada com 20% de CO<sub>2</sub> e irradiação com dose de 1,0 kGy em carne suína foi suficiente para retardar a oxidação dos lipídeos e aumentar a validade comercial da carne.

Os efeitos da irradiação, em conjunto com as embalagens varia, dependendo do grupo de carne e da composição atmosférica dentro da embalagem. O FDA aprova embalagens de polietileno para irradiação de carne de aves com baixas doses de radiação ionizante. Os autores afirmam que informações mais completas ainda são necessárias para assegurar o uso adequado de embalagem com atmosfera modificada em combinação à irradiação (LEE et al., 1996).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O material utilizado e os métodos adotados neste estudo serão abordados nos itens abaixo com o objetivo de esclarecer sobre o experimento realizado.

#### **3.1 MATERIAL**

A seguir serão relacionados os materiais utilizados em todas as etapas do presente experimento.

##### **3.1.1 Obtenção e processamento das amostras**

Na despesca dos peixes, foi utilizada uma rede de arrasto da marca Bernauer, malha de 5 mm com 20 m de comprimento (Apêndice 7.1).

A depuração foi realizada em tanque com água corrente e a insensibilização em caixa de fibrocimento com água e gelo (Apêndices 7.2 e 7.3). Para o abate e filetagem dos peixes, utilizou-se alicate para retirada da pele, placas para corte, de polietileno, facas com cabo de polietileno, luvas de proteção, bandejas plásticas e gelo (Apêndices 7.4 e 7.5).

As amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas Cryovac BBL4 com estrutura multicamadas de baixa permeabilidade a gases e embalagens plásticas de alta permeabilidade a gases.

Para a embalagem das amostras a vácuo e em atmosfera modificada, foi utilizada a termoseladora marca Tecmaq, modelo AP 450 (Apêndice 7.6).

Os filés embalados e resfriados foram expostos à radiação gama no irradiador de pesquisa com fonte de Césio-137 do CTEEx. Logo em seguida, foram

armazenados sob refrigeração em refrigerador doméstico, marca Electrolux, modelo D440 (Apêndice 7.7).

### **3.1.2 Análises físico-químicas**

Para a determinação do número de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), foram utilizados balança analítica, marca Mettler, modelo AE 200 com precisão de 0,0001, o destilador com tubos de Kjeldahl, marca Endolab, tubos de ensaio com tampa rosqueada, banho-maria, marca Incomap, espectrofotômetro, marca Micronal, modelo B280, os reagentes: solução de ácido tiobarbitúrico, ácido clorídrico 4N e outros materiais comuns em laboratório.

Na análise de Bases Voláteis Totais (Método de Microdifusão em placa de Conway), utilizou-se balança analítica, marca Mettler, modelo AE 200, com precisão de 0,0001, frasco de kitasato de 500 mL, funil de Buchner, papel de filtro Whatman nº 5, placas de Conway, estufa marca Fanem regulada a 35°C, microbureta de 5 mL, os reagentes: solução de ácido bórico de Conway, indicador misto de Tashiro, solução de ácido tricloroacético a 10%, solução saturada de carbonato de potássio e ácido clorídrico a 0,01N e outros materiais comuns em laboratório.

Para medir o pH foi utilizado um peagômetro portátil marca Schott.

### **3.1.3 Análises bacteriológicas**

Para contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas, utilizou-se o meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (APC), balança mecânica, marca Record, modelo E-04, autoclave, marca Fabbe, modelo 103, aparelho de "stomacher", marca Seward, modelo 80, estufa para incubação, marca Thermolyne, modelo 42000, geladeira para incubação e materiais comuns em análises microbiológicas.

### **3.1.4 Avaliação sensorial**

Na avaliação sensorial, foram usadas bandejas plásticas e fichas com escala hedônica estruturada com 9 pontos (Figura 2).

## 3.2 MÉTODOS

Os métodos empregados na obtenção e processamento das amostras, assim como, nas análises físico-químicas, bacteriológicas e sensoriais serão descritos a seguir.

### 3.2.1 Obtenção e processamento das amostras

As amostras de tilápia (*Oreochromis niloticus*) foram obtidas no Centro de Aqüicultura e preparadas na Fábrica Piloto Professor Elmo Rampini de Souza do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Plínio Leite – Campus Itaboraí/RJ.

Foi realizada a despesca com rede de arrasto, de 150 kg de peixe vivo com peso médio de 600g. As tilápias foram colocadas por 24 horas sem alimentação em tanque com água corrente para depuração. Após a depuração, os peixes foram insensibilizados em caixas de fibrocimento com água hiperclorada a 10 ppm e gelo na proporção de 1:1 respectivamente (Apêndices 7.1, 7.2 e 7.3).

Em seguida, os peixes foram descabeçados, eviscerados e tiveram a pele removida com auxílio de alicate ainda na área suja. Posteriormente, os troncos foram encaminhados para área limpa onde foram lavados com água corrente e filetados com auxílio de facas (Apêndices 7.4 e 7.5).

Após o preparo dos filés, estes foram acondicionados em embalagens de alta permeabilidade a gases, conservados em caixas isotérmicas (poliestireno expandido) com gelo e transportados até o Laboratório de Aves e Ovos da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal Fluminense, Niterói/RJ para o acondicionamento a vácuo e em atmosfera modificada.

As amostras de filé de tilápia (45 kg) foram acondicionadas em atmosfera modificada com mistura de gases de 40% de CO<sub>2</sub> (dióxido de carbono) complementados com 60% de N<sub>2</sub> (nitrogênio) e a vácuo em máquina termoseladora (Apêndice 7.6). A seguir, as amostras a serem irradiadas foram transportadas em caixas isotérmicas com gelo seco até a Seção de Defesa Nuclear do Centro Tecnológico do Exército (CTEx) em Guaratiba, Rio de Janeiro onde foram expostas à radiação gama nas doses de 1,5 e 3,0 kGy. As amostras embaladas foram colocadas em contato com gelo seco em bandejas no interior do irradiador para

evitar o aumento da temperatura durante o processo. A taxa de dose efetiva e o tempo de exposição foram calculados usando-se um programa computacional que leva em consideração o mapeamento dosimétrico do irradiador, o decaimento da fonte de céσιο-137, a densidade e geometria da amostra.

Foram assim pesquisados 9 tratamentos, ou seja, para cada uma das 3 doses de radiação investigadas (0, 1,5 e 3,0 kGy) foram testadas 3 diferentes atmosferas de acondicionamento dos filés de tilápias resfriados: aerobiose, vácuo e atmosfera modificada (40%CO<sub>2</sub>:60%N<sub>2</sub>).

Após a irradiação, as amostras foram transportadas refrigeradas à Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, armazenadas em refrigerador doméstico à temperatura de 1,0±1,0°C e avaliadas nos Laboratórios de Controle físico-químico, Controle microbiológico e de Análise Sensorial do Departamento de Tecnologia de Alimentos.

### **3.2.2 Análises físico-químicas**

As amostras foram analisadas em intervalos de 5 dias até o 30º dia de armazenamento, ou seja, nos 1º, 5º, 10º, 15º, 20º, 25º e 30º dias.

#### **3.2.2.1 Determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico**

A análise foi realizada pela metodologia indicada pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (BRASIL, 1981), com pequenas adaptações propostas por Tarladgis et al. (1960) (Apêndice 7.17).

O princípio da determinação do número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico baseia-se na formação de um composto de coloração vermelha resultante da condensação de 2 moles de ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico ou de seus tautômeros originados na oxidação dos lipídeos.

Foram pesados em béquer 10g de amostra previamente homogeneizada e acrescentados 50 mL de água destilada. A amostra foi triturada em liquidificador por 2 minutos. A mistura foi transferida para um tubo de destilação do tipo Kjeldahl com auxílio de 47,5 mL de água destilada. Em seguida adicionou-se 2,5 mL de HCl 4 N para corrigir o pH para 1,5 (conferido com peagômetro). O tubo foi conectado e iniciou-se a destilação. Recolheu-se 50 mL do destilado em 10 minutos após o início

da ebulição. Retirou-se 5 mL do destilado e colocou-o em tubo de ensaio rosqueado onde se adicionou 5 mL da solução de ácido tiobarbitúrico (TBA). Fez-se o branco adicionando 5 mL de TBA a 5mL de ácido tiobarbitúrico. Os tubos foram fechados, agitados e imersos em banho de água fervente por 35 minutos, sendo então retirados e resfriados em água corrente por 10 minutos. Fez-se a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro a 538 nm previamente calibrado com o branco. Para encontrar o nº de TBA multiplicou-se o valor encontrado na leitura da absorbância por 7,8 convertendo o resultado para mg de malonaldeído por kg ou 1000g do produto analisado.

#### 3.2.2.2 Bases voláteis totais

Realizou-se o método proposto pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (BRASIL, 1981), com pequenas adaptações, cujo princípio se baseia na precipitação de proteínas por ácido tricloroacético e extração das bases. A adição de solução de carbonato de potássio ao extrato libera as bases voláteis que se difundem e fixam-se na solução de ácido bórico, sendo as bases fixadas tituladas com ácido (Apêndice 7.18).

Para o preparo do extrato triturou-se em liquidificador homogeneizador osterizer 10 g da amostra com 10 mL da solução de ácido tricloroacético a 10%. Em seguida, procedeu-se a filtração desse extrato em funil de büchner usando-se papel de filtro Whatman nº 5 recebendo o filtrado em um frasco com tampa de rosca.

Após esse preparo inicial, colocou-se, no compartimento central da placa de microdifusão, 2mL de solução de ácido bórico de Conway e, no compartimento externo, 2 mL do extrato para, em seguida, colocar a tampa com vaselina sólida ou silicone pelo lado rugoso deixando uma pequena abertura para adicionar 2 mL de solução saturada de carbonato de potássio. Imediatamente após a adição a placa foi fechada e suavemente homogeneizada sendo mantido por 2 horas em repouso em estufa regulada de 35 a 36°C. Após esse período a tampa foi retirada e procedeu-se a titulação com solução de ácido clorídrico 0,01 N até a viragem para a cor azul acinzentado.

Para obter o valor das bases, utilizou-se o seguinte cálculo:

$$\text{mg de N-BVT/100 g} = \frac{V \times N \times 14 \times 100 (T+U)}{V_a \times P}$$

Onde:

V = Volume de ácido clorídrico 0,01 N gasto na titulação

N = Normalidade da solução de HCL (0,01 x fator)

14 = Equivalente grama de Nitrogênio

T = Volume de solução de ácido tricloroacético (10 mL)

U = Umidade da amostra em gramas

V<sub>a</sub> = Volume da alíquota analisada (2 mL)

P = Peso da amostra utilizada no preparo do extrato (10 g)

### 3.2.2.3 pH

A análise foi realizada pelo método potenciométrico indicado pelo Laboratório Nacional de Referência Animal (BRASIL, 1981), com pequenas adaptações, que se baseia na determinação instrumental do pH, no qual a extremidade do eletrodo é imersa em 10 mL de solução de água destilada recente ou deionizada com 50 g da amostra homogeneizada.

### 3.2.3 Análises bacteriológicas

As análises foram realizadas em intervalos de 5 dias até o 30º dia de armazenamento das amostras, ou seja, nos 1º, 5º, 10º, 15º, 20º, 25º e 30º dias.

#### 3.2.3.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas

A contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM) foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade, onde se utilizou o meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (APC), com incubação a 36±1°C e leitura em 48h. Os resultados foram expressos em log UFC/g de amostra (BRASIL, 2003).

#### 3.2.3.2 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas

Para a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (BHAP) realizou-se o método de plaqueamento em profundidade. Para tal, utilizou-se o meio

de cultura Ágar Padrão para Contagem (APC), com incubação a 7°C por 10 dias. Os resultados foram expressos em log UFC/g de amostra (APHA, 2001).

### **3.2.4 Avaliação sensorial**

Escolheu-se para a avaliação sensorial o teste de aceitação com uso da escala hedônica. O referido teste foi realizado por um grupo de 30 julgadores não treinados nos 1º, 10º e 20º dias. As amostras foram apresentadas aos provadores embaladas, devidamente codificadas e em bandejas plásticas para avaliação dos atributos de “cor” e “aparência geral” (CHAVES; SPROESSER, 1993).

Os julgadores avaliaram as amostras individualmente através de fichas com escala hedônica de 9 pontos, tendo como extremos 1 (desgostei extremamente) e 9 (gostei extremamente). Foi solicitado aos mesmos que marcassem nas referidas fichas as respostas que melhor refletissem seu julgamento em relação à aceitação do produto (Figura 2).

### **3.2.5 Análise estatística**

Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) que avaliou a existência ou não de diferenças entre as amostras ao nível de 5% de significância. Para verificar quais tratamentos diferiram entre si foi aplicado o teste de Tukey. A estatística foi realizada pelo programa estatístico SAS (SAS, 1985).

<b>AVALIAÇÃO SENSORIAL</b>	
<b>ESCALA HEDÔNICA</b>	
Nome: _____	Data: _____
Sexo: _____	Idade: _____
Por favor, avalie a amostra utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto em relação a cada atributo indicado. Marque a posição da escala que melhor reflita seu julgamento.	
<b>CÓDIGO DA AMOSTRA:</b> _____	
<b>ATRIBUTO: COR</b>	
<input type="checkbox"/> Gostei extremamente	
<input type="checkbox"/> Gostei muito	
<input type="checkbox"/> Gostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Não gostei / nem desgostei	
<input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Desgostei muito	
<input type="checkbox"/> Desgostei extremamente	
<b>ATRIBUTO: APARÊNCIA GERAL</b>	
<input type="checkbox"/> Gostei extremamente	
<input type="checkbox"/> Gostei muito	
<input type="checkbox"/> Gostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Não gostei / nem desgostei	
<input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente	
<input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente	
<input type="checkbox"/> Desgostei muito	
<input type="checkbox"/> Desgostei extremamente	
<b>Comentários:</b>	
_____	
_____	
_____	

**Figura 2.** Ficha de avaliação sensorial com escala hedônica de 9 pontos, tendo como extremos 1 (desgostei extremamente) e 9 (gostei extremamente) apresentada aos provadores.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, serão apresentados os resultados e realizadas as discussões pertinentes, primeiramente às análises físico-químicas e bacteriológicas, e posteriormente à avaliação sensorial.

### 4.1 NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

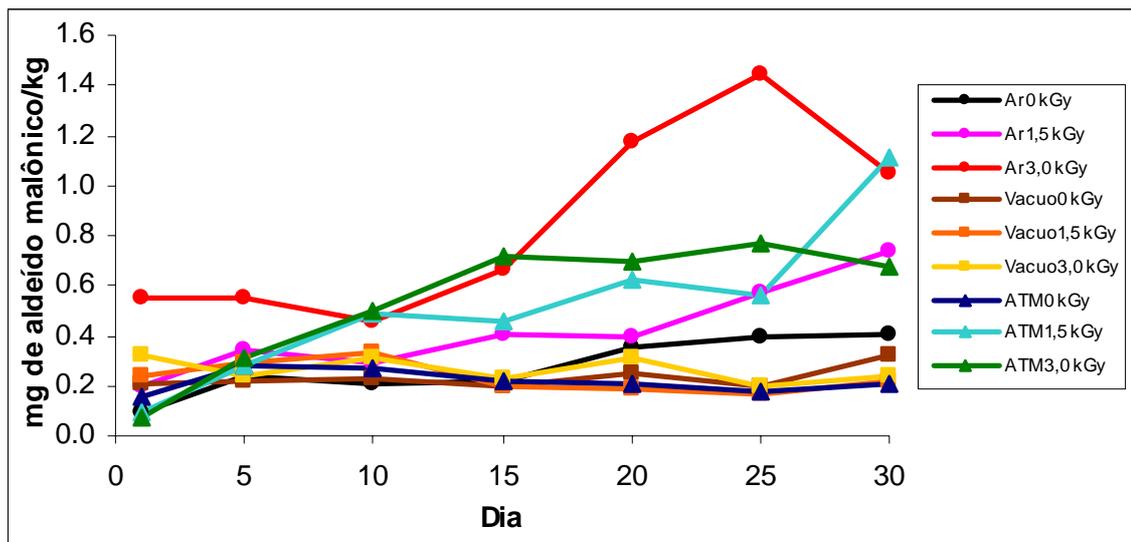
Os resultados da análise do Número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) das amostras encontram-se na Tabela 1 e estão representados graficamente nas Figuras 3 e 4.

**Tabela 1.** Resultados da análise de Número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (mg de aldeído malônico/kg) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por 30 dias.

TRATAMENTOS		ARMAZENAMENTO (dia)						
		1	5	10	15	20	25	30
AR	0 kGy	0,093	0,234	0,210	0,218	0,351	0,390	0,405
	1,5 kGy	0,202	0,343	0,296	0,405	0,393	0,569	0,733
	3,0 kGy	0,546	0,555	0,460	0,670	1,177	1,443	1,045
VÁCUO	0 kGy	0,210	0,218	0,225	0,202	0,249	0,202	0,327
	1,5 kGy	0,234	0,288	0,336	0,202	0,187	0,171	0,218
	3,0 kGy	0,319	0,234	0,312	0,226	0,312	0,202	0,234
ATM	0 kGy	0,156	0,280	0,266	0,220	0,210	0,176	0,210
	1,5 kGy	0,093	0,280	0,487	0,460	0,624	0,566	1,107
	3,0 kGy	0,070	0,312	0,499	0,717	0,694	0,764	0,678

AR 0 kGy: amostra controle

ATM: atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>)

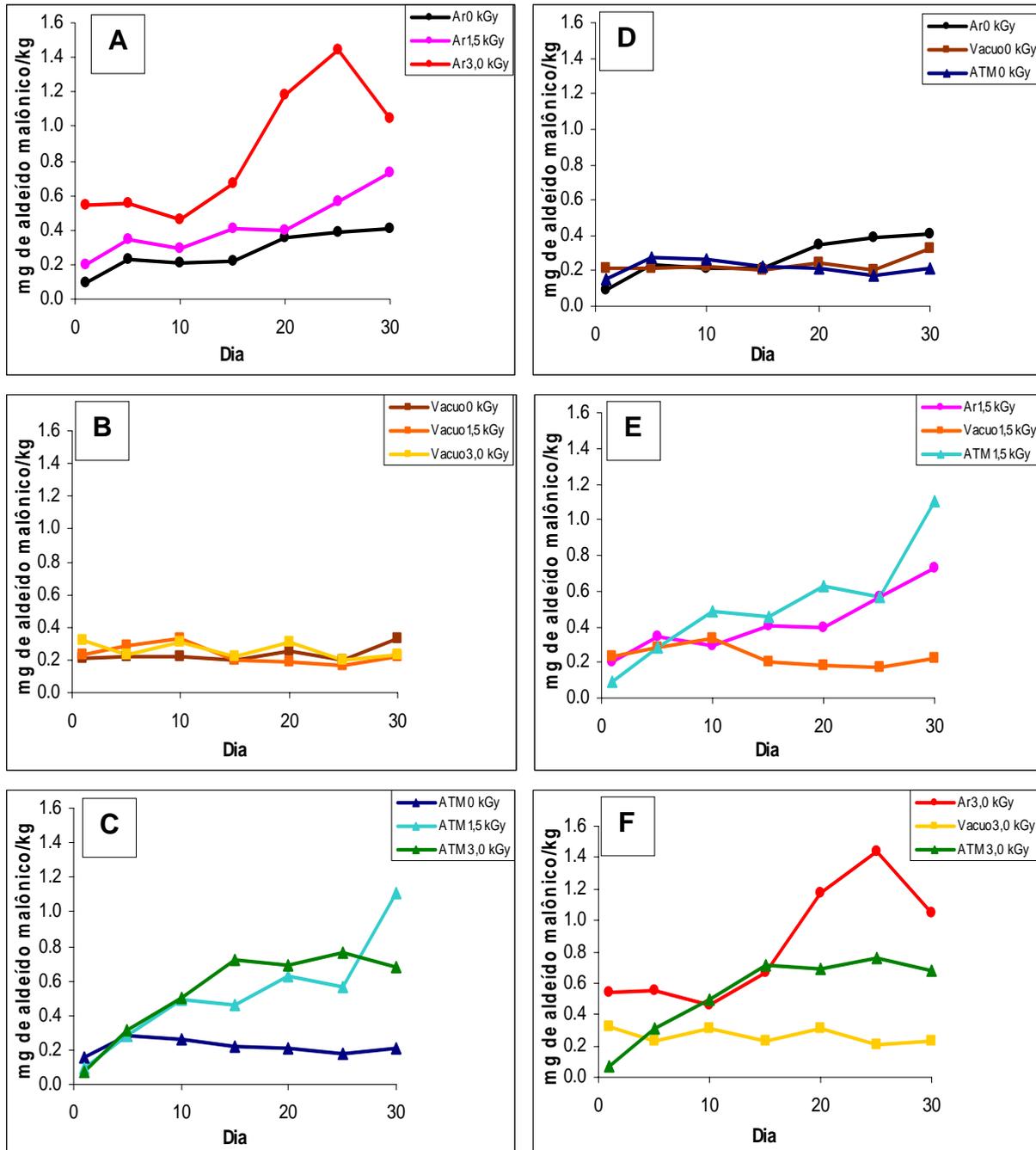


**Figura 3.** Representação gráfica dos resultados da análise de Número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (mg de aldeído malônico/kg) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ).

Na Figura 4D pode-se observar os resultados da análise de TBARS encontrados para as amostras embaladas em diferentes atmosferas e não irradiadas. Os dados demonstram que a amostra embalada em aerobiose apresentou valores mais elevados de TBARS a partir do 20º dia em relação às amostras embaladas a vácuo e com atmosfera modificada que não sofreram irradiação. Estes resultados podem ser explicados, como alguns autores relatam (PARRY, 1995; HUSS, 1997; SOCCOL, 2002; OSAWA et al., 2005), pela presença de oxigênio nas embalagens que favorece a oxidação dos lipídeos em alimentos com predominância de lipídeos insaturados, com formação de compostos secundários como o malonaldeído.

Em relação aos resultados da amostra considerada controle (AR 0 kGy), notou-se valores crescentes de TBARS (0,093 mg de aldeído malônico/kg no 1º dia e 0,405 mg de aldeído malônico/kg no 30º dia) durante o armazenamento com aumento mais significativo a partir do 20º dia (0,351 mg de aldeído malônico/kg), porém com resultados inferiores aos encontrados nas amostras embaladas em aerobiose e irradiadas (Tabela 1 e Figuras 3 e 4A). Estes valores de TBARS diferiram dos resultados encontrados por Huang et al. (1998) para filés de tilápia que estabeleceu uma variação de 0,20 a 0,80 mg de aldeído malônico/kg, assim como, dos dados descritos por Velloso (2004) de 0,08 a 0,14 mg de aldeído malônico/kg e

Al-Kahtani et al. (1996) que relatou 0,6 mg de aldeído malônico/kg como o valor máximo encontrado aos 16 dias de armazenamento, mas foram semelhantes aos valores encontrados por Siqueira (2001) de 0,36 mg de aldeído malônico/kg no 20º dia de estocagem.



**Figura 4.** Representação gráfica dos resultados da análise de Número de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (mg de aldeído malônico/kg) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada); D (não irradiadas); E (irradiadas a 1,5 kGy); F (irradiadas a 3,0 kGy).

Os resultados dos tratamentos AR 1,5 kGy e AR 3,0 kGy, demonstram (Tabela 1 e Figuras 3 e 4A) que os valores de TBARS aumentaram proporcionalmente à dose de irradiação, ou seja, a amostra irradiada com 1,5 kGy apresentou teores mais baixos de TBARS (0,202 mg de aldeído malônico/kg no 1º dia e 0,733 mg de aldeído malônico/kg no 30º dia) do que a amostra irradiada com dose de 3kGy (0,546 mg de aldeído malônico/kg no 1º dia e 1,045 mg de aldeído malônico/kg no 30º dia). Ao compararem-se os teores de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico de todos os tratamentos estudados, observa-se pelos dados representados graficamente nas Figuras 3 e 4 que a amostra AR 3,0 kGy obteve os maiores valores desde o 1º dia de análise.

A relação entre, doses mais elevadas de irradiação com aumento da produção de TBARS observado no presente estudo, também foi relatado por Al-Kahtani et al. (1996). O filé de tilápia tem na sua composição predominância de lipídeos insaturados, os quais são susceptíveis à oxidação na presença de oxigênio e de catalisadores. O processo de irradiação pode funcionar como catalisador da reação, a partir da formação de radicais livres, acelerando assim, a velocidade de instalação do ranço oxidativo (URBAIN, 1986; OGAWA; MAIA, 1999; MÖLLER, 2004). Os valores de TBARS relatados neste trabalho foram semelhantes aos resultados encontrados por Siqueira (2001), onde filés de tilápia irradiados a 1,0 e 2,2 kGy obtiveram no 20º dia de armazenamento 0,4 e 0,9 mg de aldeído malônico/kg, respectivamente.

A partir do 25º dia de armazenamento, amostra AR 3,0 kGy (Figuras 3 e 4A) apresentou um decréscimo no valor de TBARS, devido, provavelmente, a conversão de parte do malonaldeído presente nas amostras em produtos terciários da oxidação lipídica não reativos com o ácido tiobarbitúrico ou pela interação covalente do malonaldeído com os grupos amins livres presentes em proteínas, fato este relatado por alguns autores (AL-KAHTANI et al., 1996; LOPES, 2006).

Os resultados apresentados na Tabela 1 e Figuras 3 e 4 demonstram que as amostras embaladas a vácuo apresentaram valores mais baixos e mais constantes de TBARS durante o período de armazenamento em relação às demais amostras, com exceção da embalada em atmosfera modificada e não irradiada. A amostra embalada a vácuo e irradiada com 1,5 kGy apresentou um aumento gradual nos valores de TBARS até o 10º dia de armazenamento e ligeiro decréscimo do 15º até o 25º dia. A amostra embalada a vácuo e irradiada com dose de 3,0 kGy apresentou

um ligeiro aumento nos 10<sup>o</sup> e 20<sup>o</sup> dias de análise. O emprego de baixas doses de irradiação, combinado com a ausência de oxigênio para minimizar os processos oxidativos dos lipídeos, tem sido relatado por diversos autores (GHADI; VENUPOGAL, 1991; THAKUR; SINGH, 1995; KUSMINDER et al. 2002; VITAL; JUNIOR, 2008). Tal fato é corroborado no presente trabalho pelos resultados de TBARS encontrados nas amostras embaladas a vácuo e irradiadas.

As amostras embaladas com atmosfera modificada e irradiadas apresentaram valores mais elevados de TBARS em relação às amostras embaladas a vácuo e irradiadas, sendo que amostra ATM 1,5 kGy também apresentou valores mais elevados que a amostra AR 1,5 kGy (Figuras 3, 4E e 4F ). Estes resultados são explicados por pesquisadores (MASNIYOM et al., 2002; POLI et al., 2006), os quais sugerem que os valores de TBARS aumentam proporcionalmente à concentração de CO<sub>2</sub> na embalagem como consequência da alteração da permeabilidade das membranas celulares, a qual aparentemente interfere no potencial antioxidante das mesmas. Entretanto, baseando-se nos resultados obtidos no presente estudo, os valores de TBARS da amostra ATM 1,5 kGy foram superiores ao esperado. Este fato pode ser atribuído a variações ocorridas durante a realização da análise, pois o método de destilação utilizado para quantificar TBARS pode resultar em valores mais altos de aldeídos devido ao aquecimento da amostra que induziria ou aceleraria a reação de oxidação dos lipídeos.

Apesar de não haver na Legislação Brasileira padrões estabelecidos para a análise de TBARS, Al-Kahtani et al. (1996) indicam valores abaixo de 3,0 mg de aldeído malônico/kg para pescado como limite aceitável para consumo. Entretanto, Ke et al. (1984) concluíram em seus estudos que valores inferiores a 0,57 mg de malonaldeído/kg correspondem a um nível insignificante de rancidez, valores entre 0,65 e 1,44 correspondem a uma rancidez leve a moderada e valores superiores a 1,51 a uma rancidez excessiva. Uma rápida inspeção da Tabela 1 permite concluir que todas as amostras apresentaram valores de TBARS abaixo do limite de rancidez excessiva.

Observou-se uma tendência ao aumento dos valores de TBARS com o tempo nas amostras em atmosfera contendo oxigênio ou CO<sub>2</sub>, sendo que os valores das amostras irradiadas cresceram a taxas mais elevadas. Ressalta-se, contudo, que independentemente do fato de as amostras terem sido irradiadas ou não, todos os valores encontrados podem ser considerados baixos ou moderados e, portanto,

estão dentro dos limites aceitáveis para consumo quando comparados com os valores citados na literatura. Também é importante salientar que o filé de tilápia possui baixo teor de gordura (< 1%) na sua composição o que pode ter contribuído para a formação de baixos valores de compostos secundários da oxidação dos lipídeos.

#### 4.2 BASES VOLÁTEIS TOTAIS

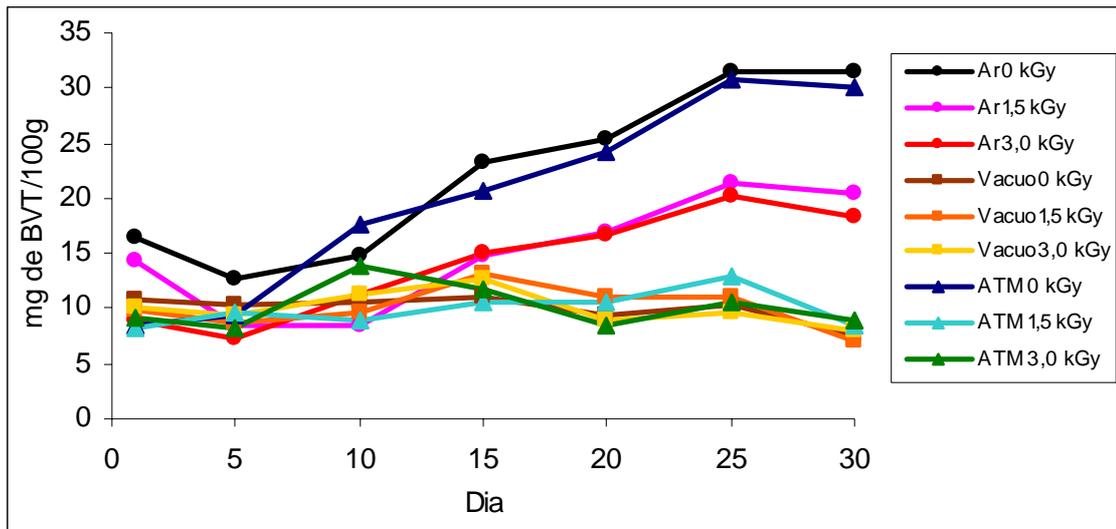
Os resultados da análise de Bases Voláteis Totais (BVT) das amostras podem ser observados na Tabela 2 e melhor visualizados nas Figuras 5 e 6.

**Tabela 2.** Resultados da análise de bases voláteis totais (mg de N-BVT/100g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por 30 dias.

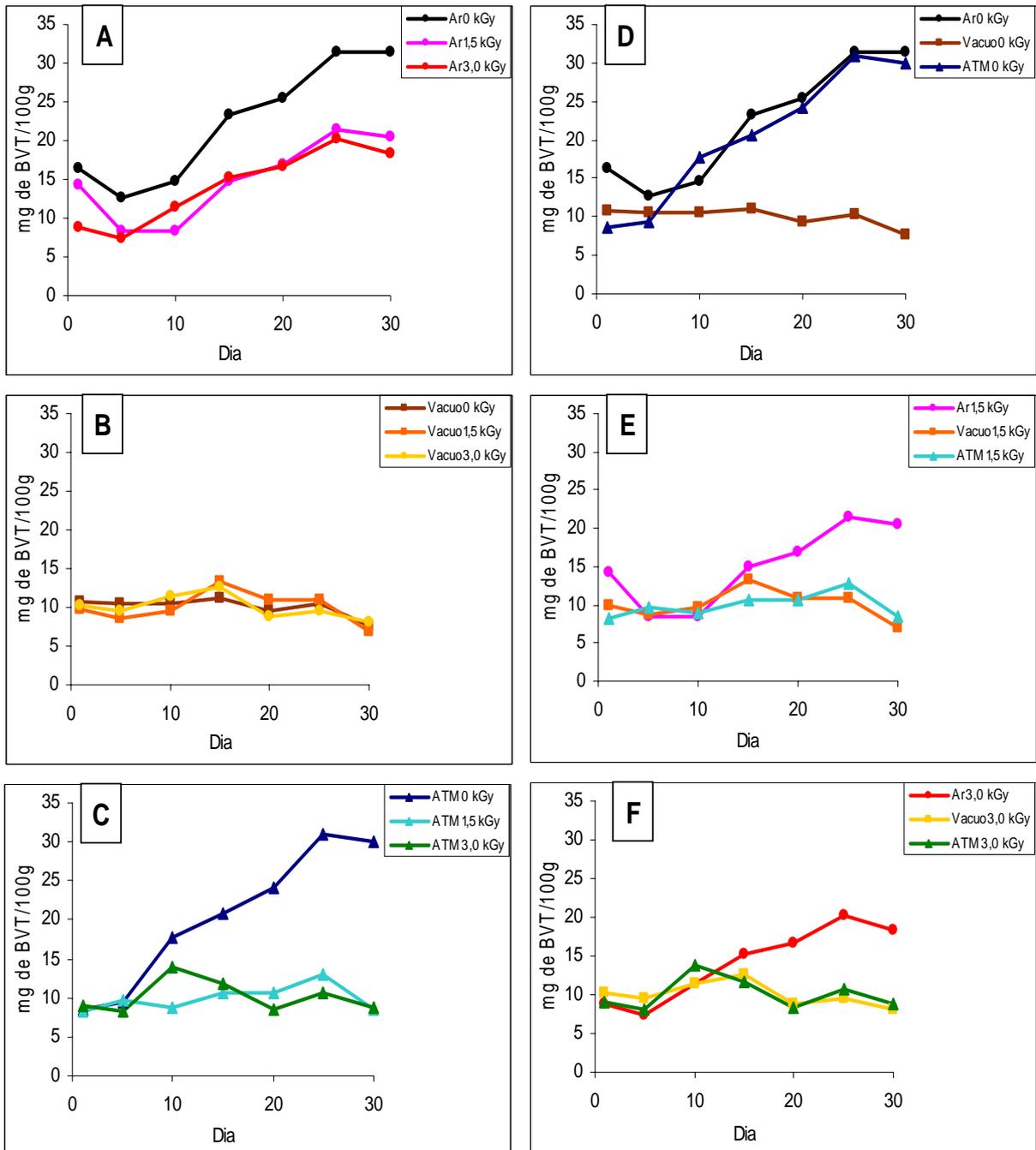
TRATAMENTOS	ARMAZENAMENTO (dia)							
	1	5	10	15	20	25	30	
AR	0 kGy	16,38	12,60	14,74	23,30	25,36	31,50	31,50
	1,5 kGy	14,23	8,44	8,44	14,86	16,88	21,42	20,40
	3,0 kGy	8,82	7,30	11,34	15,12	16,63	20,25	18,30
VÁCUO	0 kGy	10,71	10,45	10,58	11,08	9,45	10,40	7,56
	1,5 kGy	9,82	8,69	9,57	13,23	10,96	10,98	7,00
	3,0 kGy	10,20	9,46	11,34	12,72	8,82	9,60	8,00
ATM	0 kGy	8,56	9,45	17,64	20,70	24,19	30,87	30,00
	1,5 kGy	8,31	9,70	8,82	10,58	10,58	12,90	8,44
	3,0 kGy	9,07	8,20	13,86	11,71	8,44	10,60	8,82

AR 0 kGy: amostra controle

ATM: atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>)



**Figura 5.** Representação gráfica dos resultados da análise de bases voláteis totais (mg de N-BVT/100g) de filés de tilápia embalados com diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle. ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ).



A amostra controle e a amostra ATM 0 kGy obtiveram os valores mais elevados de BVT (Tabela 2 e Figura 5). Os resultados da amostra controle demonstraram um crescimento gradativo das bases voláteis totais durante o

armazenamento atingindo 31,50 mg de N-BVT/100g a partir do 25º dia. Estes dados foram semelhantes aos encontrados na pesquisa de Guimarães et al. (1988), na qual as amostras de tilápia apresentaram uma tendência ao aumento da produção de bases voláteis totais a partir do 20º dia de armazenamento, porém diferiram dos resultados descritos por Al-Kahtani et al. (1996), em que os valores das bases voláteis totais aumentaram rapidamente na amostra controle, atingindo 30 mg de N-BVT/100g aos 12 dias de armazenamento.

Observa-se na Tabela 2 e Figura 5, que as amostras embaladas em aerobiose e irradiadas tiveram um decréscimo nos valores de BVT quando comparadas com a amostra controle, entretanto não foi observada uma relação entre menores valores de BVT e doses mais elevadas de irradiação, fato este melhor visualizado na Figura 6A. Conforme relatam Ahmed et al. (1997), estes resultados demonstram que o pescado irradiado apresenta valores baixos de BVT quando comparados com amostras não irradiadas, pois a radiação reduz a carga microbiana, e conseqüentemente, a decomposição do óxido de trimetilamina. Al-Kahtani et al. (1996) também observaram em seu experimento que a irradiação de filés de tilápia nas doses de 1,5 e 3,0 kGy reduziu os valores de BVT, aumentando de 16 para 20 dias o tempo para atingir 30 mg de N-BVT/100g.

A produção de bases voláteis totais de todas as amostras embaladas a vácuo e em atmosfera modificada, com exceção da ATM 0 kGy, foram inferiores em relação aos demais tratamentos (Figuras 5, 6B e 6C). Os dados apresentados graficamente nas Figuras 5 e 6B demonstram que as amostras embaladas a vácuo, apresentaram valores similares de BVT, fato este explicado por Stammen et al. (1990) e Prentice; Sainz (2005) os quais relatam que devido, principalmente, às alterações da microbiota e à redução de oxigênio na embalagem, os valores de BVT permanecem baixos durante todo o período de estocagem. Sivertsvik et al. (2002) ainda afirmam que o mecanismo de deterioração do pescado embalado com atmosfera modificada difere do pescado embalado em aerobiose, não sendo a produção de BVT um bom indicador de deterioração, pois o efeito bacteriostático do CO<sub>2</sub> sobre a microbiota e a ausência de O<sub>2</sub> nas misturas gasosas, o qual também reduz a microbiota presente, dificultam a produção de amônia.

Como se observa na Tabela 2 e nas Figuras 5 e 6D, a amostra ATM 0 kGy apresentou valores de BVT semelhantes aos encontrados na amostra controle (AR 0 kGy), não sendo este um resultado esperado. Como Ashie et al. (1996); Soccol;

Oetterer (2003) explicam, este fato pode ser atribuído a falhas na refrigeração da amostra, pois o aumento da temperatura diminui a solubilidade do CO<sub>2</sub> e aumenta o crescimento de microrganismos resistentes a ação antimicrobiana do CO<sub>2</sub>, mas que não se multiplicam em baixas temperaturas.

Observou-se no presente estudo que, com exceção das amostras embaladas a vácuo, nos quais os níveis de produção de bases voláteis totais foram todos muito baixos, as amostras irradiadas apresentaram valores de BVT significativamente inferiores aos das não irradiadas, independentemente da dose, sugerindo a presença de algum mecanismo de saturação possivelmente associado à ação do O<sub>2</sub> e a do CO<sub>2</sub>. Em relação a este fato, Ashie et al. (1996) e Rosa (2004) explicam que a combinação de embalagem com atmosfera modificada e baixas doses de irradiação demonstram ser mais eficaz na manutenção da qualidade dos alimentos.

Todos os tratamentos, com exceção da amostra controle (AR 0 kGy), no final do período de monitoração, apresentaram valores de BVT inferiores ao limite estabelecido pela Legislação Brasileira (BRASIL, 1997; BRASIL, 2008), a qual estipula como valor máximo aceitável 30 mg de nitrogênio por 100g de carne para o pescado considerado próprio para consumo, devendo ser também compatível com os limites de aceitação sensorial e contagem de microrganismos.

Apesar da análise de BVT ser relativamente simples de realizar, o valor oficial estipulado indica somente o período máximo de comercialização, quando o pescado está próximo da rejeição, não sendo, portanto, útil para determinar a validade comercial a partir de dados intermediários.

De um modo geral, com exceção da amostra controle, os valores de BVT do presente estudo não foram afetados pelo período de armazenamento, permanecendo baixos durante os 30 dias de análise, dados estes semelhantes aos relatados por Soccol (2002).

Como relata Rodrigues (2008), diversos autores questionam a utilização desse parâmetro para avaliação do pescado de água doce, pois este possui quantidades mínimas de óxido de trimetilamina e, conseqüentemente, apresenta baixos valores de bases voláteis totais. Várias pesquisas (STAMMEN et al., 1990; SIVERTSVIK et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2004) com peixe de água doce, indicam baixos valores de BVT, mesmo quando o pescado não mais apresenta características sensoriais aceitáveis, ou seja, não apresentam uma tendência de

correlação entre os valores de BVT e os limites de aceitação sensorial e contagem de microrganismos aeróbios mesófilos.

Além disso, mesmo entre as espécies marinhas, há uma grande variação da quantidade de óxido de trimetilamina, ou seja, o valor de BVT nem sempre é o mesmo para todas as espécies de pescado marinho, o que torna importante a realização de estudos futuros que objetivem determinar limites mínimos e máximos para as diversas espécies de pescado.

#### 4.3 pH

Os resultados da análise de pH das amostras podem ser visualizados na Tabela 3 e estão representados graficamente, para melhor visualização, nas Figuras 7 e 8.

**Tabela 3.** Valores de pH obtidos das amostras embaladas em diferentes atmosferas, irradiadas e não irradiadas e mantidas sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$  por 30 dias.

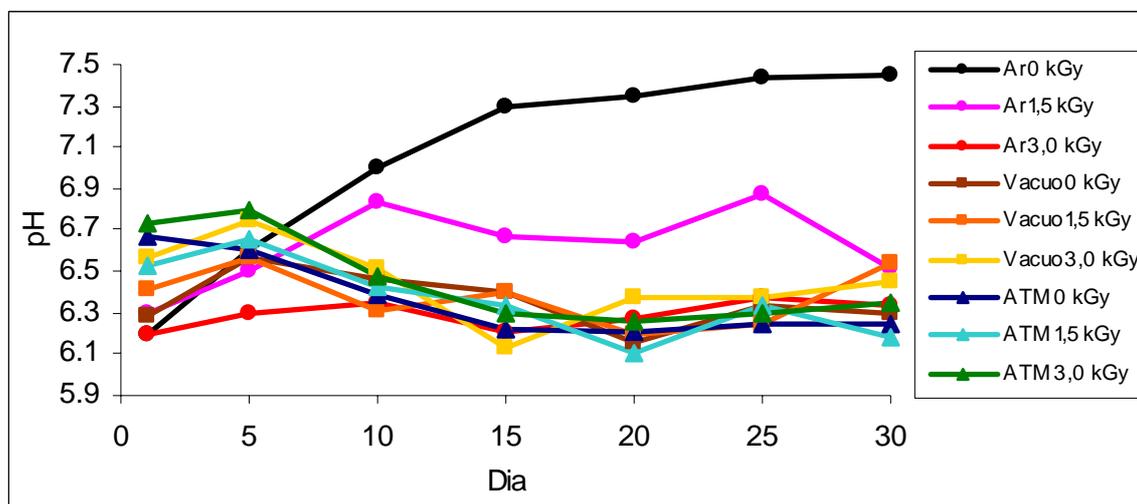
TRATAMENTOS		ARMAZENAMENTO (dia)						
		1	5	10	15	20	25	30
AR	0 kGy	6,20	6,61	7,00	7,30	7,35	7,44	7,45
	1,5 kGy	6,30	6,50	6,83	6,67	6,64	6,87	6,52
	3,0 kGy	6,20	6,30	6,35	6,21	6,27	6,38	6,34
VÁCUO	0 kGy	6,28	6,57	6,46	6,40	6,15	6,33	6,30
	1,5 kGy	6,41	6,57	6,31	6,40	6,20	6,25	6,54
	3,0 kGy	6,57	6,75	6,52	6,13	6,38	6,38	6,45
ATM	0 kGy	6,67	6,61	6,39	6,22	6,21	6,24	6,24
	1,5 kGy	6,53	6,65	6,43	6,34	6,10	6,33	6,18
	3,0 kGy	6,73	6,80	6,47	6,30	6,26	6,30	6,35

AR 0 kGy: amostra controle

ATM: atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>)

A amostra controle apresentou os valores mais elevados de pH com aumento gradual (6,20 no 1º dia a 7,45 no 30º dia) durante o período de armazenamento como pode ser visualizado nas Figuras 7 e 8A. Estes dados demonstram que o período de armazenamento influenciou nos resultados de pH, como explica Siqueira (2001) que devido o acúmulo das bases voláteis no processo final de deterioração, os valores de pH do músculo do pescado aumentam de forma lenta logo após a captura e mais rapidamente na fase final. O valor do pH inicial da amostra controle

foi de 6,2, semelhante ao encontrado por Reddy et al. (1994) e Albuquerque et al. (2004), mas diferiu dos resultados encontrados por Guimarães et al. (1988) para a tilápia conservada em gelo, cujos valores variaram de 6,9 a 7,9.

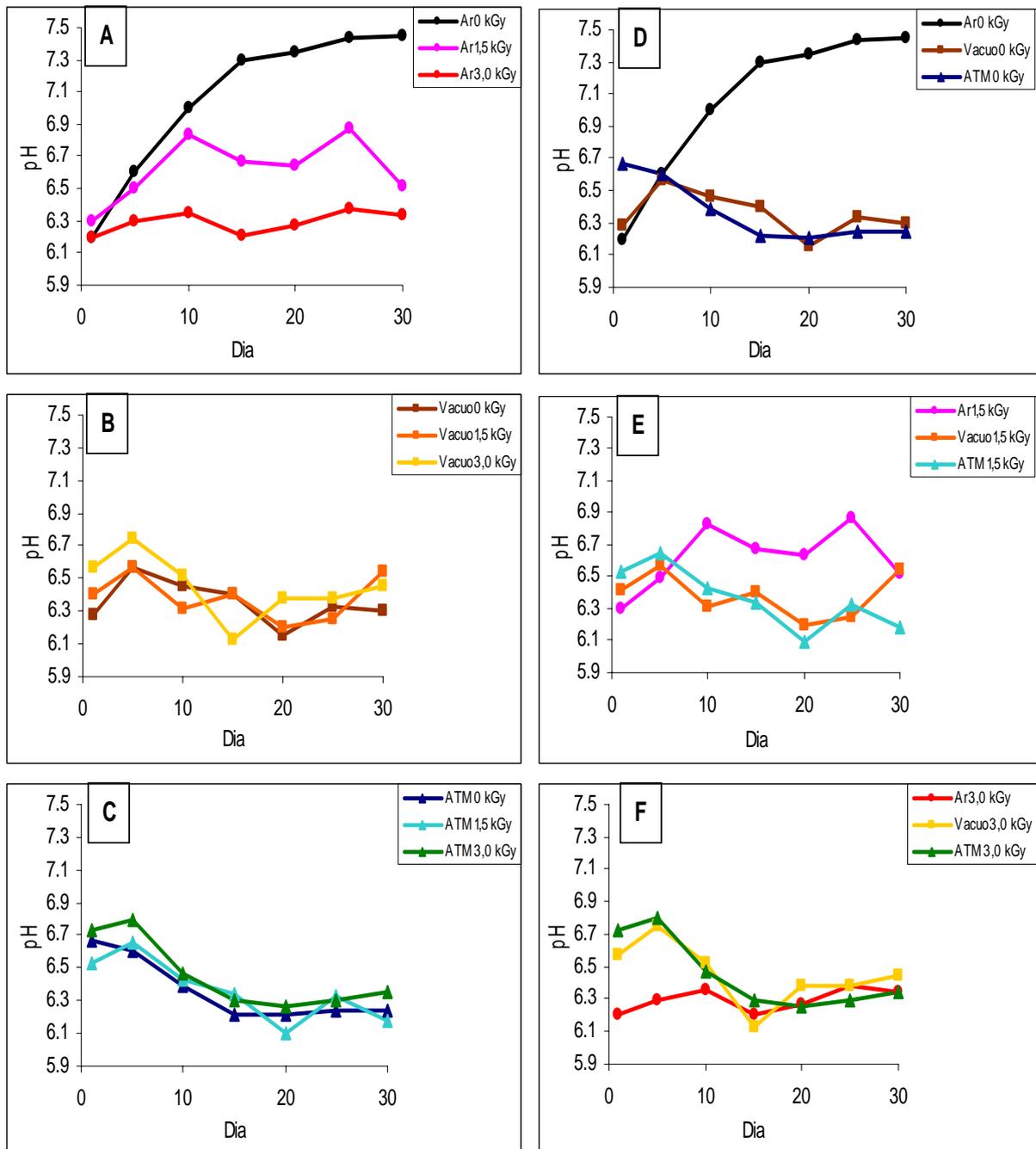


**Figura 7.** Representação gráfica dos valores de pH obtidos das amostras de filés de tilápia embaladas com diferentes atmosferas, irradiadas e não irradiadas e mantidas sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ).

Embora a amostra controle do presente estudo tenha exibido maiores valores de BVT e pH, resultados estes esperados, ressalta-se que, com base nos valores de BVT, somente a partir do 25º dia esta amostra teria ultrapassado o limite máximo aceitável estipulado pela Legislação, de 30 mg de nitrogênio por 100g de carne (BRASIL, 2008). Contudo, em severo contraste, foi observado que o valor de pH ultrapassou o limite estipulado pela legislação de 6,5 para a carne interna (BRASIL, 2008) no 5º dia de armazenamento.

Observa-se que, de uma maneira geral, os resultados de pH dos tratamentos embalados em aerobiose e irradiados, foram inferiores em relação à amostra controle, e que os valores da amostra irradiada com dose de 3,0 kGy apresentaram um decréscimo quando comparada com a amostra irradiada com dose de 1,5 kGy. Este fato demonstra, para as amostras embaladas em aerobiose e irradiadas, que os valores de pH foram afetados pelo tratamento (Tabela 3 e Figuras 7 e 8A). Como a análise de pH reflete a atividade bacteriana (AHMED et al., 1997), os resultados sugerem a ação da irradiação na redução da carga microbiana dessas amostras.

Em relação às amostras embaladas a vácuo e em atmosfera modificada os valores de pH foram inferiores quando comparados com a amostra controle, porém, permaneceram baixos durante os 30 dias de análise, não demonstrando uma correspondência com o tempo de armazenamento. Pode-se observar melhor estes resultados na Tabela 3 e Figuras 7, 8B e 8C. Tal fato é relatado por alguns autores (STAMMEN et al., 1990 e CHURCH; PARSONS, 1995), os quais explicam que com a dissolução do CO<sub>2</sub>, ocorre a formação de ácido carbônico, que causa redução de pH. Como esta redução é proporcional à concentração de CO<sub>2</sub>, estes pesquisadores não recomendam o emprego da análise de pH para avaliar o estado de conservação de alimentos embalados com atmosfera modificada.



**Figura 8.** Representação gráfica dos valores de pH obtidos das amostras de filés de tilápia embaladas com diferentes atmosferas, irradiadas e não irradiadas e mantidas sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  por 30 dias. Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada); D (não irradiadas); E (irradiadas a 1,5 kGy); F (irradiadas a 3,0 kGy).

Outra hipótese para a manutenção do pH em níveis baixos durante o período de armazenamento para as amostras citadas, pode ser explicado por experimentos realizados por Clark; Lentz (1973) e Reddy et al. (1994), os quais sugerem que o decréscimo do pH em embalagens com atmosfera modificada, principalmente em

condições de anaerobiose, também pode ser atribuído à formação de ácido láctico pelos *Lactobacillus*, o que faz com que a amostra continue apresentando pH ácido mesmo com sinais de deterioração.

O pH inicial das amostras embaladas a vácuo e com atmosfera modificada foram mais elevados quando comparados com os das amostras embaladas em aerobiose, porém, com o tempo de estocagem, foram diminuindo. Estes dados foram semelhantes aos encontrados por Reddy et al. (1994) em sua pesquisa, na qual foi observado que o pH inicial de 6,6 chegou aos 20 dias a 6,3.

Durante o período de monitoração, com exceção da amostra controle, os demais tratamentos apresentaram valores abaixo do estabelecido pela Legislação Brasileira (BRASIL, 2008) a qual estipula que o pH da carne externa do pescado deve ser inferior a 6,8 e o pH da carne interna inferior a 6,5. O limite de pH estabelecido pela Legislação Brasileira é um critério que nem sempre se mostra adequado ou seguro para avaliar a qualidade, principalmente, do pescado de água doce. Algumas pesquisas realizadas com pescado de água doce demonstram que, dependendo da espécie, não há uma boa correlação entre os valores de pH com os estágios de deterioração do pescado.

Siqueira (2001) relata que as mudanças de pH devido a deterioração diferem marcadamente com a espécie do pescado e condições de captura ou despesca e abate, idéias estas que vem ao encontro dos resultados obtidos. Esse fato estimula o autor do presente trabalho a ressaltar a importância de estudos futuros para determinar os limites de pH ideais para cada espécie.

#### 4.4 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS

Os resultados das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (BHAM) encontram-se na Tabela 4 e estão representados graficamente nas Figuras 9 e 10.

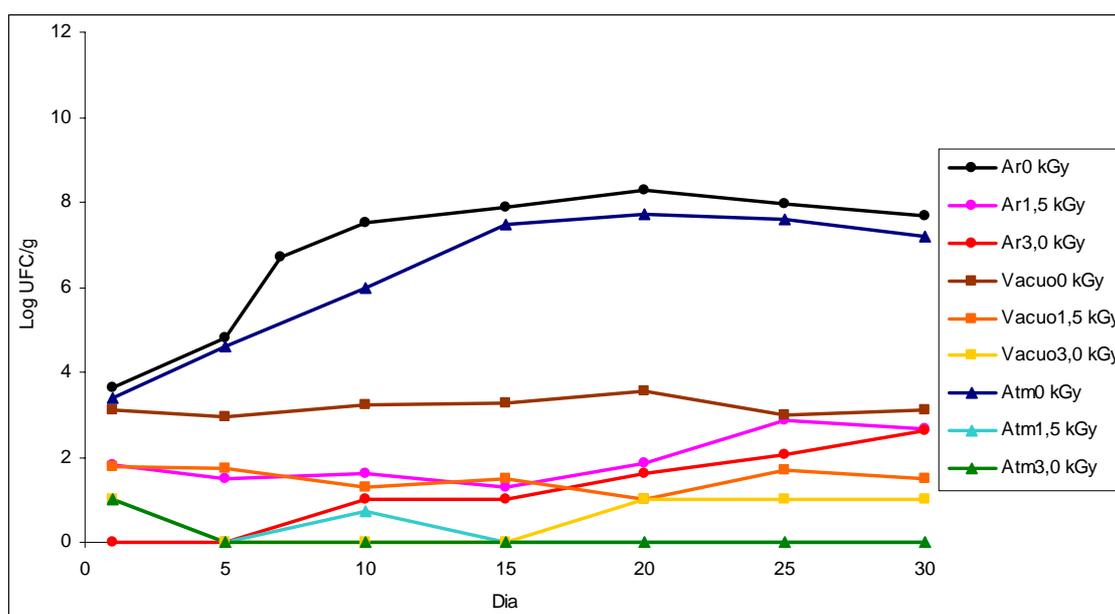
**Tabela 4.** Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ .

TRATAMENTOS		ARMAZENAMENTO (dia)							
		1	5	7	10	15	20	25	30
AR	0 kGy	3,6	4,8	6,7	7,5	7,9	8,3	7,9	7,7
	1,5 kGy	1,8	1,5	n.r.	1,6	1,3	1,8	2,9	2,7
	3,0 kGy	0,0	0,0	n.r.	1,0	1,0	1,6	2,1	2,6
VÁCUO	0 kGy	3,1	3,0	n.r.	3,2	3,3	3,5	3,0	3,1
	1,5 kGy	1,8	1,7	n.r.	1,3	1,5	1,0	1,7	1,5
	3,0 kGy	1,0	0,0	n.r.	0,0	0,0	1,0	1,0	1,0
ATM	0 kGy	3,4	4,6	n.r.	6,0	7,5	7,7	7,5	7,2
	1,5 kGy	1,1	0,0	n.r.	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
	3,0 kGy	1,0	0,0	n.r.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

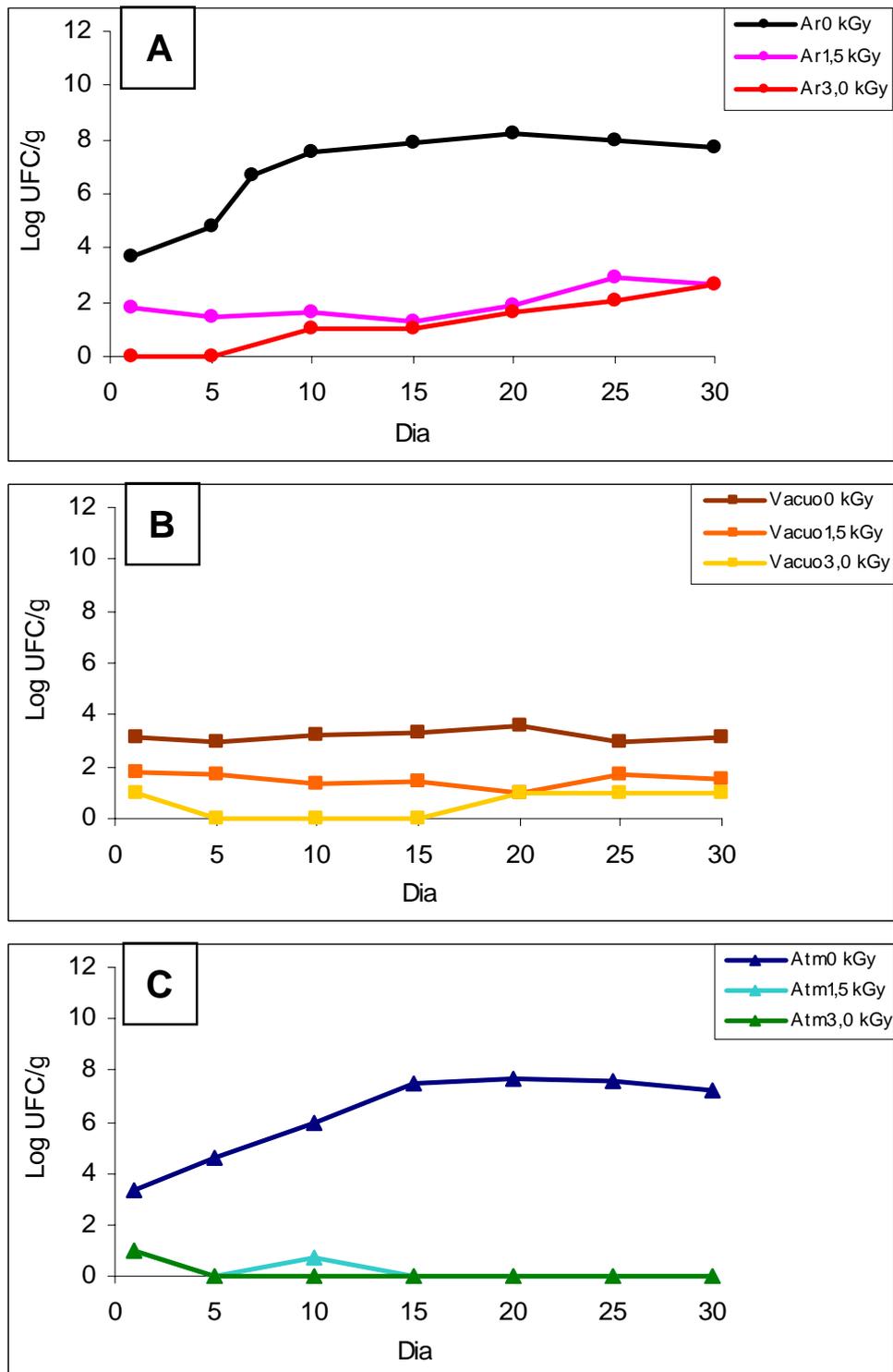
AR 0 kGy: amostra controle

ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ )

n.r.: não realizada



**Figura 9.** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ . Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ).



**Figura 10.** Representa o gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigera o a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ . Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada)

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4 e Figuras 9 e 10 a amostra controle (AR 0 kGy) apresentou as maiores contagens de BHAM quando comparada com as demais amostras. As contagens da amostra no 1º dia do presente estudo foram semelhantes às contagens encontradas por Librelato e Shikida (2008).

As amostras AR 1,5 e AR 3,0 kGy apresentaram contagens mais baixas em relação à amostra controle, confirmando assim que a exposição à radiação ionizante, associada à refrigeração, prolonga o tempo de prazo comercial de filés de tilápia (ASHIE et al., 1996; ABU-TARBOUSH et al., 1996; SIQUEIRA, 2001).

Em relação à amostra VÁCUO 0 kGy, as contagens foram inferiores em relação à amostra controle (Figuras 9, 10A e 10B), demonstrando que a ausência de oxigênio controla o desenvolvimento de microrganismos com aumento no prazo comercial. As amostras embaladas a vácuo e atmosfera modificada, irradiadas, apresentaram as menores contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (Figuras 9, 10B e 10C). Estes dados estão de acordo com Rosa (2004), a qual afirma que o emprego da embalagem com atmosfera modificada associada a doses de irradiação e temperaturas de refrigeração prolonga consideravelmente a validade comercial de alimentos.

Observou-se que os resultados da amostra ATM 0 kGy foram semelhantes ao encontrado para a amostra controle (Figura 9), fato este não esperado. Ainda que não fizesse parte do material e métodos utilizados no presente experimento, nem tendo o caráter objetivo de análise, o autor observou que esta amostra apresentou, no 15º dia, um odor extremamente desagradável e textura flácida. A contagem de mesófilos é geralmente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos, podendo indicar deficiência durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura (FRANCO; LANDGRAF, 1996), o que, de alguma forma, pode explicar os resultados da amostra ATM 0 kGy, sugerindo, uma vez mais que, em algum momento do armazenamento, houve abuso de temperatura nestas amostras.

A legislação brasileira não prevê limites para contagem em placas de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas para filés de pescado. Franco; Landgraf (1996) informam que a maioria dos alimentos apresenta alterações sensoriais detectáveis com contagens acima de  $10^6$  UFC/g. Baseado nestes dados, observa-se que a amostra controle apresentou até o 5º dia contagens inferiores a  $10^6$  UFC/g, amostra ATM 0 kGy até o 10º dia, e as demais amostras apresentaram até o último

dia de análise (30º dia) contagens inferiores a  $10^6$  UFC/g. No 10º dia de análise, a amostra controle apresentou coloração amarelada, consistência pastosa e discreto muco na superfície, características estas também descritas por Reddy et al. (1994) para filés de tilápia deteriorados.

A amostra controle e a amostra ATM 0 kGy apresentaram durante o armazenamento valores crescentes de BVT como discutido anteriormente, porém estes valores não apresentaram uma tendência de relação com as contagens de bactérias heterotróficas mesófilas. Como exemplo deste fato, pode-se citar o 10º dia de armazenamento, quando a amostra controle se apresentava deteriorada (de acordo com as análises bacteriológicas), o valor de BVT foi 14,74 mg de N-BVT/100g, ou seja, abaixo do limite estabelecido pela legislação (30 mg de N-BVT/100g).

No presente estudo, as contagens bacteriológicas, somente da amostra controle, foram as que apresentaram uma tendência de relação com os valores de pH citados anteriormente. Quando as contagens ultrapassaram  $10^6$  UFC/g, os valores de pH também indicaram que a amostra se apresentava imprópria para consumo, de acordo com a Legislação Brasileira.

Ao se analisar os dados do presente trabalho, observa-se que doses mais elevadas de irradiação resultaram em contagens menores de BHAM. Vital; Junior (2008) explicam que, com doses crescentes de radiação o número de microrganismos sobreviventes tende a decrescer exponencialmente, sendo que, alimentos de origem animal apresentam redução em sua contagem de BHAM de 3 log ao serem tratados com doses de 1,5 kGy.

Pode-se observar ainda que, os métodos combinados de conservação (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) foram mais eficientes no aumento da qualidade higiênico-sanitária, fato este também relatado em experimento realizado por Ashie et al. (1996), no qual filés de bagre embalados com atmosfera modificada e irradiados com baixas dose tiveram a validade comercial aumentada de 10 para 30 dias.

#### 4.5 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS PSICROTÓFICAS

Os resultados das contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas (BHAP) encontram-se na Tabela 5 e são representados graficamente nas Figuras 11 e 12.

**Tabela 5.** Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ .

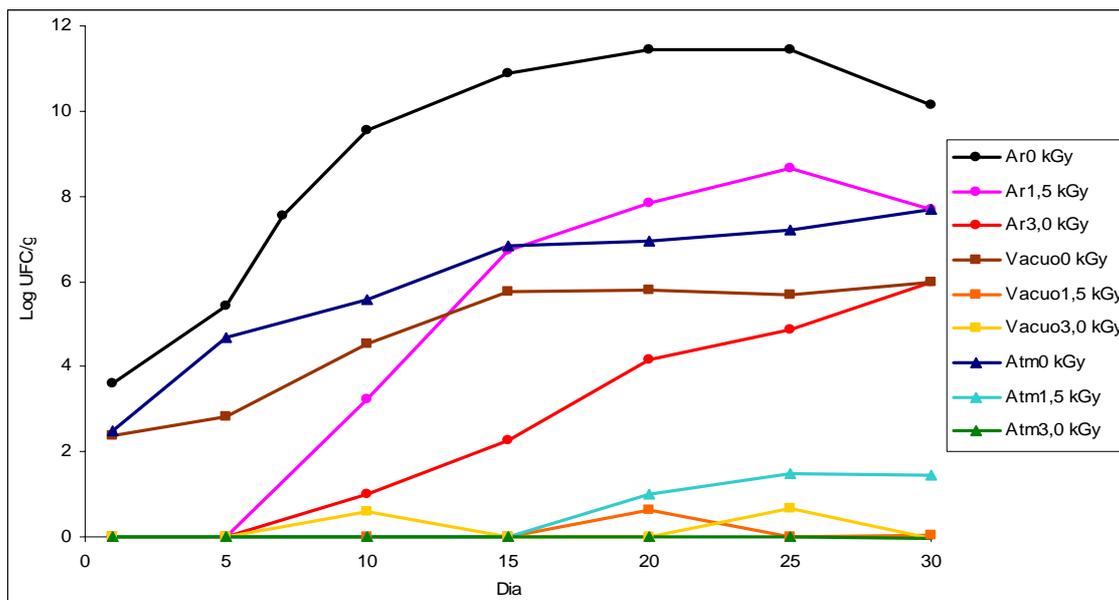
TRATAMENTO		ARMAZENAMENTO (dia)							
		1	5	7	10	15	20	25	30
AR	0 kGy	3,6	5,4	7,6	9,6	10,9	11,4	11,4	10,1
	1,5 kGy	0,0	0,0	n.r.	3,2	7,3	7,8	8,6	7,7
	3,0 kGy	0,0	0,0	n.r.	1,0	2,3	4,2	4,9	6,0
VÁCUO	0 kGy	2,4	2,8	n.r.	4,5	5,8	5,8	5,7	6,0
	1,5 kGy	0,0	0,0	n.r.	0,0	0,0	0,7	0,0	0,0
	3,0 kGy	0,0	0,0	n.r.	0,6	0,0	1,0	0,7	0,0
ATM	0 kGy	2,5	4,7	n.r.	5,6	6,6	6,9	7,2	7,7
	1,5 kGy	0,0	0,0	n.r.	0,0	0,0	1,0	1,5	1,5
	3,0 kGy	0,0	0,0	n.r.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

AR 0 kGy: amostra controle

ATM: atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>)

n.r.: não realizada

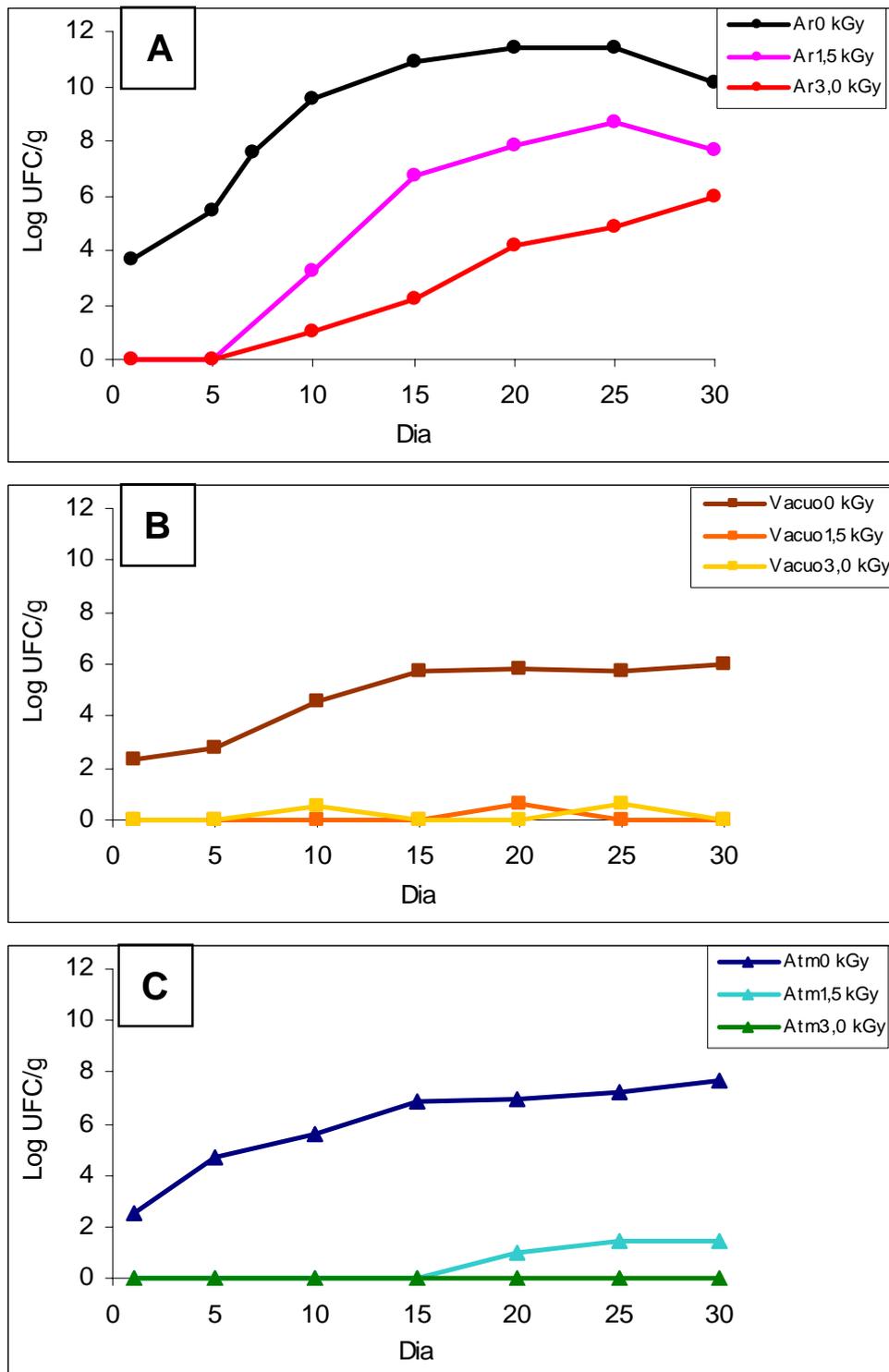
De acordo com os dados apresentados na Tabela 5 e Figuras 11 e 12, a amostra controle apresentou as maiores contagens de BHAP em relação às demais amostras. Os resultados das amostras embaladas em aerobiose e irradiadas (AR 1,5 kGy e AR 3,0 kGy) foram inferiores a amostra controle, indicando que a irradiação melhorou a qualidade sanitária dos filés de tilápia, fato este, também observado por Ashie et al. (1996); Abu-Tarboush et al. (1996), e Siqueira (2001). As demais amostras apresentaram contagens inferiores quando comparadas à amostra controle, sendo que os tratamentos VÁCUO 1,5 kGy, VÁCUO 3,0 kGy, ATM 1,5 kGy e ATM 3,0 kGy apresentaram (Figuras 11, 12B e 12C) as menores contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas. Conforme citado anteriormente, estes dados confirmam que o emprego de métodos de conservação combinados é mais eficiente no aumento da validade comercial dos alimentos.



**Figura 11.** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrófilas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ . Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ).

As amostras controle, AR 1,5 kGy, AR 3,0 kGy e VÁCUO 0 kGy apresentaram contagens de BHAP superiores às contagens de BHAM, o que pode ser explicado, de acordo com Kraft; Rey, (1979), e Ashie et al. (1996), os quais afirmam que a deterioração ocorre mais rapidamente em amostras mantidas em baixas temperaturas, devido, provavelmente, à predominância da microbiota psicrófila. Estes autores ainda relatam que, microrganismos psicrófilos possuem maior atividade enzimática quando se multiplicam em baixas temperaturas.

Embora a Legislação Brasileira não estipule limite para psicrófilos em filés de pescado, contagens desse grupo de bactérias permitem avaliar o grau de deterioração de alimentos refrigerados. Entretanto, segundo Franco; Landgraf (1996), as alterações sensoriais são detectáveis com contagens superiores a  $10^6$  UFC/g. Sendo assim, sob o ponto de vista bacteriológico, a amostra controle apresentou contagens inferiores a  $10^6$  UFC/g até o 5º dia de análise, as amostras AR 1,5 kGy e ATM 0 kGy até o 10º dia, e os demais tratamentos até o 30º dia de análise.



**Figura 12.** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas (Log UFC/g) de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ . Ar 0 kGy: amostra controle; ATM: atmosfera modificada (40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ). A (aerobiose); B (vácuo); C (atmosfera modificada)

Em relação aos resultados da amostra controle, os dados diferiram dos encontrados em pesquisas realizadas por Reddy et al. (1995), nas quais a amostra controle sob refrigeração apresentou-se própria para consumo até 9 dias. Fato semelhante ocorreu para a amostra ATM 0 kGy, que em trabalhos realizados por Reddy et al. (1994) obtiveram um aumento da validade comercial para 21 dias, diferindo do presente estudo.

A amostra AR 3,0 kGy apresentou um aumento da validade comercial, em termos bacteriológicos, de, no mínimo, 25 dias em relação à amostra controle, resultado este que diferiu dos achados de Abu-Tarboush et al. (1996) onde a amostra irradiada com 3,0 kGy apresentou um aumento de 8 dias no prazo comercial.

Conforme discutido anteriormente, também não foi observado uma relação entre os valores de BVT e pH, e os resultados das análises de BHAP das amostras do presente estudo. Somente a amostra controle apresentou valores crescentes de pH e de BHAP, indicando ambas as análises que até o 5º dia a amostra encontrava-se apta para o consumo.

Entretanto, as amostras com maiores e crescentes contagens de BHAM e BHAP, foram as não irradiadas, que também apresentaram os maiores valores de BVT e pH, seguidas das embaladas em aerobiose e irradiadas, onde a microbiota pós-irradiação ainda foi significativa.

#### 4.6 ANÁLISE SENSORIAL

Os resultados estatísticos do teste de aceitação em escala hedônica de nove pontos, em relação ao atributo “cor”, estão presentes na Tabela 6.

No 1º dia de análise, em relação ao atributo “cor”, as amostras embaladas a vácuo e irradiadas, apresentaram as maiores médias, porém, não diferindo significativamente ( $p > 0,05$ ) da amostra controle. Entretanto, estes tratamentos diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra VÁCUO 0 kGy e dos demais tratamentos. A partir destes dados (Tabela 6) observa-se que a irradiação interferiu positivamente na cor das amostras VÁCUO 1,5 kGy e VÁCUO 3,0 kGy. Na amostra VÁCUO 0 kGy, não observou-se diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quando comparada com a amostra controle (Apêndice 7.8), indicando que a embalagem a vácuo não interferiu na cor do filé de tilápia. Como a tilápia possui a carne branca,

provavelmente, a ausência de oxigênio na embalagem não influenciou na cor dos filés. As amostras embaladas em aerobiose e irradiadas (AR 1,5 kGy e AR 3,0 kGy) também não diferiram significativamente ( $p>0,05$ ) da amostra controle, confirmando que para as amostras embaladas em aerobiose, a irradiação não interferiu no atributo cor dos filés de tilápia. As amostras embaladas em atmosfera modificada (ATM 0 kGy, ATM 1,5 kGy e ATM 3,0 kGy) receberam as menores médias, e diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) da amostra controle e das demais amostras, com exceção das amostras embaladas em aerobiose e irradiadas. Observa-se a partir destes dados que, a embalagem em atmosfera modificada interferiu negativamente na cor dos filés. Entretanto, observa-se que as maiores doses de irradiação tenderam a aumentar a aceitação das amostras. Esta assertiva é corroborada por Smith et al. (1990); Church; Parsons (1995), que sugerem a utilização no armazenamento de pescado magro, como a tilápia, uma mistura gasosa de 40/30/30 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>, ou seja, a incorporação de 30% de O<sub>2</sub>, objetivando minimizar a descoloração do pescado.

**Tabela 6.** Médias e desvio padrão dos escores resultantes do teste de aceitação em escala hedônica de nove pontos, para o atributo “cor”, de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ .

TRATAMENTO		DIA		
		1	10	20
AR	0 kGy	6,53 <sup>abc</sup> ± 1,61	6,73 <sup>a</sup> ± 1,11	5,53 <sup>cd</sup> ± 1,67
	1,5 kGy	5,66 <sup>cd</sup> ± 2,51	4,96 <sup>bc</sup> ± 2,07	5,00 <sup>de</sup> ± 1,81
	3,0 kGy	5,40 <sup>cde</sup> ± 2,19	5,03 <sup>bc</sup> ± 1,75	5,70 <sup>bcd</sup> ± 2,16
VÁCUO	0 kGy	6,00 <sup>bcd</sup> ± 2,24	5,36 <sup>b</sup> ± 2,26	6,90 <sup>abc</sup> ± 1,82
	1,5 kGy	7,20 <sup>ab</sup> ± 1,54	7,16 <sup>a</sup> ± 1,53	6,93 <sup>ab</sup> ± 1,87
	3,0 kGy	7,50 <sup>a</sup> ± 1,35	7,43 <sup>a</sup> ± 1,33	7,50 <sup>a</sup> ± 1,73
ATM	0 kGy	4,30 <sup>ef</sup> ± 2,64	3,60 <sup>d</sup> ± 1,92	3,43 <sup>f</sup> ± 1,81
	1,5 kGy	3,83 <sup>f</sup> ± 2,19	3,40 <sup>d</sup> ± 1,92	4,00 <sup>ef</sup> ± 2,37
	3,0 kGy	4,90 <sup>de</sup> ± 2,29	4,00 <sup>cd</sup> ± 2,21	3,93 <sup>ef</sup> ± 2,16

AR 0 kGy: amostra controle

ATM: atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>)

Obs. Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% ( $p>0,05$ ) de probabilidade segundo o teste de Tukey.

No 10<sup>o</sup> dia as amostras apresentaram o mesmo índice de aceitação do atributo “cor” em relação ao 1<sup>o</sup> dia, com exceção das amostras AR 1,5, AR 3,0 kGy

VÁCUO 0 kGy que diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra AR 0 kGy. Já no 20º dia, as amostras VÁCUO 1,5 kGy e VÁCUO 3,0 kGy (Apêndices 7.12 e 7.13) não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) da amostra VÁCUO 0 kGy (Apêndice 7.11), mas apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação à amostra controle, demonstrando a influência positiva da irradiação na aceitação destas amostras.

A análise dos resultados permite inferir que, tanto a embalagem em atmosfera modificada, como o processo de irradiação, podem causar mudanças na cor dos alimentos, resultados estes que se apresentam de acordo com as afirmações de Parry (1995); Landgraf (2000). Outra observação constatada foi que a ausência de oxigênio e a presença de CO<sub>2</sub> levaram a uma descoloração do filé de pescado, devido, provavelmente, à desoxigenação da mioglobina, como relatam diversos autores (SILVA; WHITE, 1994; CHURCH, 1998; SOCCOL; OETTERER, 2003).

Vários pesquisadores (BORSA et al., 2004; BREWER, 2004; XUETONG et al., 2004) explicam que a irradiação pode conferir à carne uma tonalidade mais acentuada da sua cor natural, sendo que esta modificação se deve às alterações químicas sofridas pelo grupo heme da mioglobina durante o processo de irradiação, o que se pôde comprovar com os resultados encontrados no presente estudo, onde a irradiação conferiu uma melhor aceitação em relação ao atributo “cor” em filés de tilápia embalados com ausência de oxigênio. Também foi demonstrado que a maior dose de radiação (3,0 kGy) aumentou a aceitabilidade sensorial dos filés embalados com ausência de O<sub>2</sub> e presença de 40% de CO<sub>2</sub>, resultados estes semelhantes aos encontrados por Abu-Tarboush et al. (1996).

Os resultados estatísticos do teste de aceitação em escala hedônica de nove pontos, em relação ao atributo “aparência geral”, estão presentes na Tabela 7.

No 1º dia de análise (Tabela 7), as amostras AR 1,5 kGy e AR 3,0 kGy não diferiram estatisticamente ( $p > 0,05$ ) da amostra controle, demonstrando assim que, a irradiação não interferiu no atributo “aparência geral” das amostras embaladas em aerobiose. O mesmo comportamento foi observado nas amostras VÁCUO 0 kGy, VÁCUO 1,5 kGy e VÁCUO 3,0 kGy, onde não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre si e em relação à amostra controle, indicando que a embalagem a vácuo, assim como, a irradiação, não influenciaram na aceitação dos filés de tilápia para o atributo “aparência geral”, ainda que, estas amostras, tenham apresentado as maiores médias de aceitação. Já os tratamentos ATM 0 kGy, ATM 1,5 kGy e ATM 3,0 kGy apresentaram as menores médias de aceitação e diferiram estatisticamente

( $p < 0,05$ ) da amostra controle, confirmando que a embalagem com atmosfera modificada interferiu negativamente no atributo “aparência geral” das amostras. Porém, a amostra ATM 3,0 não diferiu significativamente ( $p > 0,05$ ) das amostras AR 1,5 kGy e AR 3,0 kGy, sugerindo assim, que a dose de 3,0 kGy aumentou a aceitação deste tratamento.

**Tabela 7.** Médias e desvio padrão dos escores resultantes do teste de aceitação em escala hedônica de nove pontos, para o atributo “aparência geral”, de filés de tilápia embalados em diferentes atmosferas, irradiados e não irradiados e mantidos sob refrigeração a  $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ .

TRATAMENTO		DIA		
		1	10	20
AR	0 kGy	6,76 <sup>abc</sup> ± 1,47	6,63 <sup>a</sup> ± 1,06	5,63 <sup>bc</sup> ± 1,58
	1,5 kGy	5,73 <sup>bcd</sup> ± 2,24	4,90 <sup>b</sup> ± 2,09	5,20 <sup>bcd</sup> ± 1,74
	3,0 kGy	5,50 <sup>cde</sup> ± 2,17	4,86 <sup>b</sup> ± 1,77	6,00 <sup>ab</sup> ± 2,10
VÁCUO	0 kGy	6,36 <sup>abc</sup> ± 2,07	5,13 <sup>b</sup> ± 1,97	6,30 <sup>ab</sup> ± 2,12
	1,5 kGy	6,86 <sup>ab</sup> ± 1,61	7,13 <sup>a</sup> ± 1,38	6,36 <sup>ab</sup> ± 2,18
	3,0 kGy	7,30 <sup>a</sup> ± 1,53	7,10 <sup>a</sup> ± 1,47	7,26 <sup>a</sup> ± 1,63
ATM	0 kGy	4,26 <sup>ef</sup> ± 2,58	3,20 <sup>c</sup> ± 1,84	3,33 <sup>e</sup> ± 1,80
	1,5 kGy	3,96 <sup>f</sup> ± 2,26	3,26 <sup>c</sup> ± 1,89	4,36 <sup>cde</sup> ± 2,37
	3,0 kGy	5,00 <sup>def</sup> ± 2,40	3,23 <sup>c</sup> ± 1,65	3,86 <sup>de</sup> ± 2,12

AR 0 kGy: amostra controle

ATM: atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>)

Obs. Médias na mesma coluna seguidas de letras iguais, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% ( $p > 0,05$ ) de probabilidade segundo o teste de Tukey.

No 10º dia de análise (Tabela 7) as amostras AR 1,5 e AR 3,0 kGy diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) da amostra controle sugerindo, neste caso, que a irradiação interferiu negativamente no atributo “aparência geral” para as amostras embaladas em aerobiose. As amostras VÁCUO 1,5 kGy e VÁCUO 3,0 kGy apresentaram as maiores médias de aceitação e não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) da amostra controle, porém diferiram da amostra VÁCUO 0 kGy, demonstrando, como discutido no 1º dia, que a irradiação aumentou a aceitação dos julgadores em relação a aparência geral. Entretanto, as amostras ATM 0 kGy, ATM 1,5 kGy e ATM 3,0 kGy apresentaram as menores médias e diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais tratamentos, confirmando que a embalagem com atmosfera modificada influenciou negativamente no atributo “aparência geral” das amostras, tanto no 1º como no 10º dia.

No 20º dia, os resultados foram semelhantes ao 1º e 10º dias de análise, com exceção da amostra VÁCUO 3,0 kGy (Apêndice 7.13), que diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) da amostra controle, dando a entender que esta dose de irradiação melhorou a aparência dos filés, e as amostras ATM 1,5 kGy e 3,0 kGy (Apêndices 7.15 e 7.16) apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em relação à amostra AR 3,0 kGy (Apêndice 7.10), mas não diferiram ( $p > 0,05$ ) da amostra AR 1,5 kGy (Apêndice 7.9) indicando, que o processo de irradiação aumentou a aceitação das amostras para o atributo “aparência geral”, como havia ocorrido no 1º dia de realização da análise.

Pelos resultados apresentados na Tabela 7 nos diferentes dias de análise sensorial para o atributo “aparência geral” dos filés de tilápia, observa-se que o processo de irradiação, combinado com embalagem a vácuo foi mais significativo na aceitação das amostras. Já a embalagem com atmosfera modificada interferiu negativamente na avaliação dos filés, ainda que a irradiação combinada com este tipo de embalagem tenha aumentado a aceitação pelos dos julgadores. Siqueira (2001) também observou em seu estudo com filés de tilápia, que o processo de irradiação associado a outros métodos de conservação, conferiu boa aceitação sensorial para os atributos de “aparência”, “cor” e “textura”, concordando com os resultados do presente trabalho.

Notou-se durante o experimento, ainda que não fizesse parte do material e métodos empregados, que o “drip” liberado, assim como, a textura flácida dos filés embalados com atmosfera modificada foi determinante na avaliação dos julgadores. Este fato pode ser atribuído ao aumento da exsudação em carnes embaladas em atmosfera modificada ( $\text{CO}_2:\text{N}_2$ ) produzido pela redução do pH, devido a dissolução do  $\text{CO}_2$  na superfície, com conseqüente diminuição da capacidade de retenção de água pelas proteínas, o que, sensorialmente, além do aumento da exsudação na embalagem, faz com que os filés se apresentem com a textura flácida e cor pálida (STAMMEN et al., 1990; PARRY, 1995; SOCCOL; OETTERER, 2003).

A tilápia, por ser um peixe magro, possui na sua composição uma grande quantidade de água, sendo assim, mais evidente a exsudação. Smith et al. (1990); Church; Parsons (1995) sugerem, como comentado anteriormente, na embalagem para pescado magro, uma mistura de 40/30/30: $\text{CO}_2/\text{N}_2/\text{O}_2$  para minimizar a exsudação e a descoloração do pescado.

## 5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

1. O emprego dos métodos de conservação combinados, principalmente, embalagem a vácuo e em atmosfera modificada associadas à irradiação, foi mais eficiente no aumento da validade comercial de filés de tilápia em relação à embalagem em aerobiose, mantendo as contagens bacterianas em níveis aceitáveis durante todo o período de experimentação.
2. As análises de BVT e pH não se mostraram parâmetros seguros na avaliação do estado de conservação do filé de tilápia embalados com diferentes atmosferas e irradiados, pois os resultados destas análises não permitiram inferir o real estado de conservação das amostras durante o período de armazenamento.
3. Na análise sensorial, em relação aos atributos “cor” e “aparência geral”, ainda que a embalagem em atmosfera modificada tenha induzido aos menores escores de aceitação, o processo de irradiação, principalmente a dose de 3,0 kGy, influenciou positivamente na aceitação das amostras embaladas a vácuo e em atmosfera modificada.
4. Apesar de ter acelerado a formação de rancidez nas amostras embaladas em aerobiose e atmosfera modificada, o processo de irradiação: reduziu a produção de bases voláteis totais das amostras embaladas em aerobiose e em atmosfera modificada; diminuiu os valores de pH nas amostras embaladas com ar; e reduziu entre 1,5 e 6,0 ciclos logarítmicos as contagens de bactérias mesófilas e

psicrotróficas, praticamente eliminando-as nas amostras embaladas em vácuo e em atmosfera modificada.

5. Dentre os tratamentos avaliados, a combinação de embalagem a vácuo e irradiação com dose de 1,5 kGy (mais econômica e com menos chance de introduzir alterações sensoriais do que a dose de 3,0 kGy) foi a que conferiu maior qualidade bacteriológica, físico-química e sensorial às amostras durante o período de armazenamento, mostrando-se, assim, como um processo recomendável para conservação de filés de tilápia.

Sugere-se, de acordo com as conclusões acima e com apoio na literatura compulsada, que:

1. Outras misturas de gases sejam testadas para a embalagem de filés de tilápia em atmosfera modificada, objetivando, assim, minimizar a descoloração e exsudação de “drip”, na tentativa de melhorar sua aceitação, e dentro do possível, evitar os efeitos degradantes do oxigênio e do gás carbônico.
2. Estudos sejam realizados com o objetivo de determinar limites mínimos e máximos para valores de BVT e pH para as espécies de pescado de água doce, inclusive para produtos irradiados.
3. Seja investigada, em filés de tilápia, a eficácia do tratamento com outras doses de irradiação, como 1,0 kGy e 2,0kGy.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-TARBOUSH, H. M.; AL-KAHTANI, H. A.; ATIA, M. et al. Irradiation and post-irradiation storage at  $2\pm 2^{\circ}\text{C}$  of tilapia and spanish mackerel: sensory and microbial assessment. *Journal of Food Protection*, v.59, n.10, 1996.

AHMED, I. O.; ALUR, M. D.; KAMAT, A. S. et al. Influence of processing on the extension of shelf-life of Nagli-fish by gamma radiation. *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 32, nº 34, p.325-332, 1997.

ALBUQUERQUE, W. F.; ZAPATA, J. F. F.; ALMEIDA, R. S. Estado de frescor, textura e composição muscular da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) abatida com dióxido de carbono e armazenada em gelo. *Revista Ciência Agronômica*, vol. 35, Out., 2004.

AL-KAHTANI, H. A.; ABU-TARBOUSH, H. M.; BAJABER, A. S. et al. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in Tilapia and Spanish Mackerel. *Journal of Food Science*, vol. 61, nº 4, p. 729-733, 1996.

APHA - American Public Health Association. *Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods*, 4ª ed. Washington, 2001, 1219p.

ARAÚJO, J. M. A. *Química de Alimentos - Teoria e Prática*. 2ª ed. Editora UFV, Universidade Federal de Viçosa, 2001.

ASHIE, I. N. A.; SMITH, J. P.; SIMPSON, B. K. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36 (1 e 2): 87-121, 1996.

AZEREDO, H. M. C.; FARIA, J. A. F.; AZEREDO, A. M. C. Embalagens ativas para alimentos. *Ciência e tecnologia de alimentos*. Vol. 20, nº 3, Set./Dez. 2000.

AZEVEDO, C. A.; REGO, T. de S.; FURTADO, W. R. *Irradiação de Alimentos. Programa de Educação Tutorial*. Ouro Preto, 19 dez. 2004. Disponível em: <<http://www.enut.ufop.br/pet/mainframes/Murais/irradiacao.htm>>. Acesso em: 25 jul. 2006.

BEIRÃO et al. *Processamento e industrialização de moluscos*. Seminário e Workshop "Tecnologia para aproveitamento integral do pescado". Ital, Campinas, 2000.

BORSA, J.; LACROIX, M.; OUTTARA, B.; CHASSON, F. Radiosensitization: enhancing the radiation inactivation of food borne bacteria. *Radiation Physics and Chemistry*, Oxford, vol. 71, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 21 de 26 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o regulamento técnico para irradiação de alimentos. *Diário Oficial da União*. Brasília, 29 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal*. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, 29/03/52, alterado pelos Decretos nº 1255 de 25/06/62, 1236 de 02/09/94, 1812 de 08/02/96 e 2244 de 04/06/97. Brasília – DF, 241p. 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA). *Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes. I. Métodos microbiológicos. II. Métodos físico-químicos*. Aprovado pela Portaria nº 001 de 07/10/81. Brasília, 123p. 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185 de 13/05/97. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado)*. Brasília – DF, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62 de 26 de Agosto de 2003. *Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água*. Diário Oficial da União. Brasília, DF, Seção 1, Página 14, 18 Set. de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Decreto nº 72718 de 29 de agosto de 1973. Estabelece normas gerais sobre irradiação de alimentos. *Diário Oficial da União*. Brasília, 29 ago. 1973.

BREWER, S. Irradiation effects on meat color – a review. *Meat Science*, New York, vol. 68, 2004.

BRODY, A. L. *Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío*. Zaragoza (España): Acribia S. A., 1996.

CHAVES, J. B. P. C.; SPROESSER, R. L. *Práticas de Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 1993.

CHIRINOS, R. R. O.; VIZEU, D. M.; DESTRO, M. T.; FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers by gamma irradiation. *Brazilian Journal of Microbiology*. São Paulo, vol. 33, nº 1, p. 53-6, 2002.

CHURCH, I. J.; PARSONS, A. L. Modified atmosphere packaging technology: a review. *J Sci Food Agric*, 67, 143-152, 1995.

CHURCH, N. MAP fish and crustaceans – sensory enhancement. *Food Science and Technology*, 12 (2), 1998.

CHURCH, P. N. Principles and applications of modified atmosphere packaging of food. *Meat Products*, 1993.

CLARK, D. S. e LENTZ, C. P. Use of Mixtures of Carbon Dioxide and Oxygen for Extending Shelf-Life of Pre-Packaged Fresh Beef. *Journal Inst. Food Science Technology*, 1973.

CLARK, D. S.; LENTZ, C. P. The Effect of Carbon Dioxide on the Growth of Slime Producing Bacteria in Fresh Beef. *Inst. Food Science Technology J. 2*, 72-75, 1969.

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

COZZO, A. Z.; OETTERER, M.; GALLO, C. R. Effects of irradiation and refrigeration on the nutrients and shelf-life of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, New York, vol. 12, nº 3, 2003.

DANTAS, V. *Proteção por radiação*. *Brasil Nuclear*. Rio de Janeiro: nº 17, abr/jun. 1999.

DIEHL, J. F. *Safety of irradiated foods*. New York, 2ª ed., Marcel Dekker, Incorporation, 1995.

EMBRARAD. Empresa Brasileira de Radiações. *Apresenta textos sobre a irradiação de alimentos*. Cotia, 2001. Disponível em: <<http://www.embrarad.com.br/index.htm>>. Acesso em: 25 jul. 2006.

FAO (ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A AGRICULTURA E A ALIMENTAÇÃO). *Manual sobre manejo de reservatórios para a produção de peixes*, 1998.

FERNANDO, G.D.G.; MANO, S. B.; LOPEZ, D.; ORDÓÑEZ, J. A. Eficácia de las atmosferas modificadas frente a los microorganismos patógenos psicrotrofos em alimentos protéicos. *Microbiologia Sem*, 11, 7-22, 1995.

FERREIRA, M. W.; SILVA, V. K.; BRESSAN, M. C.; FARIA, P. B.; VIEIRA, J. O.; ODA, S. H. I. Pescados Processados: maior vida de prateleira e maior valor agregado. *Boletim de extensão rural*. Universidade Federal de Lavras – Minas Gerais, 2002.

FRANÇA, H. *Brasileiro ainda desconhece benefícios da irradiação de alimentos*. Agência Brasil. Brasília, 5 maio 2000. Disponível em: <[http://www.radiobras.gov.br/ct/2000/materia\\_050500\\_1.htm](http://www.radiobras.gov.br/ct/2000/materia_050500_1.htm)>. Acesso em: 3 ago. 2006.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*, São Paulo, Editora Atheneu, 174p, 1996.

GENIGEORGIS, C. A. Microbial and safety implications of the use of modified atmospheres to extend the storage life of fresh meat and fish. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 1, nº 5, 1985.

GHADI, S. V.; VENUPOGAL, V. Influence of gamma irradiation and ice storage on fat oxidation in three Indian fish. *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 26, nº 4, p. 397-401, 1991.

GUIMARÃES, O. J. et al. Análise química, microbiológica e sensorial da Tilápia do Nilo conservada em gelo. *Ciênc. Agron.*, 19 (1), Fortaleza, Junho de 1988.

HERNANDES, N. K.; VITAL, H. C.; SABAA-SRUR, A. V. O. Irradiação de Alimentos: Vantagens e Limitações. *Boletim SBCTA*, vol. 37, nº 2, Jul/Dez 2003.

HUANG, C. H.; LAI, H. T.; WENG, Y. M. Suitability of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) muscle for gel formation. *International Journal of Food Science and Technology*, 33, 339-344, 1998.

HUSS, H. H. *Garantia da Qualidade dos Produtos da Pesca*. Roma: FAO, 1997. (FAO Documento Técnico Sobre as Pescas 334). Disponível em: <<http://www.fao.org/DOCREP/003/T1768P/T1768P01.htm>>. Acesso em 10/03/07.

JÚNIOR, C. A. F.; JÚNIOR, A. S. V. *Cultivo de tilápias no Brasil: origens e cenário atual*. XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural. Rio Branco, Acre, 20 a 23 de julho 2008. Disponível em: [www.sober.org.br/palestra](http://www.sober.org.br/palestra). Acesso em: 20 de dezembro de 2008.

KAI, M.; MORAES, C. *Vias de deterioração do pescado*. Seminário sobre Controle de qualidade na indústria de pescado. Instituto de Tecnologia de Alimentos, São Paulo, 1988.

KE, P. J.; CERVANTES, E.; ROBLES-MARTINEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in fish tissue by an improved distillation-spectrophotometric method. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 35, 1984.

KRAFT, A. A.; REY, C. R. Psychrotrophic bacteria in foods: an update. *Food Technology*, January, 1979.

KUBITZA, F. *Tilápia (Oreochromis sp.): tecnologia e planejamento na produção comercial*. 1ª ed., Jundiaí - SP, 2000.

KUSMIDER, E. A.; SEBRANEK, J. G.; LONERGAN, S. M.; HONEYMAN, M. S. Effects of carbon monoxide packaging on color and lipid stability of irradiated ground beef. *Journal of Food Science*, v. 67, nº9, 2002.

LAMBERT, A. D.; SMITH, J. P.; DOODS, K. L. Effect of headspace CO<sub>2</sub> concentration on toxin production by *Clostridium botulinum* in MAP, irradiated fresh pork. *Journal of Food Protection*, vol. 54, nº8, 1991.

LANDGRAF, M. *Irradiação nos alimentos destrói microrganismos e prolonga a durabilidade*. Agência Brasil. Brasília, 7 jan. 2000. Disponível em:

<[http://www.radiobras.gov.br/ct/2000/materia\\_070100\\_2.htm](http://www.radiobras.gov.br/ct/2000/materia_070100_2.htm)>. Acesso em: 16 ago. 2006.

LEAL, A. S. UFMG, CDTN e Funed pesquisam efeitos da irradiação de alimentos - uso da tecnologia melhora qualidade e abre portas para produtos brasileiros no exterior. *Boletim Informativo UFMG*. Belo Horizonte, nº 1468, jan. 2005. Disponível em: <<http://www.ufmg.br/boletim/bol1468/quinta.shtml>>. Acesso em: 3 ago. 2006.

LEE, M.; SEBRANEK, J. G.; OLSON, D. G.; DICKSON, J. S. Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. *Journal Food Protection*, v.59, nº1, p.62-72, 1996.

LIBRELATO, F. R.; SHIKIDA, S. A. R. L. *Segurança alimentar: um estudo multidisciplinar da qualidade do filé de tilápia comercializado no município de Toledo – PR* Disponível em: [e-revista.unioeste.br/index.php/gepec/article/download/309/225](http://e-revista.unioeste.br/index.php/gepec/article/download/309/225). Acesso em: 15 de novembro de 2008.

LOPES, T. G. G. *Efeito sinérgico da radiação gama e da refrigeração na conservação do camarão-branco-do-pacífico (Litopenaeus vannamei)*. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciências da Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2006.

LUND, V. X.; FIGUEIRA, M.L.O. *Criação de tilápia*. 1ª ed. São Paulo: Nobel 1989.

MANO, S. B. *Comportamento de la microbiota natural y listeria monocytogenes, Aeromonas hydrophila y Yersinia enterocolitica em carne envasada em atmosferas modificadas*. Tese (Doutorado em veterinária). Departamento de nutrición y bromatología III (higiene e tecnologia de los alimentos). Universidade Computense de Madrid (Espanña), 1997.

MASNIYOM, P.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W. Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices under modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 873-880, 2002.

MELLO, L. C. *Alimentos irradiados*. NutriWeb. Campinas, vol. 02, nº 02, abr/ jun. 2000. Disponível em: <<http://www.nutriweb.org.br>>. Acesso em: 25 jul. 2006.

MIYAGUSKU, L., CHEN, F., LEITÃO, M. F. F., BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, vol. 23, dez. 2003.

MÖLLER, S. V. *Aplicações industriais das radiações ionizantes*. In: Curso de extensão em radiologia industrial, gamagrafia e medidores nucleares para técnicos. Anais Eletrônicos. Porto Alegre: UFRGS, 2004. Disponível em: <<http://www.mecanica.ufrgs.br/lmf/Cap5b.pdf>>. Acesso em: 16 ago. 2006.

MONK, J. D.; BEUCHAT, L. R.; DOYLE, M. P. Irradiation inactivation of food-borne microorganisms. *Journal Food Protection*, v.58, nº2, p.197-208, 1995.

MULDER, R. W. A. W. Ionizing energy treatment of poultry. *Food Technology in Australia*, v.36, nº9, p. 418-420, 1984.

NETTO, F. M. *Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo*. Dissertação de Mestrado apresentada na Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da UNICAMP, Campinas, 1984.

NOÇÕES básicas de física das radiações: *banco de dados preparados por Paulo M. de A. Marques*. In: Centro de Ciências das Imagens e Física Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto USP. Base de Dados Sistema Integrado de Apoio ao Ensino: no ar desde 1 out. 2004. Disponível em: <[http://cci.fmrp.usp.br/siaenet/novo\\_siae/apresentacoes/](http://cci.fmrp.usp.br/siaenet/novo_siae/apresentacoes/)>. Acesso em: 10 out. 2006.

NUNES, S. B. *Estabelecimento de um plano de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) para Peixe-Sapo (Lophius piscatorius) eviscerados e congelados*. Dissertação (MS.) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC, 2002.

OETTERER, M. *Tecnologia de Pescado*. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição. Disponível em: [www.esalq.usp.br/departamentos](http://www.esalq.usp.br/departamentos). Acesso em: 20 de setembro de 2008.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. *Manual de pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado - Volume I*. Ed. Varela. São Paulo, 1999.

OLIVEIRA, M. M.; PIMENTEL, M. E. S. G.; CAMARGO, A. C. S.; FIORINI, J. E.; PIMENTEL, C. J. Silagem de resíduos da filetagem de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), com ácido fórmico – análise bromatológica, físico-química e microbiológica. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 30, nº 6, nov./dez., 2006.

OLIVEIRA, N. M. S. O. et al. Avaliação físico-química de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) submetidos a sanitização. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol. 28, nº 1, Campinas, Jan./Mar. 2008.

ORNELLAS, C. B. D., GONÇALVES, M. P. J., SILVA, P. R., MARTINS, R. T. Atitude do consumidor frente à irradiação de alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, vol. 26, nº 1, Jan/Mar. 2006.

OSAWA, C. C. et al. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Química Nova*, vol. 28, nº 4, São Paulo, Julho/Agosto, 2005.

PARRY, R. T. *Envasado de los alimentos en atmósfera modificada*. Madrid (Espanña): A. Madrid Vicente, 1995.

PEDROSA-MENABRITO, A.; REGENSTEIN, J. M. Shelf-life extension of fresh fish – A review Part I – Spoilage of fish. *Journal of Food Quality* (11), 1988.

PEIXOTO, M. T. D. *Produção intensiva de tilápia*. In: III Seminário de Aqüicultura, Maricultura e Pesca. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2007.

PEREIRA, A.C.; CARVALHO, P. P. M. O. ; SILVA, R. A .G. S. . *Programa pólo de piscicultura: Criação de tilápias*. FIPERJ/ EMATER-Rio, Rio de Janeiro, 1999.

PEREIRA, W.D; ATHAYDE.A.H; PINTO.K.P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na Cidade de Maceió-AL. *Revista Higiene Alimentar*, v 15, nº 84, 2001.

POLI, B. M.; MESSINI, A; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; VIGIANI, V.; GIORGI, G.; VINCENZINI, M. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air or prepared from whole fish stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 444-454, 2006.

POOLE, S. E.; MITCHELL, G. E.; MAYZE, J. L. Low dose irradiation affects microbiological and sensory quality of sub-tropical seafood. *Journal of Food Science*, vol. 59, nº 1, 1994.

PRENTICE, C.; SAINZ, R. L. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol. 25, nº 1, Jan./Mar. 2005.

RADIAÇÃO: banco de dados preparados por Fábio A. Schaberle e Nelson C. da Silva. In: Departamento de Física da Universidade Federal de Santa Catarina. Base de Dados Introdução à Física da Radioterapia: no ar desde 2000. Disponível em: <<http://www.fsc.ufsc.br>>. Acesso em: 10 out. 2006.

REALE, A.; SORRENTINO, E.; LAFFALDANO, N.; ROSATO, M. et al. Effects of ionizing radiation and modified atmosphere packaging on the shelf life of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2008.

REDDY, N. R.; SCHREIBER, C. L.; BUZARD, K. S.; SKINNER, G. E.; ARMSTRONG, D. J. Shelf life of fresh tilapia fillets packaged in high barrier film with modified atmospheres. *Journal of Food Science*, vol. 59, nº 2, 1994.

REDDY, N.R.; VILLANUEVA, M.; KAUTTER, D.A. Shelf life of modified atmosphere – packaged fresh tilapia fillets stored under refrigeration and temperature abuse conditions. *Journal of Food Protection*, v.58, n.8, p.908 – 914, 1995.

REIS, F. *Irradiação de alimentos*. In: III ENCONTRO NACIONAL DE BIOCÍCIAS NUCLEARES. Anais Eletrônicos. Gramado, 4 set. 2001. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/aulas/aula\\_1.ppt](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/aulas/aula_1.ppt)>. Acesso em: 3 ago. 2006.

RODRIGUES, T. P. *Estudo de critérios para avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada, eviscerada e estocada em gelo*. Tese apresentada no Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2008.

ROSA, V. P. *Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas frescal*. Dissertação apresentada a Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2004.

SANTOS, A. F., VIZEU, D. M., DESTRO, M. T., FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. Determinação da dose de radiação gama para reduzir a população de *Salmonella*

spp em carne de frango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Campinas, vol. 23, nº 2, maio/ago. 2003.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L. *Embalagem a vácuo e com atmosfera modificada para carnes frescas*. Campinas, Itai, 1991.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; SOLER, R. M. Embalagens com atmosfera modificada/controlada. *Catálogo Brasileiro de Produtos e Serviços*. Campinas, Itai, Jul. 1994.

SAS. *Statiscal Analyses Systems*. SAS User's Guide. Carry: SAS Institute Inc., 1985, 959 p.

SIKORSK, Z. E. *Seafood: resources, nutritional composition and preservation*. Florida: CRC Press, 1990. 247 p.

SIKORSKI, Z. E. *Tecnologia de los productos del mar, composición nutritiva*. 1ª ed. Espanha (Zaragoza), Acribia S.A, 1994.

SILVA, J. L.; WHITE, T. D. Bacteriological and color changes in modified atmosphere-packaged refrigerated channel catfish. *Journal of Food Protection*, 57, n. 8, 715-719, 1994.

SIMÕES, D. R. S. et al. Hambúrgueres formulados com base protéica de pescado. *Ciência Tecnol. Aliment.*, vol. 18, nº 4, Outubro 1998.

SIQUEIRA, A.A.Z.C. *Efeitos da Irradiação e Refrigeração na Qualidade e no Valor Nutritivo da Tilápia (Oreochromis niloticus)*. Piracicaba-SP. Dissertação apresentada a Escola Superior de Agricultura "Luiz Queiroz" Universidade de São Paulo, 2001.

SIVERTSVIK, M., ROSNES, I. T., KLEIBERG, G. H. Effect of modified atmosphere packaging and superchilled storage on the microbial and sensory quality of atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Journal of Food Science*, vol. 68, nº 4, 2003.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W.; ROSNES, T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 2002.

SMITH, J. P.; RAMASWAMY, H. S.; SIMPSON, B. K. Developments in food packaging technology. Part II: Storage aspects. *Trends in Food Science and Technology*, November, 1990.

SOCCOL, M. C. H. *Otimização da vida útil da tilápia cultivada (Oreochromis niloticus) minimamente processada e armazenada sobre refrigeração*. Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2002.

SOCCOL, M. C. H; OETTERER, M. Use of modified atmosphere in seafood preservation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, vol.46, nº 4, p. 569-580, December 2003.

SOUZA, E. C. P. M.; FILHO, A. R. T. *Piscicultura Fundamental*. 2ª ed. São Paulo: Nobel, 1985.

SPOLAORE, A. J. G.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. *Irradiação de alimentos*. In: GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Varela, 2001. Parte 27, p. 421-39.

STAMMEN, K.; GERDES D.; CAPORASO, F. Modified atmosphere packaging of seafood. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 29, nº 5, 1990.

STILES, M. E. Scientific Principles Of Control/modified Atmosphere Packing. In: *Modified Atmosphere Packing of Food* (eds. Ooraikul B. e Stiles M. E.). New York, 1990.

SUSSEL, F. R. *Para onde vai a Tilápia*. Disponível em: [www.ftp.sp.gov.br/ftppesca/tilapia.pdf](http://www.ftp.sp.gov.br/ftppesca/tilapia.pdf). Acesso em: 14 de outubro de 2008.

TARLADGIS, B. G.; WATTS, B. M.; YOUNATHAN, M. T.; DUGAN, L. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 37, January, 1960.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K. Combination processes in food irradiation. *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 6, January, 1995.

URBAIN, W. M. *Food irradiation*. Orlando: Academic Press, 351p., 1986.

USP/CENA. Universidade de São Paulo/Centro de Energia Nuclear na Agricultura. *Divulgação da Tecnologia de Irradiação de Alimentos e Outros Materiais*. São Paulo, set. 2002. Disponível em: <<http://www.cena.usp.br/irradiação/index.asp>>. Acesso em: 18 de julho de 2006.

VELLOSO, E. A. *Avaliação sensorial e físico-químico de filés de tilápia tailandesa (Oreochromis niloticus) refrigerados e submetidos a radiação gama*. Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Irradiação de Alimentos da Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2004.

VIANA, E. S.; GOMIDE, L.A. M.; VANETTI, M. C.D. Effect of modified atmospheres on microbiological and sensory properties of refrigerated pork. *Meat Science*, vol. 71, nº 4, p. 696-705, 2005.

VITAL, H. C.; JUNIOR, M. F. A irradiação de alimentos. In: ROSENTHAL, A. *Tecnologia de alimentos e inovação: tendências e perspectivas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 193p., capítulo 11, p.149-164.

VITALI, A. A. Novas tendências em processamento de alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos*, vol.31, nº 1, 1997.

WAGNER, P. M. et al. Avaliação do desempenho produtivo de linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em diferentes fases de criação. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, Maringá, vol. 26, nº 2, 2004.

XUETONG, F.; SOMMERS, C. H.; SOKORAY, K. J. B. Ionizing radiation and antioxidants affect volatile sulfur compounds, lipid oxidation and color of ready-to-eat turkey bologna. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, 2004.

ZEITOUN, A. A. M.; DEBEVERE, J. M. Modified atmosphere packaging (MAP) as a food preservation method with special reference to poultry and meat. *Gent, Belgium, 1993.*

## **7 APÊNDICES**

7.1 DESPESCA DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) POR REDE DE ARRASTO REALIZADA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE



7.2 DEPURAÇÃO DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) REALIZADA EM TANQUE NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE



7.3 INSENSIBILIZAÇÃO DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) EM CAIXAS DE FIBROCIMENTO COM ÁGUA HIPERCLORADA A 10 ppm E GELO NA PROPORÇÃO DE 1:1 REALIZADA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE



7.4 DESCABEÇAMENTO, EVISCERAÇÃO E RETIRADA DA PELE DAS TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) COM AUXÍLIO DE ALICATE REALIZADO NA ÁREA SUJA DO CENTRO DE AQUICULTURA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE



7.5 FILETAGEM DOS TRONCOS (*Oreochromis niloticus*) COM AUXÍLIO DE FACAS NA ÁREA LIMPA DA FÁBRICA PILOTO ELMO RAMPINI DE SOUZA NO CAMPUS ITABORAÍ DO CENTRO UNIVERSITÁRIO PLÍNIO LEITE



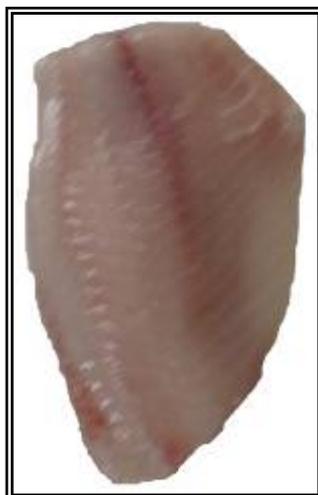
7.6 MÁQUINA TERMOSELADORA MARCA TECMAQ MODELO AP 450 UTILIZADA PARA EMBALAR AS AMOSTRAS A VÁCUO E EM ATMOSFERA MODIFICADA



7.7 IRRADIADOR DE PESQUISA DO CTE<sub>x</sub> UTILIZADO PARA IRRADIAR AS AMOSTRAS



7.8 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM AEROBIOSE E NÃO IRRADIADO NO 1º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



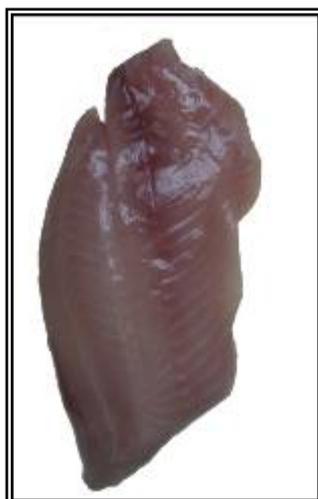
7.9 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM AEROBIOSE E IRRADIADO COM DOSE DE 1,5 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



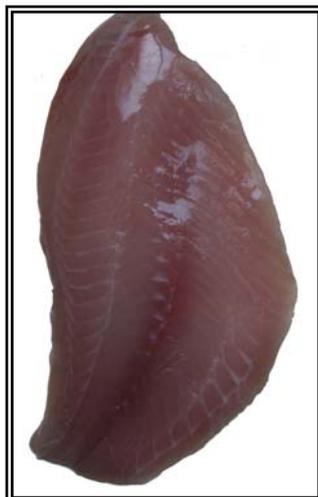
7.10 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM AEROBIOSE E IRRADIADO COM DOSE DE 3,0 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



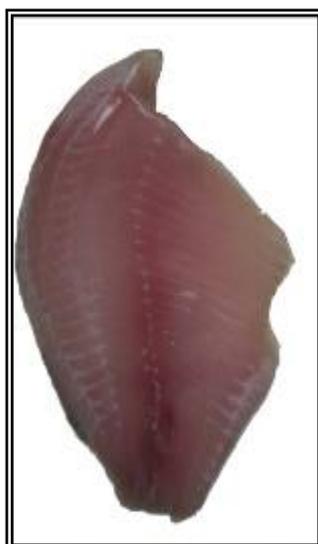
7.11 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO A VÁCUO E NÃO IRRADIADO NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



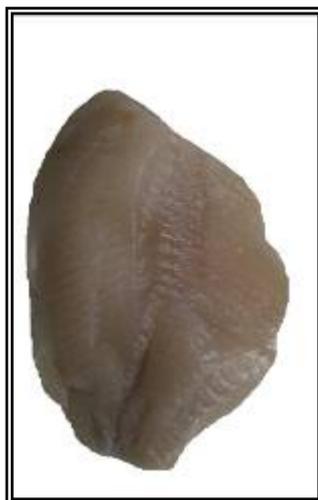
7.12 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO A VÁCUO E IRRADIADO COM DOSE DE 1,5 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



7.13 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO A VÁCUO E IRRADIADO COM DOSE DE 3,0 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



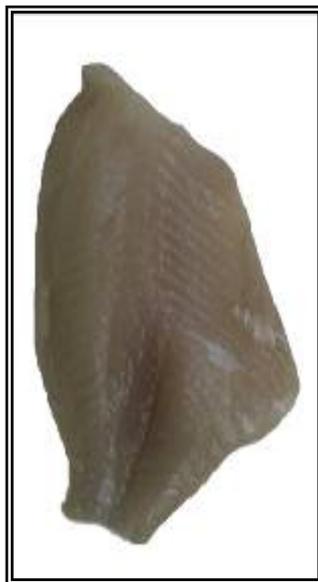
7.14 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA E NÃO IRRADIADO NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



7.15 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADO COM DOSE DE 1,5 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



7.16 VISUALIZAÇÃO DA COR E APARÊNCIA DE FILÉ DE TILÁPIA EMBALADO EM ATMOSFERA MODIFICADA E IRRADIADO COM DOSE DE 3,0 kGy NO 20º DIA DE ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ )



## 7.17 PROTOCOLO DA DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO PELO MÉTODO DE DESTILAÇÃO

### PROTOCOLO

#### DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE SUBSTÂNCIAS REATIVAS AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO

##### 1. PRINCÍPIO:

Fundamenta-se na formação de um composto de coloração vermelha resultante da condensação de 2 moles de ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico ou de seus tautômeros originados na oxidação dos lipídeos.

##### 2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:

- 2.1. Balança
- 2.2. Agitador com barra cilíndrica
- 2.3. Liquidificador
- 2.4. Proveta de 50 mL e 10 mL
- 2.5. Pipetas de 2 e 5 mL
- 2.6. Destilador (com tubos) de Kjeldahl
- 2.7. Tubos de ensaio com tampa rosqueada
- 2.8. Estante para tubo de ensaio
- 2.9. Banho-maria ou bico de bunsen ou manta aquecedora
- 2.10. Béquer de 50 mL
- 2.11. Potenciômetro ou fita indicadora de pH
- 2.12. Espectrofotômetro

##### 3. PREPARO DOS REAGENTES:

- 4.1. Solução de ácido tiobarbitúrico (dissolução de 0,02 M do ácido 2-tiobarbitúrico e ácido acético glacial a 90%):

**Quadro 1:** Quantidade proporcional do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), da água destilada e do ácido acético para a reação com o malonaldeído presente nas amostras analisadas:

TBA (g)	H <sub>2</sub> O destilada (mL)	Ácido acético glacial p.a. (mL)
0,5766	20	180
0,2883	10	90
0,1442	5	45

Coloca-se o TBA em um béquer e adiciona-se água destilada e 2/3 do ácido acético. Promover a dissolução em agitador à temperatura ambiente. Quando estiver completamente dissolvido, acertar o volume com o restante do ácido acético em balão volumétrico. Armazenar em geladeira por até 7 dias.

- 4.2. Ácido clorídrico 4 N:

1 parte de HCl concentrado para 2 partes de água destilada (1:2)

#### 4. TÉCNICA:

Pesar em béquer pequeno (ou em papel alumínio) 10g de amostra previamente homogeneizada e acrescentar 50 mL de água destilada. Misturar em liquidificador por 2 minutos. Transferir a mistura para um tubo de destilação do tipo Kjeldahl com auxílio de 47,5 mL de água destilada. Adicionar 2,5 mL de HCl 4 N para corrigir o pH para 1,5 (conferir com pHmetro ou fita indicadora). Conectar o tubo e dar início a destilação. Recolher 50 mL do destilado em 10 minutos após o início da ebulição. Retirar 5 mL do destilado e colocar em tubo de ensaio rosqueado e adicionar 5 mL da solução de TBA. Fechar o tubo e misturar os conteúdos. Fazer branco\*. Imergir em banho de água fervente por 35 minutos. Retirar e esfriar em água corrente por 10 minutos. Fazer a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro a 538 nm previamente calibrado com o branco. Para encontrar o nº de TBA multiplica-se o valor encontrado na leitura da absorbância por 7,8 que é o valor determinado no experimento de Tarladgis *et al.* (1960), convertendo o resultado para mg de malonaldeído por 1000g do produto analisado.

#### Cálculo:

Nº de TBA = mg de aldeído malônico/kg ou 1000g

\* Branco = Todos os reagentes menos a amostra = 5 mL de água destilada + 5 mL de TBA aquece em banho-maria por 35 minutos juntamente com as amostras

## 7.18 PROTOCOLO DA ANÁLISE DE BASES VOLÁTEIS TOTAIS PELO MÉTODO DE MICRODIFUSÃO EM PLACA DE CONWAY

### PROTOCOLO

#### **BASES VOLÁTEIS TOTAIS (BVT) – Método de Microdifusão em placa de Conway**

##### **1. PRINCÍPIO:**

Baseia-se na precipitação de proteínas por ácido tricloroacético e extração das bases. A adição de solução de carbonato de potássio ao extrato libera as bases voláteis que se difundem e fixam-se na solução de ácido bórico (pH básico). As bases fixadas são tituladas com ácido (pH ácido).

##### **2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS:**

- 2.1. Liquidificador
- 2.2. Balança
- 2.3. Frasco de kitazato de 500 mL
- 2.4. Funil de Buchner
- 2.5. Papel de filtro Whatman nº 5
- 2.6. Pipetas de 2 ml
- 2.7. Placas de Conway
- 2.8. Estufa com regulagem mínima de 30°C
- 2.9. Microbureta de 5 ml
- 2.10. Béquer de 50 mL

##### **3. PREPARO DOS REAGENTES:**

###### **3.1. Solução de Ácido Bórico de Conway:**

Agitar 5 g de ácido bórico em 100 ml de álcool etílico e adicionar 300 ml de água. Quando o ácido dissolver, adicionar 5 ml de indicador misto de Tashiro. Adicionar solução de hidróxido de sódio 0,1 N até produzir uma coloração rósea e completar o volume até 500 ml. Após a diluição, a solução deverá ter coloração acinzentada (neutro).

###### **3.2. Indicador misto de Tashiro:**

Misturar volume por volume de solução de vermelho de metila a 0,2% com etanol (álcool etílico), e solução de azul de metileno a 0,1% em água.

###### **3.3. Solução de ácido tricloroacético a 10%:**

Pesar 100 g de ácido tricloroacético em béquer de 500 ml, adicionar água destilada até dissolver, e transferir para balão volumétrico de 1 litro e completar o volume com água destilada.

###### **3.4. Solução saturada de carbonato de potássio:**

Pesar 120 g de carbonato de potássio em béquer de 500 ml e adicionar 100 ml de água destilada, agitar até dissolver.

### 3.5. Ácido clorídrico a 0,01 N:

Diluir 8,5 ml de ácido clorídrico concentrado em 100 ml de água em balão volumétrico. Pipetar 10 ml dessa solução para balão de 1000 ml, e completar o volume com água destilada.

## 4. TÉCNICA:

### 4.1. Extrato:

Pesar a amostra (50 ou 10 g) em papel alumínio, triturar e homogeneizar em liquidificador a amostra com 50 mL (ou 10 mL) de solução de ácido tricloroacético a 10%. Filtrar toda a amostra em funil de Büchner a vácuo com papel de filtro Whatman nº 5. Guardar o filtrado em frasco com tampa esmerilhada em geladeira ou realizar análise imediatamente.

\* Se utilizar 50 g de amostra, adicionar 50 mL de solução de ácido tricloroacético a 10%, ou 10 g de amostra 10 mL de solução de ácido tricloroacético a 10%

### 4.2. BVT:

Colocar 2 ml (com auxílio de pipeta) de solução de ácido bórico de Conway no compartimento central da placa de microdifusão; colocar no compartimento externo 2 ml do extrato (espalhar a amostra). Colocar a tampa com vaselina sólida ou silicone pelo lado rugoso da placa, deixando uma abertura no compartimento externo para adicionar 2 ml de solução saturada de carbonato de potássio. Deslizar a tampa para fechar hermeticamente a placa. Girar suavemente para homogeneizar o conteúdo externo (Cuidado para não misturar os reagentes !!!!!). Deixar por duas horas em estufa regulada a 35°/36°C. Retirar a tampa e titular a solução central com solução de ácido clorídrico a 0,01 N ou 0,1 N usando uma pipeta de 2 ml graduada ao centésimo (0,01 ml) ou microbureta de 5 ml até a viragem para a cor azul acinzentado (controlar a descida das gotas com bastão de vidro pequeno). Leitura direta na microbureta da quantidade de ácido clorídrico gasto.

### Cálculo:

$$\text{mg de N-BVT/100 g} = \frac{V \times N \times 14 \times 100 (T+U)}{V_a \times P}$$

Onde:

V = Volume de ácido clorídrico 0,01 N ou 0,1 N gasto na titulação

N = Normalidade da solução de HCL (0,01 ou 0,1 x fator)

14 = Equivalente grama de Nitrogênio

T = Volume de solução de ácido tricloroacético (50 ou 10 ml)

U = Umidade da amostra em gramas\*

V<sub>a</sub> = Volume da alíquota analisada (2 ml)

P = Peso da amostra utilizada no preparo do extrato (50 ou 10 g)

\* Umidade do pescado = 80% = utilizando 10 g de amostra equivale a 8 g