

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

MARIA LÚCIA GUERRA MONTEIRO

VALIDADE COMERCIAL DE FILÉS DE TILÁPIA DO  
NILO (*Oreochromis niloticus*) RESFRIADOS TRATADOS  
COM IRRADIAÇÃO E EMBALADOS EM ATMOSFERA  
MODIFICADA

UNIVERSIDADE  
FEDERAL  
FLUMINENSE

NITERÓI  
2011

**MARIA LÚCIA GUERRA MONTEIRO**

**Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados tratados com irradiação e embalados em atmosfera modificada**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Eliane Teixeira Mársico

Niterói

2011

**MARIA LÚCIA GUERRA MONTEIRO**

**Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados tratados com irradiação e embalados em atmosfera modificada**

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

Aprovada em:

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Eliane Teixeira Mársico – Orientadora  
Universidade Federal Fluminense

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Claudia Emília Teixeira  
Centro Universitário Plínio Leite

---

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

---

Prof. Dr. Sérgio Borges Mano  
Universidade Federal Fluminense

Niterói  
2011

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por estar sempre presente em minha vida e tornar tudo possível.

A minha mãe Sylvia pelo exemplo de vida, amor, carinho, ajuda e paciência. Obrigada por tudo!

As minhas irmãs Fátima e Regina por todo amor e apoio.

Ao meu namorado Pedro Luiz pelo companheirismo, compreensão, ajuda, amor e paciência. Obrigada por cada dia!

A minha orientadora Professora Eliane Teixeira Mársico por toda atenção, apoio, confiança, paciência, incentivo, ensinamentos, exemplo profissional, carinho e amizade transmitidas diariamente.

Ao Professor Sérgio Borges Mano por toda paciência, ensinamentos, confiança, carinho, amizade e apoio diários.

A Professora Claudia Emília Teixeira por toda ajuda e atenção.

Ao Professor Helio de Carvalho Vital por disponibilizar o acesso ao Centro Tecnológico do Exército, pela atenção, apoio, ensinamentos e amizade.

Ao Professor Carlos Adam Conte Júnior por diariamente compartilhar seus conhecimentos, pelo carinho, atenção, apoio, paciência e amizade.

A Carlos Frederico Guimarães, técnico do Laboratório de Controle Físico-Químico, por toda ajuda durante o Curso.

Ao secretário de Pós-Graduação Drausio de Paiva Ferreira pela atenção e ajuda durante a realização do Curso de Mestrado.

Aos meus eternos amigos por todo apoio, carinho, amor, paciência, compreensão e por tornar os momentos difíceis bem mais fáceis de serem vividos. Muito obrigada!

Aos meus amigos da turma de 2009, Alexandre, Anna Carolina, Bruno, Bruna, César, Érica, Laís e Rafael por toda ajuda prestada durante o curso, pela atenção, carinho e amizade nos momentos mais difíceis. Muito obrigada!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização do presente trabalho.

## BIOGRAFIA

Maria Lúcia Guerra Monteiro, brasileira, filha de Hermes Borges Monteiro e Sylvia Maria Guerra Monteiro, nasceu em 05 de Agosto de 1982, na cidade do Rio de Janeiro. No ano de 2001, ingressou na Universidade Estácio de Sá, onde cursou Medicina Veterinária até o ano de 2006. No segundo semestre deste mesmo ano, iniciou estágio no Laboratório de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, onde desenvolveu trabalhos de pesquisa. No ano de 2007, ingressou no Curso de Especialização de Irradiação em Alimentos, na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense e, no ano seguinte, no Curso de Especialização em Higiene em Produtos de Origem Animal, na Universidade Castelo Branco. No ano de 2009, iniciou o Curso de Mestrado em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense. Neste mesmo ano, apresentou oralmente, um trabalho científico no INAC (“International Nuclear Atlantic Conference”), realizado no Rio de Janeiro e, enviou trabalhos de pesquisas para II Mostra UFF em Higiene e Tecnologia de Alimentos (Apêndice 7.2.3, 7.2.4, 7.2.5 e 7.2.6). Durante o período do Curso de Mestrado (Março de 2009 a Janeiro de 2011), desenvolveu pesquisas junto à equipe do Laboratório de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal, da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, que foram enviadas para Revista Ciência Rural, Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias e Revista Brasileira de Ciência Veterinária (Apêndice 7.1.1, 7.1.2 e 7.1.3). Além disso, participou de projetos como Auxílio à Pesquisa (Edital FAPERJ/APQ1/2010), Programa Prioridade Rio (Edital FAPERJ nº 04/2010) e Edital Pró-Equipamento da CAPES (Edital nº 27/2010), junto ao grupo do Laboratório de Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal Fluminense. No ano de 2011, enviou trabalhos para o XI Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos, em Salvador (Apêndice 7.2.1 e 7.2.2). Atualmente, a autora foi aprovada no processo seletivo do Curso de Doutorado em Higiene e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal, na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, o qual iniciará em Março de 2011.

## SUMÁRIO

**LISTA DE ILUSTRAÇÕES**, p. 9

**LISTA DE TABELAS**, p. 12

**LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS**, p. 14

**RESUMO**, p. 16

**ABSTRACT**, p. 17

**1 INTRODUÇÃO**, p. 18

**2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**, p. 20

2.1 POTENCIAL DA AQUICULTURA NACIONAL, p. 20

2.2 TILÁPIA DO NILO, p. 22

2.3 DETERIORAÇÃO DO PESCADO, p. 25

**2.3.1 Parâmetros analíticos físico-químicos**, p. 26

2.3.1.1 Bases Voláteis Totais, Trimetilamina e amônia, p. 27

2.3.1.2 pH, p. 31

2.3.1.3 Ranço oxidativo, p. 33

**2.3.2 Parâmetros analíticos bacteriológicos**, p. 36

**2.3.3 Parâmetros sensoriais**, p. 40

2.4 EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA, p. 44

**2.4.1 Histórico**, p. 44

**2.4.2 Aplicação da EAM em alimentos**, p. 45

2.5 IRRADIAÇÃO, p. 54

**2.5.1 Histórico**, p. 54

**2.5.2 O processo de irradiação de alimentos**, p. 58

**2.5.3 Uso da radiação gama em pescado**, p. 63

**3 MATERIAL E MÉTODOS**, p. 74

3.1 MATERIAL, p. 74

**3.1.1 Equipamentos**, p. 74

**3.1.2 Material de consumo e vidrarias**, p. 75

3.1.2.1 Reagentes e soluções preparadas, p. 76

3.2 MÉTODOS, p. 77

**3.2.1 Obtenção e processamento das amostras**, p. 77

**3.2.2 Análises físico-químicas**, p. 82

3.2.2.1 Bases Voláteis Totais, p. 82

3.2.2.2 Trimetilamina, p. 83

3.2.2.3 pH, p. 84

3.2.2.4 Amônia, p. 85

3.2.2.5 Ranço oxidativo, p. 86

**3.2.3 Análises bacteriológicas**, p. 87

3.2.3.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, p. 88

3.2.3.2 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas, p. 88

**3.2.4 Avaliação sensorial**, p. 89

**3.2.5 Tratamento estatístico dos resultados**, p. 92

**4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**, p. 93

4.1 BASES VOLÁTEIS TOTAIS, TRIMETILAMINA e AMÔNIA, p. 93

4.2 pH, p. 101

4.3 RANÇO OXIDATIVO, p. 104

4.4 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS, p. 108

4.5 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS PSICROTÓFICAS, p. 111

4.6 ANÁLISE SENSORIAL, p. 114



**5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES**, p. 123

**6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**, p. 124

**7 APÊNDICES**, p. 140

**7.1 ARTIGO SUBMETIDOS A PERÍODICOS**, p. 140

**7.1.1 Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados tratados com irradiação e embalados em atmosfera modificada**, p.

**7.1.2 Efeitos da irradiação nos parâmetros físico-químicos de atuns (*Thunnus atlanticus*) inteiros e eviscerados resfriados**, p. 140

**7.1.3 Propriedades físico-químicas, sensoriais e bacteriológicas de camarões (*Litopenaeus brasiliensis*) irradiados e armazenados sob refrigeração**, p. 140

**7.2 TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS**, 141

**7.2.1 Avaliação bacteriológica e sensorial de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados**, p. 141

**7.2.2 Avaliação físico-química de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados**, p. 141

**7.2.3 Physicochemical evaluations of the effects of evisceration and irradiation on the conservation of refrigerated blackfin tuna (*Thunnus atlanticus*)**, p. 141

**7.2.4 A irradiação como método de conservação de atuns**, p. 141

**7.2.5 Embalagem em atmosfera modificada e irradiação na qualidade microbiológica e sensorial de filé de tilápia**, p. 141

**7.2.6 Embalagem em atmosfera modificada e irradiação na qualidade microbiológica e sensorial de filé de tilápia**, p. 141

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** Radura – Logotipo de identificação internacional para indicar produtos alimentícios tratados por irradiação, p. 60
- Figura 2** Insensibilização de tilápias (*O. niloticus*) por hipotermia realizada na Empresa Peixe Sul, localizada em Piraí, Rio de Janeiro, p. 78
- Figura 3** Filetagem dos filés de tilápia (*O. niloticus*) realizada na Empresa Peixe Sul, Piraí, Rio de Janeiro, p. 78
- Figura 4** Empresa Peixe Sul localizada em Piraí, Rio de Janeiro, p. 79
- Figura 5** Filés de tilápia (*O. niloticus*) obtidos na Empresa Peixe Sul, Piraí, Rio de Janeiro, p. 79
- Figura 6** Caixas isotérmicas de poliestireno expandido contendo filés de tilápia (*O. niloticus*) e gelo ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), p. 80
- Figura 7** Máquina termoseladora marca Tecmac Modelo AP 450 da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, p. 81
- Figura 8** Irradiador do Centro Tecnológico do Exército com fonte de césio-137, localizado em Guaratiba, Rio de Janeiro, p. 81
- Figura 9** Etapa de titulação da análise de Bases Voláteis Totais (BVT) (lado esquerdo) e ponto de viragem do indicador de Tashiro (lado direito), p. 83
- Figura 10** Mensuração do pH em filés de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), p. 85
- Figura 11** Reação negativa (lado esquerdo) e positiva (lado direito) da prova de Nessler, realizada em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), p. 86

- Figura 12** Reação do ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico ou de seus tautômeros originados na oxidação dos lipídeos, resultando em composto de coloração vermelha, p. 87
- Figura 13** Placa com meio de cultura Ágar padrão para Contagem (APC) de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas, p. 88
- Figura 14** Cabine de análise sensorial da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, p. 89
- Figura 15** Ficha utilizada no teste de aceitação elaborada com escala hedônica estruturada em nove pontos (9 – gostei extremamente e 1 – desgostei extremamente), p. 91
- Figura 16** Representação gráfica dos valores de N-BVT, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ), p. 93
- Figura 17** Representação gráfica dos valores de TMA, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ), p. 97
- Figura 18** Representação gráfica da produção de amônia, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ), p. 99
- Figura 19** Representação gráfica dos valores de pH, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ), p. 101
- Figura 20** Representação gráfica dos valores de TBARS, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ), p. 106
- Figura 21** Resultados da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) em filés de tilápia (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ), p. 111

**Figura 22** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (CBHAP) em filés de tilápia (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), p. 114

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Resultados obtidos nas análises de Bases Voláteis Totais (N-BVT), expresso em mg N-BVT/100g de amostra, em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados), p. 94
- Tabela 2.** Resultados obtidos nas análises de Trimetilamina (TMA), expresso em mg de TMA/100g de amostra, em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados), p. 96
- Tabela 3.** Resultados obtidos nas análises de amônia em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados), p. 98
- Tabela 4.** Resultados dos valores de pH em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados), p. 102
- Tabela 5.** Valores referentes à produção de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), expresso em mg de malonaldeído/kg de amostra, em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados), p. 105

**Tabela 6.** Médias e desvio padrão dos escores referentes aos tratamentos utilizados nos filés de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) a partir do teste de aceitação usando escala hedônica estruturada em nove pontos, para o atributo “aparência geral”, p. 115

**Tabela 7.** Médias e desvio padrão dos escores referentes aos tratamentos utilizados nos filés de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) a partir do teste de aceitação usando escala hedônica estruturada em nove pontos, para o atributo “cor”, p. 117

**Tabela 8.** Validade comercial, expressa em dias, de todas as análises realizadas em filés de Tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados), p. 120

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIEA	Agência Internacional de Energia Atômica
AIT	Instituto Tecnológico Asiático do ingles "Asian Institute of Technology"
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina Trifosfato
BVT	Bases Voláteis Totais
CBE	Companhia Brasileira de Estireno
CBHAM	Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas
CBHAP	Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
CH <sub>3</sub> SH	Metilmercaptana
CMEIA	Comitê Misto de Especialistas em Irradiação de Alimentos
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CTEx	Centro Tecnológico do Exército
DMA	Dimetilamina
DNA	Deoxyribonucleic acid
EAM	Embalagem em Atmosfera Modificada
EMBRARAD	Empresa Brasileira de Radiações
FA	Formaldeído
FAO	Food Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
Gy	Gray
H*	Hidrogênio atômico
H <sub>2</sub>	Hidrogênio molecular
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
H <sub>2</sub> S	Gás sulfídrico
ICMSF	Grupo Consultivo Internacional sobre Irradiação de Alimentos do inglês "International Consultative Group on Food Irradiation"
IPEN	Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
kGy	Kilogray
Log	Logarítmico
MeV	Milielétron Volt
N	Nitrogênio
NASA	National Aeronautics and Space Administration
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
NH <sub>3</sub>	Amônia
O <sub>2</sub>	Oxigênio
OH*	Radical hidroxil
OMS	Organização Mundial de Saúde
OTMA	Óxido de Trimetilamina

RIISPOA	Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico do inglês "ThioBarbituric Acid Reactive Substances"
TMA	Trimetilamina
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
<sup>137</sup> Ba	Bário
<sup>60</sup> Ni	Níquel



## RESUMO

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies de maior importância na aquicultura por apresentar características desejáveis sob os aspectos comerciais e nutricionais. Entretanto, dentre os produtos de origem animal, o pescado é o mais susceptível ao processo de deterioração, fato que destaca a importância de pesquisas relativas à sua conservação. O objetivo do estudo foi avaliar os efeitos dos processos de irradiação e embalagem em atmosfera modificada, aplicados isoladamente ou combinados, na extensão da validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados. Foram obtidos 120 filés de tilápias separadas em grupos, de acordo com o tratamento: (T1) embalagem em aerobiose (controle), (T2) embalagem em atmosfera modificada (40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>), (T3) embalagem em aerobiose e irradiação (dose de 1,5kGy), (T4) embalagem em atmosfera modificada e irradiação (mesmas condições de T2 e T3). Foram realizadas análises físico-químicas (BVT, TMA, pH, amônia e ranço oxidativo), bacteriológicas (contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas) e avaliação sensorial (teste de aceitação). Os resultados de N-BVT, TMA, amônia, pH, contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas exibiram tendência crescente ao longo do período de estocagem (0±1°C) em todos os tratamentos. No entanto, os valores das amostras controle apresentaram aumento mais rápido, demonstrando menor validade comercial. Os resultados do ranço oxidativo das amostras controle aumentaram conforme o aumento do tempo de armazenamento, todavia, os valores das amostras dos tratamentos 2, 3 e 4 aumentaram e, em etapas posteriores, decresceram continuamente até as análises bacteriológicas e sensoriais caracterizarem o produto como impróprio para consumo. Quanto à análise sensorial, a embalagem em atmosfera modificada e a irradiação, isolada ou combinada, interferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) nos atributos “aparência geral” e “cor” dos filés de tilápia, durante todo o período de estocagem, mantendo as características de qualidade desejáveis do produto por um maior período de tempo observando-se uma extensão na validade comercial dos filés embalados em atmosfera modificada e/ou irradiados de 4 dias para aproximadamente duas semanas, o que demonstra a viabilidade da aplicação desses métodos para aumentar a validade comercial do produto.

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

## ABSTRACT

The Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of the most valuable species for aquaculture due to its several attractive features. However, like other fishes, it is also vulnerable to deterioration that is even faster than for other kinds of animal products. This work investigated the effects of modified atmosphere packing and irradiation either used alone or combined on the shelf life of fillets of refrigerated Nile Tilapia. A total of 120 fillets were used in the experiments in order to test four different treatments and included samples: packed in air (control), packed in modified atmosphere (40/60 CO<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>), packed in air and irradiated (with a 1.5 kGy dose), and finally, packed in modified atmosphere and irradiated (same conditions of T2 and T3). Regular monitoring of physicochemical parameters (TVB, pH, ammonia and oxidative rancidity), bacteriological conditions (heterotrophic aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria) and sensory acceptance were performed. The results of N-TVB, TMA, ammonia, pH, heterotrophic aerobic mesophilic and psychrotrophic bacteria count exhibited increasing trend throughout the storage period (0±1°C) in all treatments. However, the values of control samples showed a more rapid increase, showing less shelf life. The results of the oxidative rancidity of control samples increased with increasing storage time, however, the values of samples from treatments 2, 3 and 4 increased but, in later stages, decreased continuously until the bacteriological and sensory analysis characterized as the product unfit for consumption. As for the sensory analysis, the modified atmosphere packaging and irradiation, either used alone or combined, interfered significantly (p<0,05) in the attributes "general appearance" and "color" of tilapia fillets throughout the storage period, maintaining the quality of desirable product for a longer period of time and, therefore, those samples treated with irradiation, modified atmosphere or both combined had longer shelf lives (around two weeks) in comparison with the control (4 days only).

Keywords: *Oreochromis niloticus*, tilapia, refrigeration, modified atmosphere, gamma radiation, shelf life.

## 1 INTRODUÇÃO

A tilápia (*Oreochromis niloticus*), peixe originário da África, foi introduzido na maioria dos países do mundo no século XX. Atualmente, é considerada uma das espécies mais importantes da aquicultura, devido às suas características reprodutivas, genéticas e, principalmente, mercadológicas, ocupando posição de destaque entre as espécies de água doce cultivadas, sendo superadas em produção apenas pelas carpas.

Entretanto, apresentam aspectos fisiológicos e bioquímicos que propiciam condições intrínsecas favoráveis à multiplicação microbiana, como elevada atividade de água, pH próximo da neutralidade, grande quantidade de nutrientes, facilmente utilizáveis por microrganismos, e rápida ação das enzimas autolíticas, além da predominância de gorduras insaturadas, moléculas quimicamente instáveis que se degradam, propiciando a instalação do ranço oxidativo.

Desta forma, apesar das inúmeras pesquisas abordando métodos de conservação para pescado e derivados, são ainda necessárias atualizações e novas abordagens tecnológicas que objetivem o aumento da validade comercial com garantia dos aspectos sensoriais. Diante desse cenário e considerando a aplicabilidade já reconhecida pela comunidade científica, aborda-se na presente pesquisa o emprego simultâneo de dois ou mais métodos de conservação, como a embalagem em atmosfera modificada e a irradiação que, apesar de sugerido e amplamente utilizado por diversos autores para aumentar a validade comercial e manter a qualidade do produto, não possui na atualidade aplicação comercial em filés de tilápia.

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. O mecanismo de ação na extensão da validade comercial de alimentos consiste, basicamente, 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 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 eficaz na redução da 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.

Atualmente, está havendo um aumento na comercialização de pescado *in natura* na forma de filé resfriado ou congelado e o filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) vem se destacando, assim como o consumo desses produtos na forma industrializada. Ao mesmo tempo, há uma demanda crescente para o consumo de alimentos nutritivos e frescos, com a aparência próxima do produto *in natura*, mas com garantia de segurança microbiológica, físico-química e sensorial. Este fato justifica a pesquisa de tecnologias de conservação que assegurem esses atributos e que aumentem a validade comercial deste produto em um período que demonstre sua aplicação.

Diante deste fato, o presente estudo objetivou avaliar o efeito, isolado e combinado, da irradiação e da embalagem em atmosfera modificada na extensão da validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados, a fim de atender as novas exigências mercadológicas.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

A presente fundamentação teórica visa fornecer informações sobre os aspectos de qualidade do pescado, a espécie estudada e sua respectiva produção nacional, assim como emprego da embalagem com atmosfera modificada e do processo de irradiação na conservação de alimentos.

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

A captura máxima mundial de espécies aquáticas tradicionais atingiu neste século os limites sustentáveis de 100 milhões de toneladas por ano. Simultaneamente, em decorrência do aumento populacional e da procura por alimentos com baixos teores de gordura e colesterol, a demanda mundial continua a crescer aceleradamente. Como as possibilidades reais e concretas de expansão do setor pesqueiro estão praticamente esgotadas, a alternativa natural para o suprimento desse mercado passa a ser o cultivo de organismos aquáticos, a aquicultura (EMBRAPA, 2005) que avançou, mundialmente, devido ao aumento no consumo e industrialização de seus produtos (MARENGONI, 2006).

No Brasil, a aquicultura é uma das atividades zootécnicas que vêm se destacando como alternativa econômica para o pequeno e médio produtor, sendo propícia ao aproveitamento de áreas improdutivas, transformando-as e elevando sua potencialidade e produtividade. A maior parte é comercializada diretamente com o

consumidor final. O beneficiamento, quando feito, é realizado em escala reduzida, em frigoríficos de pequeno porte, apesar de já ser perceptível a tendência de crescimento do número de entrepostos que processam o peixe. Além do filé, podem ser comercializados outros produtos de tilápia como hambúrgueres, *nuggets*, empanados, *sashimi* e farinha de tilápia e, ainda, do seu couro podem ser feitos diversos acessórios como bolsas, sapatos e cintos (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008).

A tilápia (*Oreochromis niloticus*), dentre as espécies cultivadas, foi a que obteve maior destaque nesse segmento por suas características sensoriais, bom rendimento de filé, alta produtividade e rusticidade (MARENGONI, 2006). Esta espécie, com aproximadamente 37% de porção comestível, obteve, em 2004, o maior volume de produção da piscicultura mundial, com estimativas de uma produção de 1,5 milhões de toneladas em 2010 (ARRUDA, 2004).

O maior produtor mundial de tilápia no ano de 2007 foi a China, sendo responsável por aproximadamente 60% de toda a produção mundial, porém praticamente toda a produção foi consumida no mercado interno, sendo uma pequena porção exportada para outros países, provavelmente, devido à baixa qualidade dos filés produzidos a partir da tilápia chinesa (PEREIRA; GAMEIRO, 2007).

Neste contexto, o Brasil apresenta, segundo dados descritos por Nunes (2002), grande potencial para a produção de pescado por meio da aquicultura devido à extensa faixa costeira, que inclui ricas bacias hidrográficas, dentre as quais, destaca-se a Amazônia, que armazena 8% da água doce do mundo. Merecem ainda destaque os cinco 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.

No Brasil, a tilapicultura firmou-se como atividade empresarial a partir da década de 80, 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, tornando-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 (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008).

Em 2004, o Brasil ocupava o sexto posto como produtor mundial de tilápias, dividindo a posição com Cuba, ambos com cerca de 5% de participação mundial (KUBITZA, 2007).

Em 2007, o Brasil demonstrou um crescimento relativo de produção, a partir da aquicultura, de mais 10,2% em relação ao ano de 2006 (191.183,5 toneladas), produzindo 210.644,5 toneladas. Desta totalidade, 209.812,0 toneladas faziam referência a peixes oriundos da piscicultura. As principais regiões produtoras de peixes de cultivo em 2007 foram, por ordem decrescente, a região Sul (64.483,5 toneladas), Nordeste (43.915,5 toneladas), Centro-oeste (40.061,0 toneladas), Sudeste (35.214,0 toneladas) e, por último, a região Norte (26.138,0 toneladas), representando, 30,6%; 20,9%; 19,1%; 17,0% e 12,4%, respectivamente. Apesar disso, o Ceará permanecia na liderança dos estados, apresentando uma produção de 25.726,5 toneladas. As principais espécies de peixes utilizadas na aquicultura destas regiões eram: tilápia, carpa, tambaqui, tambacu e curimatã. Na região Sudeste, o estado de São Paulo, era, em 2007, o maior produtor (23.209,0 toneladas), seguido por Minas Gerais (6.483,0 toneladas) e Espírito Santo (3.737,0 toneladas) (BRASIL, 2007).

Dados de 2007 descrevem que, no estado do Rio de Janeiro, a tilapicultura é a principal alternativa dos piscicultores, e vem crescendo anualmente, sendo constituída principalmente por pequenos e microprodutores rurais que aproveitam parte de suas propriedades para instalação de pesque-pague ou para construção de viveiros para engorda de peixes, com a intenção de gerar renda alternativa em suas propriedades (MATHIAS, 2004). No ano de 2007, o Rio de Janeiro produziu 1.785,00 toneladas, das quais 1.249,0 toneladas foram provenientes da produção de Tilápia, espécie mais representativa, gerando um valor total de 4.371.500,00 de reais neste ano (BRASIL, 2007).

## 2.2 TILÁPIA DO NILO

Existem várias espécies de tilápia, cada uma com características próprias de adaptação e reprodução, o que leva os produtores a estabelecerem preferências de

acordo com a região e as condições do ambiente de cultivo. No Brasil introduziu-se inicialmente a Tilápia *rendalli* em açudes do Nordeste, a qual, devido ao baixo desempenho em termos de crescimento, foi substituída gradativamente pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sendo esta última espécie a mais utilizada nos criatórios do país devido ao seu excelente rendimento em ganho de peso e crescimento, além de apresentar carne de qualidade superior com poucas espinhas, o que facilita o trabalho de filetagem, e possui boa aceitação por parte dos consumidores (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008).

Em 1971, foram importadas as espécies Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e a Tilápia de Zanzibar (*Oreochromis honorum*), que apresentavam características essenciais para a piscicultura (PEREIRA et al., 1999) e, posteriormente, foram distribuídas pelo país. Em 1996, para possibilitar o melhoramento genético do plantel, houve, no Brasil, a introdução da linhagem Chitralada, a partir de alevinos doados pelo “Asian Institute of Technology (AIT)”, linhagem esta nativa do Egito e melhorada no Palácio Real de Chitral na Tailândia. Com a introdução desta linhagem, ocorreu o desenvolvimento da técnica de incubação artificial no Brasil, fato que impulsionou a tilapicultura nacional (ZIMMERMANN, 2000). Atualmente, o ciclo de produção de tilápia inicia-se com os alevinos até atingirem em média 30 gramas, sendo cultivados em tanques escavados. Segue-se a fase de engorda, realizada em tanques escavados ou gaiolas, até alcançarem entre 600 gramas a 1 kg e, posteriormente, tem-se início o abate (SEBRAE, 2008).

As Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), originárias da África, pertencem à família *Ciclidae*, gênero *Oreochromis*, espécie *Oreochromis niloticus*. Apresentam escamas grandes, pouco brilhantes, listras nítidas verticais, colorações esbranquiçadas no ventre e prateada no dorso (LUND; FIGUEIRA, 1989). Possui hábito alimentar fitoplanctófago, tendendo a onívoro (BARROS et al., 2002) e, a temperatura da água de cultivo, pode variar de 20 a 30°C, embora possa tolerar temperaturas de aproximadamente 12°C (ZIMMERMANN, 2004).

É a segunda espécie de peixe de água doce de maior importância mundial, fato relacionado à precocidade, desempenho em diferentes regimes de criação. A produção tem crescido acentuadamente, sendo uma das espécies mais indicadas para o cultivo intensivo, devido aos fatos já relatados anteriormente. No Brasil, no



ano de 2004 era descrita como a espécie mais cultivada (ZIMMERMANN; HASPER, 2004) e tornou-se bastante atraente em todo o país por demonstrar boa adaptabilidade em diversas condições ambientais, boa conversão alimentar, alta rusticidade, carne de textura firme (WAGNER et al., 2004), com qualidade superior e sem espinhos, o que facilita o trabalho de filetagem, além de apresentar boa aceitação no mercado (FIGUEIREDO; VALENTE, 2008).

Scorvo Filho (2006) descreve ainda outras características como carne de sabor agradável, pouca susceptibilidade a doenças parasitárias e alta resistência a baixas concentrações de oxigênio, sendo considerada, portanto, “o novo pescado branco”. Este mesmo autor relata ainda que a tilápia propicia um alto nível de controle de qualidade relacionado com seu processamento, pois os intervalos de tempo entre a despesca e o recebimento na indústria são relativamente curtos.

Além disso, possui requisitos típicos dos peixes preferidos pelo mercado consumidor, tais como carne branca de textura firme e sabor delicado, de fácil filetagem, ausência de espinhas em “Y” (CONTE, 2002), apresentando também grande aceitação no mercado internacional (PEREIRA; GAMEIRO, 2007).

Nos Estados Unidos, em um painel formado por 10 degustadores profissionais, o filé de tilápia cultivada ocupou o 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*) que, em síntese, foram semelhantes às características já citadas como carne sem espinho, de cor branca, textura firme, aspecto fibroso, suculento e sabor delicado. Todas estas características permitem que a tilápia (*Oreochromis niloticus*) se ajuste aos mais diferentes tipos de condimentação, formas de preparo e apresentação (KUBITZA, 2000).

Segundo o mesmo autor, o filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), possui em média 75% de água, entre 3,4 a 8,5% de lipídeos, 20% de proteína e 2% de minerais, sendo que a composição pode variar em função da composição da dieta, do manejo alimentar, da idade e do tamanho dos peixes.

## 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, pois apresenta um pH próximo à neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, altos teores de lipídeos insaturados e nutrientes facilmente utilizáveis por microrganismos, rápida ação das enzimas autolíticas e alta atividade metabólica da microbiota (MÁRSICO et al., 2006).

Logo que o peixe é retirado da água, ocorre uma série de alterações bioquímicas que culminam com sua deterioração (VIEIRA, 2004). Essas alterações se iniciam pela ação autolítica de enzimas musculares, que hidrolisam proteínas e gorduras, seguidas pela ação de microrganismos, que provocam alterações químicas e físicas profundas (BRESSAN; PEREZ, 2001). Segundo Sivertsvik et al. (2002), 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.

Com o tempo, as alterações degradativas do pescado vão avançando (OETTERER, 1998), em uma velocidade que depende diretamente da espécie do peixe (fatores endógenos) e da manipulação e estocagem (fatores exógenos) (RODRIGUEZ et al., 2004), como por exemplo, a temperatura, que, quando utilizada de forma adequada, pode retardar ou inibir a velocidade de deterioração do pescado (SIVERTSVIK et al., 2002).

Desta forma, é fundamental que, a partir da captura do pescado, sejam adotadas medidas que objetivem reduzir ao mínimo a ação de tais fatores, com a finalidade de obter-se um produto final em condições adequadas de consumo (ESAIASSEN et al., 2004).

### 2.3.1 Parâmetros analíticos físico-químicos

O peixe, desde a captura até que seja consolidada a deteriora, passa por três fases: pré *rigor mortis*, *rigor mortis* e pós *rigor*. O pré-*rigor* caracteriza-se pela glicólise anaeróbica, onde o glicogênio é utilizado como fonte de energia, dando origem ao ácido lático e, conseqüentemente, provocando a diminuição do pH muscular. Ainda nesta etapa, ocorre degradação do ATP, através da desfosforilação e desaminação, levando à fusão da actina e da miosina (complexo acto-miosina), estabelecendo assim o *rigor mortis*, caracterizado por enrijecimento muscular. Nesta fase, ocorre declínio do valor final do pH do músculo em peixes de carne vermelha para valores em torno de 5,6 a 5,8 e, em peixes de carne branca e pelágicos, o limite inferior chega a 6,0-6,2 (BARROS, 2003).

Segundo Oetterer (2010), o *rigor mortis* do pescado pode durar de 2 a 18 horas, com um pico na 6<sup>o</sup> hora pós captura, porém, sua duração é variável e depende da espécie, cadeia de frio, tipo de captura e higiene do processo. Ao final do *rigor mortis*, ocorre proteólise, desnaturação com conseqüente alteração da textura e, em seguida, inicia-se a degradação, formação de peptídeos e aminoácidos livres, além do desprendimento de metabólitos voláteis, como bases nitrogenadas e a amônia, responsáveis pelo odor característico desta fase, e a ação rápida dos microrganismos, que encontram substrato para sua multiplicação.

Em alguns casos, há um desenvolvimento seletivo de algumas bactérias, principalmente do gênero *Pseudomonas* e *Alteromonas*, capazes de rápida utilização destes compostos, gerando produtos de aroma pronunciado e desagradável. Todavia, a atividade bacteriana também ocorre através de sistemas enzimáticos, decompondo as proteínas, porém, este processo se dá nos estágios finais de deterioração (PEREIRA, 1997).

Podem também ocorrer alterações na fração lipídica do peixe, sendo este processo de grande importância. Em uma primeira etapa, ocorre a formação de peróxidos, moléculas altamente instáveis, que geram os hidroperóxidos que, apesar de não alterarem o sabor, podem levar ao aparecimento de colorações castanhas ou amarelas no tecido. Posteriormente, ocorre a degradação dos hidroperóxidos, dando

origem a aldeídos, cetonas, alcoóis e hidrocarbonetos, que alteram sabor e odor, característico de ranço (HUSS, 1997), além de formarem substâncias potencialmente tóxicas (ARAÚJO, 2008).

O tratamento adequado pelo frio é um método fundamental para prolongar a instalação do *rigor mortis*. Alguns autores (OGAWA; MAIA, 1999; VIEIRA et al., 2003) destacam a importância da refrigeração e do congelamento no incremento do período de validade comercial do pescado, permitindo que produtos frescos estejam disponíveis em locais distantes aos de captura. Para Tancredi et al. (2001), é de suma importância a obediência às normas sanitárias relativas às condições adequadas de temperatura na exposição e armazenamento do pescado como forma de prevenir alterações e riscos ao consumidor. Caso contrário, em condições impróprias de armazenamento e temperatura (acima de 10°C), o pescado deteriora-se rapidamente por autólise, mais especificamente por proteólise, já que esta é sua forma predominante de autólise.

O gelo é o principal meio de conservação do pescado, devendo ser produzido sempre a partir de água potável (ZANINI et al., 2001) e ter boa procedência, principalmente sob o ponto de vista microbiológico, pois embora não seja um meio de cultivo para as bactérias, por falta de nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, poderá funcionar como veículo de contaminação cruzada, comprometendo a qualidade, fato que ocorre com o pescado conservado com gelo produzido a partir de águas contaminadas (BRESSAN; PEREZ, 2001; VIEIRA, 2004).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixes frescos, resfriados e congelados – Portaria 185, classifica o pescado resfriado como produto “devidamente acondicionado em gelo e mantido em temperatura entre - 0,5°C a - 2°C” (BRASIL, 1997).

#### 2.3.1.1 Bases Voláteis Totais, Trimetilamina e amônia

Na deterioração do pescado, são formados, dentre outros metabólitos, compostos nitrogenados, denominados Bases Voláteis Totais (BVT), que incluem a

Trimetilamina (TMA), Dimetilamina (DMA) e amônia (PEREIRA et al., 2001). Contreras-Guzmán (2002) inclui nesse grupo, além dos compostos acima citados, a monometilamina (MMA) e traços de propilamina e salienta que, sob refrigeração, a degradação do OTMA (Óxido de Trimetilamina) gera principalmente TMA e, sob congelamento, DMA e MMA, além do formaldeído (FA) endógeno.

Em relação quantitativa, as maiores alterações químicas associadas à deterioração dizem respeito à produção de Bases Voláteis Totais (BVT), principalmente à Trimetilamina (TMA) e à amônia (NH<sub>3</sub>), entretanto, outras substâncias podem ser encontradas no grupo das bases voláteis, como por exemplo, a dimetilamina, etilamina, monometilamina, dentre outras e, por isso, Sikorski et al. (1994) discutem a análise de BVT como indicadora de possíveis alterações.

O OTMA é uma substância típica de animais e plantas marinhas. Os animais do zooplâncton e peixes herbívoros consomem e armazenam o OTMA em quantidades fisiologicamente necessárias, provenientes de algas marrons, verdes e vermelhas que sintetizam esta substância em quantidades variadas (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

A Trimetilamina origina-se na redução do Óxido de Trimetilamina, através da ação de enzimas bacterianas (desaminases) ou por decomposição enzimática, gerando DMA e formaldeído (FA) (TIMM; JORGENSEN, 2002) ou ainda através de degradação não enzimática (CINTRA et al., 1999).

Quando a redução ocorre por ação bacteriana, os gêneros típicos de ambiente marinho envolvidos no processo são *Alteromonas*, *Photobacterium*, *Vibrio*, *Shewanella putrefaciens* e bactérias da família *Enterobacteriaceae* e *Aeromonas*. A partir desta redução, ocorrem várias alterações físicas, como a redução do potencial redox, aumento do pH e condutância elétrica (HUSS, 1995). Além disso, apesar do OTMA ser inodoro, quando é reduzido à TMA, produz alterações no odor, alterando a qualidade do peixe, perceptível por ser uma amina volátil, com odor forte e desagradável (DYER, 1945).

A amônia resulta principalmente da desaminação oxidativa de componentes protéicos do músculo dos peixes (KAI; MORAIS, 1988), sendo a base volátil mais representativa no início do processo degradativo do pescado (OGAWA; MAIA, 1999). Outra via de produção de amônia no *pós rigor*, é a desaminação bacteriana

de aminoácidos, aumentando significativamente seus níveis após a primeira semana de estocagem (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Para avaliação química do pescado, há métodos, como a Prova de Nessler, que determinam, qualitativamente, a presença de amônia a partir de uma reação colorimétrica. Outra forma de avaliar a presença de amônia é através da avaliação das bases voláteis totais (BRASIL, 1981).

Para avaliar o teor de N-BVT, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Peixe Fresco (BRASIL, 1997) e o RIISPOA (BRASIL, 2008) preconizam limite inferior a 30mg de nitrogênio por 100g de carne para o peixe apto para consumo, porém exclui os elasmobrânquios.

Ogawa e Maia (1999) relatam que, em peixes considerados em excelente estado de frescor, o teor de N-BVT varia de 5 a 10mg N/100g de carne e, em peixes com média conservação, podem atingir entre 15 e 25mg N/100g de carne, sendo que no estágio inicial da deterioração, este teor pode alcançar de 30 a 40mg N/100g, enquanto em estágios mais avançados, estes valores, geralmente, encontram-se acima de 50mg N/100g de amostra.

Huss (1995) menciona que, apesar da análise de N-BVT ser de fácil realização, revela apenas estágios mais avançados da decomposição, não refletindo o modo inicial do processo de deterioração, seja esta de origem autolítica ou bacteriana.

Entretanto, Loughran e Diamond (2000), afirmam que o índice de BVT não se aplica com confiança para medida precisa de frescor, porém, em níveis elevados, seria bem utilizado para indicar atuação de microrganismos. Segundo Cardinal et al. (2004), valores elevados de BVT e TMA são um forte indicador de baixa qualidade de peixes resfriados, estocados por duas semanas sob temperatura de 4°C.

Quando este parâmetro é utilizado para avaliação de pescado de água doce, vários autores questionam o seu uso, pois este tipo de pescado possui quantidades mínimas de óxido de trimetilamina e, conseqüentemente, apresentam baixos valores de N-BVT, mesmo quando o pescado já apresenta características sensoriais não aceitáveis (RODRIGUES, 2008).

Para o músculo de tilápia nilótica eviscerada conservada em gelo, os valores de N-BVT encontrados por Guimarães et al. (1988) foram de 8,80mg N/100g no 1º dia pós despesca e 26,05mg N/100g no 21º dia de estocagem, enquanto que, para

as tilápias inteiras, os valores obtidos foram de 8,80mg N/100g no 1º dia e 28,60mg N/100g no 21º dia de estocagem em gelo. Considerando esses resultados, os autores concluíram que, durante o período de avaliação, não houve variações acentuadas entre os valores obtidos para o pescado eviscerado e inteiro e, apesar dos valores de N-BVT não terem ultrapassado o limite oficial durante este período, tanto as amostras evisceradas, quanto as inteiras apresentaram estado pútrido no 21º dia de estocagem.

Albuquerque et al. (2004) avaliaram parâmetros de qualidade de tilápias abatidas por hipotermia armazenadas em gelo. Concluíram que os valores de N-BVT variaram de 18,38 a 21,40mg N-BVT/100g durante 18 dias de estocagem, sendo que, apesar das alterações sensoriais observadas, todos os valores encontraram-se abaixo do estabelecido pela legislação brasileira, indicando que esta análise é pouco sensível para o pescado de água doce.

Soccol et al. (2005) estudaram filés de tilápias armazenados sob refrigeração ( $1^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e encontraram valores iniciais de 14 mg N-BVT/100g, alcançando no 20º dia, o valor de 18,9 mg N-BVT/100g de amostra. Concluíram que, apesar desta variação durante o período de estocagem, os valores de N-BVT não extrapolaram o limite estabelecido pela legislação nacional.

Rodrigues (2008), avaliando Tilápias do Nilo, observaram que, apesar de um aumento mais evidente a partir do quarto dia de estocagem, tanto os valores de BVT como os de TMA não ultrapassaram o limite estabelecido pela legislação nacional vigente durante o período de 22 dias de armazenamento sob refrigeração ( $0,3^{\circ}\text{C} \pm 0,35^{\circ}\text{C}$ ). Esses valores variaram entre 7,38 a 25,38 N-BVT/100g e 0,13 a 2,99mg de TMA/100g durante esse período.

Teixeira (2009) armazenou filés de tilápia sob refrigeração ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) por 30 dias e, o valor de N-BVT, no primeiro dia de análise, foi de 16,38mg N-BVT/100g de amostra, somente ultrapassando o limite oficial no 25º dia de estocagem (31,5mg N-BVT/100g de amostra).

É importante salientar que a legislação brasileira faz referência a um limite de N-BVT de 30mgN/100g (BRASIL, 1997;BRASIL, 2008), entretanto, conforme descreve Contreras-Guzmán (1994), o conteúdo de OTMA em peixes de água doce é inexistente ou aparece em traços, e, desta forma, não é conveniente confrontar

resultados deste parâmetro com o limite preconizado para peixes marinhos (MÁRSICO, MANO, 2008).

#### 2.3.1.2 pH

As modificações de pH no pescado são ocasionadas pela decomposição das moléculas, pois a atividade enzimática e a ação das bactérias alteram a concentração de íons hidrogênio livre (OGAWA; MAIA, 1999). É importante ressaltar que a produção de amônia por degradação de nucleotídeos e desaminação de aminoácidos é fator fundamental para alterar o valor do pH e caracterizar perda de qualidade.

Imediatamente após a morte, o pescado se encontra na fase de *pré-rigor mortis*, com duração de 1 a 2 horas, onde o glicogênio e o Adenosina Trifosfato (ATP) estão combinados com a miosina, conferindo ao peixe uma carne macia com pH médio de 7,0 (OLIVEIRA, 2004). Após esta fase, tem-se o início de um processo denominado *rigor mortis*, caracterizado pelo progressivo enrijecimento do corpo do peixe devido à redução dos níveis de ATP na musculatura (KUBITZA, 2000). Segundo Barros (2003), é nesta fase que o pescado se encontra no mais alto grau de frescor ou qualidade, devido ao pH ácido que é desfavorável à ação microbiana e controla a ação enzimática. Por isso, deve-se estender ao máximo a fase de *rigor mortis* do pescado.

A duração do *rigor mortis* é variável e depende de fatores como manejo, captura, higiene e temperatura ambiente. Por exemplo, peixes abatidos logo após a captura apresentam o fim do *rigor* após 20 a 65 horas, enquanto peixes submetidos a um descanso antes do abate completam o período de *rigor* após 72 a 96 horas (KUBITZA, 2000).

Segundo dados descritos pelo autor supracitado, os peixes submetidos a um intenso estresse pré-abate entram e saem do estado de *rigor mortis* mais rapidamente, pois nesta condição, ocorre uma redução nas reservas de glicogênio, com menor acúmulo de ácido lático na musculatura. Desta forma, o pH da carne fica próximo à neutralidade, acelerando a ação das enzimas musculares, o



desenvolvimento de bactérias e, conseqüentemente, a degradação da carne. Logo, quanto maior for a duração do período de *rigor mortis*, mais lentas serão as alterações das características da carne e maior será a validade comercial do produto após o processamento.

Oetterer (1999) recomenda que o abate seja feito imediatamente após a captura, evitando que os peixes sofram fadiga e percam reservas energéticas.

Kubitza (2000) afirma que 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 em torno de 4° a 6°C.

Soccol (2002) ainda descreve que o *rigor mortis* pleno em peixes estressados é atingido em torno de 12h a 0°C e, nos não estressados, em torno de 24h, à mesma temperatura.

Em seguida a fase de *rigor*, no momento em que a actomiosina é degradada por enzimas proteolíticas, como a catepsina, instala-se o *rigor post mortem*. Há o amolecimento da carne e, devido à hidrólise protéica, ocorre a formação de peptídeos e aminoácidos livres, que permitem a rápida ação dos microrganismos endógenos e exógenos, dando origem a substâncias nitrogenadas voláteis, ocasionando o aumento gradativo do pH (OLIVEIRA, 2004).

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. Entretanto, as mudanças de pH diferem marcadamente de acordo com o tipo de pescado e com a 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) descrevem que o pH do filé de tilápia fresco é de aproximadamente 6,22. Guimarães et al. (1988) descrevem valores para o pH do músculo de tilápia eviscerada e conservada em gelo, que variam de 6,9 a 7,9 e, para o músculo da tilápia inteira submetida ao mesmo tratamento, os valores de pH demonstraram uma variação de 6,9 a 8,2. A elevação do pH no músculo das tilápias inteiras, foi atribuído à uma provável autólise, seguida de contaminação bacteriana, visto que as amostras ainda continham o tubo digestivo.

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 o 5º e 12º dias de armazenamento, provavelmente devido ao acúmulo de metabólitos produzidos pela hidrólise bacteriana, como, trimetilamina e amônia.

Outro estudo em filés de tilápias avaliadas nos dias 1, 7, 13 e 20 de armazenamento sob refrigeração ( $1^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) foi realizado por Soccol et al. (2005). Estes autores observaram valores de pH entre 6,5 e 6,6 do 1º ao 20º dia de estocagem, respectivamente.

Teixeira (2009), ao avaliar pH em filés de tilápia mantidos sob refrigeração ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) por 30 dias, observou o valor de 6,20 no primeiro dia de armazenamento, valor este que extrapolou o limite estabelecido pela legislação nacional no 10º dia de estocagem (7,00).

#### 2.3.1.3 Ranço oxidativo

Os lipídeos de pescado contêm grande quantidade de ácidos graxos insaturados, que são susceptíveis à oxidação. A reação ocorre por um mecanismo de formação de radicais livres e se caracteriza por um período de indução, em presença de oxigênio, com formação de peróxidos, formando na sequência hidroperóxidos que, ao de degradar produzem os compostos secundários, que conferem alteração das características sensoriais. A velocidade da reação é catalisada pela luz, calor, irradiação e metais pesados, podendo ser retardada pela adição de antioxidantes, que atuam rompendo a cadeia de radicais livres ou decompondo os peróxidos. Em geral, o efeito nocivo dos óleos de pescado oxidados é atribuído aos danos secundários que podem ocorrer no organismo humano, devido à formação de radicais livres a partir da decomposição dos peróxidos, tendo estes a capacidade de destruir as vitaminas A e E (OGAWA; MAIA 1999).

Vale ressaltar que peixes são ricos em ácidos graxos polinsaturados e possuem baixo teor de tocoferol, o que pode ser entendido como uma matriz de

difícil conservação sob refrigeração. O processo de oxidação é significativo a 0°C e rápido entre 0 e -18°C, tendo um pico de produção a -4°C (ARAÚJO, 2008).

Osawa et al. (2005) acrescentam que a oxidação de lipídeos, além de destruir vitaminas lipossolúveis e gerar produtos indesejáveis sob o ponto de vista sensorial, destrói os ácidos graxos essenciais.

Um dos métodos utilizados para determinar a oxidação lipídica é o índice de peróxido, pois são os primeiros compostos a se formarem no processo de oxidação. Os hidroperóxidos são essencialmente inodoros, contudo, estes se decompõem em uma grande variedade de compostos secundários, voláteis e não voláteis. Dentre estes, os aldeídos são os que mais contribuem para a perda da qualidade dos produtos (GRAY et al., 1996). Entretanto, para avaliar efetivamente o ranço oxidativo, o melhor procedimento analítico é o TBARS, ou substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, que é a análise utilizada para quantificar, dentre outras substâncias, o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos polinsaturados, formado durante o processo de rancidez oxidativa. Para pescado e produtos à base de peixe, esta análise é uma das mais adequadas na avaliação do ranço, apesar da reação não ser específica e estar sujeita à ação de interferentes (OSAWA et al., 2005). O malonaldeído é um dialdeído com três átomos de carbono, que reage com o 2-ácido tiobarbitúrico, produzindo coloração vermelha medida espectrofotometricamente (ARAÚJO, 2008).

As vantagens deste método são a sua rapidez, facilidade de execução e baixo custo quando comparado aos métodos mais modernos (ibid), além de apresentar boa reprodutibilidade e uma boa correlação com os resultados das análises sensoriais (SOUZA et al., 2007).

Vale ressaltar que o aldeído malônico e outros produtos da oxidação lipídica têm sido relacionados ao aparecimento de câncer e, por isso, têm recebido a atenção da comunidade científica. Segundo Torres e Okani (1997), valores de TBARS acima de 1,59mg de aldeído malônico/kg de amostra podem causar danos à saúde do consumidor.

Segundo alerta Araújo (2008), a ingestão de produtos contendo hidroperóxidos pode causar irritação na mucosa intestinal, diarreias, degeneração hepática e de órgãos linfóides e até morte celular. Problemas de maior gravidade podem advir da ingestão de produtos secundários, como aterosclerose, diabetes,

anemia hemolítica, inflamações, mutagênese e câncer e ainda acrescenta que o malonaldeído, um dos produtos secundários, poderão reagir com aminas, dando origem a nitrosaminas, compostos reconhecidamente carcinogênicos.

A maioria dos estudos sobre oxidação de pescado é voltada para espécies de peixes gordurosos, que são mais susceptíveis à rancificação. A tilápia é um peixe de carne branca com baixo teor de gordura, entretanto, é susceptível à oxidação das gorduras devido à predominância de ácidos graxos polinsaturados na sua composição (HUANG et al., 1998).

Ke et al. (1984) estudaram valores de TBARS em várias espécies de pescado, e concluíram que valores inferiores a 0,57mg de malonaldeído/kg indicam baixa taxa de rancidez, entre 0,65 e 1,44 os peixes podem ser considerados como levemente rançosos e valores superiores a 1,51, como rançosos e inaceitáveis.

Al-Kahtani et al. (1996) afirmaram que o produto pode ser considerado em bom estado quando apresenta valores abaixo de 3,0 mg de malonaldeído/kg de amostra. Neste mesmo experimento, os pesquisadores estudaram os valores de TBARS, dentre outros parâmetros, em tilápias armazenadas a  $2\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 20 dias. No dia zero, os autores encontraram um valor inferior a 0,2 mg de malonaldeído/Kg de amostra. Nos dias 4, 8, 12 e 16 foram encontrados valores próximos a 0,2 mg de malonaldeído/Kg, semelhante a 0,4 mg de malonaldeído/kg, entre 0,4 e 0,6 mg de malonaldeído/Kg e entre 0,6 e 0,8 mg de malonaldeído/kg, respectivamente. Após o 16º dia de estocagem, onde foi encontrado o valor máximo de TBARS, os pesquisadores observaram um decréscimo destes valores, chegando entre 0,4 e 0,6 mg de malonaldeído/kg no 20º dia de armazenamento. Segundo Gokalp et al. (1983) e Melton (1983), este fato ocorre, provavelmente, devido à 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.

Siqueira (2001), ao estudar tilápia refrigerada, encontrou valores de 0,26 mg de malonaldeído/kg de amostra no primeiro dia e 0,36 mg de aldeído malônico/kg no 20º dia de estocagem. Velloso (2004) encontrou valores de 0,08 a 0,14mg de malonaldeído/kg em amostras de filé de tilápia, no primeiro e 23º dia de estocagem sob refrigeração ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), respectivamente.

Soccol et al. (2005) analisaram o número de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico segundo metodologia descrita por Tarladgis et al. (1960) em filés de tilápias armazenados durante 20 dias sob refrigeração ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ). Os autores observaram 0,04 mg de aldeído malônico/kg no primeiro dia de análise, e 0,98 mg de aldeído malônico/kg no 20º dia de estocagem.

Em um estudo onde foram avaliados filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estocados sob refrigeração ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ) durante 30 dias, o valor do número de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico encontrado no primeiro dia foi de 0,093mg de aldeído malônico/kg, enquanto, no 30º dia de armazenamento, este valor foi de 0,405mg de aldeído malônico/kg de amostra (TEIXEIRA, 2009).

Apesar dos diversos estudos em relação aos TBARS em pescado, ainda não há padrões estabelecidos para esta análise na legislação brasileira.

### **2.3.2 Parâmetros analíticos bacteriológicos**

Netto (1984) afirma que o desenvolvimento bacteriano é um dos principais fatores que levam à deterioração do pescado, sendo que 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 à total decomposição do pescado.

Entretanto, a autólise tem um papel muito importante na deterioração do pescado, apesar de ser consideravelmente menos acentuada do que a degradação bacteriana. Este fato é relevante, tanto ao desenvolvimento de compostos responsáveis pelo “flavour”, quanto pelo início da deterioração bacteriana, pois um peixe vivo e saudável tem integridade de sua superfície corporal, funcionando como uma barreira às bactérias, além de não possuir nutrientes facilmente disponíveis, dificultando o crescimento e a multiplicação de bactérias. Quando a autólise se instala, a superfície do peixe se torna permeável às bactérias, e os açúcares compostos são liberados, constituindo assim um meio nutritivo para o desenvolvimento bacteriano (MUKUNDAN et al., 1986).

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).

A microbiota do pescado é influenciada pela natureza do habitat e variação de temperatura (CARDOSO et al., 2003). 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 são os gêneros *Pseudomonas* e *Shewanella*, principais responsáveis pelas alterações sensoriais do pescado, pois estes microrganismos possuem a capacidade de utilizar aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não protéicas e, por isso, após o término do *rigor mortis*, dão origem a formação de trimetilamina, ésteres, gás sulfídrico (H<sub>2</sub>S), substâncias voláteis redutoras e outros compostos com aroma desagradável e pronunciado, processo este que resume a deterioração de origem bacteriana. Dentre as espécies destes gêneros, as principais envolvidas neste processo são *Pseudomonas fluorescens*, *P. fragi* e *Shewanella putrefaciens*, não somente por apresentarem natureza psicotrófica, mas principalmente, pela capacidade que possuem de utilizar substâncias nitrogenadas não protéicas em seu desenvolvimento (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Segundo Ogawa e Maia (1999) e Sivertsvik et al. (2002), as bactérias psicotróficas (*Alteromonas*, *Flavobacterium*) produzem a enzima óxido de trimetilamina redutase, que reduz o óxido de trimetilamina (OTMA) à 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*. Para Sivertsvik et al. (2002), mesmo na ausência de oxigênio, as 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* e *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 do pescado (OGAWA; MAIA, 1999; SIVERTSVIK et al., 2002).

Segundo Sivertsvik et al., (2002), 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, bem como pelos fatores extrínsecos, como por exemplo, temperatura, higiene na manipulação e atmosfera da embalagem.

Os mesmos autores afirmam que a microbiota do pescado proveniente de águas temperadas é predominantemente aeróbia psicrotrófica ou Gram-negativa anaeróbia facultativa, como por exemplo, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Shewanella putrefaciens* e *Vibrio*, dos quais os dois últimos necessitam de sódio para sua multiplicação e são típicas da microbiota de pescado marinho, enquanto *Aeromonas* são mais encontradas em peixes de água doce. Apesar deste fato, a *Shewanella putrefaciens* tem sido isolada do meio ambiente de pescado de água doce e várias bactérias Gram-positivas tem sido identificadas em pescado 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.

Alguns microrganismos podem ser classificados de acordo com a temperatura ideal de multiplicação, como os mesófilos que tem a temperatura ótima de multiplicação entre 25° e 40°C, mínima entre 5° e 25° e máxima entre 40° e 50°C, e os psicrotróficos que tem 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 psicrotróficos 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; LANDGRAF, 1996).

A maior carga microbiana do pescado encontra-se na pele, brânquias e intestinos, sendo contagens de 10<sup>2</sup> a 10<sup>7</sup> Unidades Formadoras de Colônias (UFC) consideradas normais para a superfície do pescado. Nas brânquias e intestinos as contagens típicas situam-se entre 10<sup>3</sup> e 10<sup>9</sup> 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, a partir de 1 a 2 semanas de estocagem, psicotróficos (*Pseudomonas* e *Shewanella*) dominam a microbiota do pescado. Em temperaturas elevadas, a predominância é da flora mesofílica (*Vibrionaceae*) e, em peixes oriundos de águas poluídas, as bactérias dominantes são aquelas pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (SIVERTSVIK et al., 2002).

Em relação aos microrganismos patogênicos encontrados em pescado proveniente de água contaminada estão incluídos entre os principais os *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* e *Shigella* (SOCCOL; OETTERER, 2003).

Librelato e Shikida (2004) avaliaram a qualidade de filés de tilápia comercializados no município de Toledo (PR), a partir de análises microbiológicas para contagem de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas. A contagem de mesófilos variou de  $0,7 \times 10^2$  a  $1,5 \times 10^4$  UFC/g, enquanto a de psicotróficos variou entre  $1,5 \times 10^4$  a  $2,9 \times 10^5$  UFC/g. Como a legislação brasileira não prevê limites para contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas 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.

Soccol et al. (2005) realizaram a contagem de bactérias psicotróficas, entre outras análises, em filés de tilápias estocadas sob temperatura de  $1^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  por um período de 20 dias e, a contagem excedeu  $10^6$  log/UFC no 13º dia de estocagem.

Em um estudo onde foi avaliada a contagem de bactérias heterotróficas mesófilas em tilápias do Nilo armazenadas sob refrigeração ( $0,3^\circ\text{C} \pm 0,35$ ), Rodrigues (2008) observou que as bactérias mesófilas alcançaram a fase de crescimento exponencial no 22º dia (7,60 log) e no 28º dia de estocagem (5,20 log) nas amostras com pele e sem pele, respectivamente. Além disso, a contagem de bactérias mesófilas estava dentro dos limites recomendados pela ICMSF (1986),  $10^7$  UFC/g para contagem total de aeróbios, até o 18º dia para as amostras com pele e até o 28º dia de estocagem para as amostras sem pele.

Teixeira (2009) avaliou bacteriologicamente filés de tilápia mantidos por 30 dias sob refrigeração ( $1,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$ ) e encontrou valores de 3,6 Log UFC/g no primeiro dia de análise, tanto para bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas como para



bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas. No 10º dia de estocagem, a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) foi de 7,5 Log UFC/g, enquanto a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (CBHAP) foi de 9,6 Log UFC/g, quando as amostras já apresentavam características de deterioração como coloração amarelada, consistência pastosa e discreto muco na superfície.

Vale ressaltar que, a piscicultura apresenta uma grande vantagem que é a possibilidade do monitoramento da qualidade da água, não somente em relação aos microrganismos, mas também no controle de outros contaminantes como elementos traços e pesticidas (SOCCOL; OETTERER, 2003).

### **2.3.3 Parâmetros sensoriais**

Dentre os diversos setores da indústria de produtos de consumo, o setor de alimentos forneceu os primeiros suportes a favor da análise sensorial, recebendo um impulso adicional, durante os anos 40 e 50, de trabalhos e institutos de pesquisa. A importância das propriedades sensoriais na aceitação do alimento tornou-se reconhecida e iniciou-se o desenvolvimento de uma metodologia mais elaborada para medir a aceitação de alimentos e a identificação de preferências. Nos anos 60 e 70, surgiram os movimentos contra a fome, através dos governos de países desenvolvidos e das organizações internacionais, sendo outro impulso para o reconhecimento da importância da tecnologia sensorial (STONE; SIDEL, 1993).

Simultaneamente a estes acontecimentos, a indústria teve como objetivos a obtenção de produtos de boa qualidade, com relação à segurança da saúde do consumidor, assim como produtos com qualidade sensorial apropriada, já que o consumidor aumentava sua exigência em relação à qualidade dos alimentos que adquiria. Além disso, aumentava a competição entre indústrias e intensificavam-se as atividades dos órgãos oficiais de inspeção. Desta forma, com o aprimoramento das técnicas voltadas para medir as propriedades sensoriais dos produtos e o uso de experimentos apropriados, a indústria optou por direcionar sua atenção para a análise sensorial (CHAVES, 1993).

Segundo Freitas (2002), o fenômeno de globalização da economia vem promovendo a diminuição das barreiras alfandegárias, facilitando o acesso do mercado consumidor e, conseqüentemente, tornando-o mais diversificado. Com isso, as grandes indústrias tornaram os programas de análises sensoriais mais ativos, buscando desenvolver produtos inovadores com rapidez e eficiência, baseadas, principalmente, no conhecimento da opinião do consumidor em relação ao alimento (“gostar” ou “desgostar”).

A avaliação sensorial de alimentos é conceituada como uma disciplina científica utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações referentes às características dos alimentos e outros produtos de consumo, da forma como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição, enfatizando a importância da forma de medida e do tratamento dos dados da avaliação sensorial (CHAVES, 2001).

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

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

As primeiras alterações sensoriais nos peixes, que ocorrem durante o período de armazenamento, estão relacionadas com o odor, a aparência e a textura. Entretanto, estas alterações, variam consideravelmente dependendo da espécie e do método de conservação. Geralmente no processo de deterioração, as

modificações sensoriais podem ser divididas em quatro fases. Na fase 1, pescado fresco apresenta-se com odor e sabor próprios e na fase 2, o pescado apresenta-se insípido, ocorrendo perda de odor e sabor. Na fase 3, a textura apresenta-se flácida e surgem os odores anormais, tais como, odor a frutas, mofo, enquanto na fase 4, em estágios mais avançados, predominam os odores desagradáveis (amoniaco e sulfídrico) e sabores ácido, amargo e de ranço. Vale ressaltar que, as fases 1 e 2 são oriundas, principalmente, de reações autolíticas, e as fases 3 e 4 de atividade bacteriana (CHURCH, 1998).

Na avaliação da qualidade de peixes, a avaliação sensorial é considerada satisfatória apresentando vantagens adicionais como rapidez, baixo custo, não destrutiva, além de estar relacionada aos critérios de aceitação adotados pelos consumidores (SOARES et al., 1998). Para Beirão et al. (2000) a avaliação sensorial é a mais frequente na indústria de pescado e derivados, tanto pela necessidade da rapidez do julgamento de lotes de matéria-prima e do produto final, como pela facilidade de execução, sendo uma importante ferramenta na avaliação da qualidade e da validade comercial dos mesmos.

Os métodos sensoriais podem ser classificados em três grupos: os métodos discriminativos, que indicam as diferenças percebidas entre os produtos; os métodos descritivos (testes objetivos), que tem a finalidade de identificar e mensurar a intensidade de uma característica particular ou todas as características do produto; e os métodos afetivos (testes subjetivos), que buscam a opinião do consumidor, como aceitação ou preferência do produto, podendo ser analisados de forma individual ou relacionados a outros produtos (CHAVES; SPROESSER, 1996).

No entanto, um produto que é preferido em relação a outro nem sempre é mais consumido, uma vez que a aceitação depende de fatores como preço, qualidade nutricional, disponibilidade e propaganda, dentre outros. Desta forma, em um teste de preferência, um produto pode ser preferido em relação a outro, mas nenhum dos dois apresentarem boa aceitação (CHAVES; SPROESSER, 2002).

O principal propósito dos testes afetivos é avaliar a resposta pessoal, preferência ou aceitação de um consumidor em potencial, ter uma idéia da aceitação ou avaliar uma característica em especial de um determinado produto. Os testes afetivos dividem-se em Ordenação, Comparação Pareada, Escalas de Atitude e Escala Hedônica (BERGARA-ALMEIDA; SILVA, 2002). Estas duas últimas escalas

são os métodos mais empregados para medida da aceitação de produtos (CHAVES; SPROESSER, 2002).

Entretanto, para mensurar a aceitação de um produto, a escala hedônica de nove pontos é o método mais usual que, desde seu desenvolvimento, tem sido usada extensivamente com uma grande variedade de produtos e com considerável sucesso, visto que a escala é facilmente entendida pelos julgadores com o mínimo de instruções, além dos resultados serem reprodutivos com diferentes grupos de consumidores (STONE; SIDEL, 1993).

A escala hedônica é utilizada para indicar o grau de aceitabilidade ou rejeição do produto, sendo que os melhores resultados são obtidos com escalas balanceadas, tendo um número igual de categorias positivas e negativas de igual tamanho (BERGARA-ALMEIDA; SILVA, 2002).

Na escala hedônica, os provadores expressam a sua aceitação seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente desde “gostar” até “desgostar”. Esta escala é utilizada com o intuito de obter informações sobre a aceitação de produtos pelo consumidor nas fases iniciais de desenvolvimento, além de determinar a aceitação em caso de alteração nas formulações do produto, modificações nos processamentos, nas matérias-primas, embalagens, condições de estocagem e no tempo de conservação dos alimentos (CHAVES; SPROESSER, 1996).

Segundo Simões et al. (1998), adotando-se a escala hedônica de nove pontos, a análise pode ser dividida em etapas 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.

Chaves e Sproesser (2002) relatam ainda que os testes de aceitação necessitam de equipes com um grande número de participantes (acima de 30) que representem a população de consumidores atuais ou potenciais do produto. Além disso, devido à necessidade de um grande número de provadores para maior exatidão destes testes, os mesmos não devem ser utilizados para controle de qualidade na produção de alimentos.

Com o uso da escala hedônica, o teste de aceitação pode medir, com certa segurança, o grau de gostar e a aceitação de um produto. Além disso, é possível

obter uma indicação do produto ou produtos que deverão receber maior atenção, pela possibilidade de se tornarem comercialmente viáveis (GRIZOTTO; MENEZES, 2003).

Vale ressaltar que o grau de aceitabilidade de um alimento por parte dos consumidores é afetado por fatores próprios de cada indivíduo e pelo ambiente ao seu redor, como por exemplo, os hábitos e padrões culturais; os prejuízos a respeito das expectativas sobre um produto; a fidelidade a determinantes marcas, que fazem com que o consumidor não mude de produto; a higiene e o local de consumo; o tipo e o número de acompanhantes. Além disso, o grau de aceitabilidade de um alimento pode ser afetado, dentre outros aspectos, pela sensibilidade individual, muito variável de pessoa a pessoa; pela idade, especialmente crianças menores de 5 anos e idosos, que manifestam preferências particulares (DASSO, 1999) e pelas atitudes anteriores ao processo de análise, como ingerir bebidas pungentes ou fumar. Desta forma, as informações obtidas devem ser interpretadas em conjunto com as análises físico-químicas e microbiológicas (RUIVO, 1988).

Mausse (2000) afirma ainda que, como a qualidade das avaliações sensoriais depende da amostra a ser analisada, do método de avaliação e dos julgadores utilizados, não é aconselhável empregar os testes sensoriais isoladamente para a avaliação da qualidade do produto, sendo necessário o emprego de outros métodos como a determinação de Bases Voláteis Totais (BVT), Trimetilamina (TMA), além de nucleotídeos e seus metabólitos.

## 2.4 EMBALAGEM EM ATMOSFERA MODIFICADA

### 2.4.1 Histórico

Em 1877, Pausteur e Joubert observaram que a bactéria da espécie *Bacillus anthracis* poderia ser inibida por CO<sub>2</sub> (VALLEY, 1928). Na década de 30, 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 no aspecto e na textura (STILES, 1990).

Em 1969, Clark e Lentz descreveram que o enriquecimento da atmosfera com 20% de CO<sub>2</sub> era bastante eficaz para inibir o crescimento da microbiota psicrotrófica Gram-negativa, responsável pela alteração da carne resfriada (CLARK; LENTZ, 1969). Nos anos 70, o uso da embalagem em atmosfera modificada apresentou um grande impulso devido ao avanço das embalagens individuais e a um consumidor mais exigente (WOLFE, 1980). Em 1974, esta tecnologia foi introduzida no comércio varejista de alimentos de origem animal na França (CHURCH, 1994).

Nos anos 80, a mistura de gases começou a ser empregada na conservação de produtos de pastelaria e pratos prontos (BRODY, 1996). A partir desta década, muitas pesquisas foram direcionadas para este método de conservação. Em 2002, em um estudo realizado por Siversvik et al. (2002), comprovou-se que a EAM estendia a validade comercial de vários produtos perecíveis, como carne, aves e pescado.

Atualmente, esta tecnologia vem adquirindo uma popularidade considerável, como um método não térmico de conservação de alimentos (PATSIAS et al., 2008).

#### **2.4.2 Aplicação da EAM em alimentos**

A principal função tecnológica da embalagem é a proteção do alimento, entretanto, outros aspectos relacionados a fatores econômicos e ao consumidor devem ser explorados para o sucesso de uma embalagem no mercado (EILERT, 2005).

Atualmente, a indústria de alimentos vem desenvolvendo e utilizando novos métodos de embalagem, principalmente, com o intuito de aumentar a validade comercial dos produtos, melhorar a aparência e a apresentação dos mesmos, bem como reduzir o uso de conservantes artificiais e minimizar perdas (KOUTSOUMANIS et al., 2008).

A validade comercial dos alimentos perecíveis conservados em atmosfera normal é limitada principalmente pelo efeito do oxigênio atmosférico e pelo

crescimento de microrganismos aeróbios que produzem alterações e promovem mudanças de odor, sabor, cor e textura, conduzindo a perda da qualidade (TEODORO et al., 2007). A Embalagem em Atmosfera Modificada (EAM) é um método que tem o potencial de conter o crescimento microbiano, estendendo assim, a validade comercial dos alimentos (MANO et al., 2000). Desta forma, facilita o transporte de produtos frescos para mercados distantes ou em outros continentes (WILKINSON et al., 2006).

Este processo consiste na embalagem hermética de um alimento, em um material plástico de alta barreira, no qual se substitui a atmosfera ao redor do produto no momento da embalagem por um gás ou mistura otimizada de gases, especialmente preparada para cada tipo de alimento, permitindo controlar melhor, as reações químicas, enzimáticas e microbiológicas, evitando ou minimizando as principais degradações produzidas durante o período de estocagem (TEODORO et al., 2007).

A utilização desta tecnologia possui vantagens adicionais como a diminuição do uso de conservantes químicos, controle integrado de crescimento microbiano e infestação por insetos (TANIWAKI et al., 2009). Apesar desses efeitos positivos, alimentos embalados com atmosfera modificada podem implicar em potencial risco a saúde, visto que este método pode favorecer o crescimento de alguns patógenos de interesse particular, que podem sobreviver a baixas temperaturas e situações de anóxia, devido à eliminação de competidores naturais associado ao prolongamento da validade comercial (GEYSEN et al., 2005a).

Os gases mais utilizados em EAM são oxigênio ( $O_2$ ), nitrogênio ( $N_2$ ) e dióxido de carbono ( $CO_2$ ) (ARASHISAR et al., 2004). A escolha da mistura gasosa usada é influenciada pela microbiota capaz de crescer no produto, sensibilidade do alimento ao  $O_2$  e  $CO_2$  e pela estabilização do pigmento requerido (ROSA, 2004). Segundo Patsias et al. (2008), a combinação apropriada dos gases ( $O_2$ ,  $N_2$  e  $CO_2$ ) no preenchimento das embalagens de alimentos resulta na inibição de microrganismos deteriorantes de alimentos perecíveis, como carne, peixe e produtos relacionados, que se desenvolvem sob condições aeróbicas, e na conservação de sua qualidade sensorial.

O  $O_2$  estabiliza a cor vermelha da carne devido à manutenção da mioglobina em sua forma oxigenada (oximioglobina), sendo utilizado em embalagens com o

intuito de melhorar a aparência dos produtos cárneos (GEYSEN et al., 2005a), todavia, o pescado possui menor quantidade de mioglobina, tornando, portanto, desnecessária a presença do oxigênio em embalagens com atmosfera modificada neste produto (PARRY, 1995).

Segundo Soccol (2002), a mistura de gases empregada depende da porcentagem de lipídeos do pescado, pois na presença de oxigênio podem ocorrer alterações oxidativas neste alimento, induzindo a formação de aldeídos, cetonas, alcoóis. Desta forma, peixes com alta porcentagem de gordura devem ser embalados em meio livre de  $O_2$  para prevenir problemas de rancificação.

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

Entretanto, Arashisar et al. (2004) afirmam que, além da presença de  $O_2$ , possivelmente, ocasionar o aparecimento da rancificação oxidativa, geralmente estimula o crescimento de bactérias aeróbicas e pode inibir o crescimento de bactérias estritamente anaeróbicas.

O nitrogênio é um gás quimicamente inerte, com baixa solubilidade, tanto em meio aquoso, como lipídico. Não exerce função sobre os microrganismos, sendo utilizado em menores concentrações que o  $CO_2$  (SOCCOL; OETTERER, 2003), para evitar o colapso da embalagem e para substituir o  $O_2$  com o objetivo de evitar a rancidez oxidativa da carne, bem como a inibição do crescimento de microrganismos aeróbicos (KOSTAKI et al., 2009).

O  $CO_2$  é solúvel tanto em meio aquoso como lipídico, apresenta propriedades bacteriostáticas e fungistáticas, constituindo o maior fator antimicrobiano da EAM. A ação do  $CO_2$  sobre a microbiota tem sido atribuída a redução de pH, devido a dissolução do  $CO_2$  no meio, as alterações da permeabilidade celular bacteriana e a inibição enzimática, resultando no prolongamento da fase de adaptação e no aumento do tempo de geração dos microrganismos, o que, conseqüentemente, reduz a taxa de crescimento e promove uma mudança na microbiota, levando a predominância de microrganismos de menor potencial de deterioração (SARANTÓPOULOS; SOLER, 1994). Geralmente, em pescado, a absorção do  $CO_2$  reduz o pH de 6,6 para 6,2 (SOCCOL; OETTERER, 2003).



O dióxido de carbono tem um efeito particularmente efetivo contra as bactérias aeróbias Gram-negativas da decomposição, como *Pseudomonas* e *Shewanella*, que provocam alterações de cor e odor em carnes, aves e pescados (CHURCH, 1994). Geralmente, concentrações acima de 5% de CO<sub>2</sub> inibem o crescimento da maior parte das bactérias causadoras de deterioração, especialmente as psicrofílicas que crescem na maioria dos alimentos refrigerados (PARRY, 1995).

Segundo Geysen et al. (2005b), as bactérias deteriorantes podem ser ordenadas em ordem crescente de sensibilidade a elevadas concentrações de CO<sub>2</sub> da seguinte forma: bactérias láticas, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas* spp. Jay (2005) afirma que, as bactérias Gram-negativas são consideradas mais sensíveis a inibição pelo CO<sub>2</sub> do que as Gram-positivas.

A ação bacteriostática do CO<sub>2</sub> é influenciada pela sua concentração, pela carga microbiana inicial do alimento e pela temperatura de armazenamento (SOCCOL; OETTERER, 2003).

A quantidade exata de dióxido de carbono empregada na EAM 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 validade comercial do produto (BRODY, 1996). Todavia, a concentração de CO<sub>2</sub> nas embalagens, apesar de afetar os microrganismos, 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<sub>2</sub> e N<sub>2</sub> e se dissolve na água e na gordura do alimento (SARANTÓPOULOS, 1991). Para pescado, as concentrações mais frequentemente empregadas são de 40 a 60% de CO<sub>2</sub> (BRODY, 1996).

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 à ausência de O<sub>2</sub> na atmosfera, sendo mais significativo em peixes com carne escura; a perda de “drip” é ocasionada pela acidificação do pH e, conseqüentemente, a textura do pescado apresenta-se mais amolecida (STAMMEN et al., 1990). Vale ressaltar que estes mesmos autores, em um estudo realizado com

amostras de pescado embaladas em atmosfera modificada, observaram que os resultados de BVT e TMA permaneceram baixos durante todo o período de estocagem, devido, provavelmente, as alterações da microbiota e a redução de oxigênio na embalagem.

Segundo Church (1998), durante a estocagem, o pescado resfriado perde naturalmente de 1 a 3% de “drip”, enquanto com a embalagem em atmosfera de CO<sub>2</sub> a perda de “drip” aumenta para aproximadamente 14%. Este fenômeno ocorre, segundo os estudos realizados por Pastoriza et al. (1998), devido a aplicação de altas concentrações de CO<sub>2</sub> que, quando dissolvidos na fase aquosa do músculo do pescado embalado em atmosfera modificada, promovem uma acidificação tecidual com conseqüente diminuição da capacidade de retenção de água das proteínas musculares, ocasionando um aumento nas perdas por gotejamento. Outro fator negativo é a descoloração do pescado em embalagens com altas concentrações de CO<sub>2</sub> e baixa de O<sub>2</sub> devido à formação de metamioglobina.

Para Sivertsvik et al. (2002), com a finalidade de diminuir a deterioração bacteriana, deve-se associar a introdução de CO<sub>2</sub> em altas porcentagens e o armazenamento do alimento em baixas temperaturas, pois quanto menor a temperatura, maior é a solubilidade do CO<sub>2</sub> na água e na gordura do alimento. Segundo King et al. (2003), com o aumento da temperatura, a solubilidade de CO<sub>2</sub> diminui e conseqüentemente, o efeito antimicrobiano é menos pronunciado.

Alguns trabalhos demonstram que o aumento da temperatura diminui a solubilidade do CO<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>, porém, que não se multiplicam em baixas temperaturas de armazenamento, tem seu crescimento favorecido devido à temperatura de abuso (ASHIE et al., 1996; SOCCOL; OETTERER, 2003).

Além da manutenção da temperatura, a eficácia da tecnologia de embalagem em atmosfera modificada na extensão da validade comercial do pescado depende de outros fatores, incluindo boa qualidade inicial do produto, higiene adequada durante o abate, escolha correta do equipamento e material de embalagem, além da mistura de gases apropriada e a correta proporção do volume de gás em relação ao

produto (SIVERTSVIK, 2007), sendo a quantidade de CO<sub>2</sub> dissolvido no produto e a temperatura de estocagem os fatores mais críticos (ROTABAKK et al., 2007).

Em relação ao efeito da embalagem em atmosfera modificada na extensão da validade comercial de alimentos, diversos estudos já foram realizados para comprovar a eficácia deste método de conservação em pescado, nas mais variadas concentrações de CO<sub>2</sub>.

Reddy et al. (1994) avaliaram filé de tilápia embalados em diferentes atmosferas (75% CO<sub>2</sub> e 25% N<sub>2</sub>; 50% CO<sub>2</sub> e 50% N<sub>2</sub>; 25% CO<sub>2</sub> e 75% N<sub>2</sub>; 100% ar), armazenados a 4°C. Os filés embalados em aerobiose apresentaram alterações nas características sensoriais, pH acima de 6,6 e contagem de 8 log UFC/g para bactérias aeróbias mesófilas no 9º dia de armazenamento. Com o aumento da concentração de CO<sub>2</sub> na embalagem, a validade comercial do filé de tilápia aumentou para 13, 21 e 30 dias com atmosfera de 25%, 50% e 75%, respectivamente, permanecendo com as características sensoriais aceitáveis. Os valores de pH foram 6,3 tanto para os filés embalados com 25% de CO<sub>2</sub> quanto para aqueles embalados com 50% de CO<sub>2</sub>. Para os filés submetidos à concentração de 75% de CO<sub>2</sub>, o valor de pH encontrado foi 6,0. Os autores relataram que 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.

Um ano mais tarde, Reddy et al. (1995) realizaram um estudo sobre o efeito da atmosfera modificada na validade comercial de filés de tilápia embalados em filmes com alta barreira, armazenados em variadas temperaturas (4º, 8º e 16°C). Os autores observaram validade comercial de 25 dias nos filés de tilápia embalados com 75% CO<sub>2</sub> e 25% N<sub>2</sub> mantidos a 4°C, enquanto os filés estocados em temperaturas de 8º e 16°C, embalados com a mesma concentração de gases, apresentaram validade comercial de 13 dias, todos estes apresentando características sensoriais aceitáveis durante o período de armazenamento. As amostras controle (100% ar), mantidas a 4°C, apresentaram-se próprias para consumo até o 9º dia, porém, as amostras armazenadas em temperaturas de 8º e 16°C apresentaram validade comercial de 3 a 6 dias. Estes mesmos autores sugeriram 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.

Ashie et al. (1996) estudaram trutas embaladas em atmosfera modificada (80% de CO<sub>2</sub> e 20% de N<sub>2</sub>) armazenadas a 1,7°C. Os autores observaram uma validade comercial de 20 e 12 dias para as amostras embaladas com atmosfera e acondicionadas em aerobiose, respectivamente, concluindo, portanto, um efeito positivo da EAM na extensão da validade comercial de trutas.

Sivertsvik et al. (2002) encontraram baixos valores de N-BVT em pescado embalado com atmosfera de CO<sub>2</sub> durante todo o período de estocagem, fato este que deve-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> nas misturas gasosas também interfere na microbiota presente, dificultando assim a produção de amônia. Concluíram, portanto, que a análise de N-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 N-BVT mesmo quando as características sensoriais já não se mostravam aceitáveis. Desta forma, os autores afirmam que a produção de N-BVT não é um bom indicador de deterioração, pois o mecanismo de deterioração do pescado embalado com atmosfera modificada difere do pescado embalado em aerobiose.

Em um estudo, realizado por Soccol (2002), foram avaliadas amostras de filé de tilápia embaladas a vácuo e com atmosfera de 60% CO<sub>2</sub> e 40% O<sub>2</sub>. 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. Concluíram, portanto que, tanto o tratamento como o período de estocagem, não afetaram significativamente os valores de BVT, que apresentaram-se abaixo do estabelecido pela legislação nacional (30 mg de N-BVT/100g).

Masniyom et al. (2002) constataram que os valores de TBARS aumentaram proporcionalmente com a concentração de CO<sub>2</sub> na embalagem, provavelmente,

devido a dissolução do CO<sub>2</sub> no músculo, que ocasiona uma alteração da permeabilidade das membranas celulares interferindo no seu potencial antioxidante.

Em uma pesquisa com filé de salmão congelado e embalado em atmosfera modificada (60% de CO<sub>2</sub>; 40% de N<sub>2</sub>), os autores concluíram que o efeito combinado dos métodos de conservação utilizados aumentou a validade comercial do filé para 24 dias, não tendo sido observadas modificações na textura e na exsudação do produto (SIVERTSVIK et al., 2003).

Soccol et al. (2005) avaliaram o efeito da EAM (60% CO<sub>2</sub> e 40% O<sub>2</sub>), entre outros, na conservação de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), a partir de parâmetros físico-químicos, bacteriológicos e sensoriais. No 20º dia de estocagem sob refrigeração, os valores de BVT encontrados foram de 18,9 mg N-BVT/100g para o grupo controle e 14,93 mg N-BVT/100g para as amostras embaladas em atmosfera modificada. Os valores de pH e TBARS do grupo controle no 20º dia de armazenamento, foram, respectivamente, 6,6 e 0,98 mg de aldeído malônico/100g. Para as amostras embaladas em atmosfera modificada, o valor de pH encontrado, no 20º dia, foi de 6,5 e o valor de TBARS foi de 8,07 mg de aldeído malônico/100g, valor elevado, provavelmente, devido a alta concentração de O<sub>2</sub> na EAM.

Na análise sensorial, realizada a partir de escala hedônica estruturada em nove pontos, foram avaliados os atributos cor, textura, aparência e aroma. Os filés embalados com 60% de CO<sub>2</sub> e 40% de O<sub>2</sub> apresentaram descoloração, além de rancidez detectada pelos julgadores, ocasionada, provavelmente, pela alta concentração de O<sub>2</sub> presente nas amostras embaladas com atmosfera modificada, que corroboraram com a maior quantidade de aldeído malônico encontrada nestas amostras quando comparada a quantidade existente no grupo controle. Na avaliação bacteriológica, estes mesmos autores realizaram a contagem de bactérias psicotróficas. O grupo controle ultrapassou o limite no 13º dia de estocagem, enquanto os filés embalados em atmosfera modificada não alcançaram o mesmo limite durante todo o período de estocagem. Concluíram, portanto, que a EAM proporcionou melhor conservação aos filés de tilápias quando comparado ao grupo controle.

Poli et al. (2006) estudaram as alterações sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas em robalo (*Dicentrarchus labrax*) embalado em atmosfera modificada (40% de CO<sub>2</sub> e 60% de N<sub>2</sub>) e em ar. O filé submetido ao tratamento

(EAM) apresentou-se pálido após 2 dias de armazenamento sob refrigeração, provavelmente, devido a formação do ácido carbônico que desnaturou a mioglobina. Neste mesmo trabalho, os pesquisadores avaliaram a contagem de bactérias aeróbias mesófilas e encontraram altos indícios de desenvolvimento bacteriano nos primeiros dias de estocagem. A contagem alcançou valores acima de Log 6 UFC/g no 5º e 8º dia de armazenamento nos robalos acondicionados em aerobiose e embalados com EAM, respectivamente. Concluíram, portanto, que a mistura gasosa utilizada aumentou a validade comercial dos filés. Ainda neste estudo, os filés de robalo embalados em atmosfera (40% CO<sub>2</sub>; 60% N<sub>2</sub>), armazenados a temperatura de 2±1°C, durante 8 dias, apresentaram valores mais elevados de TBARS (0,425 mg de aldeído malônico/kg) quando comparado a amostra embalada em aerobiose (0,101 mg de aldeído malônico/kg). Desta forma, foi sugerido que o CO<sub>2</sub> poderia funcionar como catalisador para a instalação do ranço oxidativo.

Reale et al. (2008) analisaram filés de robalo embalados com atmosfera de 60% CO<sub>2</sub>; 35% N<sub>2</sub> e 5% O<sub>2</sub>, armazenados a 2±1°C por 10 dias. A partir da contagem de bactérias aeróbias mesófilas, os autores determinaram uma validade 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.

Teixeira (2009), avaliando filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), encontrou melhores resultados para as amostras embaladas com atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>) quando comparados aos achados do grupo controle, em todas as análises físico-químicas e bacteriológicas realizadas que incluíram BVT, TBARS, pH, contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas. Este mesmo autor, na análise sensorial, avaliando os atributos “cor” e “aparência geral”, observou que as amostras embaladas em atmosfera modificada foram as que obtiveram menores escores de aceitação, provavelmente, pela perda de “drip” determinando um filé de coloração mais pálida e textura flácida.

Fernández et al. (2009), em um estudo realizado sobre a extensão da validade comercial de salmão (*Salmo salar*), armazenados a 2±2°C por 28 dias, relataram que as amostras controle de seu experimento apresentaram maior crescimento de bactérias mesófilas quando comparado as amostras embaladas em

atmosfera modificada, o que demonstrou a ação do CO<sub>2</sub> contra a proliferação da microbiota. As amostras com maiores concentrações de CO<sub>2</sub> alcançaram o limite permitido (10<sup>6</sup> UFC/g) somente no 22º dia de estocagem, enquanto aquelas amostras embaladas com menores concentrações de CO<sub>2</sub> alcançaram este mesmo limite no 16º dia de armazenamento, provavelmente, devido à menor quantidade de CO<sub>2</sub> dissolvido. Entretanto, após o 18º dia de estocagem, o crescimento bacteriano aumentou abruptamente e antes do final do período de armazenamento, todas as amostras excederam o limite permitido. Neste mesmo estudo, os autores observaram que os resultados de bactérias psicrófilas das amostras embaladas em atmosfera modificada alcançaram valores próximo de 10<sup>5</sup> UFC/g, após 28 dias de estocagem, cerca de 8 dias a mais que as amostras controle. Relataram ainda que os valores de N-BVT aumentaram conforme o tempo de estocagem, todavia, este aumento foi maior nas amostras embaladas com baixa concentração de CO<sub>2</sub>, o que corroborou com os resultados bacteriológicos. Em relação à análise sensorial, onde foram avaliados odor e maciez, estes mesmos autores estimaram 26 dias de validade comercial, sendo que as amostras embaladas com 25% de CO<sub>2</sub> e 75% de N<sub>2</sub> (menor concentração de CO<sub>2</sub>) foram as primeiras a serem rejeitadas pelos julgadores.

Vale ressaltar que é de grande importância o uso da tecnologia de atmosferas modificadas para a obtenção de um produto mais seguro microbiologicamente e, conseqüentemente, de maior qualidade para o consumidor e mais econômica ao fabricante e ao comerciante de alimentos (MALAVOTA et al., 2006).

## 2.5 IRRADIAÇÃO

### 2.5.1 Histórico

A irradiação de alimentos teve início no século XX, após a descoberta dos raios-X por Roentgen em 1895. No ano seguinte, Becquerel descobriu a radioatividade, porém, os equipamentos utilizados eram primitivos, portanto, não

permitindo o sucesso desse processo em grande escala. A partir de 1914, cientistas franceses e alemães dedicaram-se aos estudos sobre alimentos pasteurizados através da radiação, entretanto, devido ao emprego de altas doses, estes possuíam paladar desagradável. Em 1915, foi descrita a eficácia do raio-X sobre a destruição de cistos de *Trichinella* spp em carne de suínos (STEELE, 1999).

Mais tarde, em 1930, houve o desenvolvimento dos aceleradores de elétrons para o emprego da irradiação até a II Guerra Mundial, quando houve a construção dos reatores nucleares, que desencadearam, simultaneamente, uma grande produção com a disponibilidade de radioisótopos como cobalto-60 e cério-137, mas também uma sucessão de pesquisas sobre os efeitos biológicos da radiação ionizante em organismos vivos na busca por aplicações práticas para a radiação. Após a II Guerra Mundial, surgiu o programa “Átomos da Paz” uma campanha visando abrangência mundial com o intuito de demonstrar os efeitos benéficos da energia atômica e fomentar pesquisas nessa área, sendo o Departamento Médico das Forças Armadas Americanas o pioneiro nessas pesquisas (SATIN, 2002).

Em 1950, as Forças Armadas norte-americanas procuravam uma alternativa para a conservação de alimentos destinados às tropas, que reduzisse a necessidade de refrigeração. Desta forma, a Comissão de Energia Atômica, nos EUA, coordenou um programa com pesquisas aplicadas à irradiação de alimentos, onde foram enfatizados os benefícios de sua utilização. Em 1955, o Departamento Médico do Exército Americano avaliou a segurança dos alimentos comumente irradiados na dieta americana (SPOLAORE et al., 2001). Somente em 1963, após muitas pesquisas, o Food and Drug Administration (FDA) aprovou o processo de irradiação para controle de insetos em trigo e farinha de trigo e, no ano seguinte, em batatas para inibir o brotamento (WHO, 1994).

A partir de 1964, a Organização Mundial de Saúde (OMS), em conjunto com a “Food Agriculture Organization” (FAO) e a “International Atomic Energy Agency” (IAEA) começaram a acompanhar os resultados dos estudos realizados em irradiação de alimentos, através de uma série de reuniões com especialistas de diversos países do mundo (MELLO, 2000). Em 1970, a National Aeronautics and Space Administration (NASA) adotou a irradiação de carnes para o consumo no espaço, prática que é utilizada até os dias atuais. Nos anos 80, a FDA seguiu



aprovando o uso dessa tecnologia no tratamento de especiarias, temperos, frutas frescas, carne suína, substâncias secas e desidratadas (SPOLAORE et al., 2001).

A FAO (Food Agriculture Organization), a OMS (Organização Mundial de Saúde) e a AIEA (Agência Internacional de Energia Atômica) convocaram um Comitê Misto de Especialistas em Irradiação de Alimentos (CMEIA) para avaliar novamente os resultados obtidos nas pesquisas em 1969, 1976 e em 1980. Concluiu-se que a irradiação de alimentos não apresentava riscos toxicológicos, nem problemas de ordem microbiológica ou nutricional, desde que utilizassem doses de radiação até dez kiloGray e, portanto, a técnica foi aprovada em 1980. Em 1983, a técnica foi normatizada, mundialmente, pela Comissão *Codex Alimentarius*, órgão conjunto da FAO e da OMS, representada na época por 122 países (FERREIRA, 1999).

Em 1990, foi aprovado o uso da irradiação em carcaças de frango, estendendo a utilização desta tecnologia para diversos alimentos (SPOLAORE et al., 2001). Ainda neste mesmo ano, os países membros da FAO, OMS e AIEA estabeleceram um novo órgão, o “International Consultative Group on Food Irradiation” (ICGFI), para documentar, atualizar as informações e fornecer subsídios tanto tecnológicos como científicos para a aprovação internacional da irradiação de alimentos. Desde a criação deste grupo, todo o progresso dessa tecnologia tem sido tema de várias conferências internacionais abordando aspectos de saúde coletiva, segurança microbiológica, transformações químicas, instalações e tecnologia de irradiadores, bem como, esclarecimentos aos consumidores e regulamentação de produtos e doses (MIYAGUSKU et al., 2003).

Em setembro de 1997, houve a última reunião, onde ficou estabelecido que a OMS recomendasse a irradiação de alimentos em doses que não comprometessem as características sensoriais dos produtos, o que é bastante utilizado, por muitos países, até os dias de hoje (MELLO, 2000).

No Brasil, apesar das primeiras pesquisas com irradiação de alimentos datarem da década de 50, pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) em Piracicaba, São Paulo (ORNELLAS et al., 2006), o processo foi aprovado apenas em 1973, pelo Decreto nº 72718, sendo, posteriormente, regulamentada a irradiação de vários produtos pelas Portarias nº 9 de 1985 e nº 30 de 1989 (BRASIL, 1973).

Nosso país faz parte do grupo de países que não somente aprovam, mas também comercializam alimentos irradiados. Segundo a legislação nacional existente, a irradiação é aprovada para diversos alimentos como cereais e derivados, frutas, hortaliças, especiarias, carnes de frango e de peixe, objetivando atingir os propósitos que a irradiação de alimentos permite (FERREIRA, 1999).

Em 2005, foi inaugurado o irradiador piloto (semi-comercial) do IPEN, destinado à pesquisa e a testes de viabilidade de irradiação comercial (VITAL, 2005). Todavia, dois irradiadores, construídos exclusivamente para tratamento de alimentos pelas empresas Tech Ion, em Manaus, e Sure Beam, no Rio de Janeiro, encerraram suas atividades após operarem durante cerca de um ano. Em 2008, no Estado de São Paulo, houve a instalação de dois irradiadores comerciais e um semi-comercial que encontram-se em operação, porém, cerca de 2/3 do que irradiam compõem-se de produtos médico-farmacêuticos e descartáveis, que recebem tratamento de esterilização, sendo o restante subdividido em especiarias, frutas desidratadas, ervas medicinais e ração animal, dentre outros (VITAL et al., 2008).

A irradiação, apesar de ainda ser alvo de muitos preconceitos (VITAL et al., 2000), tem se destacado, nos últimos anos, 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 o mundo. Países como Argentina, Bélgica, Chile, Dinamarca, Estados Unidos, França, Hungria, Holanda, Japão, entre outros, utilizam a irradiação para diminuir o risco de doenças alimentares e aumentar a validade comercial de seus alimentos, inclusive uma parcela significativa dos norte-americanos já consome carnes e frutas irradiadas. Além disso, na América do Sul, a Argentina comercializa morangos, cebolas e frangos irradiados para o Mercosul (MIYAGUSKU et al., 2003).

Até o ano de 2006, cerca de 50 países permitiam o uso da radiação gama para o tratamento de no mínimo um alimento ou classes de alimentos e mais de 30 países utilizavam o processo em mercadorias com propósitos comerciais (FARKAS, 2006), estatística que tende a crescer de acordo com os anos.

## 2.5.2 O processo de irradiação de alimentos

Mundialmente, as elevadas perdas de alimentos, equivalente a quase 1/3 da produção, têm preocupado muitos países. Desta forma, os pesquisadores investem nas pesquisas voltadas para o aperfeiçoamento de processos alternativos de conservação de produtos, a fim de encontrar métodos mais sofisticados e rápidos, que mantenham o alimento seguro e prolonguem a validade comercial (VITAL, 2005).

Segundo Satin (2002), o processo é utilizado em alimentos embalados ou a granel, eliminando agentes patogênicos, insetos e parasitas, além de reduzir a carga microbiana, constituída por bactérias e fungos, que contribuem para a deterioração precoce dos alimentos. O mesmo autor acrescenta ainda que, a segurança dessa tecnologia, sob o ponto de vista toxicológico, físico, químico, biológico ou nutricional, tem sido garantida há décadas pela AIEA, FAO, FDA e por mais de 50 outras instituições internacionais de controle alimentar.

A irradiação de alimentos é definida como o “processo físico de tratamento que consiste em submeter o alimento, já embalado ou a granel, a doses controladas de radiação ionizante, com finalidade sanitária, fitossanitária e/ou tecnológica” (BRASIL, 2001). No entanto, somente alimentos em bom estado de conservação, ou seja, em boas condições para o consumo, podem ser irradiados, como prevêem as normas de boas práticas (VITAL, 2002). Vale ressaltar que, todas as formas de contaminação posterior à aplicação do processo de irradiação devem ser prevenidas, visto que este processo não apresenta efeito persistente (FARKAS, 1998). Segundo Satin (2002), assim como ocorre em outros processos de inativação microbiana como, por exemplo, na pasteurização, a irradiação não reverte a deterioração do alimento, fazendo-se necessária a adoção de boas práticas de manuseio em todas as etapas (antes, durante e após a irradiação), visando garantir a eficácia do tratamento e a qualidade higiênica dos alimentos irradiados.

Durante o processo, a radiação excita e ioniza átomos, causando a dissociação de moléculas e, com isso, danifica o DNA cromossômico dos insetos, parasitas, fungos e microrganismos presentes nos alimentos. Entretanto, os radicais livres produzidos pela interação da radiação, principalmente com as moléculas de água no meio, também atacam a carga biológica presente. Desta forma, somam-se os efeitos de ambos os mecanismos, fazendo com que haja uma redução significativa ou mesmo uma total eliminação dos problemas de infestação ou contaminação, conferindo assim aos produtos irradiados uma melhor qualidade higiênica (HERNANDES et al., 2003).

Segundo Freitas (2005), a irradiação apresenta vantagens em relação a outros processos de conservação de alimentos, como: permite que o alimento seja tratado em sua embalagem final; reduz ou elimina o uso de conservantes químicos; age uniformemente em todo o volume do alimento sem prejuízo de suas barreiras naturais de proteção; não produz resíduos tóxicos e não causa perdas nutricionais por elevação de temperatura. Vital e Freire (2008) acrescentam ainda que o processo de irradiação prolonga a validade comercial dos produtos a custo muito baixo, contribuindo, portanto, para reduzir o desperdício ocasionado pelos processos de deterioração, além de suprimir certas etapas de distribuição dos alimentos, diminuindo significativamente os custos finais, minimizando, desta forma, problemas de abastecimento causados pela entressafra, visto que pode viabilizar períodos de estocagem mais longos para os produtos.

Os mesmos autores afirmam que, geralmente, os alimentos são irradiados embalados, já que as embalagens possuem como funções principais de prevenção, a reinfestação microbiana ou por insetos e a exclusão do oxigênio, sendo o plástico (polietileno), vidro e papel os materiais mais utilizados.

Vale ressaltar que nem todo tipo de radiação ionizante pode ser usado em alimentos, como por exemplo, partículas alfa e raios X emitidos em baixa energia, que possuem penetração insuficiente, ou elétrons e raios X de alta energia, que podem tornar o material radioativo (DIEHL, 1995). A irradiação com raios gama traz vantagens sobre os outros métodos usados para destruir bactérias nos alimentos, pois tem um alto conteúdo de energia e grande penetração, sendo esta instantânea, uniforme e profunda, além de grande letalidade, devido sua ação em nível celular (HOBBS; ROBERTS, 1998).

Em relação às fontes de radiação, a RDC nº 21 de 21/01/2001, legislação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), preconiza o uso de fontes que produzam radiações com energia inferior ao limiar da energia capaz de causar reações nucleares, evitando assim a radioatividade no alimento (BRASIL, 2001).

Segundo Hernandez et al. (2003), o alimento irradiado torna-se mais seguro para o consumo, permanecendo saboroso, nutritivo e com boa aparência por um período, em geral, significativamente mais longo que aqueles tratados convencionalmente e, sobretudo, não se torna radioativo, pois não entra em contato com a fonte de radiação.

A legislação supracitada é considerada a mais avançada do mundo, visto que não estabelece quantitativamente limites de doses para o tratamento de alimentos. A irradiação de alimentos é autorizada, desde que seja realizada com fontes de cobalto-60 ou céσιο-137, ou a partir de dispositivos de fonte com energia máxima de 5 MeV para raios X e 10 MeV para feixes de elétrons, exigindo apenas que a dose mínima absorvida seja suficiente para alcançar a finalidade pretendida e a dose máxima seja inferior àquela que comprometeria as propriedades funcionais e/ou os atributos sensoriais do alimento. Além disso, determina que na rotulagem dos alimentos irradiados, além dos dizeres exigidos para os alimentos não irradiados, deva constar no painel principal: “ALIMENTO TRATADO POR PROCESSO DE IRRADIAÇÃO”, com letras de tamanho não inferior a um terço (1/3) da letra de maior tamanho dos outros dizeres da rotulagem, além do símbolo utilizado na embalagem para identificar alimento submetido à radiação (Radura), o qual pode ser observado na Figura 1 (BRASIL, 2001).



**Figura 1.** Radura – Logotipo de identificação internacional para indicar produtos alimentícios tratados por irradiação.

Ambas as fontes de radiação gama emitem raios provenientes de seu decaimento natural, não entram em contato com as amostras irradiadas e, ao final de suas vidas, são convertidos em elementos não radioativos, sendo o cobalto-60 convertido em níquel ( $^{60}\text{Ni}$ ) e o cézio-137 em bário ( $^{137}\text{Ba}$ ) (VITAL et al., 2000). Além disso, ambos são radioisótopos ou isótopos radioativos facilmente obtidos nos reatores nucleares (SATIN, 2002).

O cézio-137 é produzido através do reprocessamento de elementos combustíveis de urânio queimados em reatores nucleares, possui meia vida de 30 anos e cerca de 70% da radiação emitida fica disponível ao processo de irradiação, sendo o restante absorvido pela fonte (VITAL et al., 2000).

As doses utilizadas em alimentos foram determinadas baseando-se no propósito a que se destinam (GERMANO; GERMANO, 2001), sendo classificadas em baixas doses (até 1,0 kGy), doses intermediárias (entre 1,0 e 10,0 kGy) e doses elevadas (iguais ou superiores a 10,0 kGy) (VITAL; FREIRE, 2008).

As baixas doses, segundo os mesmos autores, inibem a ação de enzimas responsáveis por determinados processos fisiológicos, portanto, inibem o brotamento de batatas, cebolas, gengibre, alho, entre outros, e retardam o amadurecimento de algumas frutas, durante a estocagem, como por exemplo, banana, mamão, manga, goiaba e melão, estendendo por vários meses a validade comercial destes produtos. Além disso, as baixas doses também permitem eliminar insetos, ovos e larvas (desinfestação), podendo prolongar em anos a validade comercial de grãos e farináceos, o que é uma alternativa eficaz contra ao perigoso uso da fumigação com brometo de metila. Vale ressaltar que, quando tratadas para fins de desinfestação de pragas e retardo no amadurecimento, algumas frutas podem ser preservadas por um período de 60 a 90 dias sob refrigeração ou por duas semanas a temperatura ambiente. Para Ogawa e Maia (1999), em outra classificação, as baixas doses seriam denominadas de radurização.

As doses intermediárias retardam a deterioração, prolongando o tempo de conservação; eliminam microrganismos patogênicos de produtos, como frutos do mar, frango, ovos, carnes (frescas ou congeladas) e de algumas frutas, como o morango; e melhoram as propriedades tecnológicas de alimentos, como uvas (aumentando a produção de suco) e verduras desidratadas (diminuindo o tempo de

cozção) (GERMANO; GERMANO, 2001). Esta classificação seria equivalente à radicação, que objetiva destruir bactérias patogênicas não formadoras de esporos com dosagem inferior a 10,0 kGy (OGAWA; MAIA, 1999).

Para Vital e Freire (2008) as doses intermediárias promovem a melhoria da qualidade higiênica e a extensão da validade comercial, geralmente, em algumas semanas, de vários produtos como morango e carnes, por diminuição da carga microbiana; amendoim, por inativação de fungos; e produtos vulneráveis à contaminação, por eliminação completa de bactérias patogênicas (*Salmonella* spp., *E. coli* OH:157, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*), entre várias outras bactérias de alta periculosidade. Estes mesmos autores acrescentam ainda que, algumas bebidas podem ser envelhecidas com o uso de doses intermediárias de irradiação, além de alimentos crus prontos para o consumo e minimamente processados constituírem ótimos exemplos de candidatos ao tratamento por irradiação.

As doses elevadas são utilizadas na esterilização de rações especiais para militares, em pacientes imunodeprimidos, no tratamento de rações animais e também na descontaminação de especiarias e condimentos, como por exemplo, a pimenta do reino. Além disso, doses iguais a 31 kGy e 46 kGy podem inativar completamente os esporos das bactérias *Clostridium botulinum* e *Bacillus cereus*, respectivamente (VITAL; FREIRE, 2008). Em outra classificação, as doses elevadas seriam denominadas de radapertização (OGAWA; MAIA, 1999).

Segundo o *Codex Alimentarius* (1995), a dose que ao alimento irá absorver depende de vários fatores, como a atividade da fonte, tempo de permanência do produto no irradiador, densidade do material irradiado, geometria do produto, distância entre o produto e a fonte e medidas para o aumento da eficiência do processo influenciam na dose absorvida pelo produto e na homogeneidade da dose de distribuição.

Para Vital e Freire (2008), a dose absorvida é a quantidade de energia ionizante a qual um material é exposto, sendo definida como a energia absorvida por unidade de massa desse material, logo, dose absorvida = energia absorvida/massa. Vale ressaltar que gray (Gy) ou kilogray (kGy) correspondem à unidade de dose absorvida, sendo um gray igual a um joule por quilograma, de forma que:

$$1 \text{ Gray} = 1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg e } 1 \text{ kGy} = 1.000 \text{ Gy}$$

### **2.5.3 Uso da radiação gama em pescado**

A irradiação é descrita por Santos et al. (2003) como um método de pasteurização a frio, pois a variação de temperatura nos alimentos processados é insignificante, além da energia necessária no tratamento por irradiação ser cerca de 50 vezes menor do que a requerida no tratamento térmico que visa controlar as doenças causadas por microrganismos patogênicos e parasitos, principalmente, em alimentos que são consumidos crus ou parcialmente processados.

Segundo Hernandez et al. (2003), o aquecimento que este processo promove no alimento é muito pequeno, geralmente inferior a 2°C, apresentando, portanto, a vantagem de evitar perdas nutricionais oriundas da exposição a altas temperaturas. Entretanto, segundo Merrit et al. (1985), a temperatura do produto a ser irradiado durante o processo de irradiação influencia na mudança dos efeitos. As baixas temperaturas reduzem as reações entre os radicais livres, diminuindo a produção de compostos voláteis, que afetam a qualidade sensorial do alimento irradiado, portanto, estas alterações são minimizadas em produtos congelados.

As radiações ionizantes correspondem às partículas carregadas ou fótons. Estes possuem energia suficiente para produzir partículas eletricamente carregadas (íons) nos materiais com os quais entram em contato, através da transferência de parte de sua energia, promovendo os elétrons para níveis mais energéticos ou mesmo arrancando-os dos átomos (ionização) (HERNANDES et al., 2003).

Durante o processo de irradiação, ocorre a formação de radicais livres, que podem causar alterações como o ranço, principalmente, em alimentos ricos em gordura, entretanto, estes compostos também são formados em outros processamentos tecnológicos de alimentos. Além disso, em quantidade extremamente reduzida, formam-se subprodutos, denominados radiolíticos, como a glicose, o ácido fórmico e o dióxido de carbono, que estão presentes naturalmente nos alimentos e são inofensivos à saúde (MOLLER, 2004).



Segundo Hernandez et al. (2003), a produção de “íons” ou radicais livres (“produtos radiolíticos”) pode proporcionar a quebra ou dissociação de moléculas, porém, todos esses produtos, com exceção das ciclobutanonas, são quimicamente iguais àqueles que se formam nos processos térmicos convencionais de tratamento (“produtos termolíticos”).

A formação de ciclobutanona pode ocorrer em alimentos ricos em gordura, sendo que esta apresenta propriedades capazes de promover alteração celular ou até mesmo alterações no material genético celular, entretanto, as chances desta substância ser formada em quantidade significativa são baixíssimas, visto que seriam necessárias doses excessivamente elevadas para tal ocorrência (AZEVEDO et al., 2004). Além disso, em estudos mais recentes, já foi possível detectar a presença de 2-aquil-ciclobutanona em alimentos não irradiados (MARCHIONI et al., 2009).

O componente mais sensível à radiólise é a água, em virtude de sua alta concentração nos alimentos. Durante a irradiação, as moléculas de água podem originar radicais livres com caráter oxidante ou redutor e, alguns, podem ser altamente instáveis e reativos, como o radical hidroxil – OH\* (ICGFI, 1999). Outros como H\* (hidrogênio atômico), H<sub>2</sub> (hidrogênio molecular) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio) podem interagir com os aminoácidos livres, sais, vitaminas, peptídeos e carboidratos presentes no alimento (SPINKS; WOODS, 1976).

Todavia, quando a água encontra-se congelada como um sólido cristalino, policristalino ou amorfo, os radicais primários são formados próximos uns dos outros. Com isso, as matrizes aumentam sua viscosidade, tornando-se rígidas, impedindo assim, o processo seguinte de difusão. Por isso, os radicais livres ficam aprisionados nas proximidades de onde são criados, uma vez que a energia livre para o gelo é inferior àquela emitida à água no estado líquido (TAUB; EIBEN, 1968).

Os macronutrientes como as proteínas, carboidratos e gorduras são estáveis ao processo de irradiação (RELA, 2000). Porém, para Jay (2004) e Thomas et al. (1996), os macronutrientes sofrem pequenas alterações quando utilizadas doses de até 50 kGy, pela razão principal de aumento da dose.

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 (SPOLAORE et al., 2001). Os mesmos autores 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 embalar o alimento a vácuo.

Germano e Germano (2001) destacam que em baixas doses (até 1 kGy), a perda nutricional é insignificante, enquanto que em doses intermediárias (entre 1 a 10 kGy), não existem perdas significativas até 3 kGy, sendo recomendado que, acima desse nível, a irradiação seja realizada a baixas temperaturas (- 20°C a - 40°C) e/ou com exclusão de ar.

Em contrapartida, micronutrientes, como vitaminas, são particularmente susceptíveis à ação de radicais livres formados pela radiação e, por isso podem ser significativamente afetados. Entretanto, as perdas vitamínicas ocasionadas pela radiação são compatíveis àquelas acarretadas pelos métodos tradicionais de conservação de alimentos (DIEHL, 1991). Em geral, as vitaminas mais sensíveis ao tratamento pelo calor, B<sub>1</sub>, A, E e C, são também sensíveis à radiação (ADA REPORTS, 1996). Segundo Vital e Freire (2008), as vitaminas mais sensíveis a radiação são as B<sub>1</sub>, E, A, C, K, B<sub>6</sub> e B<sub>2</sub>, enquanto a vitamina D apresenta-se mais estável. Além disso, os sais minerais e elementos traços não são significativamente afetados pela radiação. Os mesmos autores relatam ainda que o emprego de atmosfera modificada e baixas temperaturas podem contribuir para reduzir as perdas nutricionais, além dos sais minerais e elementos traços não serem significativamente afetados pela radiação.

Em relação aos aminoácidos, estes podem sofrer pequenas quebras com liberação de odor sulfuroso desagradável, porém, isto ocorre em níveis bem baixos, não acarretando problemas no valor nutricional (KILCAST, 1994).

Todavia, as principais alterações químicas que podem ocorrer devido à irradiação são a produção de compostos voláteis, que são responsáveis por alterações das características sensoriais, e a formação de radicais livres, que causam a autooxidação dos lipídeos da carne na presença de oxigênio. Este fenômeno torna-se mais importante quando o produto exposto contém ácidos graxos polinsaturados (URBAIN, 1986). Em geral, o efeito nocivo dos óleos de pescado oxidados reflete em danos secundários devido à formação de radicais livres, a partir

da decomposição dos peróxidos, tendo estes a capacidade de destruir as vitaminas A e E (OGAWA; MAIA, 1999).

Osawa et al. (2005) acrescenta ainda que a oxidação de lipídeos, além de gerar produtos indesejáveis sob o ponto de vista sensorial, destrói vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos essenciais.

Vital e Freire (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 também no armazenamento.

Para Lee et al. (1996), altas temperaturas durante o processo de irradiação e doses de até 10kGy têm ocasionado aumento, tanto no valor de TBARS (número de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), como no valor de peróxido de alguns alimentos.

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

Borsa et al. (2004) relatam que as mudanças químicas produzidas pela irradiação podem causar efeitos na cor e aroma dos alimentos, sendo que a extensão desses efeitos depende, principalmente, do tipo de alimento irradiado, da temperatura durante o processo, da dose e do tempo de irradiação.

Para 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 de temperatura.

Miyagusku et al. (2003) afirmam que as alterações sensoriais são as mais comuns, principalmente após o uso de doses elevadas, sendo alguns alimentos mais susceptíveis que outros. Segundo Diehl (1995), a adoção da dose adequada em relação ao alimento que será tratado é um dos fatores mais relevantes para evitar ou minimizar a formação de compostos que possam vir a depreciar a

qualidade do produto, como por exemplo, os hidrocarbonetos, oriundos dos lipídeos, e os compostos aromáticos e de enxofre, formados pela ação da radiação em proteínas.

Segundo Millar et al. (2000), o sabor, cor e aroma podem estar alterados nos alimentos irradiados, fenômeno este que limita a comercialização da carne irradiada, visto que alterações de cor são decisivas no ato de compra do produto. Entretanto, para Diehl (1995), outros processos de conservação podem ocasionar alterações sensoriais nos alimentos.

Mesmo assim, vários trabalhos científicos ignoram possíveis alterações sensoriais produzidas pelo processo de irradiação, enfocando somente análises físico-químicas e microbiológicas de alimentos irradiados, o que, segundo Freita (2005) pode levar à adoção de doses impróprias, prejudicando a aceitação do produto irradiado pelo consumidor.

Para Ordoñez (2005), quando devidamente realizado, usando doses pré-determinadas e em condições controladas, o processo de irradiação é responsável pelo aumento da validade comercial de diversos produtos, sem ocasionar efeitos nocivos, tornando-os viáveis economicamente e mantendo-os com suas características sensoriais aceitáveis.

A dose é um dos fatores mais relevantes, pois cada alimento tem uma sensibilidade em relação ao processo de irradiação, por isso, cada um deles tem uma dose limite a ser aplicada, acima da qual, poderiam acarretar alterações sensoriais que inviabilizariam o processo. As carnes e os peixes são considerados mais sensíveis às alterações, portanto, para minimizá-las, devem ser submetidos à irradiação em baixas temperaturas, em atmosfera modificada, resfriados ou congelados. Alimentos ricos em lipídeos, por exemplo, devem ser irradiados em baixas doses, preferencialmente, a vácuo ou mantendo-se a temperatura de congelamento durante o processo e armazenamento (DIEHL, 1995).

Em pescado, a irradiação pode minimizar os problemas gerados por autooxidações enzimáticas, bem como eliminar microrganismos patogênicos, aumentando assim o tempo de estocagem do produto. É importante salientar ainda que, como o pescado possui altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados na pele e nos tecidos musculares, doses maiores que 3 kGy desencadeiam processos de oxidação lipídica (GHADI; VENUGOPAL, 1991), principalmente na

pele, devido à grande quantidade de fosfolípídeos. Todavia, os processos oxidativos são minimizados quando são utilizadas baixas doses e ausência de oxigênio (PIGOTT; TUCKER, 1990).

Segundo Ahmed et al. (1997), 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.

Em relação ao efeito da radiação ionizante sobre os microrganismos, este se dá principalmente no DNA cromossômico, já que lesa os ácidos nucléicos das bactérias contaminantes, levando à morte celular (SANTOS et al., 2003). Em geral, quanto maior o número de microrganismos maior será a dose necessária à destruição (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Entretanto, a eliminação das células microbianas depende tanto da dose empregada, como da sensibilidade das bactérias presentes no alimento (HUTZIER, 1997), que é medida através da dose  $D_{10}$ , dose requerida para matar 90% da população (OLSON, 1998).

A sobrevivência de células microbianas ao processamento com radiação ionizante depende de alguns fatores que incluem natureza e extensão do dano direto produzido ao DNA. Além disso, a resistência das células à radiação também depende de condições ambientais extracelulares como o pH, a temperatura, a presença ou ausência de oxigênio e a composição química do alimento no qual a célula está presente (DIEHL, 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 1,5kGy e 7kGy. Todavia, para a redução da microbiota, os alimentos congelados exigem doses maiores do que resfriados, como por exemplo, a carne de frango resfriada que requer tratamento com 3kGy, enquanto para a carne congelada recomenda-se a dose de 7kGy (VITAL; FREIRE, 2008).

A radiação é ativa sobre os microrganismos em ordem crescente de resistência, onde geralmente as bactérias Gram-negativas são mais sensíveis à radiação que as Gram-positivas e os esporos ainda mais resistentes, pois são mais primitivos e apresentam menor teor de água, praticamente não sofrendo os efeitos do processo (DIEHL, 1995; OLSON, 1998). As mais sensíveis já são destruídas a 2

kGy, enquanto para os mais resistentes são exigidas doses maiores, de 50 kGy, para serem inativadas (HUTZIER, 1997).

A sensibilidade de um organismo à radiação ionizante está diretamente relacionada com o peso molecular do DNA, porém a energia considerada suficiente para inativar os microrganismos é, geralmente, insuficiente para causar alterações significativas no alimento (DIEHL, 1995). Por isso, segundo Urbain (1986), a irradiação pode ser considerada como seletiva.

Segundo Jay (1994), uma das espécies extraordinariamente resistentes à radiação é o *Enterococcus faecium*, sendo sua resistência aumentada na ausência de oxigênio.

A resistência de algumas células à irradiação e a outros tratamentos de conservação é dada pela capacidade de auto-regeneração de cada célula, isto é, reparação dos danos sofridos, nos casos em que a radiação não causa a destruição celular, apenas altera seu conteúdo (DIEHL, 1995).

Desta forma, mesmo com o efeito danoso sobre o DNA microbiano, algumas bactérias podem resistir e encontrar condições apropriadas para reparar o dano e se multiplicarem, principalmente entre 14°C e 21°C, considerada a faixa ótima de temperatura para que isto ocorra. Por isso, para minimizar alterações de qualidade da carne irradiada, como alterações de cor, oxidação lipídica e contaminação microbiana devem ser administradas baixas doses aliadas ao controle de temperatura, evitando oscilações (LUCHE et al., 1998).

Num estudo realizado por Farkas (1998), a *Salmonella* sobreviveu em carne irradiada com doses de radiação entre 1 e 3 kGy, entretanto, foi eliminada rapidamente quando submetidas a temperatura de 0 a 2°C. Por isso, foram sugeridas combinações de radiação com tratamentos pelo frio, com embalagem de atmosfera modificada ou com tratamentos térmicos.

Segundo Poole et al. (1994) doses entre 0,75 e 2,5 kGy podem estender o tempo de estocagem de 2 para 6 semanas sob temperaturas de 0 a 5°C.

Uma pesquisa, realizada por Giroux e Lacroix (1998), relatou que a irradiação promove alterações de desaminação, descarboxilação, rompimento de ligações peptídicas e oxidação de grupos sulfidrílicos, sendo tais alterações catalisadas por radicais livres formados pela hidrólise. Alterações nas ligações sulfidrílicas, por exemplo, podem acarretar mudança na coloração da carne irradiada, já que tais

ligações ligam o radical heme à molécula de hemoglobina. Como a conformação desta molécula é passível de alteração, acredita-se que o processo de irradiação seja uma das possíveis causas da transformação do radical heme. Isso está de acordo com um estudo feito por Nam e Ahn (2003), no qual, foi constatado que a radiação em carnes induz uma maior produção de substâncias. Dentre estas, o CO (monóxido de carbono) se destacou, principalmente em condições aeróbias, e foi o provável ligante do radical heme, responsável pela coloração mais vermelha (CO-mioglobina) da carne irradiada, porém, não deve ser o único pigmento formado neste processo.

Segundo Siqueira (2001), a utilização das radiações associada às técnicas complementares de refrigeração em alimentos minimamente processados derivados de tilápia, prolonga a validade 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 1,0; 2,2; 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. Dentre os valores encontrados de TBARS, o da amostra controle foi de 0,26 mg de aldeído malônico/kg, no 1º dia, e 0,36 mg de aldeído malônico/kg no 20º dia de estocagem. As amostras irradiadas a 1,0 kGy apresentaram resultados de 0,25 mg de aldeído malônico/kg, no 1º dia, e 0,38 mg de aldeído malônico/kg no 20º dia. Os filés irradiados a 2,2 e 5 kGy, no 1º e 20º dia de armazenamento, apresentaram valores de 0,34 e 0,83 mg de malonaldeído/Kg e 0,63 e 1,36 mg de malonaldeído/kg, respectivamente.

Os valores de pH encontrados foram 6,5, para as amostras irradiadas com 1,0kGy, 6,6, para as irradiadas com 2,2kGy e 7,7, para as amostras não irradiadas até o 20º dia de refrigeração, provavelmente devido ao desenvolvimento de compostos nitrogenados, decorrentes da decomposição química e microbiológica. Os resultados das amostras irradiadas com 5,0kGy foram em torno de 6,6 nos dias 20 e 30 de armazenamento. Em relação aos valores de N-BVT, observou uma grande diferença entre os peixes irradiados e não irradiados a partir do 20º dia de estocagem, visto que as amostras não irradiadas já apresentavam alterações

sensoriais marcantes neste período, enquanto as irradiadas não apresentavam tais características. Os teores encontrados para as amostras não irradiadas estavam entre 27,40; 98,23 e 258,56mg N-BVT/100g nos dias 1, 20 e 30 sob refrigeração. Em contrapartida, os valores das amostras irradiadas, nestes mesmos períodos, foram de 27,66, 30,07, 86,83mg N-BVT/100g; 24,80, 43,0, 44,73mg N-BVT/100g e 16,20, 11,57, 10,17mg N-BVT/100g nas amostras irradiadas com 1,0, 2,2 e 5,0kGy, respectivamente (ibid).

Valores observados em amostras de filés de tilápia irradiadas com doses de 1,0, 2,2 e 5,0 kGy, mostraram-se desejáveis 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 estocados por 20 dias à temperatura de  $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Os valores de N-BVT rapidamente aumentaram na amostra controle (não irradiada) atingindo 30 mg N-BVT/100g aos 12 dias de armazenamento. Nas amostras irradiadas os valores de N-BVT foram reduzidos nos primeiros 16 dias de estocagem e atingiram o limite de 30 mg N-BVT/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 à 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 à 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).



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 à amostra controle, ou seja, 20 dias.

Várias espécies de peixes sub-tropicais foram irradiados nas doses de 1, 3 e 5 kGy, armazenados a  $2^{\circ}\text{C}$  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 a dose de 1 kGy aumentou a validade comercial de várias espécies de pescado sem alterar a qualidade sensorial (POOLE et al., 1994).

Ghadi e Venupogal (1991) concluíram que 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  $2^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  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 de malonaldeído/Kg no 10º dia de armazenamento.

Teixeira (2009) avaliou os parâmetros físicos químicos, bacteriológicos e sensoriais de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e concluiu 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). Com relação aos resultados das

análises de N-BVT e pH, este mesmo autor observou valores menores para as amostras irradiadas quando comparadas àquelas não irradiadas no 30º dia de armazenamento. Os resultados da análise de N-BVT e pH dos filés não irradiados foram de 31,5 mg N-BVT/100g de amostra e 7,45, respectivamente. Em contrapartida, o autor encontrou valores de N-BVT de 20,4 mg N-BVT/100g e 18,30 mg N-BVT/100g, e valores de pH de 6,52 e 6,34 no 30º dia de estocagem dos filés irradiados com 1,5 e 3,0 kGy, respectivamente.

Este mesmo autor realizou análises bacteriológicas que incluíram a contagem bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas. As amostras irradiadas apresentaram resultados bem melhores quando comparadas àquelas não irradiadas durante todo o período de estocagem, indicando, portanto, uma maior validade comercial para as amostras que foram submetidas à radiação ionizante. Em relação à análise sensorial, realizada a partir do teste de aceitação em escala hedônica, durante 20 dias, ambas as doses de irradiação utilizadas (1,5 kGy e 3,0 kGy), não interferiram nos atributos “aparência geral” e “cor” no primeiro dia de análise nos filés de tilápia. De acordo com o tempo de estocagem, as maiores doses de irradiação tenderam a aumentar a aceitação do atributo “cor” das amostras.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 MATERIAL**

Todo o material utilizado neste estudo será listado a seguir, sendo dividido em material de consumo, vidrarias e equipamentos.

##### **3.1.1 Equipamentos**

- Balança analítica modelo AM 550
- Refrigerador marca Brastemp
- Banho Maria Fanem
- Estufa marca Fanen® modelo 315 SE
- Liquidificador Osterizer
- Peagômetro Digimed
- Destilador Quimis
- Placa aquecedora

- Espectrofotômetro Micronal B280
- Agitador – aquecedor Fanem 258
- Compressor Fanem
- Fogão Brastemp
- Stomacher Seward
- Termoseladora Tecmaq (modelo AP 450)

### **3.1.2 Material de consumo e vidrarias**

- Papel de filtro Whatman nº 5
- Bastões de vidro
- Provetas (25, 50, 100 e 250mL)
- Béqueres (50, 150, 250mL)
- Erlemeyer (50mL e 6L)
- Balão volumétrico (50, 100 e 500mL)
- Frascos Kitasato
- Funil de Buchner
- Placas de microdifusão de Conway com tampa de vidro
- Pipetas graduadas (2, 5, 10 e 20mL)
- Gral e pistilo
- Pinças de metal
- Estante de madeira
- Espátula
- Algodão
- Barbante
- Bandeja de aço inox
- Álcool a 70%
- Tesoura
- Recipientes isotérmicos
- Gelo

- Bandejas de poliestireno
- Filme PVC
- Vaselina sólida
- Buretas (5 e 25mL)
- Erlenmeyer de 250mL com rolha esmerilhada
- Cápsulas de porcelana
- Água destilada
- Pinças de madeira
- Tubos de ensaio rosqueados
- Tubos de hidrólise para destilação
- Ponteira KARTELL (capacidade 200 – 1000 µl)
- Micropipeta automática ajustável DIGIPET (100 – 1000 µl)
- Eppendorf KARTELL (capacidade 1,5 mL)
- Placas descartáveis esterilizadas 90 x 15 sem divisória
- Sacos esterilizados (capacidade de 400 mL)
- Bico de Bunsen

### 3.1.2.1 Reagentes e soluções preparadas

- Ácido bórico P.A VETEC
- Ácido clorídrico 0,1 mol/litro MERCK
- Ácido tricloroacético a 10% P.A MERCK
- Carbonato de potássio P.A MERCK
- Reagente de Nessler MERCK
- Indicador misto de Tashiro (preparado pela adição de solução alcoólica de vermelho de metila 0,2% e solução aquosa de azul de metileno a 0,1% na elaboração do ácido bórico e indicador de Tashiro)
- Formol a 35%
- Solução de ácido tiobarbitúrico
- Ácido acético a 90%

- Solução de ácido clorídrico 4N
- Meio de cultura Agar Padrão para Contagem
- Solução salina peptonada a 0,1%

## 3.2 MÉTODOS

Os métodos serão abordados em sua sequência de elaboração, tendo como ponto de partida a obtenção das amostras, o processamento e os procedimentos analíticos realizados.

### 3.2.1 Obtenção e processamento das amostras

Para realização deste estudo, foram obtidos 120 filés de tilápia imediatamente após o abate por hipotermia (Figura 2) e filetagem (Figura 3), na Empresa Peixe Sul (Figura 4), localizada em Piraí, Rio de Janeiro. Os filés obtidos (Figura 5) foram transportados em caixas isotérmicas de poliestireno expandido com gelo reciclável ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) (Figura 6) até os laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, localizada em Niterói, Rio de Janeiro.



**Figura 2:** Insensibilização de tilápias (*O. niloticus*) por hipotermia realizada na Empresa Peixe Sul, localizada em Piraí, Rio de Janeiro.



**Figura 3:** Filetagem dos filés de tilápia (*O. niloticus*) realizada na Empresa Peixe Sul, Piraí, Rio de Janeiro.



**Figura 4:** Empresa Peixe Sul localizada em Piraí, Rio de Janeiro.



**Figura 5:** Filés de tilápia (*O. niloticus*) obtidos na Empresa Peixe Sul, Piraí, Rio de Janeiro.





**Figura 6:** Caixas isotérmicas de poliestireno expandido contendo filés de tilápia (*O. niloticus*) e gelo ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

As amostras foram separadas em quatro grupos distintos, de acordo com os tratamentos previstos no delineamento: T1 (embalagem em aerobiose - controle), T2 (embalagem em atmosfera modificada com 40%  $\text{CO}_2$  e 60%  $\text{N}_2$ ), T3 (embalagem em aerobiose e irradiação com dose de 1,5kGy) e T4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação, utilizando as mesmas condições de T2 e T3).

Em seguida, as amostras controle e aquelas que, posteriormente, seriam irradiadas, foram acondicionadas em bandejas de poliestireno expandido, previamente higienizadas com álcool a 70%, envolvidas com filme PVC. O restante das amostras foi acondicionado em embalagens plásticas *Cryovac* BBL4 e, a seguir, foi utilizada a termoseladora marca Tecmaq, modelo AP 450 (Figura 5), para embalar parte das amostras em atmosfera modificada (40/60  $\text{CO}_2/\text{N}_2$ ). Os filés submetidos ao tratamento T3 (amostras apenas irradiadas) e T4 (amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas) foram encaminhados, em caixas isotérmicas de poliestireno expandido com gelo seco, até o Centro Tecnológico do Exército (CTEx), localizado em Guaratiba/RJ (Figura 6), onde foram irradiados com a dose de 1,5 kGy, com fonte de césio-137.



**Figura 7:** Máquina termoseladora marca Tecmaq Modelo AP 450 da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro.



**Figura 8:** Irradiador do Centro Tecnológico do Exército com fonte de céσιο-137, localizado em Guaratiba, Rio de Janeiro.

Vale ressaltar que, tanto a concentração de gases, quanto a dose de irradiação foram baseadas em trabalho anterior (TEIXEIRA, 2009). Posteriormente, as amostras foram transportadas, em caixas isotérmicas de poliestireno expandido

com gelo seco, para o Laboratório de Controle Físico-Químico do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, onde foram armazenadas com gelo reciclável ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). A seguir, deu-se início às análises físico-químicas, bacteriológicas e sensorial nos respectivos Laboratórios.

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

A seguir, serão descritas todas as análises físico-químicas realizadas no presente estudo, cuja periodicidade foi estabelecida com base na evolução dos resultados de cada procedimento.

As amostras controle (tratamento 1) foram analisadas nos dias 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7. Os filés, tanto os submetidos ao tratamento 2 (embalados em atmosfera modificada), quanto aqueles do tratamento 3 (irradiados e embalados em aerobiose) foram analisados nos dias 0, 2, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 e 18, enquanto as amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4) foram analisadas nos dias 0, 2, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20.

#### **3.2.2.1 Bases Voláteis Totais**

Para análise das bases voláteis totais (Figura 9), utilizou-se o método de microdifusão de Conway, segundo metodologia descrita no manual do LANARA (BRASIL, 1981). Esta determinação foi realizada em duplicata. Após realização das análises, usou-se a fórmula a seguir para realizar o cálculo do valor das bases voláteis totais.

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

Onde: V = mL de ácido clorídrico gastos na titulação;

N = normalidade da solução de ácido clorídrico;

T = volume de solução de ácido tricloroacético usado;

U = umidade da amostra;

V<sub>a</sub> = volume da alíquota analisada;

P = peso da amostra utilizada no preparo do extrato



**Figura 9:** Etapa de titulação da análise de Bases Voláteis Totais (BVT) (lado esquerdo) e ponto de viragem do indicador de Tashiro (lado direito).

### 3.2.2.2 Trimetilamina

Para análise de trimetilamina, utilizou-se o método de microdifusão de Conway, segundo metodologia descrita no manual do LANARA (BRASIL, 1981). Esta determinação foi realizada em duplicata.

O procedimento obedeceu ao mesmo protocolo analítico utilizado para a análise de BVT, com adição de 20 gotas de formol a 35% no extrato. Desta forma, a amônia reage com o formol gerando a hexametilenotetramina e somente a

trimetilamina é difundida. Posteriormente, usou-se a fórmula a seguir para realizar o cálculo do valor de trimetilamina presente nas amostras.

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

Onde: V = mL de ácido clorídrico gastos na titulação;

N = normalidade da solução de ácido clorídrico;

T = volume de solução de ácido tricloroacético usado;

U = umidade da amostra;

V<sub>a</sub> = volume da alíquota analisada;

P = peso da amostra utilizada no preparo do extrato

### 3.2.2.3 pH

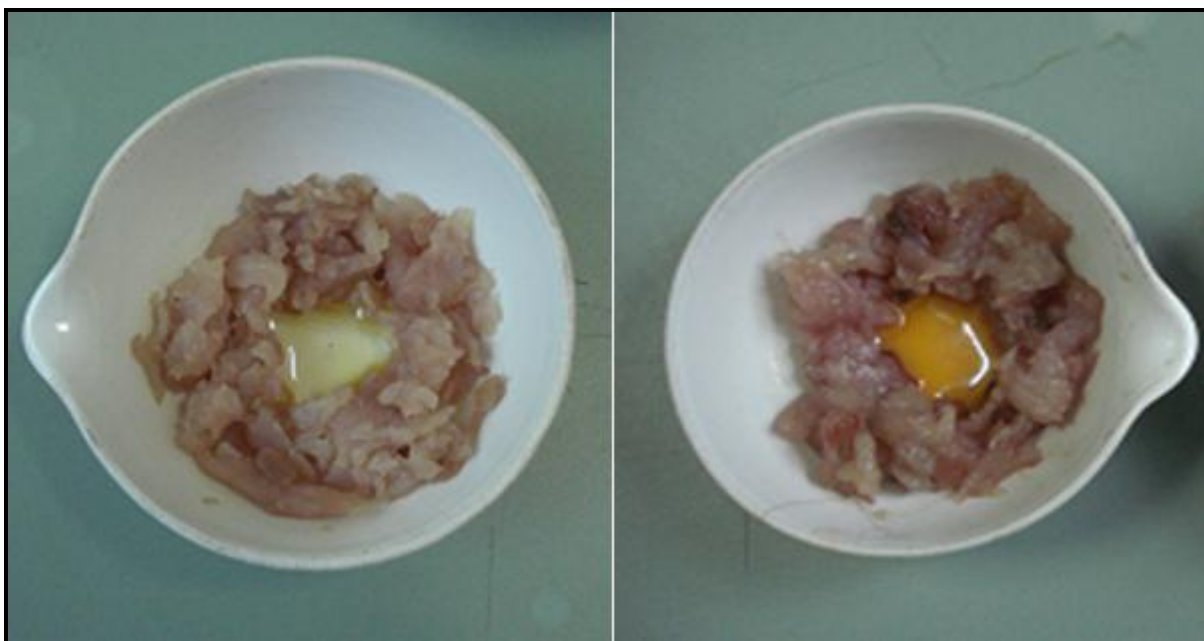
Foi realizado pelo método potenciométrico (Figura 10), que se baseia na determinação instrumental do pH (BRASIL, 1981).



**Figura 10:** Mensuração do pH em filés de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

#### 3.2.2.4 Amônia

A avaliação de amônia foi realizada pela Prova de Nessler, descrita no manual do LANARA (BRASIL, 1981), com algumas modificações descritas por Bartel (1971). Este procedimento analítico baseia-se na reação do tetraiodomercurato de potássio com a amônia, produzida na matriz alimentar pela desaminação dos aminoácidos e desfosforilação de nucleotídeos, gerando, em caso de positividade, um complexo colorimétrico de cor amarelo-alaranjado (Figura 11).



**Figura 11:** Reação negativa (lado esquerdo) e positiva (lado direito) da prova de Nessler, realizada em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

#### 3.2.2.5 Ranço oxidativo

A análise foi realizada seguindo as especificações preconizadas pelo LANARA (BRASIL, 1981). Algumas modificações foram aplicadas ao método, seguindo as propostas descritas por Tarladgis et al. (1960). 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 (Figura 12). A leitura da absorvância da amostra foi realizada em espectrofotômetro a 538 nm, previamente calibrado com o branco. Para encontrar o nº de TBA após a realização da análise, multiplicou-se o valor encontrado na leitura da absorvância por 7,8, convertendo-se o resultado para mg de malonaldeído por kg ou 1000g do produto analisado.



**Figura 12:** Reação do ácido 2-tiobarbitúrico com 1 mol de aldeído malônico ou de seus tautômeros originados na oxidação dos lipídeos, resultando em composto de coloração vermelha.

### 3.2.3 Análises bacteriológicas

A seguir, serão descritas as análises bacteriológicas realizadas no presente estudo, cuja periodicidade foi estabelecida com base na evolução dos resultados de cada procedimento.

As amostras controle (tratamento 1) foram analisadas nos dias 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7. Os filés, tanto os submetidos ao tratamento 2 (embalados em atmosfera modificada), quanto aqueles provenientes do tratamento 3 (irradiados e embalados em aerobiose) foram analisados nos dias 0, 2, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 e 18, enquanto as amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4) foram analisadas nos dias 0, 2, 7, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20.

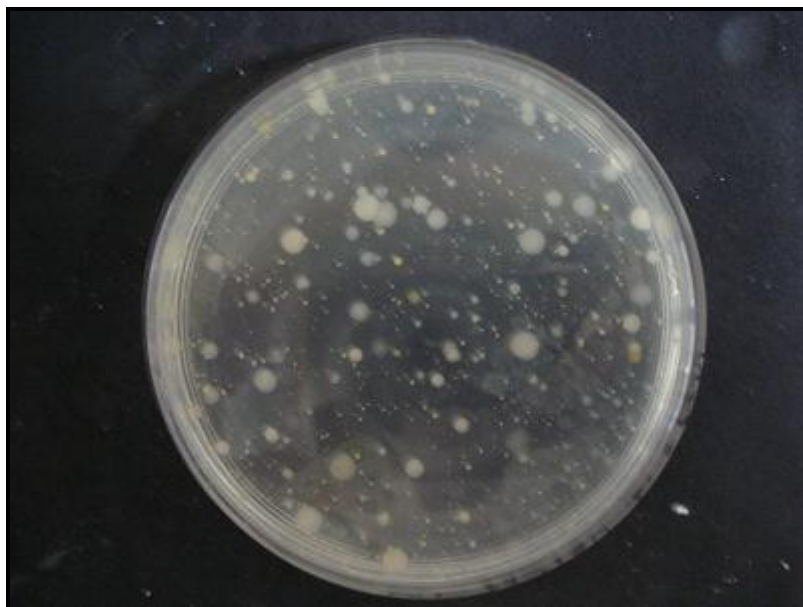


### 3.2.3.1 Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas

A Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) foi realizada pelo método de plaqueamento em profundidade, onde se utilizou o meio de cultura Ágar Padrão para Contagem (APC), com incubação a  $36\pm 1^{\circ}\text{C}$  e leitura em 48 horas. 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 (CBHAP) realizou-se o método de plaqueamento em profundidade, utilizando-se o meio de cultura APC (Figura 13), com incubação a  $7^{\circ}\text{C}$  por 10 dias. Os resultados foram expressos em log UFC/g de amostra (APHA, 2001).



**Figura 13:** Placa com meio de cultura Ágar padrão para Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas.

### 3.2.4 Avaliação sensorial

Para a avaliação sensorial, realizou-se o teste de aceitação com uso da escala hedônica com um grupo de 30 julgadores não treinados (CHAVES; SPROESSER, 2003) em cabines de análise sensorial (Figura 14). As amostras foram apresentadas aos provadores embaladas, devidamente codificadas e em bandejas de poliestireno expandido para avaliação dos atributos “cor” e “aparência geral”, em dias alternados até a rejeição.



**Figura 14:** Cabine de análise sensorial da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro.

Os filés controle foram avaliados nos dias 0, 2 e 5. As amostras submetidas ao tratamento 2 (embalagem em atmosfera modificada) e ao tratamento 3 (irradiação) foram avaliadas nos dias 0, 2, 5, 8, 12 e 15, enquanto os filés submetidos ao tratamento 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) foram analisados nos dias 0, 2, 5, 8, 12, 15 e 19.

No teste de aceitação, os provadores avaliaram as amostras individualmente, através de fichas delineadas com escala hedônica estruturada em nove pontos,

tendo como extremos 9 (gostei extremamente) e 1 (desgostei extremamente). Foi solicitado aos mesmos que marcassem nas referidas fichas as opções que melhor refletissem seu julgamento em relação à aceitação do produto (Figura 15).

Nome: \_\_\_\_\_

Sexo: (F) (M)      Idade: \_\_\_\_\_      Data: \_\_\_\_\_

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 que melhor reflita seu julgamento.

**CÓDIGO DA AMOSTRA:** \_\_\_\_\_

**ATRIBUTO: COR**

- ( ) Gostei extremamente
- ( ) Gostei muito
- ( ) Gostei moderadamente
- ( ) Gostei ligeiramente
- ( ) Nem gostei / nem desgostei
- ( ) Desgostei ligeiramente
- ( ) Desgostei moderadamente
- ( ) Desgostei muito
- ( ) Desgostei extremamente

**ATRIBUTO: APARÊNCIA GERAL**

- ( ) Gostei extremamente
- ( ) Gostei muito
- ( ) Gostei moderadamente
- ( ) Gostei ligeiramente
- ( ) Nem gostei / nem desgostei
- ( ) Desgostei ligeiramente
- ( ) Desgostei moderadamente
- ( ) Desgostei muito
- ( ) Desgostei extremamente

**Comentários:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Figura 15** Ficha utilizada no teste de aceitação elaborada com escala hedônica estruturada em nove pontos (9 – gostei extremamente e 1 – desgostei extremamente).

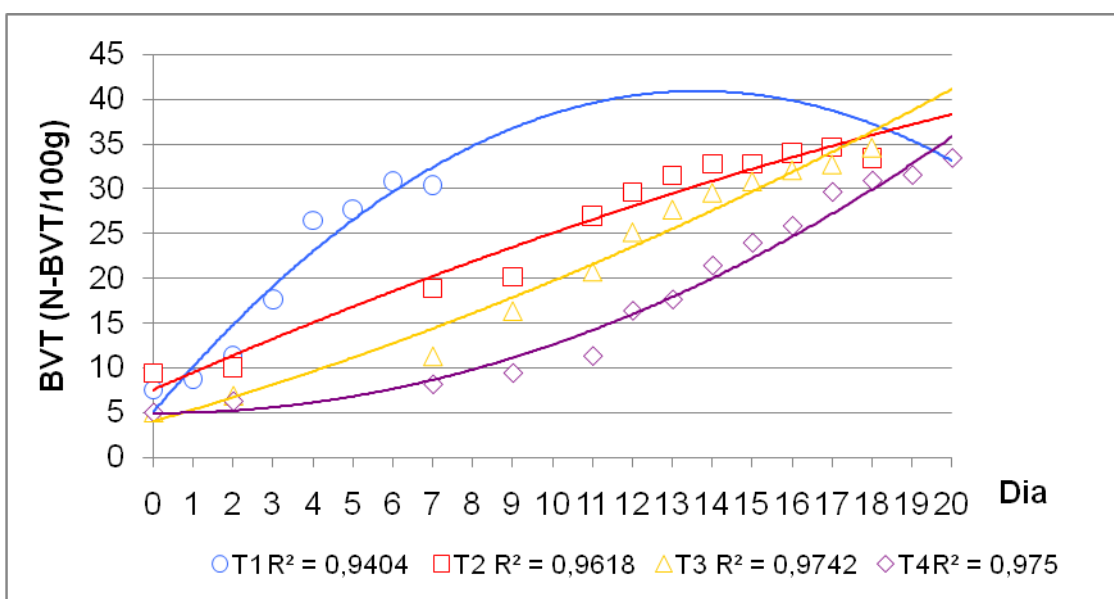
### **3.2.5 Tratamento estatístico dos resultados**

O tratamento estatístico dos resultados físico-químicos foi realizado usando-se a análise de regressão polinomial do 2º grau, com exceção dos resultados do número de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), que foi tratado, estatisticamente, a partir da análise de regressão polinomial do 3º grau. A microbiologia preditiva, método de regressão de Baranyi, programa Dmfit (1994), foi aplicada na análise dos resultados bacteriológicos. Na avaliação sensorial, foram calculadas as médias e os desvios-padrões associados aos julgamentos dos diferentes atributos e tratamentos, os quais foram tratados estatisticamente utilizando-se a análise de variância ANOVA, com posterior teste de Tukey ao nível de 5% de significância, calculada com o programa GraphPad InStat (1998).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

### 4.1 BASES VOLÁTEIS TOTAIS, TRIMETILAMINA e AMÔNIA



**Figura 16:** Representação gráfica dos valores de N-BVT, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ).

**Tabela 1:** Resultados obtidos nas análises de Bases Voláteis Totais (N-BVT), expresso em mg N-BVT/100g de amostra, em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados).

Tratamentos				
Dia	T1	T2	T3	T4
0	7,56	9,45	5,04	5,04
1	8,82	NR*	NR*	NR*
2	11,34	10,08	6,93	6,3
3	17,64	NR*	NR*	NR*
4	26,46	NR*	NR*	NR*
5	27,72	NR*	NR*	NR*
6	30,87	NR*	NR*	NR*
7	30,39	18,9	11,34	8,19
9	NR	20,16	16,38	9,45
11	NR	26,96	20,79	11,34
12	NR	29,61	25,2	16,38
13	NR	31,5	27,72	17,64
14	NR	32,76	29,61	21,42
15	NR	32,76	30,87	23,94
16	NR	34,02	32,13	25,83
17	NR	34,65	32,76	29,61
18	NR	33,39	34,65	30,87
19	NR	NR	NR	31,5
20	NR	NR	NR	33,39

NR: Não realizado devido ao fato dos resultados já apresentarem valores acima do limite estabelecido pela legislação nacional;

NR\*: Não realizado devido aos resultados anteriores.

Apesar da análise de N-BVT não ser um procedimento adequado para a espécie em estudo, é relevante ressaltar que a tilápia possui traços de OTMA (<25mg/100g) e, desta forma, produz TMA, mesmo que em menor quantidade.

Tendo em vista que a amônia pode ser produzida pela desaminação de aminoácidos e quebra de nucleotídeos, deduz-se então que, os resultados observados contribuem na avaliação da qualidade do produto.

Os valores iniciais de N-BVT no dia zero foram de 7,56mg N-BVT/100g; 9,45mg N-BVT/100g; 5,04mg N-BVT/100g e 5,04mg N-BVT/100g nas amostras controle (tratamento 1), embaladas em atmosfera modificada (tratamento 2), irradiadas (tratamento 3) e embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4), respectivamente, como pode ser observado na Tabela 1 e Figura 16. Os valores verificados nas amostras controle alcançaram o limite estabelecido pela legislação nacional, 30mg N-BVT/100g de amostra (BRASIL, 2008), no 6º dia (30,87mg N-BVT/100g) de armazenamento, demonstrando a susceptibilidade dessa matriz alimentar à perda de qualidade, enquanto os resultados das amostras submetidas aos tratamentos 2, 3 e 4 atingiram o preconizado pela legislação nos dias 13 (31,5mg N-BVT/100g) – 6 dias a mais, 15 (30,87mg N-BVT/100g) – 7 dias a mais e 18 (30,87mg N-BVT/100g) – dez dias a mais, de estocagem sob refrigeração, respectivamente. Vale ressaltar que, no Brasil, não há regulamento específico para peixes de água doce e que esse limite foi utilizado como referência, não sendo, portanto, específico para a espécie em estudo.

Rodrigues (2008) questionou a utilização deste parâmetro para avaliação de pescado de água doce, pois este possui quantidades mínimas de óxido de trimetilamina e, conseqüentemente, apresentam baixos valores de BVT, fato este que corroborou com os resultados do presente trabalho, embora diversos autores (ALBUQUERQUE et al., 2004; SOCCOL et al., 2005; TEIXEIRA, 2009) tenham observado valores iniciais de BVT superiores aos demonstrados neste estudo. Cabe salientar que valores de N-BVT, tanto para esta espécie, como para outras, incluindo as marinhas, devem ser criteriosamente revisados em função do teor inicial de OTMA (Óxido de Trimetilamina) de cada espécie.

Com relação à determinação de TMA (Tabela 2 e Figura 17), observou-se, no dia zero, 1,26mg N-TMA/100g independentemente do tratamento aplicado. Os valores para as amostras controle ultrapassaram o limite, 4mg N-TMA/100g de amostra (BRASIL, 2008), no 5º dia (4,41mg N-TMA/100g), enquanto que aqueles associados aos tratamentos 2, 3 e 4 atingiram, esse mesmo limite no 13º (4,41), 13º (4,41) e 17º dia (4,41mg N-TMA/100g) de estocagem sob refrigeração,



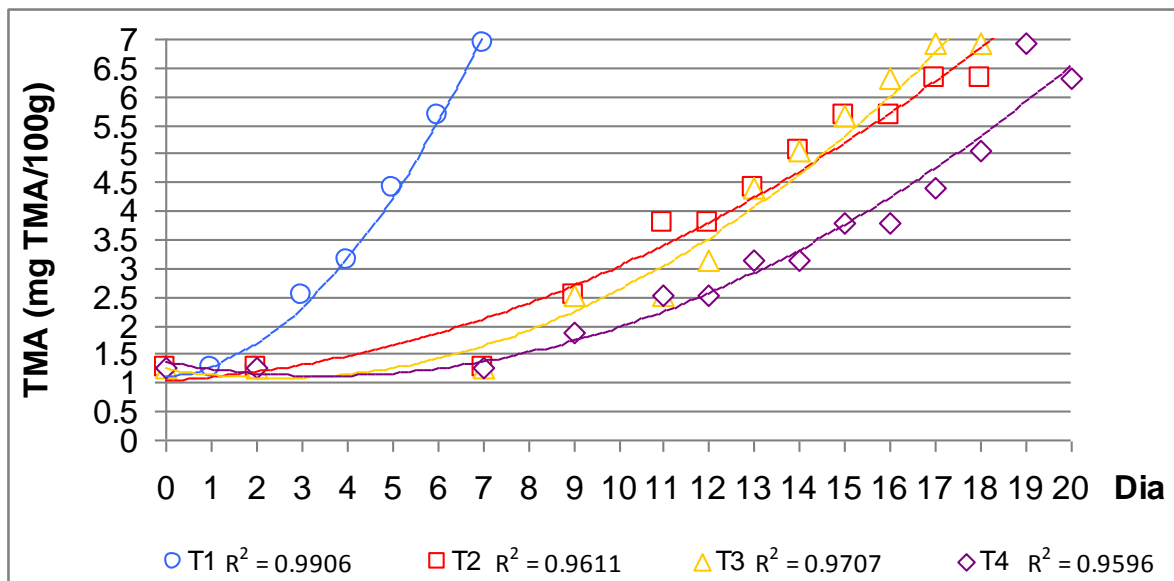
respectivamente. É relevante observar o rápido aumento dos valores nas amostras controle, caracterizando a eficácia dos tratamentos na qualidade do produto.

**Tabela 2:** Resultados obtidos nas análises de Trimetilamina (TMA), expresso em mg de TMA/100g de amostra, em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados).

Dia	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
0	1,26	1,26	1,26	1,26
1	1,26	NR*	NR*	NR*
2	1,26	1,26	1,26	1,26
3	2,52	NR*	NR*	NR*
4	3,15	NR*	NR*	NR*
5	4,41	NR*	NR*	NR*
6	5,67	NR*	NR*	NR*
7	6,93	1,26	1,26	1,26
9	NR	2,52	2,52	1,89
11	NR	3,78	2,52	2,52
12	NR	3,78	3,15	2,52
13	NR	4,41	4,41	3,15
14	NR	5,04	5,04	3,15
15	NR	5,67	5,67	3,78
16	NR	5,67	6,3	3,78
17	NR	6,3	6,93	4,41
18	NR	6,3	6,93	5,04
19	NR	NR	NR	6,93
20	NR	NR	NR	6,3

NR: Não realizado devido ao fato dos resultados já apresentarem valores acima do limite estabelecido pela legislação nacional;

NR\*: Não realizado devido aos resultados anteriores



**Figura 17:** Representação gráfica dos valores de TMA, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ).

A reação de amônia (Tabela 3 e Figura 18) foi negativa até o dia 2 nas amostras controle, tornando-se levemente positiva no 3º dia, positiva no 4º e 5º dias, e fortemente positiva no 6º dia de estocagem em gelo reciclável, corroborando com os resultados observados na análise de N-BVT. As amostras tratadas com embalagem em atmosfera modificada (tratamento 2) apresentaram resultado negativo até o 11º dia de armazenagem, tornando-se positivas do 12º ao 14º dia. Nas amostras submetidas ao tratamento 3 (irradiação), a reação foi levemente positiva nos dias 12º e 13º, enquanto nas do tratamento 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação), o mesmo ocorreu do 12º dia ao 16º. A reação das amostras submetidas aos tratamentos 2, 3 e 4 apresentou-se fortemente positiva a partir do dia 15, 16 e 18, respectivamente. É curioso observar que, apesar de ser um procedimento qualitativo, sugere resultados mais coerentes em função da desaminação ocorrida, tanto nos aminoácidos, como na degradação de nucleotídeos.

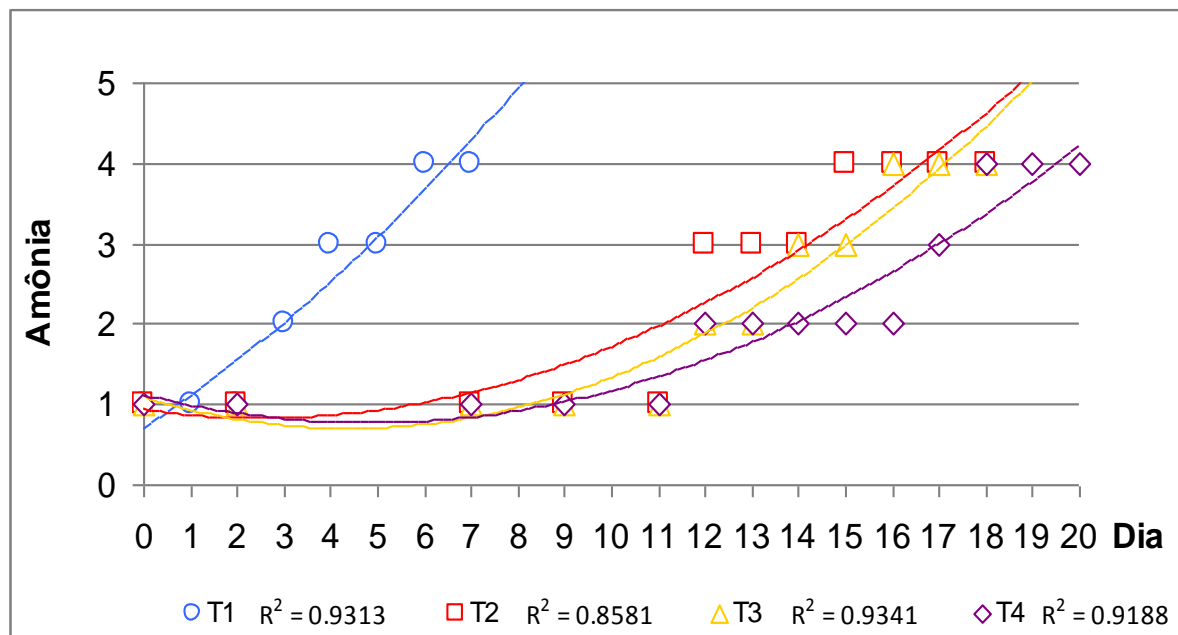
**Tabela 3:** Resultados obtidos nas análises de amônia em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados).

Tratamentos				
Dia	T1	T2	T3	T4
0	1	1	1	1
1	1	NR*	NR*	NR*
2	1	1	1	1
3	2	NR*	NR*	NR*
4	3	NR*	NR*	NR*
5	3	NR*	NR*	NR*
6	4	NR*	NR*	NR*
7	4	1	1	1
9	NR	1	1	1
11	NR	1	1	1
12	NR	3	2	2
13	NR	3	2	2
14	NR	3	3	2
15	NR	4	3	2
16	NR	4	4	2
17	NR	4	4	3
18	NR	4	4	4
19	NR	NR	NR	4
20	NR	NR	NR	4

1 = Reação negativa; 2 = Reação levemente positiva; 3 = Reação positiva e 4 = Reação fortemente positiva;

NR: Não realizado devido ao fato dos resultados já apresentarem valores acima do limite estabelecido pela legislação nacional;

NR\*: Não realizado devido aos resultados anteriores.



**Figura 18:** Representação gráfica da produção de amônia, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ).

Os resultados de BVT, TMA e amônia exibiram tendência crescente ao longo do período de estocagem em todos os tratamentos, indicando, como esperado, uma redução na qualidade das amostras com o tempo de estocagem. No entanto, os valores das amostras submetidas aos tratamentos 2 (embalagem em atmosfera modificada), 3 (irradiação) e 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação), apresentaram aumento mais lento, indicando menor degradação e, conseqüentemente, melhor qualidade do produto, a qual manteve-se superior àquela do controle.

As Bases Voláteis Totais (BVT) incluem, dentre outros, a Trimetilamina (TMA) e amônia, compostos produzidos durante o processo de deterioração do pescado (PEREIRA et al., 2001). A embalagem em atmosfera modificada reduz a produção de N-BVT devido ao efeito bacteriostático do  $\text{CO}_2$  sobre a microbiota (TEIXEIRA, 2009) e o processo de irradiação reduz a carga microbiana, diminuindo a decomposição do óxido de trimetilamina e inibindo a produção de amônia oriunda da degradação de aminoácidos. Ahmed et al. (1997) demonstraram que o pescado

irradiado apresenta valores baixos de N-BVT em comparação com aquele não irradiado, pois o tratamento reduz a carga microbiana e, conseqüentemente, a decomposição o óxido de trimetilamina.

Desta forma, a irradiação e a embalagem em atmosfera modificada reduzem a produção de N-BVT, TMA e amônia durante a deterioração do pescado, enquanto, segundo Ashie et al.(1996) e Rosa (2004), a combinação da embalagem em atmosfera modificada e baixas doses de irradiação demonstra ser mais efetivo na manutenção da qualidade do produto, provavelmente devido ao efeito sinérgico de ambos os processos, fato confirmado neste estudo.

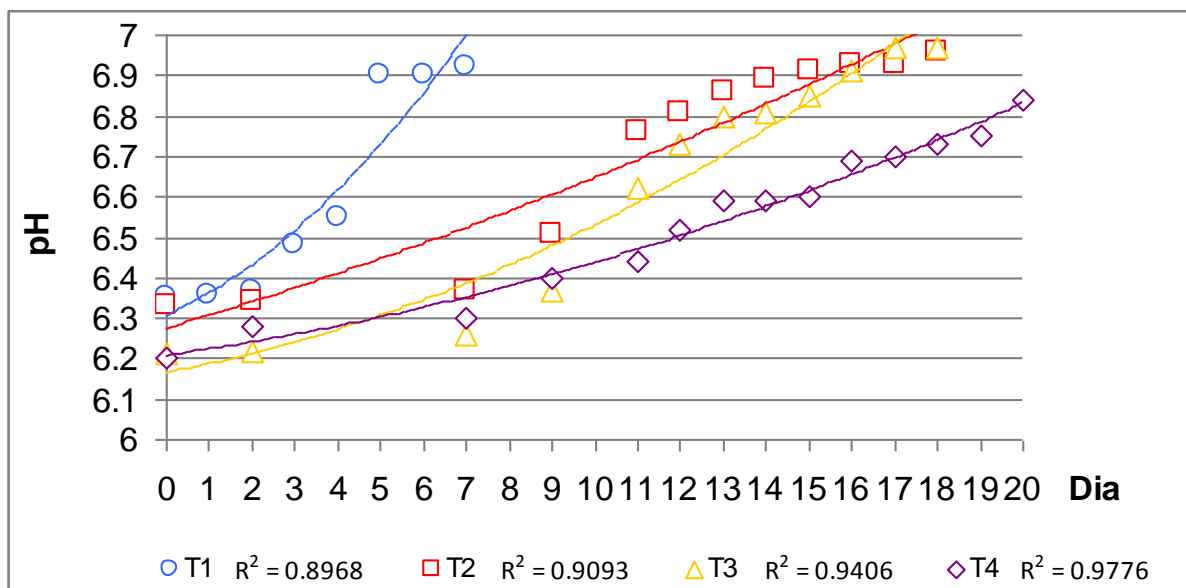
Al-Kahtani et al. (1996) observaram que os valores das bases voláteis totais em amostras controle aumentaram rapidamente, atingindo o limite oficial (30mg N-BVT/100g) no 12º dia de armazenamento, enquanto os resultados das amostras irradiadas (1,5 e 3,0kGy) demonstraram uma redução desses valores, estendendo a validade comercial de filés de tilápia para 20 dias de estocagem.

Teixeira (2009), avaliando filés de tilápia do Nilo mantidos sob refrigeração por 30 dias, relatou que os valores de N-BVT aumentaram ao longo do período de estocagem, porém os das amostras controle aumentaram rapidamente, quando comparados àqueles dos filés somente tratados com embalagem em atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>), irradiados (1,5kGy) e embalados e irradiados que, apesar de crescentes, mantiveram-se menores durante o período de estocagem, resultados que corroboram com os dados do presente estudo, provavelmente, devido ao efeito eficaz da embalagem em atmosfera modificada, irradiação e combinação de ambos os métodos na redução bacteriana.

É interessante ressaltar que a maioria dos autores nacionais faz referência a um limite oficial de 30mgN/100g, incluindo peixes de água doce, entretanto, essas espécies possuem baixo teor inicial de OTMA e, por isso, sugere-se que esse parâmetro seja revisto criteriosamente em função do teor inicial de OTMA de cada espécie.

## 4.2 pH

Os resultados de pH (Tabela 4 e Figura 19) das amostras controle (tratamento 1), embaladas em atmosfera modificada (tratamento 2), irradiadas (tratamento 3) e as embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4) apresentaram valores de 6,35; 6,33; 6,21 e 6,20, respectivamente, no dia zero de estocagem em gelo. A legislação nacional determina que 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). Os valores de pH nas amostras controle ultrapassaram este limite no 5º dia (6,90), enquanto os resultados das amostras do tratamento 2, 3 e 4 alcançaram tal limite nos dias 12 (6,81), 13 (6,80) e 20 (6,84), respectivamente. Esses valores condizem com os resultados observados nas análises de amônia e N-BVT que, por serem bases, ocasionam um incremento no valor do pH.



**Figura 19:** Representação gráfica dos valores de pH, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

**Tabela 4:** Resultados dos valores de pH em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados).

Dia	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
0	6,35	6,33	6,21	6,20
1	6,36	NR*	NR*	NR*
2	6,37	6,34	6,22	6,28
3	6,48	NR*	NR*	NR*
4	6,55	NR*	NR*	NR*
5	6,90	NR*	NR*	NR*
6	6,90	NR*	NR*	NR*
7	6,92	6,37	6,26	6,30
9	NR	6,51	6,37	6,40
11	NR	6,76	6,62	6,44
12	NR	6,81	6,73	6,52
13	NR	6,86	6,80	6,59
14	NR	6,89	6,81	6,59
15	NR	6,91	6,85	6,60
16	NR	6,93	6,91	6,69
17	NR	6,93	6,97	6,70
18	NR	6,96	6,97	6,73
19	NR	NR	NR	6,75
20	NR	NR	NR	6,84

NR: Não realizado devido ao fato dos resultados já apresentarem valores acima do limite estabelecido pela legislação nacional;

NR\*: Não realizado devido aos resultados anteriores.

Albuquerque et al. (2004) avaliaram o estado de frescor de tilápias sem qualquer tratamento, armazenadas em gelo por 18 dias e observaram uma variação nos valores de pH de 6,18 a 6,77. Outro estudo sobre filés de tilápias estocados

durante 20 dias e armazenados sob refrigeração ( $1^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) foi realizado por Soccol et al. (2005). Os autores observaram valores de pH variando entre 6,5, no 1º dia, e 6,6 no 20º de estocagem. Teixeira (2009) observou variação nos valores de pH de 6,20 a 7,45, do primeiro ao 30º dia de armazenamento de filés de tilápia mantidos sob refrigeração ( $1,0\pm 1,0^{\circ}\text{C}$ ).

Pode-se observar uma variação dos valores iniciais de pH citados na literatura. Desta forma, é relevante comentar que os valores de pH podem variar de forma significativa em função do processo de despesca ou captura do pescado, o que sugere estabelecimento de limites ou padrões para cada situação.

Da mesma forma que ocorreu com os resultados de BVT, TMA e amônia, os valores de pH (Tabela 4 e Figura 19), demonstraram uma tendência crescente ao longo do período de estocagem em todos os tratamentos. No entanto, os valores das amostras controle aumentaram rapidamente durante esse período quando comparados aos resultados das amostras submetidas aos tratamentos 2 (embalagem em atmosfera modificada), 3 (irradiação) e 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação), que cresceram mais lentamente, indicando deterioração mais lenta na qualidade do produto.

As Bases Voláteis Totais (BVT) incluem, dentre outros, a Trimetilamina (TMA) e amônia, compostos produzidos durante a deterioração do pescado, que alteram o pH, uma vez que a atividade enzimática e a ação das bactérias alteram a concentração de íons de hidrogênio livre (OGAWA; MAIA, 1999). Siqueira (2001) explica que, devido ao acúmulo das bases voláteis totais 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.

Os resultados das amostras submetidas aos tratamentos 2 (embalagem em atmosfera modificada), 3 (irradiação) e 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) apresentaram-se menores durante todo o período de estocagem quando comparados aqueles das amostras controle. Este fato deve-se, provavelmente, ao efeito bacteriostático sobre a microbiota da embalagem em atmosfera modificada (TEXEIRA, 2009) e a redução da carga microbiana pelo processo de irradiação, levando-se em consideração que o pH reflete a ação bacteriana (AHMED et al., 1997).



Stammen et al. (1990) relataram que a embalagem em atmosfera modificada possui a capacidade de reduzir o pH, pois a dissolução do CO<sub>2</sub> provoca a formação de ácido carbônico.

Teixeira (2009), avaliando filés de tilápia do Nilo mantidos sob refrigeração por 30 dias, relatou que os valores de pH aumentaram ao longo do período de estocagem, porém os das amostras controle aumentaram rapidamente, quando comparados àqueles dos filés somente tratados com embalagem em atmosfera modificada (40% CO<sub>2</sub> e 60% N<sub>2</sub>), irradiados (1,5kGy) e com os métodos conjugados (embalados e irradiados) que, apesar de crescentes, mantiveram-se menores durante o período de estocagem, resultados que corroboram com os dados do presente estudo, provavelmente, devido ao efeito eficaz da embalagem em atmosfera modificada, irradiação e combinação de ambos os métodos na redução bacteriana.

#### 4.3 RANÇO OXIDATIVO

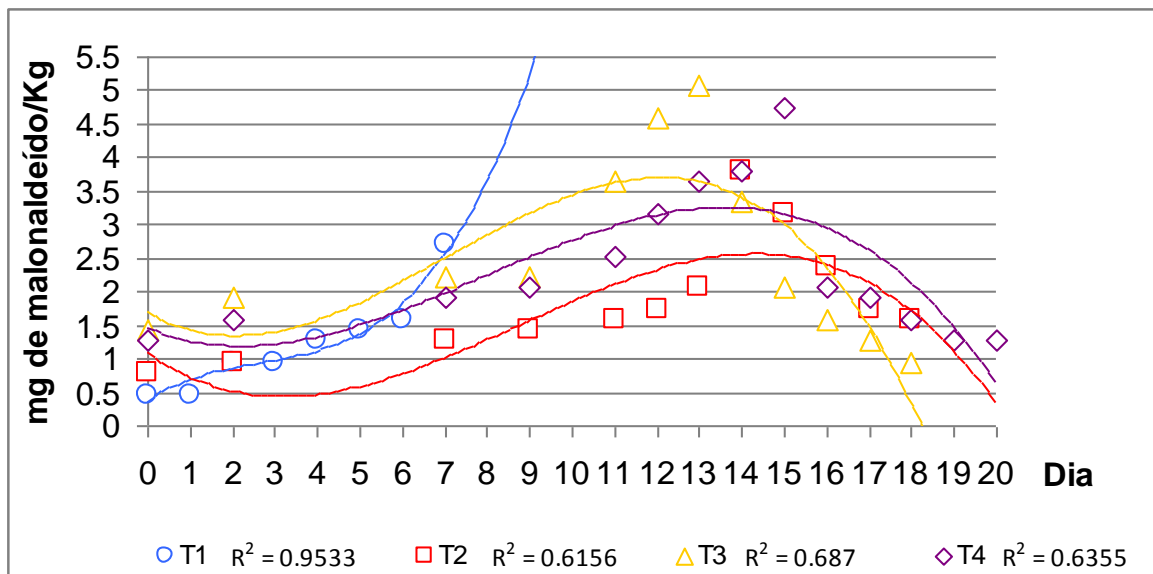
Quanto aos resultados do número de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) nas amostras controle (Tabela 5 e Figura 20), observou-se aumento ao longo do período de estocagem, com uma variação de 0,47 a 2,69mg de malonaldeído/kg, do primeiro ao sétimo dia de estocagem, quando as amostras já apresentavam características sensoriais inaceitáveis. Como não há padrão para este parâmetro na legislação nacional, os resultados são comparados com achados de trabalhos anteriores descritos na literatura. Al-Kahtani et al. (1996) afirmaram que peixes, como tilápia e cavalinha, podem ser considerados em bom estado de conservação enquanto apresentam valores abaixo de 3,0 mg de malonaldeído/kg de amostra, o que pode sugerir que o ranço não tenha sido considerado um parâmetro de perda de qualidade em amostras submetidas à refrigeração. Assim como os resultados do estudo supracitado, os valores iniciais de TBARS encontrados em diversas outras pesquisas (TORRES; OKANI,1997; SIQUEIRA, 2001; SOCCOL et al., 2005; VELLOSO, 2004) foram bem inferiores aos achados no presente estudo.

**Tabela 5:** Valores referentes à produção de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), expresso em mg de malonaldeído/kg de amostra, em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1(embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados).

Tratamentos				
Dia	T1	T2	T3	T4
0	0,47	0,79	1,43	1,27
1	0,47	NR*	NR*	NR*
2	0,95	0,95	1,9	1,58
3	0,95	NR*	NR*	NR*
4	1,27	NR*	NR*	NR*
5	1,43	NR*	NR*	NR*
6	1,58	NR*	NR*	NR*
7	2,69	1,27	2,22	1,9
9	NR	1,43	2,22	2,06
11	NR	1,58	3,64	2,53
12	NR	1,74	4,59	3,17
13	NR	2,06	5,07	3,64
14	NR	3,8	3,33	3,8
15	NR	3,17	2,06	4,75
16	NR	2,38	1,58	2,06
17	NR	1,74	1,27	1,9
18	NR	1,58	0,95	1,58
19	NR	NR	NR	1,27
20	NR	NR	NR	1,27

NR: Não realizado devido ao fato dos resultados já apresentarem valores acima do limite estabelecido pela legislação nacional;

NR\*: Não realizado devido aos resultados anteriores.



**Figura 20:** Representação gráfica dos valores de TBARS, com suas respectivas linhas de tendência e  $R^2$ , em filés de tilápia do nilo (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^\circ\text{C}$ ).

A maioria dos estudos sobre oxidação de pescado é voltada para espécies de peixes gordurosos que são mais susceptíveis à rancificação. Entretanto, embora a tilápia seja um peixe com baixo teor de gordura, é susceptível à oxidação das gorduras devido à predominância de ácidos graxos poliinsaturados na sua composição (HUANG et al., 1998). Além disso, é importante salientar que o teor de lipídeos varia de acordo com diversos fatores como época do ano, alimentação, espécie, dentre outros.

Os valores iniciais das amostras submetidas aos tratamentos 2 (embalagem em atmosfera modificada), 3 (irradiação) e 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) foram 0,79mg de malonaldeído/kg; 1,43mg de malonaldeído/kg e 1,27mg de malonaldeído/kg, respectivamente, ou seja, maiores quando comparados com os dos filés controle.

Esses valores dos filés embalados em atmosfera modificada corroboram com os resultados encontrados por Masniyom et al. (2002), que constataram que os valores de TBARS aumentaram proporcionalmente à concentração de  $\text{CO}_2$  na embalagem, provavelmente, devido à dissolução do  $\text{CO}_2$  no músculo, que ocasiona

uma alteração da permeabilidade das membranas celulares, interferindo no seu potencial antioxidante.

Os maiores valores de número de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) foram encontrados nas amostras irradiadas (T3). A relação da dose de radiação com aumento da produção de TBARS observado no presente estudo, também foi relatado por Al-Kahtani et al. (1996). O filé de tilápia possui na sua composição predominância de lipídeos insaturados, que 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, desta forma, a velocidade de instalação do ranço oxidativo (MOLLER, 2004).

Em contrapartida, os resultados dos filés submetidos ao tratamento 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) apresentaram-se menores quando comparados às amostras somente irradiadas e apenas embaladas, pois, de acordo com Vital e Freire (2008), o emprego de baixas doses de radiação, combinadas com ausência de oxigênio pode minimizar os processos oxidativos dos lipídeos.

Os valores máximos encontrados nos filés relacionados ao tratamento 2 (embalagem em atmosfera modificada), 3 (irradiação) e 4 (embalagem em atmosfera modificada) foram 3,8mg de malonaldeído/kg; 5,07mg de malonaldeído/kg e 4,75mg de malonaldeído/kg nos dias 14, 13 e 15, respectivamente. Em etapas posteriores, esses valores decresceram continuamente até as características sensoriais e as análises bacteriológicas determinarem que o produto estivesse impróprio para o consumo. Esses resultados se assemelham com os relatados por Gokalp et al. (1983) e Melton (1983), que descrevem uma possível interação covalente do malonaldeído com os grupos aminas livres presentes em proteínas.

Os valores das amostras controle (tratamento 1) não apresentaram esta tendência decrescente, provavelmente, devido ao fato dessas amostras demonstrarem um curto período de validade comercial, o que justificou a não continuidade dos procedimentos analíticos, não permitindo assim a observação do decréscimo de valores após um determinado período, como ocorreu com os demais tratamentos.

Socol (2002) explica que a presença de oxigênio nas embalagens favorece a oxidação dos lipídeos em alimentos com predominância de lipídeos insaturados com formação de compostos secundários, como o malonaldeído.

#### 4.4 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS MESÓFILAS

Em relação aos resultados bacteriológicos, Franco e Landgraf (1996) relatam que a maioria dos alimentos apresenta alterações sensoriais detectáveis com números superiores a  $10^6$  UFC/g, sendo que, para alguns, são necessários  $10^7$  ou  $10^8$  UFC/g. Como a legislação brasileira não prevê limites para bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas para filés de pescado, baseado em valores descritos na literatura, foi estabelecido, neste estudo, o limite de 8 Log UFC/g, uma vez que, quando a contagem das amostras ultrapassou este valor, os filés foram rejeitados na avaliação sensorial, apresentando características de perda de qualidade.

As contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas das amostras submetidas ao tratamento 1 (controle), que pode ser observada na Figura 21, foram realizadas em um intervalo de tempo menor, em horas, devido ao rápido crescimento bacteriano nessas amostras, visto que, segundo Sivertsvik et al. (2002), alterações físico-químicas podem resultar em odor e sabor desagradáveis, porém, a principal causa de deterioração do pescado fresco é microbiana.

Três horas após a coleta dos filés, a carga microbiana do grupo controle foi de 4,2 Log UFC/g para mesófilos. A partir dessa hora até 43 horas e meia após a coleta o crescimento de mesófilos variou de 4,4 a 4,3 Log UFC/g. Após 45 horas e meia (aproximadamente 2 dias), iniciou-se o crescimento bacteriano, tanto de mesófilos (5,5 Log UFC/g), sendo caracterizado por um aumento progressivo. Após 95 horas e meia da coleta (aproximadamente 4 dias), a contagem de mesófilos foi de 8,9 Log UFC/g e as amostras já apresentavam características sensoriais inaceitáveis, apresentando rejeição (média de 2,8) no 5º dia de estocagem em gelo reciclável ( $0 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

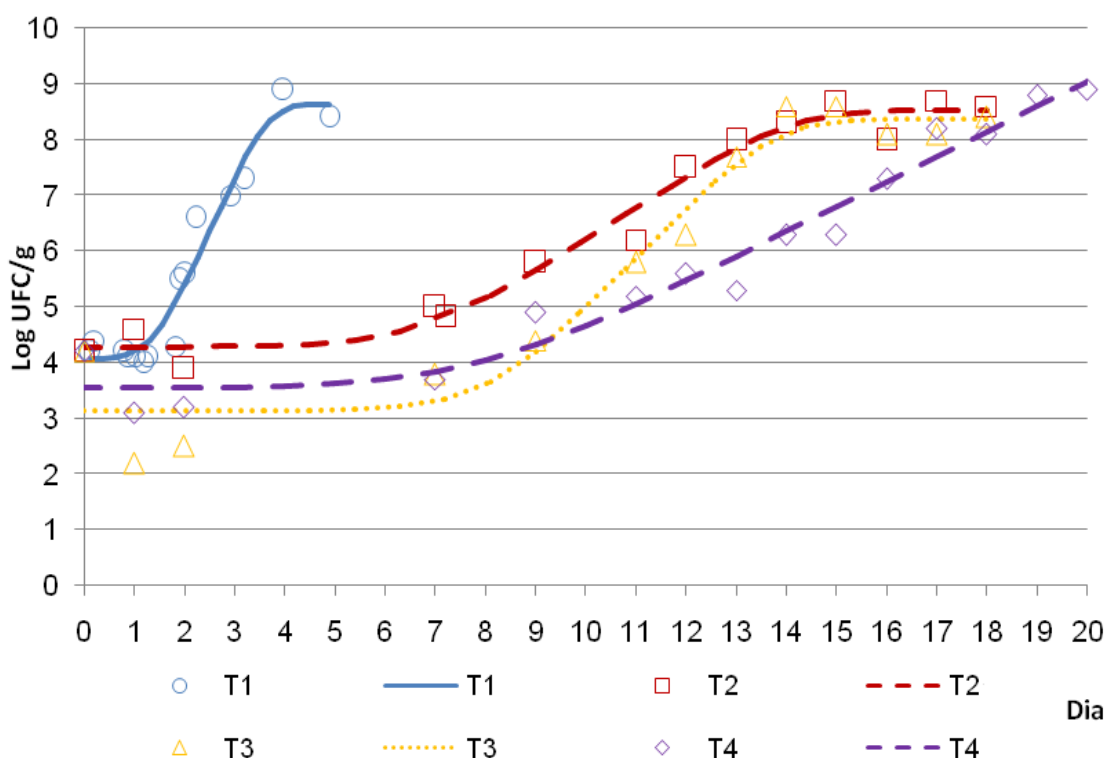
Os resultados das amostras submetidas aos tratamentos 2 (embalagem em atmosfera modificada), 3 (irradiação) e 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) demonstraram tendência de crescimento mais lento, mantendo características de qualidade desejáveis por um tempo de estocagem mais longo, enquanto os valores das amostras controle (tratamento 1) aumentaram rapidamente, o que pode ser observado na Figura 21.

A contagem de mesófilos dos filés embalados em atmosfera modificada (tratamento 2) manteve-se estável no primeiro dia de análise (4,6 Log UFC/g), quando comparada à contagem do dia zero (4,2 Log UFC/g). As bactérias mesófilas cresceram progressivamente conforme o tempo de estocagem, no entanto, este aumento apresentou-se mais lento, quando comparado ao crescimento das amostras controle, somente alcançando o limite de referência estabelecido para este estudo no 13º dia de estocagem sob refrigeração, estendendo, desta forma, em 9 dias a validade comercial dos filés de tilápia. Isto, provavelmente ocorreu, devido a capacidade da embalagem em atmosfera modificada conter o crescimento microbiano (TANIWAKI et al., 2009), efeito descrito em diversos trabalhos como os de Poli et al. (2006) e Teixeira (2009).

A contagem de mesófilos dos filés irradiados (tratamento 3), no primeiro dia de análise, foi de 2,2 Log UFC/g, ou seja, durante o processo de irradiação houve redução de aproximadamente 99% da carga microbiana inicial, extrapolando o limite (8 Log UFC/g) apenas no 14º de estocagem sob refrigeração, estendendo em 10 dias a validade comercial dos filés de tilápia. Esta redução da carga inicial de microrganismos é devido ao efeito da radiação ionizante sobre, principalmente, o DNA cromossômico, já que lesa os ácidos nucléicos das bactérias contaminantes, levando à morte celular (SANTOS et al., 2003), tendo a capacidade, desta forma, de estender a validade comercial dos alimentos. Teixeira (2009) relatou que amostras irradiadas apresentaram resultados bem melhores quando comparadas aquelas não irradiadas durante todo o período de estocagem, indicando, portanto, uma maior validade comercial para as amostras que foram submetidas à radiação ionizante. Vital e Freire (2008) afirmaram que alimentos de origem animal apresentam uma redução em sua contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas de 3 log ao serem tratados com doses de 1,5kGy, bem próximo ao que ocorreu no presente estudo.

A contagem de mesófilos das amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4), no primeiro dia, demonstrou uma redução de 92% da carga microbiana inicial e, apesar desta diminuição ter sido menor, comparada aos filés somente irradiados, o crescimento dos microrganismos mantiveram-se mais estáveis durante o período de estocagem, ultrapassando o limite estabelecido para este estudo apenas no 17º dia de armazenamento, determinando, portanto, os melhores resultados quando comparado aos demais tratamentos, visto que estendeu em 13 dias a validade comercial dos filés de tilápia. Os métodos combinados de conservação (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) foram mais eficientes na manutenção da qualidade higiênico-sanitária, fato este também relatado por Ashie et al. (1996) em filés de bagre embalados com atmosfera modificada e irradiados com baixas doses de radiação, que tiveram a validade comercial aumentada de 10 para 30 dias.

Os dados do presente estudo estão de acordo com Rosa (2004), o qual afirma que o emprego da embalagem em atmosfera modificada associada a doses de radiação e temperaturas de refrigeração prolonga a validade comercial de alimentos.



**Figura 21:** Resultados da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) em filés de tilápia (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

#### 4.5 CONTAGEM DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS AERÓBIAS PSICROTRÓFICAS

Em relação a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas, o limite estabelecido foi o mesmo das bactérias mesófilas, 8 Log UFC/g, haja visto a ausência de um padrão oficial em filés de pescado (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

As contagens de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas (CBHAP) das amostras controle (Figura 22) também foram realizadas em um intervalo de tempo menor, em horas, devido ao rápido crescimento bacteriano nessas amostras. Durante o período entre 3 e 43 horas e meia após a coleta dos filés não houve nenhum crescimento de psicotróficos. Após 45 horas e meia da obtenção



(aproximadamente 2 dias), iniciou-se o crescimento bacteriano de psicotróficos (4,0 Log UFC/g), sendo caracterizado por um aumento progressivo. Após 95 horas e meia (aproximadamente 4 dias) a contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas foi de 7,9 Log UFC/g, valor este bem próximo ao limite de referência (8,0 Log UFC/g) estabelecido para este estudo.

Da mesma forma que ocorreu com a contagem de mesófilos, os resultados das amostras controle (tratamento 1) aumentaram rapidamente quando comparado aos valores das amostras submetidas aos tratamentos 2 (embalagem em atmosfera modificada), 3 (irradiação) e 4 (embalagem em atmosfera modificada e irradiação) que demonstraram tendência de crescimento mais lento, conforme o aumento do tempo de estocagem e, por isso, indicaram que estes tratamentos aumentaram a validade comercial dos filés de tilápia, como pode ser observado na Figura 22.

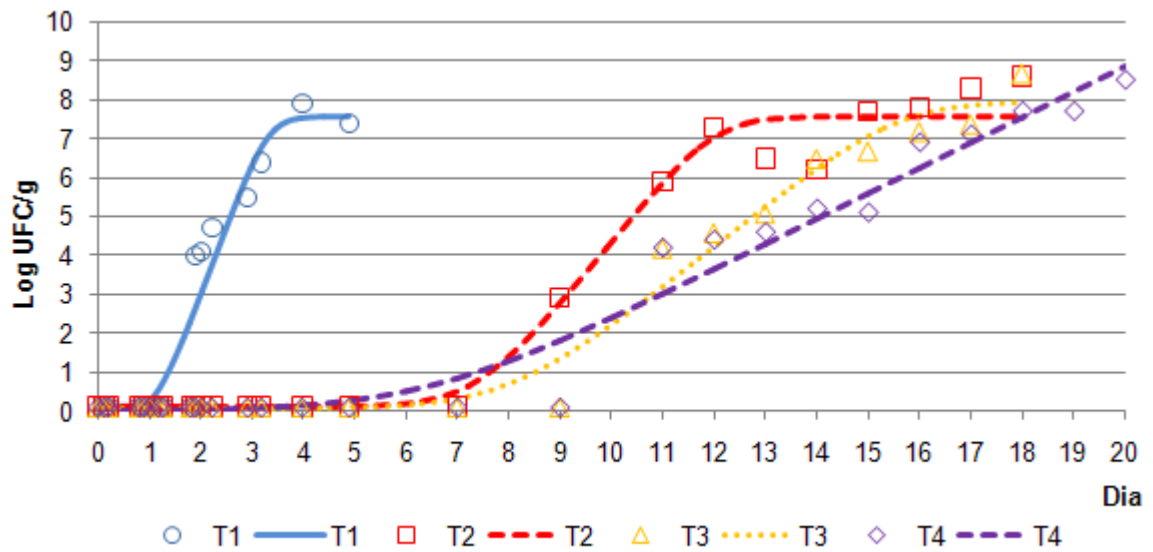
Em relação à contagem de psicotróficos nas amostras embaladas em atmosfera modificada (tratamento 2), como pode ser observado na Figura 22, o crescimento destes microrganismos começou a ser evidenciado a partir do 9º dia (2,9 Log UFC/g), ultrapassando o limite somente no 17º dia de armazenamento, estendendo, desta forma, a validade comercial dos filés de tilápia. Isto, provavelmente ocorre devido à capacidade da embalagem em atmosfera modificada de conter o crescimento microbiano (TANIWAKI et al., 2009), efeito descrito em diversos trabalhos como os de Poli et al. (2006) e Teixeira (2009).

A contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas das amostras submetidas ao tratamento 3, irradiadas (Figura 22), demonstrou crescimento apenas a partir do 11º dia, chegando ao limite apenas no dia 18º dia de armazenagem em gelo. Esta redução da carga inicial de microrganismos é devido ao efeito da radiação ionizante sobre, principalmente, o DNA cromossômico, já que lesa os ácidos nucléicos das bactérias contaminantes, levando à morte celular (SANTOS et al., 2003), tendo a capacidade, desta forma, de estender a validade comercial dos alimentos. Teixeira (2009) relatou que amostras irradiadas apresentaram resultados bem melhores quando comparadas aquelas não irradiadas durante todo o período de estocagem, indicando, portanto, uma maior validade comercial para as amostras que foram submetidas à radiação ionizante.

A contagem de psicotróficos das amostras submetidas ao tratamento 4, embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (Figura 22), só apresentou

crescimento a partir do 11<sup>o</sup> dia, extrapolando o limite apenas no 20<sup>o</sup> dia de estocagem sob refrigeração, apresentando, portanto, as menores contagens de bactérias psicotróficas quando comparada aquelas dos demais tratamentos, confirmando, desta forma, que a combinação de métodos de conservação é mais eficiente na extensão da validade comercial dos alimentos.

Observou-se também, que os microrganismos das amostras controle, mesófilos e psicotróficos, demonstraram maior taxa de crescimento e menor período de latência bem como tempo de duplicação quando comparado ao crescimento da carga bacteriana das amostras submetidas à embalagem em atmosfera modificada (T2), irradiação (T3) e embalagem em atmosfera modificada e irradiação (T4). Comparando-se o crescimento dos microrganismos entre os tratamentos (2, 3 e 4), a carga bacteriana das amostras irradiadas (T3) apresentou a maior fase de latência e taxa de crescimento, no entanto, menor tempo de duplicação, provavelmente, porque o processo de irradiação tem a capacidade de provocar redução da carga bacteriana inicial, deixando os microrganismos em período de latência, seguido de um crescimento quadrático (mais elevado) no final do período de estocagem, indicando, possivelmente, uma recuperação mais rápida da microbiota em virtude do nível mais baixo de competição. Em contrapartida, a carga bacteriana das amostras submetidas ao tratamento 2 demonstrou menor período de latência e taxa de crescimento, no entanto, maior tempo de duplicação quando comparada àquela das amostras irradiadas (T3), provavelmente, porque a embalagem em atmosfera modificada não reduziu a carga bacteriana inicial, porém, diminuiu a taxa de crescimento bacteriano ao longo do período de estocagem. Os microrganismos das amostras submetidas ao tratamento 4 (irradiadas e embaladas em atmosfera modificada) demonstraram um período de latência menor do que os das amostras irradiadas (T3), porém, maior do que àquelas embaladas em atmosfera modificada (T2), todavia, apresentaram menor taxa de crescimento e maior tempo de duplicação quando comparado as amostras submetidas aos demais tratamentos (1, 2 e 3), possivelmente, devido ao efeito sinérgico da irradiação, que reduziu a carga bacteriana inicial, e da embalagem em atmosfera modificada, que diminuiu a taxa de crescimento dos microrganismos, mantendo o produto em melhor qualidade por um período maior de tempo.



**Figura 22:** Representação gráfica da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicrotróficas (CBHAP) em filés de tilápia (*O. niloticus*) referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ).

#### 4.6 ANÁLISE SENSORIAL

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

**Tabela 6:** Médias e desvio padrão dos escores referentes aos tratamentos utilizados nos filés de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) a partir do teste de aceitação usando escala hedônica estruturada em nove pontos, para o atributo “aparência geral”.

Dia	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
0	5,90 <sup>aA</sup> ± 1,84	6,20 <sup>aA</sup> ± 1,78	7,00 <sup>aA</sup> ± 1,64	6,23 <sup>aA</sup> ± 1,92
2	6,06 <sup>aA</sup> ± 1,87	5,75 <sup>aA</sup> ± 2,10	6,46 <sup>aA</sup> ± 1,99	5,90 <sup>aA</sup> ± 2,15
5	2,63 <sup>bA</sup> ± 1,94	5,70 <sup>aB</sup> ± 1,98	6,33 <sup>aB</sup> ± 1,60	6,20 <sup>aB</sup> ± 1,62
8	NR	6,00 <sup>aA</sup> ± 1,86	6,10 <sup>aA</sup> ± 1,80	5,00 <sup>aA</sup> ± 2,05
12	NR	4,73 <sup>aA</sup> ± 2,22	5,40 <sup>aA</sup> ± 1,79	5,33 <sup>aA</sup> ± 1,68
15	NR	3,33 <sup>bA</sup> ± 1,74	2,83 <sup>bA</sup> ± 1,46	5,10 <sup>aB</sup> ± 2,02
19	NR	NR	NR	4,16 <sup>b</sup> ± 2,05

NR: Não realizado devido ao fato dos parâmetros analisados neste estudo caracterizarem um produto impróprio para consumo.

T1 = amostras controle; T2 = amostras embaladas em atmosfera modificada; T3 = amostras irradiadas; T4 = amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas.

Obs. Médias na mesma coluna seguidas de letras minúsculas iguais e médias na mesma linha seguidas de letras maiúsculas, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% ( $<0,05$ ) de probabilidade segundo o teste de Tukey.

No dia zero de análise, as amostras submetidas aos tratamentos 2, 3 e 4 obtiveram maiores escores, porém, não diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) das amostras controle, ou seja, a irradiação e a embalagem em atmosfera modificada não interferiram, inicialmente, na qualidade sensorial nos filés de tilápia. No entanto, durante a avaliação, tanto a irradiação como a embalagem em atmosfera modificada interferiram significativamente ( $p<0,05$ ) na aparência geral dos filés.

Em relação às amostras controle, os julgadores observaram alteração significativa no 5º de estocagem sob refrigeração, provavelmente devido ao rápido processo de deterioração que refletiu em características sensoriais indesejáveis. Neste dia de avaliação, os escores obtidos para as amostras submetidas aos tratamentos 2, 3 e 4 diferiram significativamente ( $p<0,05$ ) em relação aos das amostras controle, ou seja, a irradiação e a embalagem em atmosfera modificada

mantiveram as características de qualidade desejáveis por um maior período de tempo.

No 15<sup>o</sup> dia de armazenamento, observou-se alterações significativas nas amostras submetidas aos tratamentos 2 e 3, enquanto as amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4), neste mesmo dia, diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ), permanecendo com características desejáveis até o 19<sup>o</sup> dia de estocagem. Provavelmente isto ocorreu, devido a capacidade da embalagem em atmosfera modificada conter o crescimento microbiano (TANIWAKI et al., 2009) e ao efeito de redução da carga bacteriana da radiação ionizante (SANTOS et al., 2003), o que, conseqüentemente, retarda as alterações sensoriais indesejáveis e prolonga a validade comercial do produto, fato também relatado por diversos autores (FERNÁNDEZ et al., 2009; SIQUEIRA, 2001; POLI et al., 2006; TEIXEIRA, 2009).

Vale ressaltar que, durante a avaliação sensorial, observou-se que o “drip” liberado, bem como, a textura flácida dos filés embalados com atmosfera modificada foi determinante na avaliação dos julgadores. Este fato pode ser explicado devido ao aumento da exsudação em carnes embaladas em atmosfera modificada ( $\text{CO}_2:\text{N}_2$ ). O efeito deve-se à redução do pH, devido a dissolução do  $\text{CO}_2$  na superfície, com conseqüente diminuição da capacidade de retenção da água pelas proteínas, o que, sensorialmente, determina o aumento da exsudação na embalagem e faz com que os filés se apresentem com textura flácida e cor pálida (STAMMEN et al., 1990; PARRY, 1995; SOCCOL; OETTERER, 2003). Além disso, a tilápia possui grande quantidade de água em sua composição, por ser um peixe magro, tornando, desta forma, mais evidente a exsudação.

Notou-se que as amostras submetidas ao tratamento 4 (embaladas em atmosfera modificada e irradiadas) mantiveram-se com características desejáveis por um maior período de tempo. Siqueira (2001) também observou que o processo de irradiação, associado a outros métodos de conservação conferiu boa aceitação sensorial para o atributo “aparência geral” de filés de tilápia, concordando com os resultados deste estudo. Isso provavelmente ocorreu devido ao efeito sinérgico de ambas as tecnologias empregadas no presente estudo, confirmando, desta forma, que a combinação de métodos de conservação é mais eficiente na extensão da validade comercial dos alimentos.

Além disso, como a embalagem em atmosfera modificada associada à irradiação interferiu significativamente na aparência geral dos filés no 15º dia de estocagem, sugeriu-se que os efeitos negativos da embalagem em atmosfera modificada, “drip”, textura flácida e coloração pálida, possam ter sido minimizados pelo processo de irradiação.

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

**Tabela 7:** Médias e desvio padrão dos escores referentes aos tratamentos utilizados nos filés de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) a partir do teste de aceitação usando escala hedônica estruturada em nove pontos, para o atributo “cor”.

Dia	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
0	5,96 <sup>aA</sup> ± 1,57	5,53 <sup>aA</sup> ± 2,02	6,76 <sup>aA</sup> ± 1,45	6,26 <sup>aA</sup> ± 1,89
2	5,73 <sup>aA</sup> ± 1,89	5,70 <sup>aA</sup> ± 1,84	6,30 <sup>aA</sup> ± 2,18	5,96 <sup>aA</sup> ± 1,92
5	2,66 <sup>bA</sup> ± 1,95	5,50 <sup>aB</sup> ± 2,20	6,23 <sup>aB</sup> ± 1,61	5,86 <sup>aB</sup> ± 2,23
8	NR	4,76 <sup>aA</sup> ± 2,28	6,06 <sup>aA</sup> ± 1,76	5,26 <sup>aA</sup> ± 1,94
12	NR	4,33 <sup>aA</sup> ± 2,13	5,13 <sup>aA</sup> ± 2,14	5,20 <sup>aA</sup> ± 1,84
15	NR	3,00 <sup>bA</sup> ± 1,87	2,33 <sup>bA</sup> ± 1,32	5,06 <sup>aB</sup> ± 2,19
19	NR	NR	NR	4,13 <sup>b</sup> ± 1,92

NR: Não realizado devido ao fato dos parâmetros analisados neste estudo caracterizarem um produto impróprio para consumo.

T1 = amostras controle; T2 = amostras embaladas em atmosfera modificada; T3 = amostras irradiadas; T4 = amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas.

Obs. Médias na mesma coluna seguidas de letras minúsculas iguais e médias na mesma linha seguidas de letras maiúsculas, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (<0,05) de probabilidade segundo o teste de Tukey.

Em relação ao atributo “cor”, a irradiação e a embalagem em atmosfera modificada não interferiram, inicialmente, na qualidade sensorial dos filés de tilápia. Apesar das amostras embaladas em atmosfera modificada (tratamento 2) terem

obtido os menores escores e aquelas amostras submetidas aos tratamentos 3 e 4 apresentarem os maiores, não foi observada diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras controle. Entretanto, tanto a irradiação como a embalagem em atmosfera modificada interferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) na cor dos filés durante o período de avaliação.

Da mesma forma que ocorreu com o atributo “aparência geral”, as alterações indesejáveis na cor dos filés foram observadas no 5º dia, nas amostras controle, no 15º, naquelas submetidas aos tratamentos 2 e 3, e no 19º dia de estocagem, nas amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4).

As amostras controle apresentaram rápido processo de deterioração que refletiu rapidamente em características sensoriais indesejáveis. Em contrapartida, as amostras submetidas aos tratamentos 2 e 3 demonstraram características de qualidade desejáveis até o 12º dia de estocagem, provavelmente, devido à capacidade da embalagem em atmosfera modificada de conter o crescimento microbiano (TANIWAKI et al., 2009) e ao efeito de redução da carga bacteriana pela radiação ionizante (SANTOS et al., 2003), o que, conseqüentemente, retarda as alterações sensoriais indesejáveis e prolonga a validade comercial do produto, fato também relatado por diversos autores (FERNÁNDEZ et al., 2009; SIQUEIRA, 2001; POLI et al., 2006; TEIXEIRA, 2009).

Durante o período de análise sensorial, observou-se uma descoloração dos filés embalados com atmosfera modificada e acredita-se que este fator tenha sido determinante na avaliação dos julgadores. Este fato é justificado por alguns autores (CHURCH, 1998; SOCCOL; OETTERER, 2003), os quais relatam que a ausência de oxigênio e a presença de  $\text{CO}_2$  levam a uma descoloração do filé de pescado, devido, provavelmente, a desoxigenação da mioglobina.

Diversos autores (BORSA et al., 2004; BREWER, 2004; SIQUEIRA, 2001; TEIXEIRA, 2009) relataram que o processo de irradiação interferiu positivamente no atributo “cor” de filés de tilápia, pois este processo pode conferir à carne uma tonalidade mais acentuada em relação a sua cor natural, devido à energia desprendida, bem como, às alterações químicas provocadas no grupo heme da mioglobina durante o processo de irradiação (BORSA et al., 2004; BREWER, 2004), o que não foi observado no presente estudo.

As amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas (tratamento 4), apresentaram características sensoriais desejáveis até o 15º dia, maior tempo quando comparado com os demais tratamentos, provavelmente devido ao efeito sinérgico dos dois métodos de conservação avaliados neste estudo. Além disso, sugeriu-se que os efeitos negativos da embalagem em atmosfera modificada, descoloração dos filés, possam ter sido minimizados pelo processo de irradiação, visto que as amostras submetidas ao tratamento 4 diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) daquelas embaladas em atmosfera modificada (tratamento 2) no 15º dia de armazenamento sob refrigeração. Abu-Tarboush et al. (1996) observaram que a irradiação aumentou a aceitabilidade sensorial, em relação ao atributo “cor”, de filés de tilápia embalados com ausência de oxigênio e presença de 40% de CO<sub>2</sub>.

Em suma, no teste de aceitação em escala hedônica de nove pontos, nos atributos “aparência geral” e “cor”, observou-se que a embalagem em atmosfera modificada e a irradiação, utilizada de forma isolada ou combinada, apesar de não terem influenciado positivamente nos filés de tilápia, no dia zero de análise, interferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) ao longo do período de estocagem sob refrigeração, visto que mantiveram as características de qualidade desejáveis por um período maior de tempo, aumentando, desta forma, a validade comercial dos mesmos.

Com o intuito de facilitar a comparação dos resultados, foi listado na Tabela 8, a validade comercial em dias das amostras submetidas aos tratamentos 1, 2, 3 e 4 determinada com base na evolução dos diferentes parâmetros analisados.



**Tabela 8:** Validade comercial, expressa em dias, de todas as análises realizadas em filés de Tilápia do Nilo (*O. niloticus*) estocados em gelo ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), referentes aos tratamentos T1 (embalados em aerobiose), T2 (embalados em atmosfera modificada), T3 (irradiados) e T4 (embalados em atmosfera modificada e irradiados).

Comercial (em dias)	Limites Validade Máximos Considerados	Tratamentos			
		T1	T2	T3	T4
Bases voláteis totais	30 mg N-BVT/100g*	6	13	15	18
Trimetilamina	4 mg de TMA/100g*	5	13	13	17
pH	6,5 (MI) e 6,8 (ME)*	5	12	13	20
Amônia	Negativo*	4	12	14	17
Ranço oxidativo	3,0 mg de malonaldeído/Kg**	7	14	13	15
CBHAM	8 log UFC/g de amostra***	4	13	14	17
CBHAP	8 log UFC/g de amostra***	4	17	18	20
“Aparência geral”	Escore de rejeição****	5	15	15	19
“Cor”	Escore de rejeição****	5	15	15	19
<b>Médias</b>		<b>5,00<sup>a</sup></b>	<b>13,78<sup>b</sup></b>	<b>14,44<sup>b</sup></b>	<b>18,00<sup>c</sup></b>
<b>± Desvio padrão</b>		<b>± 0,94</b>	<b>± 1,55</b>	<b>± 1,50</b>	<b>± 1,56</b>

T1 = amostras controle; T2 = amostras embaladas em atmosfera modificada; T3 = amostras irradiadas; T4 = amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas.

\*BRASIL, 1997; \*\*AL-KAHTANI et al., 1996; \*\*\*FRANCO; LANDGRAF,1996; \*\*\*\*Alteração estatisticamente significativa (GraphPad InStat, 1998).

CBHAM (Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas); CBHAP (Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotólicas).

MI (musculatura interna); ME (musculatura externa).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais, não diferem significativamente entre si ao nível de 5% (<0,05) de probabilidade segundo o teste de Tukey.

Na Tabela 8, observou-se que, apesar da reação de amônia ser um procedimento qualitativo, os resultados apresentaram tendência de boa correlação com as análises bacteriológicas e sensoriais. Em contrapartida, os resultados de N-BVT, TMA e pH não demonstraram boa correlação com as demais análises. A legislação nacional (BRASIL, 2008) prevê limites desses parâmetros para peixes, incluindo os de água doce, no entanto, esses valores são inadequados para avaliação de qualidade dessas espécies, pois apresentam baixo teor inicial de

OTMA e, por isso, torna-se necessário revisar criteriosamente os valores de BVT e TMA. Além disso, os valores de pH também precisam ser readequados de acordo com cada situação, já que podem variar de forma significativa em função do processo de despesca ou captura do pescado. Considerando uma boa correlação com as análises bacteriológicas e sensorial (Tabela 8), o presente estudo sugeriu os seguintes limites para as análises de N-BVT, TMA e pH em filés de tilápia estocados em gelo ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ): inferior a 18mg N-BVT/100g, até 3mg de TMA/100g e inferior a 6,4, respectivamente.

Quanto ao ranço oxidativo, como não há limites na legislação nacional, os resultados do presente estudo foram comparados com valores descritos na literatura (AL-KAHTANI et al., 1996), porém, o limite estabelecido por este autor (3,0mg de malonaldeído/kg) não foi alcançado, mesmo quando as amostras já apresentavam impróprias para consumo. Vale ressaltar que, qualquer indicativo de presença de ranço oxidativo em alimentos deveria caracterizá-los como impróprios para consumo, uma vez que qualquer traço de radical livre gera sérios problemas a saúde do consumidor e, por isso, as autoridades fiscais, em caráter de urgência, deveriam estabelecer criteriosamente um limite para este parâmetro em alimentos. Com base nesta afirmação e nos dados apresentados na Tabela 8, sugeriu-se o limite de até 1,0mg de malonaldeído/kg para filés de tilápia armazenados sob refrigeração ( $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Comparando-se a validade comercial dos tratamentos (Tabela 8), o efeito da irradiação e da embalagem em atmosfera modificada não diferiu significativamente em termos de validade comercial, todavia, observou-se diferença entre o comportamento dos resultados das análises físico-químicas e bacteriológicas durante o período de estocagem. A embalagem em atmosfera modificada não reduziu a carga bacteriana inicial (Figura 21), no entanto, diminuiu a taxa de crescimento bacteriano (fase logarítmica) ao longo do período de estocagem, devido à manutenção do efeito bacteriostático do  $\text{CO}_2$  durante o armazenamento. Em contrapartida, o processo de irradiação não demonstrou efeito sobre a diminuição da taxa de crescimento bacteriano (fase logarítmica) ao longo do período de armazenamento (Figura 21), porém, provocou redução da carga bacteriana inicial (99%), deixando os microrganismos em período de latência, seguido de um crescimento quadrático (mais elevado) no final do período de monitoração, provavelmente indicando uma recuperação mais rápida da microbiota em virtude do

nível mais baixo de competição. No entanto, ambos os métodos de conservação demonstraram eficácia na manutenção da qualidade dos filés de tilápia, não demonstrando diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em termos de validade comercial. A validade comercial das amostras embaladas em atmosfera modificada e irradiadas diferiu significativamente das amostras submetidas aos demais tratamentos. Apesar da redução da carga bacteriana inicial (92%) ter sido inferior, quando comparada aquela das amostras somente irradiadas, as amostras do tratamento 4 apresentaram uma maior validade comercial, pois somente nesse tratamento pode ser observado o efeito sinérgico da redução da carga bacteriana inicial (irradiação) e a redução da taxa de crescimento bacteriano (fase logarítmica) promovido pela embalagem em atmosfera modificada.

## 5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Conclui-se que os filés de tilápia controle estocados em gelo reciclável ( $0\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) apresentaram uma validade comercial de apenas quatro dias. Além disso, o processo de embalagem em atmosfera modificada foi eficaz, estendendo a validade comercial do produto em aproximadamente nove dias, triplicando a validade comercial do produto.

A validade comercial das amostras tratadas somente com irradiação foi de aproximadamente 14 dias, ou seja, denotando extensão de 10 dias, o que comprova a boa eficácia do tratamento no prolongamento da validade comercial do produto.

A maior extensão de validade comercial, 13 dias, foi observada nos filés tratados com ambos os métodos de conservação, o que demonstra o efeito sinérgico desses tratamentos e a viabilidade da aplicação desses métodos para aumentar em mais de 300% a validade comercial do produto.

Tendo em vista a eficácia dos tratamentos utilizados na extensão da validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*O. niloticus*), sugere-se a realização de uma pesquisa referente ao custo da implantação de um sistema de embalagem em atmosfera modificada e irradiação para um estabelecimento comercial, verificando, desta forma, sua viabilidade econômica.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-TARBOUSH, H. M.; AL-KAHTANI, H. A.; ATIA, M.; ABOU-ARAB, A. A.; BAJABER, A. S.; EL-MOJADDIDE, M. A. Irradiation and post-irradiation storage at  $2\pm 2^{\circ}\text{C}$  of tilapia (*Tilapia nilotica* X *T. aurea*) and Spanish mackerel (*Scomberomorus commerson*): sensory and microbial assessment. *Journal of Food Protection*, v. 59, n. 10, p. 1041-1048, 1996.

ADA REPORTS – American Dietetic Association. Position of the american dietetic association: food irradiation. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 96, n. 1, p. 69-72, 1996.

AHMED, I. O.; ALUR, M. D.; KAMAT, A. S.; BANDEKAR, J. R.; THOMAS, P. Influence of processing on the extension of shelf-life of Nagli-fish by gamma radiation. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 32, n. 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*, n. 35, número especial, p. 264-271, 2004.

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

APHA – American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4<sup>a</sup> ed. Washington, 2001. 1219p.

ARASHISAR, S.; HISAR, O.; KAYA, M.; YANIK, T. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology*, v. 97, p. 209-214, 2004.

ARAÚJO, J. M. A. *Química de Alimentos: Teoria e Prática*. 4<sup>a</sup> ed. Viçosa: UFV, 2008. 596p.

ARRUDA, L. F. *Aproveitamento do Resíduo do Beneficiamento da Tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) para obtenção de Silagem de Óleo como Subprodutos*. São Paulo, 2004. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, SP, 2004.

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*, v. 36, n. 1 e 2, p. 87-121, 1996.

AZEVEDO, C. A.; REGO, T. S.; FURTADO, W. R. *Irradiação de Alimentos*. Programa de Educação Tutorial, Ouro Preto, 19 Dez. 2004.

BARROS, G. C. Perda de qualidade do pescado, deterioração e putrefação. *Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária*, n. 30, p. 59-64, ano 9. Set/Dez., 2003.

BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; KLEEMANN, G.K, HISANO, H.; ROSA, G. J. M. Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.6, p.2149-2156, 2002.

BARTELS, H. *Inspeção veterinária de La carne. Medios auxiliares de diagnóstico en la inspección de carnes*. Zaragoza: Acribia, 1971. 494p.

BEIRÃO, L. H., TEIXEIRA, E., MEINERT, E. M. Processamento e industrialização de moluscos. In: Seminário e Workshop “Tecnologia para Aproveitamento Industrial de pescado”, Campinas, Resumos, Campinas, ITAL, p.38-84, 2000.

BERGARA-ALMEIDA, S.; SILVA, A. P. Hedonic scale with reference: performance in obtaining predictive models. *Food Quality and Preference*, v. 13, n. 1, p. 57-64, 2002.

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

BRASIL. Decreto nº 72.718 de 29 de agosto de 1973. Estabelece normas gerais sobre irradiação de alimentos. Diário Oficial, 30/08/1973.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Nacional – LANARA. *Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes II – Métodos Físicos e Químicos*. Brasília, DF, 1981.

\_\_\_\_\_. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal*, aprovado pelo Decreto nº 30.691 de 29/03/52, alterado pelos Decretos nº 1.255 de 25/06/62, 1.236 de 02/09/94, 1.812 de 08/02/96 e nº 2.244 de 04/06/97. Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 185 de 13 de maio de 1997. *Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado)*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 1997.

\_\_\_\_\_. 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, p. 14-18, set. 2003.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária – *Regulamento Técnico para Irradiação de Alimentos* - Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 21, de 26 de janeiro de 2001, publicado no DOU de 29.01.01, Brasília, 2001.

\_\_\_\_\_. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Estatística da pesca 2007 - Grandes regiões e unidades da federação. Brasília, DF, 2007. Disponível em <<http://www.ibama.gov.br/recursos-pesqueiros>>. Acesso em 20 de maio de 2009.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. *Tecnologia de carnes e pescados*. Centro de editoração / FAEPE, 2001. 240p.

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

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

CARDINAL, M.; GUNNLAUGSDOTTIR, H.; BJOERNEVIK, M.; OUISSE, A.; VALLET, J. L.; LEROI, F. Sensory characteristics of cold-smoke salmon (*Salmo salar*) from European market and relationships with chemical, physical and microbiological measurements. *Food Research International*, v. 37, p. 181-193, 2004.

CARDOSO, N. L. C.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; SERAFINI, A. B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia, GO. *Revista Higiene Alimentar*, v. 17, n 109, p. 81-87, jun. 2003.

CHAVES, J. B. P. *Análise sensorial: Histórico e Desenvolvimento*. Universidade Federal de Viçosa. Imprensa Universitária. 1993. 31p.

\_\_\_\_\_. Caderno didático 33: *Métodos de Diferença em Avaliação Sensorial de Alimentos e Bebidas*. Viçosa: UFV, 2001. 91p.

\_\_\_\_\_.; SPROESSER, R. L. Caderno didático 60: *Prática de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas*. Viçosa: UFV, 1996. 81p.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. Caderno Didático 66: *Prática de Laboratório de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas*. Viçosa: UFV, 2002. 81p.

CHURCH, N. Developments in modified atmosphere packaging and related technologies. *Trends in Food Science and Technology*, v. 5, p. 345-352, 1994.

CHURCH, N. Feature MAP fish and crustaceans-sensory enhancement. *Food Science and Technology Today*, v. 12, n. 2, p. 73-82, 1998.

CINTRA, I. H. A.; OGAWA, N. B. P.; SOUZA, M. R.; DINIZ, F. M.; OGAWA, M. Decomposition of trimethylamine oxide related to the use of sulfites in shrimp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas: SBCTA, V. 19, n. 3, 1999.

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

CODEX ALIMENTARIUS. 2 ed. V. IA, CAC/RCP: *Recommended International Code of Practice for the operation of irradiation facilities used for the treatment of foods*. FAO/WHO, Rome, 1995.

CONTE, L. *Produtividade e economicidade da tilapicultura em gaiolas na região sudeste do Estado de São Paulo: estudo de casos*. São Paulo, 2002. 73 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 2002.

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

\_\_\_\_\_. *Bioquímica de pescados e invertebrados*. Santiago: CECTA-USACH, 2002, 309p.

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, v. 12, n. 3, 2003.

DASSO, I. Qué ponemos en juego al degustar un alimento? *La Alimentación Latinoamericana*, v. 33, n. 229, p. 34-36, 1999.

DIEHL, J. F. Nutritional effects of combining irradiation with others treatments. *Food Control*, v. 2, p. 20-25, 1991.

\_\_\_\_\_. *Safety of irradiated foods*. New York, 2ª ed., Marcel Dekker, Incorporation, 1995. 345p.

DYER, W. J. Amines in fish muscle. I. Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate salt. *Journal of the fish research board of Canada*, v. 6, p. 351-358, 1945.



EILERT, S. J. New packaging technologies for the 21st century. *Meat Science*, Barking, v. 71, n. 1, p. 122-127, 2005.

EMBRAPA, 2005. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. *A aquicultura e a atividade pesqueira*. Disponível em: <<http://www.cnpma.embrapa.br/projetos/index.php3?sec=aquic:::27>>. Acesso em: 20 Jan. 2010.

ESAIASSEN, M.; NILSEN, H.; JOENSEN, S.; SKJERDAL, T.; EILERTSEN, G.; GUNDERSEN, B.; ELVEVOLL, E. Effects of catching methods on quality changes during storage of cod (*Gadus morhua*). *LWT – Food Science and Technology*, v. 37, p. 643-648, 2004.

FARKAS, J. Irradiation as a method for decontaminating food. A review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 44, n. 3, p. 189-204, 1998.

\_\_\_\_\_. Irradiation for better foods. *Trends in Food Science e Technology*, v.17, p.148-152, 2006.

FERNÁNDEZ, K.; ASPE, E.; ROECKEL, M. Shelf-life extension on fillets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) using natural additives, superchilling and modified atmosphere packaging. *Food Control*, v. 20, p. 1036-1042, 2009.

FERREIRA, S. R. S. *Contribuição da Tecnologia de Irradiação de Alimentos no Fornecimento de Segurança Alimentar e Nutricional*. Rio de Janeiro, 1999. 172 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) – Instituto de Nutrição, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

FIGUEIREDO, C. A. Jr.; VALENTE, A. S. V. Jr. *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 de 2008. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra>>. Acesso em: 21 Jan. 2010.

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

FREITA, R. M. *Preservação de alimentos por irradiação em baixas doses*. Rio de Janeiro, 2003. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Engenharia Nuclear) – Secretaria de Ciência e Tecnologia, Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2005.

FREITAS, M. Q. *Características e aceitação sensorial de mortadelas produzidas com carne mecanicamente separada de frango*. Viçosa, 2002. 129 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 629p.

GEYSEN, S.; VERLINDEN, B. E.; GEERAERD, A. H.; VAN IMPE, J. F.; MICHIELS, C. W.; NICOLAI, B. M. Predictive modeling and validation of *Listeria innocua* growth at speratmospheric oxygen and carbon dioxide concentrations. *International Journal of Food Microbiology*, v. 105, p. 333-345, 2005a.

GEYSEN, S.; VERLINDEN, B. E.; GEERAERD, A. H.; VAN IMPE, J. F.; MICHIELS, C. W.; NICOLAI, B. M. Predictive modeling and validation of *Pseudomonas fluorescens* growth at speratmospheric oxygen and carbon dioxide concentrations. *Food Microbiology*, v. 22, p. 149-158, 2005b.

GHADI, S. V.; VENUGOPAL, V. Influence of gamma irradiation and ice storage on fat oxidation in three Indian fish. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 26, n. 4, p. 397-401, 1991.

GIROUX, M.; LACROIX, M. Nutritional adequacy of irradiated meat – a review. *Food Research International*, v. 31, n. 4, p. 257-264, 1998.

GOKALP, H. T.; OCKERMAN, H. W.; PLIMPTON, R. F.; HARPER, W. J. Fatty acids of neutral lipids and phospholipids, rancidity scores and TBA values as influenced by packaging and storage. *Journal of Food Science*, v. 48, p. 829-834, 1983.

GRAY, J. I.; GOMMA, E. A.; BUCKELEY, D. J. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*, v. 43, p. 111-123, 1996.

GRIZOTTO, R. K.; MENEZES, H. C. Avaliação da Aceitação de “Chips” de Mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, n. 23, p.79 – 86, Dez 2003.

GUIMARÃES O. J.; SALES, R. O.; MONTEIRO, J. C. S. Análise química, microbiológica e sensorial da tilápia do Nilo (*Sarotherodon nilotic*), conservada em gelo. *Revista Ciência Agronômica*, v. 19, n. 1, p. 147-151, 1988.

HERNANDES, N. K; VITAL, H. C; SABAA-SRUR, A. U. O. Irradiação de alimentos: Vantagens e Limitações - *Bol. SBCTA*, Campinas, 37(2): 154-159, jul.-dez. 2003.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. Toxinfecções e Controle Higiênico-Sanitário de Alimentos. São Paulo: Livraria Varela, p. 137-139, 1998.

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*, v. 33, n.4, p. 339-344, 1998. .

HUSS, H. H. Garantia da qualidade dos produtos da pesca. *FAO – Documento Técnico sobre as Pescas nº 334*. Roma, Itália, FAO, 1997. 176p.

\_\_\_\_\_. Quality and Quality changes in fresh fish. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations. *Fisheries Technical Paper*, n. 348, 1995. 195p.

HUTZIER, R. U. Utilização de irradiação em carnes de aves e produtos derivados. *Revista Nacional da Carne*, n. 250, p. 34-37, 1997.

ICGFI - INTERNATIONAL CONSULTIVE GROUP ON FOOD IRRADIATION. *Facts about food irradiation*. Viena, Austria, 1999. 53p.

ICMSF - International Commission on Microbial Specifications for Foods. Microorganisms in foods.2. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2. ed. Blackwell Scientific Publications, 1986.

JAY, J. M. Conservação de alimentos em atmosfera modificada. In: *Microbiologia de alimentos*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, cap. 14, p. 307-322, 2005. 712p.

\_\_\_\_\_. *Microbiologia dos alimentos*. Ed. Guanabara Koogan, p. 308-324, 2004.

KAI, M.; MORAIS, C. Vias de deterioração do pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U. E. *Controle de qualidade do pescado*. Santos: Leopaldium, p. 13-20, 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*, v. 35, p. 1248-1254, 1984.

KILCAST, D. Effect of irradiation on vitamins. *Food Chemistry*, v. 49, p. 157-164, 1994.

KING, T.; FERENCI, T.; SZABO, E. A. The effect of growth atmosphere on the ability of *Listeria monocytogenes* to survive exposure to acid, proteolytic enzymes and bile salts. *International Journal of Food Microbiology*, v. 84, p. 133-143, 2003.

KOSTAKI, M.; GIATRAKOU, V.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. *Food Microbiology*, v. 26, p. 475-482, 2009.

KOUTSOUMANIS, K. P.; STAMATIOU, A. P.; DROSINOSC, E. H.; NYCHAS, G. J. E. Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self-developed modified atmosphere induced by respiratory activity of meat microbiota. *Food Microbiology*, v. 25, p. 915-921, 2008.

KUBITZA, F. *Tilápia (Oreochromis sp.): tecnologia e planejamento na produção comercial*. Divisão de Biblioteca e Documentação, Jundiaí, São Paulo, 2000. 285p.

\_\_\_\_\_. Tilápias na bola de cristal. *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, v.17, n. 99, p.15-21, jan./fev. 2007. Disponível em: <<http://www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/revistas/99/Kub99.asp>>. Acesso em: 15 maio 2009.

LEE, M.; SEBRANEK, J. G.; OLSON, D. G.; DICKSON, J. S. Irradiation and packaging of fresh meat and poultry. *Journal Food Protection*, v. 59, n. 1, 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, Paraná*, p. 01-14, junho 2004.

LOPES, T. G. G. Efeito sinérgico da radiação gama e da refrigeração na conservação do camarão-branco-do pacífico (*Litopenaeus vannamei*). 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, São Paulo, 2006.

LOUGHRAN, M.; DIAMOND, D. Monitoring of volatile bases in fish sample headspace using an acidochromic dye. *Food Chemistry*, v. 69, n. 1, p. 97-103, 2000.

LUCHT, L.; BLANK, G.; BORSA, J. Recovery of foodborne microorganisms from potentially lethal irradiation damage. *Journal of Food Protection*, v. 61, p. 586-690, 1998.

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

MALAVOTA, L. C. M.; CONTE-JÚNIOR, C. A.; MACEDO, B. T.; LOPES, M. M.; SOUZA, V. G.; STUSSI, J. S. P.; PARDI, H. S.; MANO, S. B. Análise micológica de linguiça de frango embalada em atmosfera modificada. *Revista Brasileira de Ciências Veterinária*, v. 13, n. 1, p. 3-9, jan./abr. 2006.

MANO, S. B., ORDOÑEZ, J. A.; GARCIA, G. D. F. de. Growth/survival of natural flora and *Aeromonas hydrophila* on refrigerated uncooked pork and turkey packaged in modified atmospheres. *Food Microbiology*, 17, p. 657-669, 2000.

MARCHIONI, E.; HORVATOVICH, P.; ENNAHAR, S.; NDIAYE, B. *Production yields of 2-alkylcyclobutanones in irradiated foods*. 2009 International Nuclear Atlantic Conference – INAC, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, setembro a outubro, 2009.

MARENGONI, N. G. Produção de tilápias do nilo *Oreochromis niloticus* (Linhagem Chitralada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. *Archivos de Zootecnia*, v. 55, n. 210, p. 127-138, 2006.

MÁRSICO, E. T.; MANO, S. B. Tópicos em Controle Físico-Químico de Produtos de Origem Animal (Apostila). *Controle Físico-Químico de Pescado Fresco, Resfriado ou Congelado*, Cap. XII, p. 77-85, 2008.

\_\_\_\_\_, OLIVEIRA, C. M.; FERREIRA, P. V.; ANTUNES, L.; SOBREIRO, L. G. Avaliação da qualidade de sushis e sashimis comercializados em shoppings centers. *Higiene Alimentar*, v. 20, p. 63-65, 2006.

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*, v. 82, n. 8, p. 873-880, 2002.

MATHIAS, M. A. C. *Aquicultura: potencial produtivo no Estado do Rio de Janeiro: criação de peixes e camarões de água doce*. Rio de Janeiro: SEBRAE/RJ, 2004. 128p.

MAUSSE, E. C. J. Shelf life of red fish stored in ice and modified atmosphere (MA) and some aspects on the development of a Quality Index Method (QIM) scheme for red fish stored in MA. Fisheries Training Programme. The United Nations University. Final Project, 2000. Beira, Mozambique, 2000.

MELLO, L. C. *Alimentos irradiados*. Nutriweb. Campinas, v. 2, n. 2, abr./jun. 2000. Disponível em: <<http://www.nutriweb.org.br>>. Acesso em: 26 jul. 2009.

MELTON, S. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology*, v. 7, n. 37, p. 105-111, 1983.

MERRITT Jr., C.; VAJDI, M.; ANGELINI, P. A. A quantitative comparison of the yields of radiolytic products in various meats and their relationship to precursors. *Journal American Oil Chemistry Society*, v. 62, p. 708-713, 1985.

MILLAR, S. J.; MOSS, B. W.; STEVENSON, M. H. The effect of ionizing radiation on the colour of beef, pork and lamb. *Meat Science*, v. 55, n. 5, p. 349-360, 2000.

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, v. 23, dez. 2003.

MOLLER, 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>>. Acesso em: 23 mar. 2010.

MUKUNDAN, M. K.; ANTONY, P. D.; NAIR, N. R. *A review on autolysis in fish*. *Fisheries research*. Amsterdam, v. 4, p. 259-269, 1986.

NAM, K. C.; AHN, D. U. Combination of aerobic and vacuum packaging to control lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated raw turkey breast. *Meat Science*, v. 63, n. 3, p. 389-395, 2003.

NETTO, F. M. Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo. Campinas, 1984. 148 f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da UNICAMP, Campinas, 1984.

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. Florianópolis, 2002. 121 f. Dissertação (Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

OETTERER, M. *Agroindústrias beneficiadoras de pescado cultivado: unidades modulares e polivalentes para implantação, com enfoque nos pontos críticos higiênicos e nutricionais*. Piracicaba: 1999. 196 f. Tese (Livre – Docência). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1999.

OETTERER, M. Técnicas de beneficiamento e conservação do pescado de água doce. *Panorama da Aquicultura*, v. 8, n. 46, p. 14-20, 1998.

\_\_\_\_\_. *Tecnologia de Pescado*. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição. Disponível em: <<http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Tecnologia%20do%20Pescado.pdf>> . Acesso em: 22 Jan. 2010.

OGAWA, M.; MAIA, E. *Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia de Pescados*. São Paulo: Livraria Varela, 1999. 430p.

OLIVEIRA, E. R. N. *Deterioração do frescor*. Apostila da disciplina de qualidade do pescado, Toledo, 2004.

OLSON, D. G. Irradiation of food. *Food Technology*, v. 52, n. 11, p. 56-60, 1998.

ORDOÑEZ, A. J. *Tecnologia de alimentos*. Porto Alegre: Artmed, 2005.

ORNELLAS, C. B. D.; GONÇALVES, M. P. J.; SILVA, P. R.; MARTINS, R. T. Atitude do consumidor frente a irradiação de alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 1, Jan./Mar. 2006.

OSAWA, C. C.; FELÍCIO, P. E.; GONÇALVES, L. A. G. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. *Revista Química Nova*, v. 28, n. 4, São Paulo, Julho/Agosto, 2005.

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

PASTORIZA, L.; SAMPEDRO, G.; HERRERA, J. J.; CABO, M. L. Influence of sodium chloride and modified atmosphere packaging and microbiological, chemical and sensorial properties in ice storage of slices of hake (*Merluccius merluccius*). *Food Chemistry*, v. 61, n. 1 e 2, p. 23-28, 1998.

PATSIAS, A.; BADEKA, A. V.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets. *Food Microbiology*, v. 25, p. 575-581, 2008.

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, E. P.; GAMEIRO, A. H. Análise da tilapicultura brasileira com ênfase no comércio internacional. XLV Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, UEL, Londrina, Paraná, 22 a 25 de julho de 2007.

PEREIRA, K. C. *Estudo Tecnológico de Conservação e Processamento de Tilápia (Oreochromis niloticus)*. 1997. 53 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC, Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, SC, 1997.

PEREIRA, W. D.; ATHAYDE, A. H.; PINTO, K. P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na Cidade de Maceió, Alagoas – AL. *Revista Higiene Alimentar*, v. 15, n. 84, 2001.

PIGOTT, G. M.; TUCKER, B. W. *Seafood: effects of technology on nutrition*. New York: Marcel Dekker, cap. 7, p. 32-84, 176-205, 1990.

POLI, B. M.; MESSINI, A.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; VIGIANE, V.; GIORGI, G.; VICENZINI, 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*, v. 41, p. 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*, v. 59, n. 1, 1994.

REALE, A.; SORRENTINO, E.; IAFFALDANO, N.; ROSATO, M. P.; RAGNI, P.; COPPOLA, R.; CAPITANI, D.; SOBOLEV, A. P.; TREMONTE, P.; SUCCI, M.; MANNINA, L. Effects of ionizing radiation and modified atmosphere packaging on the shelf life of aqua-cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 24, n. 12, p. 2757-2765, 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*, v. 59, n. 2, p.260-264, 1994.

\_\_\_\_\_.; VILLANUEVA, M.; KAUTTER, D. A. A shelf life of modified atmosphere package fresh tilapia fillets stored under refrigeration and temperature abuse conditions. *Journal of Food Protection*, v. 58, n. 8, p. 908-914, 1995.

RELA, P. R. Cresce uso de irradiação para conservação de alimentos. *Engenharia de Alimentos*, v. 6, n. 29, p. 26-29, 2000.

RODRIGUES, T. P. *Estudo de critérios para avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) cultivada, eviscerada e estocada em gelo*. Niterói, 2008. 116 f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2008.

RODRIGUEZ, O.; LOSADA, V.; AUBOURG, S.; BARROS-VELAZQUEZ, J. Enhanced shelf-life of chilled European hake (*Merluccius merluccius*) stored in slurry ice as determined by sensory analysis and assessment of microbiological activity. *Food Research International*, v. 37, p. 749-757, 2004.

ROSA, V. P. *Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo minas frescal*. Piracicaba, 2004. 155 f. Dissertação apresentada a Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2004.

ROTABAKK, B. T.; LEKANG, O. I.; SIVERTSVIK, M. Volumetric method to determine carbon dioxide solubility and absorption rate in foods packaged in flexible or semi rigid package. *Journal of Food Engineering*, v. 82, p. 43-50, 2007.

RUIVO, E. U. A análise sensorial na avaliação da qualidade do pescado. In: SEMINÁRIO SOBRE CONTROLE DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE PESCADO, 1988, Santos – São Paulo. *Anais...* Santos: Leopoldianum, p. 69-80, 1988.

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, v. 23, n. 2, maio/ago. 2003.

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

\_\_\_\_\_; SOLER, R. M. Embalagens com atmosfera modificada/controlada. *Catálogo Brasileiro de Produtos e Serviços*. Campinas, Itai, Jul. 1994.

SATIN, M. Use of irradiation for microbial decontamination of meat: situation and perspectives. *Meat Science*, v. 62, p. 277-283, 2002.

SCORVO FILHO, J. D. Custo operacional de produção da criação de tilápias vermelha da flórida e tailandesa em tanques-rede de pequeno volume. *Informações Econômicas*, São Paulo, v. 36, n. 10, p. 71-79, 2006.

SEBRAE. *Aquicultura e pesca: tilápias*. Estudos de Mercado SEBRAE/ESPM, 2008.

SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A.; BURT, J. R. Postharvest biochemical and microbial changes. In: SIKORSKI, Z. E. *Seafood: resources, nutritional, composition and preservation*. Boca Raton: CRC Press, p. 55-73, 1994.

SIMÕES, D. R. S.; PEDROSO, M. A. W.; RUIZ, A.; ALMEIDA, T. L. Hambúrgueres formulados com base protéica de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, Out./Dez. 1998.



SIQUEIRA, A. A. Z. C. *Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápia (Oreochromis niloticus)*, 2001. 154 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SIVERTSVIK, M. The optimized modified atmosphere for packaging of prerigor filleted farmed cod (*Gadus morhua*) is 63 ml/100 ml oxygen and 37 ml/ 100 ml carbon dioxide. *Food Science and Technology*, v. 3, n. 40, p. 430–438, 2007.

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*, n. 37, 2002.

\_\_\_\_\_.; ROSNES, J. T.; KLEIBERG, G. H. The effect of modified atmosphere packaging and superchilled storage on the microbial and sensorial quality of atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Journal of Food Science*, v. 68, n. 4, p. 1467-1472, 2003.

SOARES, V. F. M.; VALE, S. R.; GLÓRIA, M. B. A.; JUNQUEIRA, R. G. Teores de histamina e qualidade físico-química e sensorial do filé de peixe congelado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 18, n. 4, p. 462-467, 1998.

SOCCOL, M. C. H. Otimização da vida útil da tilápia cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração. Piracicaba, 2002. 141 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SOCCOL, M. C. H.; OETTERER, M. Use of modified atmosphere in seafood preservation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 46, n. 4, p. 569-580, December 2003.

\_\_\_\_\_.; OETTERER, M.; GALLO, C. R.; SPOTO, M. H. F.; BIATO, D. O. Effects of modified atmosphere and vacuum on the shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 8, n. 1, p. 7-15, 2005.

SOUZA, A. R. M.; VALTER, A.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Efeito da radiação gama e do armazenamento na oxidação lipídica e no colesterol de carne de cordeiros da raça Santa Inês. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 1, 2007.

SPINKS, J. W. T.; WOODS, R. J. *An introduction to radiation chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 2 ed., 1976.

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, Parte 27, p. 421-439, 2001.

STAMMEN, k.; GERDES, D.; CAPORASO, F. Modified atmosphere packaging of seafood. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 29, n. 5, 1990.

STEELE, J. H. Food Irradiation: A Public Health Measure Long Overdue! *Nuclear report*, Washington, p. 1-4, 1999.

STILES, M. E. Scientific principles of control/modified atmosphere packaging. In: *Modified Atmosphere Packaging of Food* (eds. Ooraikul B. e Stiles M. E.). Ellis Horwood, New York, 1990.

STONE, H.; SIDEL, J. L. *Sensory evaluation practices*. 2. ed. London: Academic Press, Inc., 1993. 338p.

TANCREDI, R. C. P.; FERES, R. S. R.; SILVA, Y. Avaliação das condições higiênico-sanitárias na comercialização de pescados do Rio de Janeiro. Resumo apresentado no 6º Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos. In: *Revista Higiene Alimentar*, v. 15, n. 80-81, p. 103, 2001.

TANIWAKI, M. H.; HOCKING, A. D.; PITT, J. I.; FLEET, G. H. Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres. *International Journal of Food Microbiology*, v. 132, p. 100-108, 2009.

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*, v. 37., January, 1960.

TAUB, I. A.; EIBEN, K. Transient solvated electron, hydroxyl, and hydroperoxy radicals in pulse-irradiated crystalline ice. *Journal Chemistry Physical*, v. 49, p. 2499-2513, 1968.

TEIXEIRA, C. E. *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, 2009. 119 f. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2009.

TEODORO, A. J.; ANDRADE, E. C. B.; MANO, S. B. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 1, p. 158-161, 2007.

THOMAS, P.; BRUSHAN, M. R.; RAMAMURTHY, M. S. Comparative studies on the efficacy of gamma irradiation, heat, refrigeration and combined treatments as a quarantine treatment for mango fruit. In: *Research Agreement n. IND-5919/CFFinal Report*, IAEA, Vienna, Áustria, p. 299-314, 1996.

TIMM, M.; JORGENSEN, B. M. Simultaneous determination of ammonia, dimethylamine, trimethylamine and trimethylamine-oxide in fish extracts by capillary electrophoresis with indirect UV-detection. *Food Chemistry*, Denmark, v. 76, n. 4, p. 509-518, 2002.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. *Teste de TBA: ranço em alimentos*. *Revista Nacional da Carne*, v. 5, n. 243, p. 68-76, 1997.

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

VALLEY, G. The effect of carbon dioxide on bacteria. *Quarterly Review of Biology*, v. 3, p. 209-224, 1928.

VELLOSO, E. A. *Avaliação sensorial e físico-química de filés de tilápia tailandesa (Oreochromis niloticus) refrigerados e submetidos à radiação gama*. Niterói, 2004. 68 f. Monografia (Especialização em Irradiação de Alimentos), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

VIEIRA, R. H. S. F. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado*. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 380p.

VIEIRA, R. H. S. F.; RODRIGUES, D. P.; BARRETO, N. S. E.; SOUSA, O. V.; TÔRRES, R. C. O.; RIBEIRO, R. V.; SAKER-SAMPAIO, S.; NASCIMENTO, S. M. M. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática*. São Paulo: Livraria Varela, 2003.

VITAL, H. C. Mapeamento dosimétrico do irradiador gama do IPE. Nota Técnica Interna do IPE, 2000. *Notas do Curso de Irradiação de alimentos*, IPE, 2002.

\_\_\_\_\_. *Notas da Disciplina Ensaio Práticos de Irradiação de Alimentos do Curso de Especialização Lato Sensu em Irradiação de Alimentos da UFF*, DDQBN/CTEx, 2005.

\_\_\_\_\_; FREIRE, M. Jr. A irradiação de alimentos. In: AMAURI ROSENTHAL (Org.). *Tecnologia de Alimentos e Inovação: Tendências e Perspectivas*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, Cap. 11, p. 1-193, 2008.

\_\_\_\_\_; HERNANDES, N. K.; SANTOS, A. Conservação de alimentos por irradiação. *Revista Ctex P&B*, v. 2, p. 45-50, 2008.

\_\_\_\_\_; PIRES, L. F. G.; LIMA, R. Q.; VELLOZO, S. O. *Experimentos dosimétricos no irradiador gama do IPE*. In: 5º ENCONTRO NACIONAL DE APLICAÇÕES NUCLEARES (ENAN), Rio de Janeiro, RJ, 15-20 de Outubro de 2000.

WAGNER, P. M.; RIBEIRO, R. P.; MOREIRA, H. L. M.; VARGAS, L.; POVH, J. A. 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.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Safety and nutritional adequacy of irradiated food*. Geneva, 1994. 161p.

WILKINSON, B. H. P.; JANZ, J. A. M.; MOREL, P. C. H.; PURCHAS, R. W.; HENDRIKS, W. H. The effect of modified atmosphere packaging with carbon monoxide on the storage quality of master-packaged fresh pork. *Meat Science*, v. 73, p. 605-610, 2006.

WOLFE, S. K. Use of CO and CO<sub>2</sub> enriched atmospheres for meats, fish and produce. *Food Technology*, v. 4, p. 55-58, 1980.

ZANINI, M. S.; MARTINS, J. D.; KORRES, A. N.; TOBIAS, A. F. L. Avaliação microbiológica do gelo de balcão frigorífico de peixarias da grande Vitória – ES. Resumo apresentado no 6º Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos. In: *Revista Higiene Alimentar*, v. 15, n. 80/81, p. 122, 2001.

ZIMMERMANN, S. Bom desempenho das Chitraladas no Brasil. Panorama da Aquicultura, Rio de Janeiro, v. 10, n. 60, p. 15-19, 2000.

\_\_\_\_\_. Tilapia é o peixe mais criado no Brasil. *Catálogo Oficial do Seafood*, 2004. Disponível em: <[http://www.uov.com.br/biblioteca/266/tilapia\\_e\\_o\\_peixe\\_mais\\_criado\\_no\\_brasil.html](http://www.uov.com.br/biblioteca/266/tilapia_e_o_peixe_mais_criado_no_brasil.html)>. Acesso em: 20 Jan. 2010.

\_\_\_\_\_; HASPER, T. O. B. Piscicultura no Brasil: processo de intensificação da tilapicultura. In: 41º REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 2004. Campo Grande: *Anais...* Campo Grande, 2004. CD-ROM.

## 7 APÊNDICES

### 7.1 ARTIGO SUBMETIDOS A PERÍODICOS

**7.1.1 MONTEIRO, M. L. G.;** MÁRSICO, E. T.; TEIXEIRA, C. E.; VITAL, H. C.; MANO, S. B.; CONTE-JUNIOR, C. A. Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados tratados com irradiação e embalados em atmosfera modificada. *Ciência Rural*, 2011 (Em avaliação).

**7.1.2 MONTEIRO, M. L. G.;** MÁRSICO, E. T.; VITAL, H. C. Efeitos da irradiação nos parâmetros físico-químicos de atuns (*Thunnus atlanticus*) inteiros e eviscerados resfriados. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 2010 (Aceito).

**7.1.3 SIRENO, M.;** MÁRSICO, E. T.; FERREIRA, M. S. da; **MONTEIRO, M. L. G.;** VITAL, H. C.; CONTE-JUNIOR, C. A.; MANO, S. B. Propriedades físico-químicas, sensoriais e bacteriológicas de camarões (*Litopenaeus brasiliensis*) irradiados e armazenados sob refrigeração. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 2010 (Aceito).

## 7.2 TRABALHOS APRESENTADOS EM EVENTOS

**7.2.1** XI CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, Salvador, de 26 a 29 de abril de 2011. Avaliação bacteriológica e sensorial de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. **Monteiro, M. L. G.**; Mársico, E. T.; Teixeira, C. E.; Vital, H. C.; Mano, S. B.; Conte-Junior, C. A.

**7.2.2** XI CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, Salvador, de 26 a 29 de abril de 2011. Avaliação físico-química de filés de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. **Monteiro, M. L. G.**; Mársico, E. T.; Teixeira, C. E.; Vital, H. C.; Mano, S. B.; Conte-Junior, C. A.

**7.2.3** INAC International Nuclear Atlantic Conference (IX ENAN), Rio de Janeiro, 27 de setembro a 02 de outubro de 2009. Physicochemical evaluations of the effects of evisceration and irradiation on the conservation of refrigerated blackfin tuna (*Thunnus atlanticus*) (Apresentação oral). **Monteiro, M. L. G.**; Mársico, E. T.; Vital, H. C.

**7.2.4** II Mostra UFF em Higiene e Tecnologia de Alimentos, 6 de novembro de 2009. A irradiação como método de conservação de atuns. **Monteiro, M. L. G.**; Mantilla, S. P. S.; Silva, C.; Roberta, R. O. R.; Mársico, E. T.; Vital, H. C.

**7.2.5** II Mostra UFF em Higiene e Tecnologia de Alimentos, 6 de novembro de 2009. Embalagem em atmosfera modificada e irradiação na qualidade microbiológica e sensorial de filé de tilápia. **Monteiro, M. L. G.**; Mantilla, S. P. S.; Mársico, E. T.; Vital, H. C.

**7.2.6** II Mostra UFF em Higiene e Tecnologia de Alimentos, 6 de novembro de 2009. Legislação brasileira sobre metais em alimentos: revisão. Silva, C.; Silva, Y.; Roberta, R. O. R.; **Monteiro, M. L. G.**; Mársico, E. T.