

AMADA MARIA LANDA SARMIENTO

**CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E
SENSORIAIS DE FILÉS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
CONSERVADOS EM ATMOSFERAS MODIFICADAS SOB
REFRIGERAÇÃO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2006**

AMADA MARIA LANDA SARMIENTO

**CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS, FÍSICO-QUÍMICAS E
SENSORIAIS DE FILÉS DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
CONSERVADOS EM ATMOSFERAS MODIFICADAS SOB
REFRIGERAÇÃO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*

APROVADA: 29 de setembro de 2006

Prof.^a. Maria Cristina Dantas Vanetti
(Co-Orientadora)

Prof. José Benício Paes Chaves
(Co-Orientador)

Prof.^a. Nilda de Fátima Ferreira Soares

Prof. Marco Túlio Coelho Silva

Prof. Lúcio Alberto de Miranda Gomide
(Orientador)

Aos meus pais, Braulio Guillermo Landa Torres e Teresa Maria Sarmiento de Landa, pelo amor, apoio, auxílio espiritual e confiança que tenho recebido.

Aos meus irmãos Guillermo e Saulo, pelas palavras de força, carinho e compreensão.

A muitos amores da minha família, que formam parte do meu coração...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Pela vida, proteção e a força constante para alcançar esta meta.

Aos meus pais, Braulio e Teresa, pela oportunidade de realizar este estudo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos.

Ao professor Lúcio Alberto de Miranda Gomide, pela orientação, pelo apoio e pela amizade.

À professora Maria Cristina Dantas Vanetti, pelas orientações e pela permissão no uso do laboratório de Microbiologia de Alimentos.

Ao professor José Benício Paes Chaves, pelas sugestões, pelas críticas e ajuda indispensável na análise estatística dos dados.

À professora Ana Lúcia Salaro, pela colaboração técnica e fornecimento dos peixes.

Aos professores Nilda de Fátima Ferreira Soares e Marco Túlio Coelho Silva, membros da equipe, pela atenção e pelas oportunas considerações e sugestões.

Ao professor Carlos Roberto da Silva, pela colaboração técnica.

Ao professor Rolf Puschamann, pela contribuição de um dos gases usados neste estudo.

Aos funcionários, da Estação de Piscicultura, Sr. Paulo e João, pela colaboração prestada na captura dos peixes.

A Juliana, grande amiga, quem me auxiliou no desenvolvimento dos experimentos.

À Eliseth e Adriana porque não só me ensinaram a realizar as análises microbiológicas, pela linda amizade, nunca esquecerei de vocês.

Aos colegas que participaram da equipe da análise sensorial, pela ajuda e colaboração.

Aos amigos Abdias, Weskley, Fábila e Robledinho pela contribuição no abate dos peixes e realização das análises físico-químicas.

A todos os funcionários do Departamento de Alimentos, especialmente, Srs. Wandick, Zé Geraldo, Tomaz, Lelé, Geralda, Vânia, pela ajuda, atenção e simpatia.

Aos colegas e amigos Ana Clarissa, Fabiana, Igor, Cláudia, João, Stelito, Alfredo, Omar, Edwin, Sandra, Max, Charles, Ana Cláudia, Veridiana, pela ajuda, pelos conselhos e pelos muitos momentos agradáveis que compartilhamos juntos.

Às amigas Jessenia, Magnolia e Maria, pela amizade e carinho.

Aos meus avôs, tios e tias, pelas suas orações e palavras de incentivos.

Às amigas da república, Erica, Viviana, Viviane e Lídia, apesar do pouco tempo que moramos juntas, me brindaram uma linda convivência e amizade.

E a todos os outros professores, funcionários, colegas e amigos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Amada Maria Landa Sarmiento, filha de Braulio Guillermo Landa Torres e Teresa Maria Sarmiento de Landa, nasceu em Trujillo, Republica do Peru, em 3 de agosto de 1981.

Gradou-se em Engenharia de Alimentos pela Universidade Particular “Antenor Orrego” de Trujillo, Peru, em dezembro de 2003.

Em agosto de 2004, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Pescado: matéria-prima e produção.....	3
2.2. Abate de pescado.....	4
2.3. Transformações bioquímicas e microbiológicas <i>post mortem</i> na carne de pescado.....	7
2.4. Métodos de avaliação de frescor e da vida-de-prateleira do pescado refrigerado.....	9
2.5. Conservação sob atmosferas modificadas.....	13
2.5.1. Embalagem em atmosfera modificada (EAM).....	14
2.5.2. Misturas de gases utilizados na conservação de pescados.....	16
2.5.3. Uso de monóxido de carbono como parte da embalagem em atmosfera modificada.....	18
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1. Preparo da matéria-prima.....	23
3.2. Embalagem e injeção dos gases.....	25

3.3. Armazenamento e amostragem.....	25
3.4. Análises microbiológicas.....	25
3.5. Análises físico-químicas.....	27
3.5.1. Análise de pH.....	27
3.5.2. Análise de nitrogênio não protéico (NNP).....	27
3.5.3. Análise de bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT).....	28
3.5.4. Determinação das substancias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs).....	29
3.5.5. Determinação dos índices de cor.....	29
3.6. Análise sensorial descritiva.....	30
3.7. Delineamento experimental e análises estatísticas.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 Análises microbiológicas.....	35
4.1.1. Qualidade microbiológica dos filés de tilápias.....	35
4.1.2. Alterações microbiológicas dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante a estocagem refrigerada.....	36
4.1.2.1. Bactérias psicrotróficas aeróbias nos filés de tilápias.....	36
4.1.2.2. Bactérias psicrotróficas anaeróbias nos filés de tilápias.....	39
4.1.2.3. Bactérias lácticas nos filés de tilápia.....	40
4.2. Análises físico-químicas.....	42
4.2.1. Análise de pH.....	42
4.2.2. Análise de NNP.....	45
4.2.3. Análise de BNVT.....	46
4.2.4. Determinação de TBARs.....	49
4.2.5. Determinação dos índices de cor.....	51
4.2.5.1. Luminosidade.....	51
4.2.5.2. Índice de vermelho.....	55
4.2.5.3. índice de amarelo.....	57
4.2.5.4. Croma.....	60
4.2.5.5. Ângulo de tonalidade.....	62
4.3. Análise sensorial descritiva dos filés de tilápia.....	64
4.3.1. Cor visual.....	64
4.3.2. Limosidade sensorial.....	68

4.3.3. Textura sensorial.....	70
4.3.4. Odor sensorial.....	73
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	76
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
7. APÊNDICE.....	87

LISTA DE QUADROS

	Página
Quadro 1 - Resultados das análises microbiológicas dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas após 24 horas de estocagem a 2 ± 1 °C.....	36
Quadro 2 - Coeficientes de correlação entre cor subjetiva, contagens microbianas e índices objetivos de cor (lado externo).....	67
Quadro 3 - Coeficientes de correlação entre limosidade e contagens microbianas.....	70
Quadro 4 - Coeficientes de correlação entre textura e contagens microbianas.....	73
Quadro 5 - Coeficientes de correlação entre odor e contagens microbianas.....	75
Quadro 1A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de pH de filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	87
Quadro 2A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de pH de filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	87
Quadro 3A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de NNP (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a de estocagem 2 ± 1 °C.....	88
Quadro 4A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de NNP (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	88
Quadro 5A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de BNVT (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas	89

	avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	
Quadro 6A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de BNVT (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	89
Quadro 7A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de TBARs (mg malonaldeído/kg) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	90
Quadro 8A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de TBARs (mg malonaldeído/kg) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	90
Quadro 9A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	91
Quadro 10A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	91
Quadro 11A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	92
Quadro 12A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L*) em filés externos de tilápias embalado nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	92
Quadro 13A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (a*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	93
Quadro 14A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (a*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	93
Quadro 15A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (a*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	94
Quadro 16A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (a*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	94
Quadro 17A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (b*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	95
Quadro 18A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (b*) em filés internos de tilápias das atmosferas durante 1, 7 e 13 dias estocados de estocagem a 2 ± 1 °C.....	95

Quadro 19A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (h*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	96
Quadro 20A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (h*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	96
Quadro 21A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	97
Quadro 22A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	97
Quadro 23A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	98
Quadro 24A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	98
Quadro 25A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (h*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	99
Quadro 26A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (h*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	99
Quadro 27A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (h*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	100
Quadro 28A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (h*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	100
Quadro 29A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	101
Quadro 30A -	Resumo da análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, e 13 dias de estocagem a 2 ± 1 °C.....	101

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Fluxograma das etapas do abate de peixes.....	24
Figura 2 - Modelo da ficha utilizada para avaliação sensorial de filé de tilápias refrigerado.....	31
Figura 3 - Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias (Log UFC g ⁻¹) de bactérias psicrotróficas aeróbias em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	37
Figura 4 - Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias (Log UFC g ⁻¹) de bactérias psicrotróficas anaeróbias em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	39
Figura 5 - Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias (Log UFC g ⁻¹) de bactérias lácticas em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	41
Figura 6 - Variação dos valores de pH em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1°C.....	42
Figura 7 - Variação dos valores de NNP (mg N/100g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1°C.....	45
Figura 8 - Variação de BNVT (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1°C.....	47
Figura 9 - Variação de TBARs (mg malonaldeído/kg) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1°C.....	50
Figura 10 - Variação de luminosidade (L*) do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1°C.....	53
Figura 11 - Variação da luminosidade (L*) do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	53
Figura 12 - Variação da coordenada a* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	56

Figura 13 -	Varição da coordenada a* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	56
Figura 14 -	Varição da coordenada b* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	59
Figura 15 -	Varição da coordenada b* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	59
Figura 16 -	Varição da coordenada c* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	61
Figura 17 -	Varição da coordenada c* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	61
Figura 18 -	Varição da coordenada h* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	63
Figura 19 -	Varição da coordenada h* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	63
Figura 20 -	Varição do escore sensorial de cor (1 = agradável; 15 = desagradável) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	65
Figura 21 -	Varição do escore sensorial de limosidade (1 = ausência; 15 = presença) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	68
Figura 22 -	Varição do escore sensorial de textura (1 = firme e elástica; 15 = flácida e inelástica) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	71
Figura 23 -	Varição do escore sensorial de odor (1 = característico; 15 = não-característico) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.....	74

RESUMO

LANDA SARMIENTO, Amada Maria MS., Universidade Federal de Viçosa, setembro 2006. **Características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) conservados em atmosferas modificadas sob refrigeração.** Orientador: Lúcio Alberto de Miranda Gomide. Co-orientadores: Maria Cristina Dantas Vanetti, José Benício Paes Chaves e Ana Lúcia Salaro.

Estudou-se o efeito de diferentes atmosferas (vácuo, 100% CO + vácuo, 1% CO + 99% CO₂) sobre a qualidade microbiológica, química, cor objetiva no sistema CIELab e sensorial de filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) estocados a 2 ± 1 °C. Os resultados foram contrastados com aqueles de filés embalados em ar atmosférico (controle). A análise microbiológica dos filés indicou: ausência de *Salmonella* em 25 g, número de clostrídios-sulfito redutores inferior a 10^2 UFC.g⁻¹ e que o NMP de coliformes a 45 °C foi inferior ou igual a 23 nos filés de todos os tratamentos. Psicotróficos aeróbios e anaeróbios predominaram em todos os tratamentos avaliados. Nos filés embalados em 1% CO + 99% CO₂, a contagem de aeróbios psicotróficos de 10^7 UFC.g⁻¹ foi atingida após 18 dias de estocagem, e por volta de 13 dias nas demais atmosferas. Contagem de anaeróbios psicotróficos de 10^7 UFC.g⁻¹ foi atingida após 10 dias de estocagem em ar atmosférico e acima de 13 dias nas demais atmosferas. As bactérias lácticas apresentaram um aumento em torno de 4,5 ciclos logarítmicos nas amostras dos filés embalados em atmosferas modificadas, atingindo 10^7 UFC.g⁻¹ por volta de 13 dias de estocagem. Na atmosfera controle o crescimento de bactérias lácticas foi bem menor, jamais atingindo 10^7 UFC.g⁻¹.

Os valores de pH, NNP e TBARs dos filés de tilápias, sempre se apresentaram dentro dos valores limites propostos pela legislação, não sendo afetados ($P > 0,05$) pelo tipo de atmosfera ou pelo tempo de estocagem; também não diferiram ($P > 0,05$) daqueles de filés em atmosfera controle. Os valores de BNVT, considerado o melhor índice químico de frescor, dos filés de tilápias variaram ($P < 0,05$) com o tempo de estocagem e segundo o tipo de atmosfera. O limite de 30 mg N/100 g foi atingido por volta dos 16 dias de estocagem nos filés embalados em ar atmosférico e no 21º e 22º dias de estocagem nos filés embalados a vácuo e em atmosfera de 100% CO + vácuo. Nos filés embalados na atmosfera de 1% CO + 99% CO₂ este limite jamais foi atingido. O tipo de atmosfera afetou ($P < 0,05$) as seguintes coordenadas de cor: **L***, com os filés se tornando mais claros quando embalados em atmosfera de 1% CO + 99% CO₂ (lado interno) e de 1% CO + 99% CO₂ e 100%CO+vácuo (lado externo); **a***, com o lado interno dos filés do embalados em 1%CO + 99%CO₂ e 100%CO+vácuo se apresentando ($P < 0,05$) mais vermelhos do que os demais; **b***, com os lados interno e externo dos filés embalados em 1%CO + 99%CO₂ diferindo ($P < 0,05$) dos demais; **c***, com a intensidade de cor do lado interno dos filés embalados em 1%CO + 99% CO₂ diferindo ($P < 0,05$) dos demais; e **h***, com a tonalidade de cor dos lados interno e externo dos filés embalados sob vácuo diferindo ($P < 0,05$) dos demais. Durante a estocagem verificou-se ($P < 0,05$): aumento nos valores de **L*_{int}** dos filés embalados em 1% CO + 99% CO₂ e de **L*_{ext}** dos filés embalados em 1% CO + 99% CO₂ e 100% CO + vácuo, gerando uma cor mais clara; aumento de **b*_{int}** e **b*_{ext}** dos filés embalados em 1% CO + 99% CO₂, tornando-os mais amarelados; aumento de **c*_{int}** dos filés embalados em 1% CO + 99 %CO₂, tornando-os de cor mais intensa; diminuição de **h*_{int}** nos filés embalados a vácuo e aumento de **h*_{ext}** nos filés embalados a vácuo. Os escores sensoriais de cor evidenciaram ($P < 0,05$) que filés embalados em atmosferas baseadas em CO (1% CO + 99% CO₂ e 100% CO + vácuo) foram sempre mais agradáveis ao longo do tempo. Os atributos de limosidade e textura evidenciaram ($P < 0,05$) efeito da atmosfera e do tempo de estocagem. Os escores sensoriais de odor evidenciaram que, o cheiro dos filés tende ($P < 0,05$) a se tornar desagradável (não característico) com aumento no tempo de estocagem e que os filés embalados em ar atmosférico foram aqueles que apresentaram ($P < 0,05$) maior, e mais rápida, deterioração de odor. Conclui-se que o uso de atmosferas modificadas, em especial aquela baseada em 1% CO + 99% CO₂, promovem, durante o período de estocagem avaliado, melhor qualidade de filés de tilápias. Nesta atmosfera, a população de 10⁷ UFC g⁻¹ de psicotróficos aeróbios e anaeróbios foi alcançada mais

tardiamente, o que permitiu a manutenção das características sensoriais mais agradáveis e estáveis, e menor taxa de alteração nos índices químicos de qualidade, em especial do teor de BNVT, por mais tempo.

ABSTRACT

LANDA SARMIENTO, Amada Maria MS., Universidade Federal de Viçosa, September 2006. **Microbial, physicochemical and sensory profiles of refrigerated tilapias (*Oreochromis niloticus*) filets packaged under modified atmospheres.** Advisor: Lúcio Alberto de Miranda Gomide. Co-Advisors: Maria Cristina Dantas Vanetti, José Benício Paes Chaves e Ana Lúcia Salaro.

The experiment evaluated the effect of different atmospheres (Vacuum, 100% CO₂+ Vacuum, and 1% CO + 99% CO₂) on the microbial, chemical, sensory (color, odor, slime, and texture) and objective CIELab color profiles of refrigerated (2 ± 1 °C) Tilapia filets. The results were contrasted against those of filets packaged in air (control). The microbial analyses indicated, in the filets of all treatments: absence of *Salmonella* in 25 g, sulfite reducing clostridium counts below 10² UFC.g⁻¹ and coliform MPN equal or inferior to 23. Aerobe and anaerobe psychrotrophs predominated in every evaluated treatment. In the filets packaged on 1% CO + 99% CO₂, aerobic counts of 10⁷ UFC.g⁻¹ were obtained after 18 days of storage and by 13 days on those of the remaining atmospheres. Anaerobic counts of 10⁷ UFC.g⁻¹ were obtained after 10 days of storage on air and over 13 days for the filets packaged on the remaining atmospheres. Lactic acid bacteria of modified atmosphere packaged filets showed an increase of about 4.5 log cycles, reaching 10⁷ UFC.g⁻¹ at about 13 days of storage. On the control atmosphere the growth of lactic acid bacteria was quite inferior, never reaching 10⁷ UFC.g⁻¹. TBARS, pH and NPN values of the tilapia filets were always inside the Brazilian legal limits and were not affected (P > 0.05) by the atmosphere type or storage time; they also did not differ (P > 0.05) from those of the control atmosphere. TNVB values tilapia filets, considered the best chemical index of freshness,

varied ($P < 0.05$) with atmosphere type and storage time. For the filets packaged on the control atmosphere the 30 mg N/100 g limit was reached by 16 days of storage and on the 21st and 22nd days of storage for the filets packaged under vacuum and 100% CO + Vacuum. This limit was never reached in the filets packaged with 1%CO + 99%CO₂. The type of atmosphere affected ($P < 0.05$) the following objective color parameters: **L***, with the internal side of filets packaged in 1% CO + 99% CO₂ atmosphere and the external side of filets packaged in 1% CO + 99% CO₂ and 100% CO + Vácuum becoming paler; **a***, with the internal side of the filets packaged in 1% CO + 99% CO₂ and 100%CO + Vácuum showing redder ($P < 0.05$) than those of the remaining atmospheres; **b***, with both sides of the filets packaged in 1% CO + 99% CO₂ differing ($P < 0.05$) from those packaged in the remaining atmospheres; **c***, with color intensity of the internal side of filets packaged in 1% CO + 99% CO₂ differing ($P < 0.05$) from those packaged in the remaining atmospheres; and **h***, with color hue of both sides of vacuum packaged filets differing ($P < 0.05$) from all the remaining atmospheres. During storage time it was verified ($P < 0.05$): increase of **L*_{int}** in the filets packaged in 1%CO+99%CO₂ and **L*_{ext}** in the filets packaged in 1% CO + 99% CO₂ and 100% CO + Vácuum, yielding a paler color; increase of **b*_{int}** and **b*_{ext}** in the filets packaged in 1% CO + 99% CO₂, turning them yellowier; increase of **c*_{int}** in the filets packaged in 1% CO + 99% CO₂, increasing their color intensity; decrease of **h*_{int}** in the vacuum packaged filets. Color scores showed ($P < 0.05$) that filets packaged in CO based atmospheres (1% CO + 99% CO₂ and 100% CO + Vácuum) always presented more pleasant color during storage. Slime and texture scores were affected ($P < 0.05$) by atmosphere type and storage time. Odor scores showed ($P < 0.05$) that filets odor became unpleasant (non characteristic) during storage as well as that filets packaged with air were the ones showing ($P < 0.05$) greater, and faster, odor deterioration. It is concluded that the use of modified atmospheres, in special those of 1% CO + 99% CO₂, promote, during the evaluated storage time, better tilapia filets quality, inducing a slight reduction in microbial growth, more pleasant and stable sensory characteristics and lower alteration rate of chemical indexes, specially of TVNB.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos sistemas de produção de alimentos que mais cresce no mundo, sendo a piscicultura de água doce a atividade que vem se mostrando mais promissora. O pescado não só se constitui em excelente fonte alimentar mas também em fonte de divisas para o país, pela possibilidade de ser exportado.

Um dos problemas para a expansão do comércio de pescados é a sua alta perecibilidade, em especial quando comercializado na forma resfriada. Dependendo da espécie, da forma de obtenção, do processamento e do transporte, o período de conservação de pescados varia de 5 a 15 dias (TAVARES, 1988; CHURCH e PARSONS, 1995). Isto se deve às alterações microbianas, autolíticas e à oxidação de gorduras.

Atualmente os consumidores preferem produtos frescos ou resfriados, em virtude de sua maior praticidade de preparo. Assim, formas de processamento que permitam a extensão da vida-de-prateleira de pescados resfriados seriam de grande valia para aumentar o interesse do seu consumo e, conseqüentemente, maior crescimento da produção piscícola como uma fonte de divisas para o desenvolvimento sócio-econômico do país, principalmente quando se tem em vista a extensão territorial e a abundância dos mananciais hídricos.

O uso de atmosfera modificada, junto com a refrigeração, tem sido uma das técnicas de conservação de alimentos mais populares nos últimos anos, destacando-se aquelas baseadas na aplicação de vácuo e diferentes concentrações de CO₂ e gases inertes.

A introdução de atmosferas modificadas contendo monóxido de carbono (CO) para embalagens de carnes bovina, suína e de frango tem mostrado resultados animadores, pois,

além de controlar microrganismos aeróbios, permite a estabilização da cor das carnes ao longo do tempo de conservação. O CO é responsável pela estabilização de pigmentos hemínicos, conferindo coloração mais atrativa e maior estabilidade à oxidação. Apesar do processo de embalagens com atmosferas modificadas ser extensivamente pesquisado, avaliando aspectos microbiológicos, físicos, químicos e sensoriais, há poucos estudos a respeito da sua utilização na conservação da carne de peixe. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo comparar atmosferas baseadas na aplicação de CO com outras atmosferas usualmente aplicadas em pescados durante seu armazenamento sob refrigeração a 2 ± 1 °C, avaliando:

- Características microbiológicas: microrganismos psicrotróficos aeróbios e anaeróbios, e bactérias lácticas;
- Indicadores químicos: pH, nitrogênio não protéico, bases nitrogenadas voláteis totais e substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico;
- Índices objetivos de cor e
- Teste sensorial descritivo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Pescado: matéria-prima e produção

A composição química dos peixes varia de acordo com: espécie, idade, sexo, meio ambiente, época do ano, entre outros fatores. A composição do músculo de pescado pode variar em: 16 % a 21 % de proteínas, 0,2 % a 25 % de lipídios, menos de 0,5 % de carboidratos, 1,0 % a 1,5 % de substâncias inorgânicas e 81 % a 88 % de água (HUSS, 1998).

Com relação à quantidade e qualidade das proteínas, a carne do pescado é excelente fonte protéica independente da espécie, com alto teor, variando entre 15 % a 25 % (OETTERER, 1991). Entretanto, o consumo de carne de peixes no Brasil é incipiente, na faixa de 6,8 kg/pessoa/ano (ALISSON, 2005), estando bem abaixo da média mundial (16,0 kg/pessoa/ano) (PARMIGIANI, 2005) e do consumo nacional de carnes de frangos (33,3 kg/pessoa/ano), bovina (35,1 kg/pessoa/ano) e suína (11,2 kg/pessoa/ano) (ANUALPEC, 2005).

Dentre os peixes que apresentam potencial de comercialização no mercado nacional e internacional destaca-se a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Essa espécie foi introduzida no Nordeste do Brasil em 1971 e, atualmente, é encontrada em todo o território brasileiro, sendo muito apreciada pelo mercado consumidor.

Entre as características atribuídas a essa espécie destaca-se sua rusticidade, alta taxa de domesticidade e de prolificidade, grande precocidade, pouca susceptibilidade a doenças parasitárias (PADUA, 2000), carne branca de excelente paladar e ausência de micro-

espinhas, o que possibilita a filetagem e industrialização da carcaça (PADUA, 2000; CYRINO et al., 2004).

A produção mundial de tilápias nos últimos anos foi influenciada fortemente pela rápida expansão da espécie *O. niloticus*, cultivada na China, nas Filipinas, na Tailândia, na Indonésia e no Egito. Segundo FITZSIMMONS (2001), entre 1984 e 1995, a produção mundial extrativista e cultivada de tilápias apresentou um acréscimo significativo, passando de 198.000 toneladas (38 % da produção total) para 659.000 toneladas (57 % da produção total).

Em 2002, a produção nacional de tilápias do Nilo alcançou valores aproximados de 86.000 toneladas, projetando-se para 420.000 em 2010 (BRUGÈRE e RIDLER, 2005). Atualmente é a espécie de maior volume de produção da piscicultura, com produção estável e aceitação por parte do consumidor (CYRINO et al., 2004). Em alguns países, especialmente no continente asiático, as tilápias têm se convertido em um dos produtos básicos da alimentação, sendo comercializada na forma de filés resfriados e congelados, com preço de mercado competitivo.

CASTRO (2003) relata que a carne de tilápias contém 17,66 % de proteína e 80,01 % de umidade. O teor de lipídios é baixo (0,48 mg/100 g), com 48,3 % de ácidos graxos saturados (AGS), 26,4 % de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e 19,6 % de ácidos graxos polinsaturados (AGPI).

2.2. O abate do pescado

No Brasil, de forma geral, o abate e o processamento para obtenção de filés na indústria de peixes cultivados têm seguido as seguintes etapas:

2.2.1. Captura

Quando o pescado atinge o peso considerado ideal para o abate, o mesmo é capturado e transportado para tanques de depuração. Para a espécie em estudo, atualmente, o peso de abate gira em torno de 500 gramas (CYRINO et al., 2004).

O processo de captura deve ser rápido, de maneira a minimizar o estresse (PADUA, 2000), um dos principais responsáveis pela instalação rápida do *rigor mortis*, o qual

interfere na qualidade final do produto. É recomendável que a captura dos peixes ocorra em horários de temperaturas mais amenas, como nas primeiras horas da manhã ou no final da tarde (CYRINO et al., 2004).

2.2.2. Seleção

Para a indústria de processamento, os peixes capturados são selecionados baseando-se em características quanto ao seu estado de saúde, avaliado pela ausência de manchas, nadadeiras intactas, ausência de feridas no corpo do animal e peso (CYRINO et al., 2004).

2.2.3. Jejum

Após a captura e a seleção, os peixes permanecem em jejum com a finalidade de esvaziar completamente o trato-digestivo, podendo este procedimento ser considerado como técnica preparatória para o abate, pois com a eliminação dos restos de alimentos do trato digestivo, eliminam-se também substâncias responsáveis pela alteração do sabor da carne (OSTRENSKY e BOEGER, 1998). O esvaziamento do trato intestinal permite minimizar a contaminação microbiana durante a evisceração. Este tipo de contaminação acelera o processo de deterioração do peixe (CYRINO et al., 2004).

Durante o jejum os peixes são mantidos em tanque de água corrente, por um período que varia de 3 a 10 dias, dependendo da espécie e do tamanho do animal (PADUA, 2000; CYRINO et al., 2004; BIATO, 2005).

2.2.4. Transporte

O sucesso do transporte está intimamente ligado ao sistema de produção do pescado. Peixes saudáveis têm maior probabilidade de suportarem o transporte sem entrar em estresse e, conseqüentemente, gastarem reservas energéticas, o que poderá levar ao *rigor mortis* mais cedo. São usados para o transporte dos peixes, tanques de alumínio, fibra de vidro, PVC ou polietileno, de volume entre 500 e 4.000 litros. Também são empregados caminhões adaptados com caixas e outros equipamentos (PADUA, 2000).

2.2.5. Insensibilização

De acordo com PADUA (2000), a insensibilização dos peixes por eletronarcolese ou termonarcolese permite menor dano físico e maior período de *rigor mortis*, favorecendo a qualidade da carne. O procedimento mais comum para a insensibilização tem sido o choque térmico, que consiste em colocar os peixes em recipientes contendo água e gelo (1:1), por um tempo variável em função da espécie e tamanho.

2.2.6. Evisceração, decapitação e lavagem

A evisceração é a retirada dos órgãos internos dos peixes e tem como finalidade eliminar bactérias e enzimas digestivas que poderiam contaminar a musculatura dos mesmos. A evisceração deve ser rápida e deve acontecer na primeira ou, no máximo, até a segunda hora após a morte do peixe (OETERRER, 1998). A decapitação tem como objetivo a remoção das brânquias, consideradas um dos principais focos de microrganismos. Após a evisceração e decapitação do pescado, promove-se a lavagem do corpo do pescado, com água clorada (5 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio), para a eliminação de restos de sangue e muco, os quais são excelentes substratos para os microrganismos (CYRINO et al., 2004).

2.2.7. Filetagem

O filé é constituído pelos músculos dorsais e abdominais do pescado e a filetagem pode ser feita de diferentes maneiras (SOUZA e MACEDO-VIEGAS, 2000). A filetagem só deve ser feita se o tamanho do filé for razoável, permitindo utilizar o tipo de corte padrão e um bom rendimento em carne, evitando presença de pequenos espinhos. É necessário controle sanitário adequado devido à vulnerabilidade de contaminação do ambiente de processamento (OETERRER, 1998).

2.2.8. Acondicionamento e estocagem

Os filés poderão ser acondicionados em sacos plásticos, bandejas expandidas e filmes plásticos de poliamida ou polietileno e caixas de cartão, sendo, em seguida, armazenados sob refrigeração. O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL - RIISPOA) de 2001, no parágrafo 2^{do}, artigo 414, indica que os pescados refrigerados devem ser devidamente acondicionados em gelo ou mantidos a uma temperatura entre 0,5 °C e -2,0 °C. Entretanto as normas não especificam produtos refrigerados processados como os filés.

2.3. Transformações bioquímicas e microbiológicas *post mortem* na carne de pescado

Após a captura, o pescado passa por uma série de transformações bioquímicas complexas. As primeiras alterações estão associadas à degradação de ATP (adenosina trifosfato) e conseqüente ocorrência do *rigor mortis*. Estas alterações, sob as condições de anaerobiose que prevalecem durante o *rigor mortis*, causam a formação de ácido láctico, levando à queda do pH muscular, de valores inicialmente em torno de 7,0 para 6,0 a 6,5 (BERAQUET e LINDO, 1985).

A forma de captura pode influir muito na determinação do *rigor mortis* (SIKORSKI, 1994; OGAWA e MAIA, 1999). Os peixes submetidos a um maior estresse durante a captura esgotam as suas reservas de glicogênio, provocando grande diminuição de ATP, antecipando e encurtando o tempo do *rigor mortis* muscular. Além disto, o esgotamento pré-abate das reservas de glicose diminui a vida útil do pescado em função da baixa produção de acidez, o que possibilita maior proliferação bacteriana (KAI e MORAES, 1988; SANCHEZ, 1989).

2.3.1. Autólise

O processo autolítico é conseqüência do rompimento das membranas dos lisossomos, liberando as enzimas neles contidas como, por exemplo, catepsinas, fosfatases, lípases e

proteases. As catepsinas, principalmente, produzem a hidrólise de proteínas, de nucleotídeos e de triglicerídeos (BERAQUET e LINDO, 1985; SIKORSKI, 1994, OGAWA e MAIA, 1999).

Com a degradação de ATP e conseqüente ocorrência de *rigor mortis*, ocorre o abaixamento do pH. Tais condições causam a hidrólise de proteínas e de gorduras no tecido muscular. A hidrólise de proteínas gera aminoácidos livres, aminas, amônia entre outros; enquanto a hidrólise de triglicerídeos gera ácidos graxos livres (BERAQUET e LINDO, 1985). Além disto, a proteólise provoca o amolecimento da carne, facilitando a penetração rápida de microrganismos endógenos e exógenos que causam a deterioração do pescado (BERAQUET e LINDO, 1985; KAI e MORAES, 1988).

2.3.2. Ação bacteriana

O músculo de um pescado recém-capturado é estéril, já que seu sistema imunológico previne o crescimento de bactérias. Entretanto, com a morte do pescado, as bactérias das superfícies externas proliferam. Essa proliferação acontece inicialmente nas guelras, superfície corporal e vísceras. Porém, gradualmente, penetram nos tecidos musculares (BERAQUET e LINDO, 1985; HUSS, 1998).

Segundo SIKORSKI (1994) e ICMSF (2000), as bactérias comumente predominantes em peixes de águas frias são as Gram-negativas: *Pseudomonas*, *Psicrobacter*, *Acinetobacter*, *Shewanella* e *Vibrio*; em peixes de águas tropicais as Gram-positivas, particularmente *Bacillus*, *Micrococcus* e *Corynebacterium*, correspondem de 50 a 60% da microbiota. No caso de peixes de água doce a microbiota é formada por uma mistura diversa dos gêneros Gram-positivos e Gram-negativos, como: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* e *Vibrio*.

A composição da microbiota do pescado também muda durante o armazenamento e o resfriamento do peixe atua como meio seletivo da população de microrganismos. Segundo autores citados por LOAIZA (1996), um grupo importante na microbiologia de produtos cárneos corresponde aos psicrotróficos, já que, em sua maioria, os produtos da indústria da carne, incluindo o pescado, utilizam a refrigeração como forma de conservação. Nesta categoria, merecem atenção especial espécies de *Pseudomonas*, em razão de sua alta freqüência no grupo dos psicrotróficos. As bactérias comumente identificadas na

deterioração do pescado são a *Pseudomonas* e *Shewanella*, sendo estas predominantes em baixas temperaturas (ICMSF, 2000). Os microrganismos psicotróficos que deterioram os pescados geralmente se desenvolvem em temperaturas variando de 0 a 30 °C.

Assim como na autólise, na decomposição por bactérias as proteínas são primeiramente degradadas a aminoácidos, que são logo desaminados e descarboxilados, formando substâncias mais simples. BERAQUET e LINDO (1985), HUSS (1998) e OGAWA e MAIA (1999) destacam entre os produtos finais da ação das bactérias sobre as proteínas, substâncias como hidrogênio, dióxido de carbono e amônia; compostos sulfurados, como gás sulfídrico e mercaptanas; bases orgânicas, como dimetilamina e trimetilamina e diaminas, como a putrescina e a cadaverina.

Durante as operações de manipulação é provável que os peixes estejam contaminados por enterobactérias. Este grupo de bactérias é derivado de humanos e animais, embora estejam presentes naturalmente em peixes de águas mais quentes.

Sob refrigeração, os psicotróficos geralmente apresentam fase lag mais curta e velocidade de crescimento mais rápida do que patógenos, garantindo que os peixes se deterioresem antes que os patógenos cresçam em níveis consideráveis (ICMSF, 2000).

2.4. Métodos de avaliação do frescor e da vida-de-prateleira do pescado refrigerado

O pH é um dos índices de qualidade mais utilizados para a determinação do frescor de pescados, em decorrência da rapidez e da facilidade de medição (LOAIZA, 1996). A glicólise *pos mortem* resulta na acumulação de ácido láctico, com o conseqüente decréscimo do pH no músculo. Em geral, no músculo de pescado, por conter concentrações mais baixas de glicogênio quando comparado com o dos mamíferos, é gerado muito menos ácido láctico depois da morte (SIKORSKI, 1994; HUSS, 1998). Isto justifica a rapidez das alterações do pescado após a morte, pois o pH mais elevado não inibe a proliferação microbiana (KAI e MORAES, 1988; SANCHEZ, 1989). O estado nutricional, a quantidade e o grau de esgotamento do peixe antes da morte, têm efeito sobre as concentrações de glicogênio armazenado e, conseqüentemente, na queda de pH *pos mortem* final (HUSS, 1998).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) de 2001 relata no artigo 418 que, para ser considerado como pescado fresco,

este deve apresentar pH inferior a 6,8 na carne externa e a 6,5 na carne interna. As carnes internas são invadidas pelos microrganismos de forma mais demorada e atingem o interior do músculo gradualmente.

À medida que aumenta o tempo de armazenamento é claramente visível que, após a queda inicial do pH, principalmente em pescados marinhos, há um acúmulo de produtos de natureza básica, como trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA), amônia, indol, escatol e algumas bases orgânicas, como a putrescina e a cadaverina, responsáveis por um aumento contínuo de pH (BERAQUET e LINDO, 1985; REDDY et al, 1994).

MUJICA (1988) evidenciou um comportamento irregular do pH, em tilápias evisceradas e inteiras mantidas sob gelo, com valores de pH de 6,75 e 6,65 respectivamente, apresentando-se inaceitáveis para o consumo no período de três dias.

LEMPEK et al. (2001) observaram que o pH de filés de pescada-foguete alcançou o limite máximo de 6,8 após 20 dias de armazenamento sob refrigeração a 1 °C.

Devido às controvérsias existentes sobre a utilidade do nitrogênio não protéico (NNP), este tem sido pouco usado como índice de qualidade de pescado refrigerado, pois as variações deste índice são pequenas (LOAIZA, 1996). O NNP é a primeira fração a ser utilizada para o crescimento microbiano, uma vez que este crescimento microbiano lhe serve como fonte de energia. O NNP pode ser definido como compostos de natureza não protéica, solúveis em água, de baixo peso molecular e com conteúdo de nitrogênio (HUSS, 1998). Segundo BERAQUET e LINDO (1985) e HUSS (1998), entre os componentes que formam parte das substâncias nitrogenadas não-protéicas estão as bases nitrogenadas voláteis, aminoácidos, uréia e nucleótidos. Apesar dos sistemas enzimáticos das bactérias contaminantes serem capazes de decompor proteínas, o NNP é o substrato preferencial para os microrganismos. Assim, somente nos estágios intermediários e finais do processo de deterioração é processada a degradação de proteínas pela ação bacteriana (BERAQUET e LINDO, 1985).

A utilização e decomposição destes compostos de NNP é que será responsável pelas alterações sensoriais do pescado, levando à sua rejeição para o consumo humano (LEITÃO, 1988; SIKORSKI, 1994). Os produtos obtidos como resultados do metabolismo de aminoácidos (aminas, sulfetos, mercaptanas e ácidos graxos de cadeia curta) exibem odores desagradáveis e pútridos (SIKORSKI, 1994).

A taxa da decomposição bacteriana das diferentes espécies de pescado depende da natureza e teor de suas substâncias nitrogenadas não-protéicas. Os músculos de peixes

marinhos, que contêm mais substâncias nitrogenadas não-protéicas do que peixes de água doce, decompõem-se mais rapidamente (BERAQUET e LINDO, 1985; SHAHIDI e BOTTA, 1994).

Netto (1984) citado por SOCCOL (2002), descreve que tilápias do Nilo apresentaram, inicialmente, 294 mg N/100 g e, após 20 dias de estocagem sob gelo, ocorreu uma redução para 208 mg N/100 g. O autor atribuiu a redução à ação de enzimas, sendo nos estágios iniciais, as capetsinas responsáveis pela degradação e nos estágios posteriores, as proteases microbianas. Nas tilápias do Nilo, valores de 1.000 e 1.333,3 mg N/100 g de NNP foram verificados aos 20 e 30 dias de estocagem respectivamente, sob refrigeração entre 0,5 e 1 °C (SIQUEIRA, 2001).

Dos compostos de degradação, a determinação das bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT) é o teste mais utilizado para se avaliar o grau de frescor dos peixes. As BNVT compreendem compostos como amônia, trimetilamina (TMA) e dimetilamina (DMA). Estes são os responsáveis pelo odor de peixe deteriorado (VILLEMURE et al., 1986; REDDY et al., 1994).

De acordo com Shewan et al. (1971), citados por KUAYE (1982), o acúmulo das BNVT causa mudanças químicas que ocorrem em músculos de pescado durante a deterioração. Ao longo da estocagem em gelo, o conteúdo das BNVT aumenta progressivamente em função dos processos enzimáticos e microbianos. Assim, é útil na avaliação do frescor do pescado. O aumento significativo das BNVT coincide com a decomposição microbiana (SIKORSKI, 1994). A formação de amônia geralmente está associada com a degradação do ATP e de aminoácidos e hidrólise da uréia (BERAQUET e LINDO, 1985). A ação microbiana, devido à ação da enzima óxido de trimetilamina redutase, leva à formação de trimetilamina, especialmente em pescados de água salgada (SHAHIDI e BOTTA, 1994; HUSS, 1998; OGAWA e MAIA, 1999).

Nos peixes em excelente estado de frescor, o teor de BNVT atinge 5 a 10 mg N/100 g de músculo e, em peixes com frescor razoável, podem atingir de 15 a 25 mg N/100 g de músculo (OGAWA, 1999). Os valores de BNVT em filés de pescada-foguete embalados em sacos de nylon-polipropileno ultrapassaram o limite de 30 mg N/100 g antes de chegar aos 20 dias de armazenamento a 1°C (LEMPEK et al., 2001). Em tilápias do Nilo conservadas em gelo o valor de BNVT foi superior a 30 mg N/100 g após 21 dias de estocagem (KUAYE, 1982). Outro estudo evidenciou também em tilápias do Nilo evisceradas e conservadas em gelo, um comportamento irregular quanto aos teores de

BNVT, variando de 15,08 a 21,05 mg N/100 g de músculo, depois de três dias de armazenamento.

Em filés de tilápias (*Tilapia nilotica*) e cavala (*Scomberomorus commerson*) mantidas sob refrigeração a $2 \pm 0,2$ °C, os valores de BNVT aumentaram durante o período de armazenamento, chegando após 12 dias a 19,5 e 25,2 mg N/100 g respectivamente (AL-KAHTANI et al., 1996).

O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL - RIISPOA) de 2001, no artigo 418, estabelece limites de BNVT de 30 mg N/100 g, para pescados frescos.

A determinação das substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico e o índice de peróxido são as medidas que permitem quantificar a oxidação de lipídios nos alimentos. De acordo com Gray (1978), citado por AL-KAHTANI et al. (1996), o teste do ácido 2-tiobarbitúrico (TBAR) é o mais usado para medir a oxidação de lipídios em carnes vermelhas, pescado e frangos. A determinação de peróxidos no pescado refrigerado é pouco usada, sendo o teste do ácido 2-tiobarbitúrico considerado o mais utilizado para acompanhar a oxidação dos lipídios. O método baseia-se na reação do malonaldeído, um dos principais produtos da oxidação secundária de ácidos graxos poliinsaturados, com o ácido 2-tiobarbitúrico, formando um pigmento de coloração rósea, cuja intensidade está relacionada com o grau de oxidação (MELTON, 1983). Os resultados desse teste coincidem com as análises sensoriais, porque combina a medida da oxidação dos lipídios com a avaliação da decomposição bacteriana dos componentes dos tecidos (SIKORSKI, 1994).

A oxidação de lipídios é iniciada pela formação de radicais livres que reagem com oxigênio para formar hidroperóxidos. Estes se decompõem em várias substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico, sendo o malonaldeído a substância mais reatora (BERAQUET e LINDO, 1985). Os produtos da oxidação são responsáveis pelo aroma de oxidado (ranço), desenvolvido em carnes durante o tempo de armazenamento e que afeta a qualidade do produto (AL-KAHTANI et al., 1996).

Ke et al. (1984) citados por LOAIZA (1996), trabalhando com várias espécies de pescados, sugeriram que valores inferiores a 8 μmol TBARs/kg (0,567 mg malonaldeído/kg) são considerados como de baixa, ou nenhuma rancidez; entre 9 e 20 μmol TBARs/kg (0,648 e 1,44 mg malonaldeído/kg), como levemente rançosos, mas ainda aceitáveis e valores superiores a 21 μmol TBARs/kg (1,51 mg malonaldeído/kg) são considerados rançosos e inaceitáveis.

Em pescados de baixo teor de gordura, a degradação bacteriana de lipídios é um processo mais lento do que aquele oriundo da degradação de substâncias nitrogenadas (BERAQUET e LINDO 1985). Em razão do baixo teor de lipídios em carnes de tilápia, outras alterações parecem estar diretamente envolvidas na determinação da vida-de-prateleira do produto. Do mesmo modo, pode ser indicado como uma opção para quantificar o estado de deterioração deste produto.

A oxidação dos lipídios em filés de tilápias mantidas em bandejas de isopor e embalados com filme de cloreto de polivinila sob refrigeração entre 0,5 e 1 °C, foi determinada no 1º e 20º dia de armazenamento e valores de TBARs de 0,26 e 0,36 mg malonaldeído/kg foram encontrados (SIQUEIRA, 2001).

Outro critério de qualidade para pescados é definido na resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2001), que define os critérios e padrões microbiológicos para alimentos expostos à venda e à exportação, estabelecendo, para pescados *in natura*, resfriados ou congelados as seguintes exigências: ausência de *Salmonella* spp em 25 g e máximo de 10³ estafilococcus coagulase positiva por grama.

2.5. Conservação sob atmosferas modificadas

Vida útil ou vida-de-prateleira pode ser conceituada como o período de tempo em que um determinado alimento conserva suas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dentro dos padrões próprios para o consumo humano (LABUZA, 1982). A vida-de-prateleira do pescado, assim como da maioria dos alimentos, é determinada pelas condições de processamento, estocagem e comercialização.

Na presença de ar atmosférico, a vida útil de alimentos perecíveis como carne, aves, pescados, frutas e legumes e produtos de padaria, está limitada por dois fatores principais: o oxigênio atmosférico e o crescimento da microbiota aeróbia.

A atmosfera modificada é uma tecnologia utilizada para estender a vida-de-prateleira de uma grande variedade de alimentos, incluindo os peixes, mantendo-se a qualidade tanto do ponto de vista microbiológico quanto sensorial (FARBER, 1991; CHURCH e PARSONS, 1995). É uma tecnologia que vem sendo utilizada desde a década de 30 para transportar carne bovina fresca, estocada sob dióxido de carbono, da Austrália para a Nova Zelândia (FARBER, 1991). Segundo autores citados por VIANA (2002), há numerosas

vantagens em se usar atmosferas modificadas: a) aumento potencial da vida-de-prateleira entre 50 e 400%; b) redução de perdas econômicas e c) possibilidade de distribuição dos produtos para mercados mais distantes e em poucas remessas, levando a uma redução dos custos de distribuição. Como desvantagens mencionam: a) os custos adicionais; b) a necessidade de controle estrito da temperatura; c) o requerimento de diferentes formulações gasosas para cada produto e d) investimentos em equipamentos e treinamentos especiais para manipuladores.

A conservação sob atmosferas modificadas baseia-se na modificação ou troca do ar, permitindo a extensão da vida útil dos produtos. Esse aumento da vida útil será muito vantajoso, pois reduzirá o desperdício durante a distribuição e a exposição no varejo, resultando na melhoria da qualidade dos produtos frescos e no abastecimento regular (LIOUTAS, 1988). Assim, as embalagens com atmosfera modificada, sob vácuo ou com mistura de gases, têm sido usadas como forma de modificar as condições de estocagem, com o objetivo de inibir agentes deterioradores de alimentos perecíveis e, por conseguinte, manter a qualidade por períodos mais longos (VIANA et al., 2005).

2.5.1. Embalagem em atmosfera modificada

O interesse em aumentar a vida útil do pescado é devido à demanda crescente pelo consumo de produtos frescos, que tem conduzido a uma maior diversificação de produtos embalados sob atmosfera modificada, na qual a composição do ar é mudada ou modificada (LIOUTAS, 1988). Permite, também, o incremento nas exportações para países afastados do lugar da fabricação do produto, gerando divisas.

A embalagem com atmosfera modificada (EAM) é uma extensão do processo de embalagem a vácuo. A técnica EAM consiste na embalagem dos produtos sob uma atmosfera com mistura de vários gases como: CO₂, N₂ e O₂, em diferentes proporções. O CO₂ é o gás mais comumente usado e, possivelmente, o mais efetivo na extensão da vida-de-prateleira, com ou sem a presença de outros gases (WOLFE, 1980).

De acordo com WOLFE (1980) e CANN (1984), há várias formas pelas quais a atmosfera de ar pode ser modificada, sendo que as mais relevantes para pescado e seus derivados são as seguintes:

- Embalagem com atmosfera controlada: constitui o sistema de EAM em que é realizado o controle permanente para manutenção da atmosfera introduzida, ao longo da vida-de-prateleira de um produto.
- Embalagem com atmosfera modificada (EAM): há substituição do ar da embalagem por um gás, ou mistura de gases, alterando a composição da atmosfera na embalagem. Neste processo, a proporção de cada gás é fixada e a mistura de gases é introduzida, diferente da composição do ar que normalmente contém 78,08 % nitrogênio 20,96 % oxigênio, 0,03 % gases carbônicos. Nenhum controle adicional é feito durante o período de armazenamento. É o processo mais comumente utilizado na conservação de alimentos.
- Embalagem a vácuo: o produto é colocado em uma embalagem com baixa permeabilidade ao oxigênio; o ar é evacuado e a embalagem lacrada.

Os três principais gases utilizados comercialmente em embalagens sob atmosfera modificada são: oxigênio (O₂), nitrogênio (N₂) e gás carbônico (CO₂) (FARBER, 1991). Porém, pesquisas em carnes avaliaram o uso de pequenas quantidades de monóxido de carbono (CO) como parte da mistura de gases, com objetivo de melhorar a cor dos produtos (SØRHEIM et al., 1999; LUÑO et al., 2000; VIANA et al., 2005).

O CO₂ é solúvel tanto em água como em lipídios e é o principal responsável pelo efeito bacteriostático em embalagens sob atmosfera modificada. Este efeito bacteriostático é influenciado pela concentração de CO₂, carga inicial da população bacteriana, temperatura de armazenamento e tipo de produto embalado (CANN, 1984; FARBER, 1991; CHURCH e PARSONS, 1995). O efeito provocado em microrganismos está na extensão da fase lag e na diminuição da taxa de crescimento durante a fase logarítmica dos microrganismos (FARBER, 1991; REDDY et al., 1994). Também inibe a microbiota, pela redução do pH, provocada pela sua dissolução no meio (FARBER, 1991; CHUCRH e PARSONS, 1995). O CO₂ tem se mostrado mais eficiente quando os produtos embalados sob atmosfera modificada são mantidos entre 0 °C e 5 °C (CANN, 1984; REDDY et al., 1994).

Há muitas teorias relatando as maneiras de como o CO₂ exerce sua influência sobre as células bacterianas. Dentre elas pode-se destacar: a) alteração nas funções das membranas celulares; b) inibição direta de enzimas ou diminuição das reações enzimáticas; c) penetração nas membranas das bactérias conduzindo a mudanças do pH intracelular e

conseqüente mudanças diretas nas propriedades físico-químicas das proteínas (WOLFE, 1980; DANIELS et al., 1985).

Contudo, altas concentrações de CO₂ podem apresentar alguns inconvenientes, como: a) causar alterações na cor dos produtos; b) acentuar a exsudação de carnes frescas; c) causar colapso das embalagens, uma vez que o CO₂ tende a permear a embalagem mais rapidamente que os outros gases.

O N₂ é um gás inerte e inodoro que também pode ser usado na composição da mistura gasosa e que desempenha pouco ou nenhum efeito antimicrobiano. A presença do N₂ na embalagem com atmosfera modificada pode prevenir o colapso da mesma, que pode ocorrer quando altas concentrações de CO₂ são utilizadas (CANN, 1984; FARBER, 1991).

O O₂ estimula o desenvolvimento de bactérias aeróbias e pode inibir o crescimento de bactérias anaeróbias estritas (FARBER, 1991). Uma das principais funções de O₂ na EAM de carnes é manter a mioglobina em sua forma oxigenada (oximioglobina), responsável pela cor vermelha desejável em carnes (FARBER, 1991; CHURCH e PARSONS, 1995).

O uso de matérias-primas de alta qualidade higiênico-sanitária constitui um fator muito importante quando se objetiva assegurar o sucesso do uso de embalagens com atmosfera modificada (FARBER, 1991). Assim, são necessárias boas práticas de higiene desde o abate até as condições no varejo, bem como seleção correta do material da embalagem, proporção adequada de gases para o produto, a confiabilidade dos equipamentos utilizados nas embalagens e a manutenção de baixas temperaturas.

2.5.2. Misturas de gases utilizados na conservação de pescados

Misturas variáveis de gases têm sido utilizadas para produzir a inibição microbiana de pescados em sistemas com EAM (FARBER, 1991). Geralmente a EAM com alta concentração de CO₂ melhora a estabilidade do pescado *in natura*, resultando em um aumento do tempo de vida útil deste (FEY e REGENSTEIN, 1982; OZOGUL et al., 2004). Muitos estudos relatam o efeito de CO₂ em pescados empacotados em EAM com 100% CO₂, com resultado de aumento de sua vida útil, quando comparados com tratamentos controle mantidos à mesma temperatura (FARBER, 1991). De acordo com HUSS (1998), a utilização de embalagens a vácuo e atmosferas modificadas com altas concentrações de CO₂ (25 a 100%) aumenta a vida útil dos produtos cárneos por algumas semanas ou meses.

Ao contrario, em peixes frescos, a vida-de-prateleira não é afetada pela embalagem a vácuo, mas obtêm-se um ligeiro aumento da vida útil com o emprego de atmosfera modificada.

DANIELS et al. (1985) testaram os efeitos da solubilidade do CO₂ no tratamento de filés de bacalhau (*Gadus morhua*) com ácido carbônico pulverizado a frio. A dissolução do gás ocorrente na fase aquosa foi eliminada e os efeitos diretos do ácido observados. Esses resultados indicaram que o ácido carbônico pulverizado foi tão efetivo quanto a atmosfera controlada com 98% de CO₂. A inibição microbiana em EAM foi devido à dissolução do CO₂. As pesquisas indicaram que o íon carbonato promoveu uma dissociação, mudanças na permeabilidade da célula e nos processos metabólicos dos microrganismos.

Entretanto, altas concentrações de CO₂ na EAM podem afetar a qualidade do produto pela diluição de CO₂ no tecido muscular, propiciando um decréscimo de pH. Assim, a capacidade das proteínas musculares de reter água diminui, resultando em perdas por gotejamento em pescado refrigerado armazenado. Além disto, altas concentrações de CO₂ estimulam a formação da metamioglobina em pescados com musculatura vermelha, com conseqüente escurecimento do músculo (HUSS, 1998; OZOGUL et al., 2004).

A concentração e os tipos dos gases utilizados dependerão do conteúdo de gordura dos peixes, já que a presença de O₂ pode causar problemas de ranço oxidativo em espécies com alto teor de lipídios, como a cavala (*Scomber japonicus*) e o arenque (*Clupea harengus*) (CANN, 1984). Portanto, nestes pescados, o oxigênio é geralmente excluído da atmosfera da embalagem para minimizar esses efeitos, além de minimizar o desenvolvimento de bactérias aeróbias deterioradoras (FEY e REGENSTEIN, 1982; CANN, 1984; FARBER, 1991; CHURCH e PARSON, 1995).

FEY e REGENSTEIN (1982) compararam o efeito de atmosferas modificadas com 20% CO₂ + 21% O₂ + 59% N₂, 60% CO₂ + 21% O₂ + 19% N₂ e 60% CO₂ + 5% O₂ + 35% N₂ com tratamento controle (ar atmosférico) sobre a vida útil de filés de merluza vermelha armazenados a 1 °C. Os autores verificaram que os tratamentos com atmosferas modificadas aumentaram a vida útil em 27 dias em relação àquela embalada sob ar atmosférico (seis dias), sendo a embalagem com 20% CO₂ + 21% O₂ + 59% N₂ a que apresentou melhor pontuação de aceitabilidade após 33 dias.

A atmosfera composta de 25% de CO₂ + 75% de N₂ foi estudada por VILLEMURE et al. (1986) para bacalhau (*G. morhua*) eviscerado e filetado, estocado a granel, a 0 ± 1 °C e foi observada qualidade sensorial aceitável até os 20 dias, apresentando vida útil superior à

de bacalhau armazenado sob ar atmosférico. O pH da superfície do pescado apresentou-se na faixa de 6,6 quando os filés foram embalados em EAM e na faixa de 7,5 naqueles embalados sob ar atmosférico.

Um estudo sobre vida útil de filés de tilápias (*Tilapia spp*) em atmosferas modificadas, embalados com filmes com alta barreira e armazenados a 4 °C foram comparados com tratamento controle mantidos à mesma temperatura (REDDY et. al, 1994). Os resultados mostraram que os filés de tilápias mantidos em atmosfera de 100% de ar apresentaram maior contagem microbiana depois de nove dias, como indicava as características sensoriais, aumento do pH da superfície do pescado e do número de microrganismos. Quando a concentração de CO₂ aumentou de 25% para 75% na embalagem, a vida útil do produto foi estendida de 4 para 21 dias.

A vida útil de filés de tilápias do Nilo estocados a 1 ± 1 °C em atmosferas consistindo de 60% de CO₂ + 40% de O₂ ou a vácuo, foi comparada com a dos embalados sob ar atmosférico (SOCCOL, 2002). Os resultados físico-químicos mostraram baixos teores de bases voláteis totais e um aumento do pH nos filés embalados em EAM, além destes se apresentarem sensorialmente aceitáveis até o vigésimo dia de armazenamento. Já as amostras controle apresentaram valores de pH e BNVT, respectivamente, mais altos nos dias 13 e 20 de armazenamento.

Filés de sardinha mantidos a 4 °C, com contagem de aeróbios mesófilos de 10⁶ UFC.g⁻¹ apresentaram uma vida útil de 12 dias quando conservados em atmosfera modificada com 60% de CO₂ + 40% de N₂, nove dias quando embalados a vácuo e de apenas três dias quando embalados em ar atmosférico. As bases nitrogenadas voláteis alcançaram 17, 19 e 15 mg N/100 g de carne, respectivamente (OZOGUL et al., 2004).

2.5.3. Uso de monóxido de carbono (CO) como parte de embalagem em atmosfera modificada

Diversos fatores, como temperatura de estocagem, oxigênio atmosférico, enzimas do próprio tecido animal, umidade, luz e, principalmente, a atuação de microrganismos, influenciam na vida-de-prateleira das carnes. Esses fatores, associados ou não, causam mudanças indesejáveis na cor, no odor, na textura e no *flavour* do produto (VIANA, 2002).

Um dos maiores problemas na extensão da vida útil de carnes, incluindo os peixes com músculo vermelho, se correlaciona às alterações de cor durante a estocagem e comercialização, o que se deve à oxidação dos pigmentos, em especial da mioglobina (Mb), proteína responsável pela coloração vermelha dos músculos (SGARBIERI, 1996; OGAWA e MAIA, 1999).

Quando a carne é exposta ao ar atmosférico ou as concentrações de O₂ na embalagem aumentam, sua coloração passa de vermelho violeta (mioglobina) a vermelho brilhante (oximioglobina), devido à oxigenação. Entretanto, após algum tempo, ela se torna marrom escura, em virtude da oxidação da mioglobina (Mb) a metamioglobina (MMb). A carne de peixe é de duas a quatro vezes mais sensível à formação de MMb do que a de gado (OGAWA e MAIA, 1999).

Dos três principais atributos de qualidade de alimentos, a cor e a aparência são os critérios que mais influem na decisão de compra dos consumidores. Manter a atratividade da cor nas carnes é de importância primária, uma vez que tal característica é uns dos primeiros atributos de qualidade que cumprem um papel na decisão de compra (SØRHEIM et al., 1999; LUÑO et al., 2000; VIANA et al., 2005).

Para solucionar o problema da cor de carnes, recentemente, o monóxido de carbono (CO) tem sido utilizado como componente das atmosferas empregadas. O CO é um gás incolor, insípido e inodoro, produzido, principalmente, pela combustão incompleta de materiais contendo carbono (SØRHEIM et al., 1997).

O CO liga-se fortemente à Mb da carne, formando a carboximioglobina, um pigmento estável e de coloração vermelho cereja (SØRHEIM et al., 1999; LUÑO et al., 2000; VIANA et al., 2005). Embora a afinidade da hemoglobina seja 240 vezes maior pelo CO que pelo O₂, a ligação do CO à hemoglobina é reversível, tendo uma vida média de, aproximadamente, 4,5 horas em indivíduos que estão em repouso. A concentração de carboxiemoglobina no sangue, freqüentemente chamado porcentual de carboxiemoglobina % (COHb), é função da concentração de CO no ar, do tempo de exposição e do nível de atividade física do indivíduo. De acordo com um grupo especialista norueguês, níveis de carboxiemoglobina maiores que 2 % deveriam ser evitados para proteger os indivíduos mais sensíveis da população, recomendando que não devessem exceder de 1,5 %. Segundo os mesmos autores, tomando em consideração a formação endógena normal de 15,1 mg como produto do catabolismo dos grupos heme, para prevenir que o porcentual de COHb no sangue exceda 1,5 %, a concentração máxima de CO no ar por um período de uma hora

para indivíduos em atividade física moderada, não deve exceder a 24 mg/m³ (SØRHEIM et al., 1997, 2001). Em comparação, carnes tratadas por três dias, em atmosfera que contém 1% CO, apresentaram 0,1 mg de CO residual por kg após armazenamento e cocção (WATTS et al., 1978). Além disso, a absorção de CO a partir do trato gastrointestinal para o sangue é muito menos efetiva, quando comparada com a sua absorção pelos pulmões. Por conseguinte, seria improvável que o consumo de carnes tratadas com baixas concentrações de CO resultasse em um aumento mensurável do nível de carboxiemoglobina no sangue (SØRHEIM et al., 1997; 2001).

Com o uso de CO como parte da atmosfera de embalagem dos produtos, as concentrações de O₂ podem ser removidas e a concentração de CO₂ aumentada para conferir melhor efeito bacteriostático e estender o prazo de validade. Vários estudos em carne bovina, suína e frango documentaram que o uso de baixas concentrações, de 0,1 % a 2 % de CO, melhorou a cor da carne bem como mantiveram sua estabilidade (LUÑO et al., 1998, 2000; SØRHEIM et al. 1999; 2001; VIANA et al., 2005). Quando as concentrações são aumentadas para mais de 2 % a cor da carne fica artificial. Portanto, concentrações de 0,4 % a 1 % são reconhecidas como suficientes e eficazes para manter a cor das carnes dentro de um sistema EAM (SØRHEIM et al., 1999, 2001).

Diversos estudos têm sido publicados a respeito do uso de CO em carnes para a venda no varejo, sendo divididas em três categorias: para melhorar a cor, baixas concentrações entre 1 % a 2 %; para fins antimicrobianos e melhorar a cor, altas concentrações entre 5 % a 100 % e para propósitos microbiológicos e estabilidade da cor, pré-tratamento com altas concentrações, entre 5 % a 100 %, seguido de embalagem a vácuo (SØRHEIM et al., 2001).

O uso de CO na EAM para carnes frescas já vem adotado na Noruega, desde 1985, em concentrações de até 0,5 %. Sua aplicação está sendo avaliada por um Comitê Científico da União Européia que é apoiado por organizações comerciais de diferentes países europeus. A combinação de baixas concentrações de CO com altas concentrações de um gás bacteriostático como o CO₂ seria importante para justificar a aprovação de seu uso pelas agências regulamentadoras (SØRHEIM et al., 1999, 2001).

Em fevereiro de 2002, os órgãos americanos USDA e FDA aprovaram o uso de 0,4% de CO, em embalagens com atmosfera modificada sem oxigênio, contendo 30% de CO₂ e N₂ como gás de preenchimento (JOHN et al., 2005).

Um possível aspecto negativo do uso do CO é que ele pode mascarar a deterioração do produto, uma vez que a permanência da coloração vermelha cereja estável pode ser superior à vida útil deste. Em 2004, estes aspectos foram questionados, concluindo-se que baixos níveis de CO não mascararam o desenvolvimento microbiano como ocorre em carne embalada. Indicadores de desenvolvimento de microrganismos são os odores e cores desagradáveis. A decisão do FDA foi que, enquanto a cor não se degrade dentro da embalagem contendo CO, odores ofensivos poderiam se formar ainda com a presença deste (EILERT, 2005). Esta questão foi apoiada por conclusões de pesquisadores que não têm encontrado efeito antimicrobiano pelo uso de concentrações baixas de CO (SØRHEIM et al., 1999).

A atmosfera composta de 1% de CO e 99% de N₂ permitiu manter a cor e odores desejáveis da carne bovina armazenada a 5 °C por 25 e 17 dias respectivamente, quando comparada a carnes pré-tratadas com 99 % de CO por 2 a 16 horas (CLARK et al., 1976). Assim, os autores demonstraram também que a presença contínua de 1% de CO na atmosfera inibiu o crescimento de bactérias psicotróficas.

A atmosfera contendo 50% de CO₂ e 0,5 % a 0,75 % de CO, na presença de baixas concentrações de oxigênio (24 %) foi capaz de prolongar a vida útil de carne bovina de 5 a 10 dias, à temperatura de 1 °C, quando comparada com carne estocada em atmosfera contendo 70% de O₂ e 20% de CO₂ (LUÑO et al., 2000). Os autores concluíram que a presença de CO e de 50% de CO₂ prolongou a vida-de-prateleira dos produtos pela inibição do crescimento de bactérias responsáveis pela deterioração da carne, pelo retardamento na formação de metamioglobina e pela estabilização da cor vermelha, além de manter o odor de carne fresca nos produtos, diminuindo as reações oxidativas.

Segundo VIANA et al. (2005), atmosfera contendo 99 % de CO₂ e 1 % de CO foi eficiente para a preservação da cor vermelha brilhante de carne suína por 25 dias, à temperatura de 5 °C, quando comparada com carne estocada em atmosfera contendo 100 % de O₂, 100 % de CO₂, ou vácuo. Estes autores concluíram que a presença de 1 % de CO e de 99 % de CO₂ conferiu uma extensão da vida-de-prateleira do produto, garantindo tanto a qualidade microbiológica quanto a aceitação visual pelos consumidores.

Uma outra opção para usar os efeitos positivos do CO na cor de carnes é fazer um pré-tratamento com CO e manter a cor vermelha brilhante por meio da embalagem sob vácuo. A exposição da carne ao CO nesses estudos pode variar de 5 % a 100 % por 30 minutos a 24 horas (JAYASINGH et al., 2001).

JAYASINGH et al. (2001) avaliaram bifes bovinos tratados com pré-tratamento com 5 % e 100 % de CO durante 24 horas. Os autores mostraram uma alta estabilidade da cor por cinco semanas e mais de seis semanas, respectivamente. Os autores indicaram que o pré-tratamento com 5 % de CO como melhor opção. A concentração menor e mais segura permitiu a estabilidade da cor desejável do produto.

A cor de bifes de porco tratados com pré-tratamento de 100 % de CO seguido de vácuo e 99% de CO₂ + 1% de CO foi preservada após 20 dias de armazenamento, correlacionando-se com escores de aceitabilidade sensorial (VIANA et al., 2005).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Preparo da matéria-prima

Foram utilizadas tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) provenientes do Setor de Piscicultura do Departamento de Biologia Animal, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG. Foram selecionadas tilápias com peso vivo variando entre 450 e 500 gramas. Em cada repetição foram abatidas, aproximadamente, 85 tilápias.

No mesmo tanque de criação as tilápias foram colocadas sem alimentação, por sete dias, com renovação de água corrente para sua depuração. A seguir, foram colocadas em caixas plásticas para serem insensibilizadas com gelo picado e transportadas ao Laboratório de Processamento de Carnes do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFRV. As tilápias passaram pelas etapas de evisceração, decapitação, lavagem, retirada da pele e filetagem. Os filés obtidos com peso de, aproximadamente, 145 gramas foram colocados em bandejas de plástico com gelo picado para sua posterior embalagem. Todos os utensílios que entraram em contato direto com os peixes foram, periodicamente sanitizados, mediante a imersão, por 15 minutos, em solução de 200 mg.L⁻¹ de cloro livre. O fluxograma, apresentado na Figura 1 mostra as etapas desenvolvidas no abate.

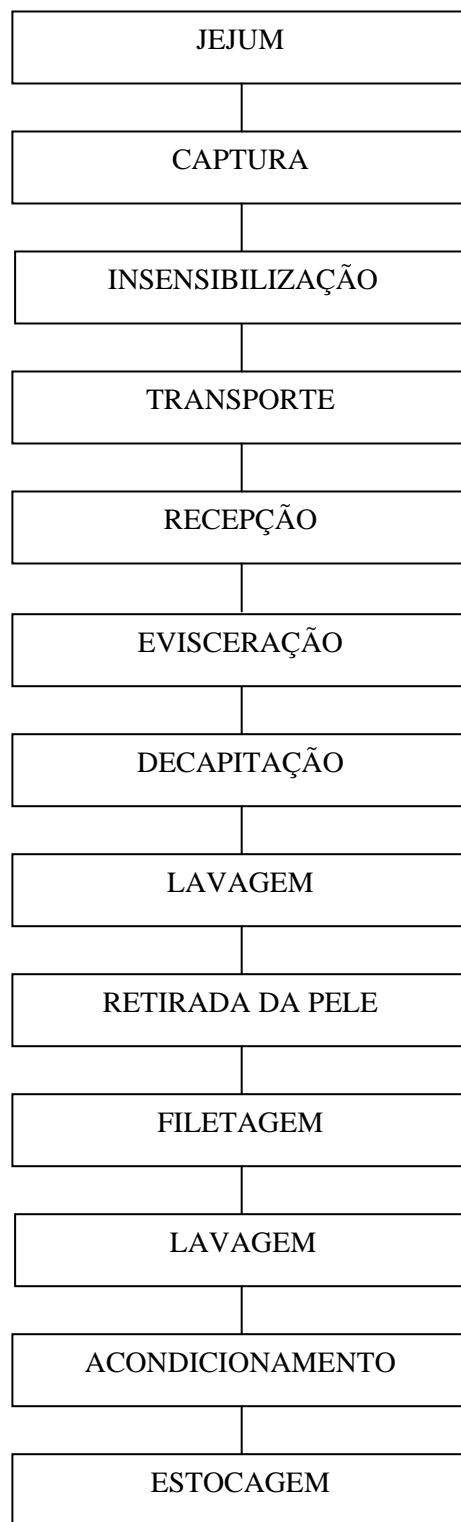


Figura 1 - Fluxograma das etapas do abate de peixes.

3.2. Embalagem e injeção dos gases

Foram utilizados sacos plásticos de náilon-polietileno (13,2 cm x 20 cm x 90 µm), que apresentam permeabilidade estimada (ROBERTSON, 1993) ao oxigênio e ao dióxido de carbono de $3,8 \times 10^{-12}$ mL.cm.cm⁻².s⁻¹.(cmHg)⁻¹ e $16,0 \times 10^{-12}$ mL.cm.cm⁻².s⁻¹.(cmHg)⁻¹, respectivamente.

Os filés de tilápias foram aleatoriamente alocados nas embalagens, para modificação das atmosferas específicas: vácuo (700 mmHg); 100 % de CO (P.A. = 99,99% - Air Products) por 30 minutos de contacto, seguido de vácuo (700 mmHg); 1% de CO + 99% de CO₂ (P.A. = 99,99% - Air Products) e controle (ar atmosférico).

A modificação da atmosfera e a selagem das embalagens foram realizadas utilizando-se uma seladora Selovac CV8, acoplada com bico para injeção de gases.

Foram utilizados 10 filés para cada tratamento (atmosfera) e para cada tempo em cada série de análise, constituindo a unidade experimental. Os filés foram distribuídos da seguinte forma: dois filés, para análises físico-químicas; um filé, para análise microbiológica; um filé para determinação objetiva de cor; quatro filés para análise sensorial e dois filés para garantir amostras suficientes para a realização de todas as análises em cada um dos tempos previstos.

3.3. Armazenamento e amostragem

Depois de embalados, os filés de tilápias foram armazenados em geladeira, à temperatura de 2 ± 1 °C. Amostras dos filés embalados em atmosferas modificadas foram retiradas nos tempos 1, 7, 13, 19, e 25 dias para realização das análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, exceto os mantidos em atmosfera controle, que foram analisados em intervalos de 48 horas, até o dia 13, tempo em que os filés já evidenciavam sinais de deterioração.

3.4. Análises microbiológicas

Em todos os tratamentos, nos diferentes tempos e a cada repetição, foram realizadas as análises de: psicrotróficos aeróbios e anaeróbios e bactérias lácticas, pela técnica de contagem padrão.

Foram retiradas porções de 25 g de pescado, pesadas assepticamente e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1 %, durante 120 segundos em Stomacher® (Seward, UK). A partir desta diluição, foram realizadas diluições decimais seriadas e 0,1 mL das diluições apropriadas foram plaqueados, em duplicata, por meio da técnica espalhamento em superfície.

A contagem de psicotróficos aeróbios e anaeróbios foi feita em Ágar Padrão para Contagem - PCA (Merck) seguindo-se de incubação a 7 ± 1 °C por 10 dias (MORTON, 2001). Para determinação de anaeróbios, as placas foram incubadas em jarras Gas-Pack, utilizando-se o sistema Anaerocult A (Merck) para a obtenção de anaerobiose.

A determinação de bactérias lácticas foi feita em Ágar De Man, Rogosa, Sharpe - MRS (Merck), adicionado de $0,004 \text{ g.L}^{-1}$ de púrpura de bromocresol e $0,03 \text{ g.L}^{-1}$ de carbonato de cálcio. Incubou-se a 35 °C, por 48 horas, em dessecador, utilizando-se uma vela para obtenção de microaerofilia (HALL et al., 2001). Após a incubação, foram consideradas bactérias lácticas as colônias que apresentaram halo amarelo, caracterizando a produção de ácido.

Todas as análises microbiológicas anteriormente citadas foram conduzidas em duplicata e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de carne.

Além das análises acima citadas, *Salmonella*, clostrídios-sulfito redutores, coliformes totais e coliformes termotolerantes, a 45 °C foram pesquisadas somente no tempo inicial de cada repetição, para caracterização microbiológica dos filés de tilápias.

A pesquisa de *Salmonella* foi realizada em 25 g da amostra inicial, de acordo com método descrito por ANDREWS (2001), utilizando-se peptona 1 % como pré-enriquecimento a 35 °C por 18 a 24 horas; como meios de enriquecimento seletivo os caldos Selenito Cistina (Merck) e Rappaport-Vassiliadis (Merck), incubados a 42 °C por 24 horas e como meios de isolamento seletivos, Ágar Verde Brilhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose - BPLS (Merck) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato - XLD (Merck) com incubação a 35 ± 1 °C por 24 horas. Os resultados foram expressos como presença ou ausência de *Salmonella* por 25 gramas de carne.

Clostrídios-sulfito redutores foram determinados em Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina - SPS (Difco). Incubou-se a 35 °C, por 48 horas, em jarras Gas-Pack, utilizando-se o sistema Anaerocult A (Merck), para a obtenção de anaerobiose. Após a

incubação, foram considerados clostrídios-sulfito redutores as colônias que apresentaram-se pretas (LABBE, 2001).

A pesquisa de coliformes totais e coliformes termotolerantes a 45 °C foi conduzida pela técnica do Número Mais Provável (NMP), segundo descrição de KORNACKI e JOHNSON (2001), utilizando-se caldo Lauril Sulfato Triptose - LST (Merck) a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ para o teste presuntivo e Caldo EC (Merck) para confirmação de coliformes termotolerantes, com incubação a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Os resultados foram expressos em NMP.g⁻¹.

3.5. Análises físico-químicas

Para realização das análises físico-químicas, as amostras dos filés foram picadas e trituradas em triturador tipo Ultra-Turrax (Marconi MA-102) até à formação de uma massa homogênea. A seguir, a massa obtida foi colocada num saco plástico, selada e mantida sob refrigeração a $2 \pm 1^\circ\text{C}$, para posterior pesagem e desenvolvimento de cada análise.

As análises físico-químicas efetuadas foram: pH, bases nitrogenadas voláteis totais (BNVT), nitrogênio não-protéico (NNP), substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbutírico (TBARs) e determinação dos índices de cor.

3.5.1. Análise de pH

O pH foi determinado por meio de um potenciômetro (Mettler Toledo) como descrito por GOMIDE (1992). Dois gramas da massa homogeneizada de carne (obtida como descrito no item 3.5) foram homogeneizados com 10 mL de tampão cloreto-iodoacetato (5 mM de iodoacetato de sódio e 150 mM de cloreto de potássio) em homogeneizador tipo Ultra-Turrax. O pH foi medido na solução assim obtida, através da inserção do eletrodo de vidro acoplado ao pHmetro.

3.5.2. Análise de nitrogênio não protéico (NNP)

Para a determinação de NNP foi utilizada a técnica descrita por Crespo (1990), citada por LOAIZA (1996). Cerca de $8,5 \text{ g} \pm 0,5 \text{ g}$ de massa de filé (obtida como descrito no item

3.5) foram homogeneizados com 50 mL de água destilada, em um homogeneizador tipo Ultra-Turrax (Marconi MA-102). Após repouso de 15 min, de forma a permitir a extração e a solubilização das frações nitrogenadas, foram adicionados 25 mL de solução 20 % de ácido tricloroacético para precipitar a fração protéica, a qual foi removida, mediante filtração com papel-filtro qualitativo (Whatman nº 1). Alíquotas de 10 mL do filtrado foram digeridas (mistura digestora de ácido sulfúrico 98 % e 1 % de catalisador à base de selênio e sulfato de cobre) e destiladas. O destilado foi titulado com solução 0,01 N de HCl, seguindo o método Kjeldahl, expressando-se o resultado em mg de N por 100 g de amostra, como descrito a seguir no item 3.5.3 para BNVT.

3.5.3. Análise de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)

Para análise de BNVT, seguiu-se o procedimento descrito por GOMES (2003). Dez gramas de massa de filé (homogeneizada como descrito no item 3.5) foram novamente homogeneizados, em triturador tipo Ultra-Turrax (Marconi MA-102), com cerca de 200 mL de água destilada e, a seguir, transferida para balão de destilação, adicionando-se de 1 a 2 gramas de óxido de magnésio e três gotas de solução antiespumante (Antifoam A Sigma). Procedeu-se a destilação por arraste de vapor por 30 min ou até que o papel indicador não desse reação alcalina. O destilado (125 mL) foi coletado em erlenmeyer de 250 mL contendo 25 mL de solução de ácido bórico 4 %, e com indicador misto de Tashiro, de forma que se obteve um volume final de 150 mL no erlenmeyer. O destilado foi, então, titulado com solução 0,01N de HCl e o resultado expresso em mg de N por 100 g de amostra, conforme a seguinte fórmula:

$$\text{BNVT (mg N/100 g)} = \frac{140 * v * f}{p}$$

em que:

BNVT (mg N/100 g) = teor de bases voláteis totais, expresso como miligramas de nitrogênio por 100 gramas de amostra;

v = volume (mL) da solução de HCl 0,01 N gasto na titulação;

f = fator de correção da solução 0,01 N de HCl; e

p = peso (g) da amostra da carne de pescado.

3.5.4. Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs)

TBARs foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Tarladgis et al. (1960), citados por PEREIRA (2000). Em tubo de destilação, pesou-se 10 g massa de filé (homogeneizada como descrito no item 3.5) e adicionou-se 0,2 mL de antioxidante BHT (0,03%), 50 mL de água destilada e duas gotas de solução antiespumante (Antifoam A Sigma) para evitar a formação de espuma durante o aquecimento e, conseqüentemente, refluxo da solução para o destilado. Novamente se promoveu uma homogeneização, por um minuto, em velocidade máxima, no triturador tipo Ultra-Turrax (Marconi MA-102). Adicionou-se 50 mL de solução de HCl (47,5 mL água + 2,5 mL HCl 4 N), transferindo-se as amostras para um balão de fundo chato de 500 mL de capacidade, ao qual foram adicionados cacos de porcelana. A seguir, promoveu-se a destilação, em placa aquecedora (Sebelin TE-188), a mais ou menos 97 °C, até se coletar 50 mL de destilado em coletor tipo Dean Stark de 50 mL de capacidade. Deste destilado foram coletados 5 mL em tubo de ensaio e se lhes foram adicionados 5 mL de solução 0,02 M de TBA. Os tubos foram, então, submetidos a um banho-maria com água em ebulição por 35 min., após o que foram resfriados em água corrente até que se atingisse a temperatura ambiente (cerca de 25 °C). A seguir, promoveu-se a leitura da absorvância (532 nm) em espectrofotômetro Hitachi U-2001 (série 9826-049). O valor de TBA foi expresso em mg/kg, multiplicando-se a absorvância por 7,8.

3.5.5. Determinação dos índices de cor

Imediatamente após a abertura das embalagens, a cor superficial dos filés foi avaliada objetivamente utilizando-se o equipamento ColorQuest II Sphere (HunterLab, Reston, VA), conectado a um computador provido do *software* Universal, onde os dados foram armazenados. A determinação da cor foi efetuada pela leitura direta de reflectância, de **L*** (luminosidade), **a*** (índice de vermelho) e **b*** (índice de amarelo), empregando a escala CIELAB, adotada como padrão internacional pela Comissão Internacional de Iluminação.

Antes das medidas de cor serem realizadas, o instrumento foi padronizado para o modo de reflectância especular incluída (RSIN), sem o filtro UV e calibrado com o dispositivo protetor de luz e com as placas de referência branca (X= 81,12; Y= 85,99 e Z= 95, 03) e cinza (X= 49,90; Y=53,15 e Z=55,05). Para o cálculo das coordenadas de cor,

foram estabelecidos o iluminante D65 (luz do dia, 6500 K) e o ângulo de 10° para o observador.

Para medir a cor, colocou-se cada filé entre duas placas de vidro de borossilicato, de 3 mm de espessura. Os valores L^* (luminosidade), a^* (intensidade de vermelho/verde) e b^* (intensidade de amarelo/azul), para cada amostra, foram obtidos a partir da média de cinco leituras consecutivas em diferentes pontos de cada lado de cada do filé, determinados em cada intervalo de tempo de amostragem, previamente definidos. A leitura dos índices de cor em cada um dos lados se deveu ao fato de que o lado externo do filé de tilápias possui pigmentação avermelhada na região dorsal.

Usando-se os dados obtidos, calculou-se o ângulo de tonalidade ($h^*=hue$) pela equação $h^*=\arctang(b^*/a^*)$, e a saturação ($c^*=chroma$) a partir da equação $c^*=(a^2+b^2)^{1/2}$.

3.6. Análise sensorial descritiva dos filés de tilápias

Foi realizada uma análise descritiva visual de cor, aparência, textura e de odor, usando uma escala não-estruturada para avaliar cada atributo dos filés crus. Foi utilizada uma equipe de cinco julgadores pré-selecionados e treinados durante três sessões. A escala utilizada consistiu em uma linha horizontal de 15 cm de comprimento e pontos-âncora a 1 cm de cada extremidade, apresentando termos que expressavam o máximo e o mínimo de intensidade do atributo ou característica de qualidade testada (Figura 2). O provador foi solicitado a fazer um traço vertical na posição da escala que representasse a intensidade relativa da característica da amostra em teste (CHAVES, 2001). Os testes foram conduzidos em cada tempo de estocagem.

Para a análise dos resultados, as respostas dos provadores foram transformadas em números, medindo-se a distância entre o ponto-âncora da esquerda e o traço marcado pelo provador.

A cor característica dos filés foi considerada como levemente rosada, uniforme e com manchas vermelhas escuras na parte dorsal (lado externo) do filé, própria do músculo escuro do peixe.

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE FILÉ CRU DE PESCADO

NOME: _____

DATA: _____ AMOSTRA: _____

Você receberá amostras de filé de pescado cru. Por favor, coloque um traço vertical à altura da linha horizontal de cada atributo, que corresponda à sua avaliação.

COR

____ | _____ | ____
Agradável Desagradável

LIMOSIDADE

____ | _____ | ____
Ausência Presença

TEXTURA

____ | _____ | ____
Firme e elástica Flácida e inelástica

ODOR

____ | _____ | ____
Característico Não-característico

OBSERVAÇÕES: _____

Figura 2 - Modelo da ficha utilizada para avaliação sensorial de filé de tilápias refrigerado.

A limosidade foi definida como a sensação táctil, produzida pela presença de muco (limo) na superfície dos filés. Esta característica é considerada indicativo de elevado grau de deterioração.

A textura normal (firme e elástica) dos filés foi definida como aquela que, mediante uma leve pressão exercida pelos dedos, apresenta elasticidade suficiente para permitir que, após a retirada da pressão aplicada, voltasse à sua forma original. A textura mole e inelástica foi considerada quando, submetida à pressão, a carne não voltava à sua forma original.

Foi considerado como odor característico aquele odor a “fresco”. Odores de pescados muito intensos foram considerados não característicos, assim como qualquer odor pútrido ou desagradável.

3.7. Delineamento experimental e análises estatísticas

Por perda de uma repetição, as análises microbiológicas (psicrotróficos aeróbios e anaeróbios e bactérias lácticas) foram descritivamente analisadas com base na média de duas repetições.

Para as análises físico-químicas (pH, BNVT, NNP, TBARs e índices de cor) o experimento foi conduzido segundo um arranjo, em parcelas subdivididas, com três atmosferas (vácuo; pré-tratamento de 100% CO, seguido de vácuo e 1% de CO + 99% de CO₂), em delineamento inteiramente casualizado nas parcelas, com três repetições e cinco tempos de estocagem (1, 7, 13, 19 e 25 dias) nas sub-parcelas, cujo modelo matemático pode ser descrito como se segue:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + e_{ij} + T_k + (AT)_{ik} + e_{ijk}$$

em que,

Y_{ijk} = representa o valor observado da i-ésima atmosfera na j-ésima repetição, após o k-ésimo tempo de estocagem;

μ = média geral;

A_i = efeito da i-ésima atmosfera;

e_{ij} = erro associado à i-ésima atmosfera da j-ésima repetição;

T_k = efeito do tempo de estocagem k;

$(AT)_{ik}$ = efeito da interação da i-ésima da atmosfera no k-ésimo tempo de estocagem e e_{ijk} = erro associado à i-ésima atmosfera da j-ésima repetição no k-ésimo tempo de estocagem.

Os dados obtidos das análises físico-químicas foram submetidos à análise de variância e de regressão usando procedimentos do programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., North Carolina, USA, 1999), licenciado para a UFV em 2006. Para cada atmosfera estudada, o efeito do tempo de estocagem foi analisado por meio de regressão.

Os dados, oriundos de três repetições, dos filés embalados em atmosfera modificada e em ar atmosférico (controle) só foram analisados por meio de análise de variância e de regressão no tempo de estocagem (1, 7 e 13 dias).

Todas as regressões foram escolhidas em função da sua significância, em nível de 5% e ausência de significância nos desvios da regressão. Porém, quando o desvio da regressão foi significativo, também foram utilizadas as regressões significativas que apresentavam alto coeficiente de determinação.

A comparação entre atmosferas modificadas e atmosfera controle foi realizada pelo teste de médias de Dunnet.

Para os atributos de qualidade sensorial, os resultados foram analisados de acordo com um modelo de experimento, em parcelas subdivididas, com três atmosferas (vácuo; pré-tratamento de 100% CO, seguido de vácuo e 1% de CO + 99% de CO₂), em blocos casualizados (provadores) nas parcelas, com três repetições e cinco tempos de estocagem (1, 7, 13, 19 e 25 dias) nas sub-parcelas, de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + P_j + e_{ijr} + T_k + (AT)_{ik} + e_{ijk}$$

em que,

Y_{ijk} = representa o valor observado da i-ésima atmosfera na j-ésima repetição, após o k-ésimo tempo de estocagem;

μ = média geral;

A_i = efeito da i-ésima atmosfera;

P = efeito do j-ésimo provador;

e_{ijr} = erro associado à i-ésima atmosfera do j-ésimo provador;

T_k = efeito do tempo de estocagem k;

$(AT)_{ik}$ = efeito da interação da i-ésima atmosfera no k-ésimo tempo de estocagem; e
 e_{ijk} = erro associado à i-ésima atmosfera da j-ésima repetição no k-ésimo tempo de estocagem.

Os dados obtidos da análise sensorial foram submetidos à análise de variância e de regressão usando procedimentos do programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., North Carolina, USA, 1999), licenciado para a UFV em 2006. Para cada atmosfera estudada, o efeito do tempo de estocagem foi analisado por meio de regressão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análises microbiológicas

4.1.1. Qualidade microbiológica dos filés de tilápias

O Quadro 1 mostra o resumo dos resultados das análises microbiológicas feitas em filés de tilápias estocados em embalagens com diferentes atmosferas após 24 horas a 2 ± 1 °C. À semelhança dos dados apresentados por SOCCOL (2002), em nenhuma das atmosferas avaliadas foi constatada a presença de *Salmonella* nos filés de tilápias analisadas, o que permite concluir que o produto atendeu à Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2001), que exige ausência de *Salmonella* em 25 g em amostras de pescados *in natura*, resfriados ou congelados. Segundo SOCCOL (2002), a ausência de *Salmonella* e de *E. coli* em filés de tilápias se deve ao esvaziamento do trato gastrointestinal durante o período de depuração pré-abate, evitando desse modo, a contaminação da carne durante o abate e processamento.

O Quadro 1 também permite evidenciar que, em todas as atmosferas avaliadas, as amostras dos filés de tilápias apresentaram contagens de bactérias anaeróbias capazes de reduzir sulfito menores que 10^2 UFC.g⁻¹. O Número Mais Provável (NMP.g⁻¹) de coliformes a 45 °C variou de 9,2 a menor do que três, nas amostras embaladas nas atmosferas controle e 1% de CO + 99% de CO₂, enquanto nos filés embalados em atmosferas de 100% de CO + vácuo variou de 21 a 3,6 e nos filés mantidos em atmosfera de vácuo variou de 9,2 a 9,4. Embora a Resolução RDC nº 12 (ANVISA, 2001) não faça

referência a estes microrganismos, considerou-se importante englobar a sua avaliação como índice de qualidade. Baixa contaminação de filés de tilápias com coliformes totais ($< 15 \text{ NMP.g}^{-1}$) também foi verificada por LIBRELATO e SHIKIDA (2004), que verificaram que nenhum filé apresentou confirmação de coliformes termotolerantes e, conseqüentemente *E. coli*.

Quadro 1 - Resultados das análises microbiológicas dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas, após 24 horas de estocagem a $2 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

Microrganismos	Repetição	Atmosfera			
		Vácuo	100% CO + vácuo	1%CO + 99%CO ₂	Controle (ar)
<i>Salmonella</i> (em 25 g)	1	ausência	ausência	ausência	ausência
	2	ausência	ausência	ausência	ausência
C. sulfitos redutores (UFC.g ⁻¹)	1	< 100	< 100	< 100	< 100
	2	< 100	< 100	< 100	< 100
Coliformes totais (NMP.g ⁻¹)	1	9,2	21	23	23
	2	9,4	3,6	< 3	< 3
Coliformes a 45 °C (NMP.g ⁻¹)	1	9,2	21	9,2	9,2
	2	9,4	3,6	< 3	< 3
<i>E. coli</i> (NMP.g ⁻¹)	1	< 3	< 3	3,6	< 3
	2	< 3	< 3	< 3	< 3

4.1.2. Alterações microbiológicas dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante a estocagem refrigerada

4.1.2.1. Bactérias psicotróficas aeróbias nos filés de tilápias

Embora a legislação brasileira não contemple o limite para psicotróficos para esse produto, contagens elevadas desse grupo de bactérias contribuem para a redução da vida útil, pois são microrganismos que se desenvolvem melhor à temperatura de armazenamento sob refrigeração.

O logaritmo das contagens de psicotróficos aeróbios dos filés embalados nas atmosferas avaliadas aumentou com o tempo, atingindo valores superiores a 7 log UFC.g⁻¹ ao final de 25 dias de estocagem (Figura 3).

O crescimento foi de aproximadamente 4,64; 5,27 e 4,57 ciclos logarítmicos nas atmosferas de vácuo, 100% de CO + vácuo e 1% de CO + 99% de CO₂. Este crescimento resultou em população final (25 dias de estocagem) de psicotróficos aeróbios entre 1,9 x 10⁷ e 9,1 x 10⁷ UFC.g⁻¹. Já os filés embalados em ar atmosférico apresentaram população de psicotróficos aeróbios superiores a 10⁷ UFC.g⁻¹, após 10 dias de estocagem, apresentando 4,83 ciclos logarítmicos de crescimento.

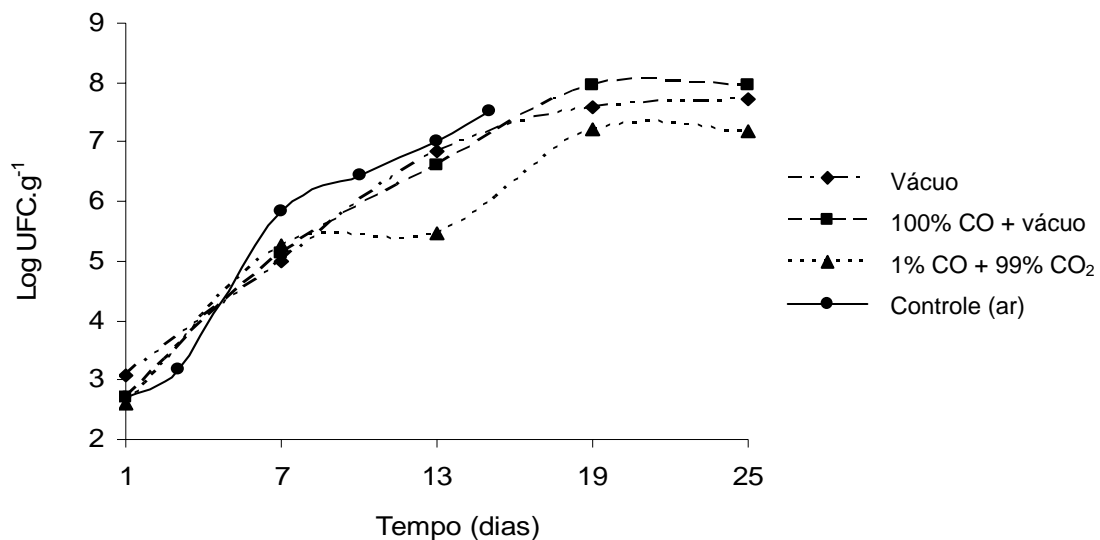


Figura 3 - Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias (Log UFC.g⁻¹) de bactérias psicotróficas aeróbias em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C

Tomando-se como limite número de psicotróficos aeróbios de 10⁷ UFC.g⁻¹, verifica-se que estas contagens foram atingidas aos 13 dias nos filés embalados em ar atmosférico, por volta dos 14 dias naqueles embalados sob vácuo, por volta de 15 dias naqueles embalados em atmosfera de 100% de CO + vácuo e aos 18 dias nos filés embalados em atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂. Assim, verifica-se que a atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂ é aquela que permitiu maior ganho, 5 dias, na vida útil dos filés de tilápias, o que se deve à inibição desta microbiota pela diminuição no teor de oxigênio na embalagem (LÓPEZ-GALVEZ et al., 1998) e ao efeito inibidor do CO₂, especialmente quando

utilizado em elevadas concentrações (VILLEMURE et al., 1986; MASNIYOM et al., 2002; ÖZOGUL et al., 2004).

Os resultados da Figura 1 também indicam que a aplicação de vácuo e de 100% de CO₂ + vácuo provocou redução negligente no crescimento de psicotróficos aeróbios. Este resultado diverge daquele apresentado por CLARK et al. (1976), que verificaram que as contagens de bactérias psicotróficas diminuíram com o aumento na concentração de CO₂ em atmosferas contendo CO₂ e N₂. Entretanto, esses autores testaram diferentes atmosferas de CO₂ + N₂ após aplicação de vácuo nas embalagens, enquanto que o presente experimento foi idealizado de forma inversa, aplicação de CO₂ seguido de vácuo.

O efeito da modificação da atmosfera na redução da população de bactérias aeróbias também foi verificado em outras carnes de pescado com conseqüente aumento da vida útil do produto (VILLEMURE et al., 1986; LÓPEZ-GALVEZ et al., 1998; MASNIYOM et al., 2002; ÖZOGUL et al., 2004; ARASHISAR et al., 2004).

VILLEMURE et al. (1986) verificaram, baseados num limite de aceitabilidade microbiológica de 3×10^6 UFC.g⁻¹ de bactérias psicotróficas aeróbias, que filés de bacalhau (*Gadus morhua*) ou bacalhau eviscerado, estocados em atmosfera com 25% de CO₂ + 75% de N₂, apresentaram vida útil de 20 dias contra 5 dias em amostras similares, embaladas em ar atmosférico.

LÓPEZ-GALVEZ et al. (1998) verificaram menor crescimento de bactérias mesófilas em filés de sole (*Solea solea*) embalados resfriados (2 ± 1 °C), em 40% de CO₂ + 60% de ar do que naqueles embalados em ar atmosférico, fazendo com que, baseado em contagens superiores a 10^7 UFC.g⁻¹, a vida útil subisse de 3 para 15 dias. À semelhança dos resultados apresentados na Figura 1, esses autores verificaram maiores contagens de bactérias aeróbias mesófilas em filés de sardinha (*Sardina pilchardus*) mantidas em ar atmosférico, seguido daqueles mantidos sob vácuo e, por último, em atmosfera com CO₂.

Analisando fatias de robalo (*Lates calcalifer*), MASNIYOM et al. (2002) verificaram, baseados em contagens limites de bactérias mesófilas de $3,2 \times 10^6$ UFC.g⁻¹, que a vida útil das fatias refrigeradas aumentou de 9 dias em ar atmosférico para 18 dias nas fatias embaladas em atmosfera contendo 60% de CO₂ (60 a 80%) e para 21 dias para fatias embaladas em atmosfera de 100% de CO₂.

ARASHISAR et al. (2004) também verificaram, baseados em contagens de psicotróficos de 10^7 UFC.g⁻¹, que filés de truta (*Oncorhynchus mykiss*) embalados em

atmosferas de 100% CO₂ e refrigerados, tiveram sua vida útil aumentada para 10 dias, contra 6 dias nos filés embalados em ar atmosférico.

4.1.2.2. Bactérias psicotróficas anaeróbias nos filés de tilápias

O crescimento de psicotróficos anaeróbios nos filés de tilápias foi semelhante nas amostras das atmosferas modificadas avaliadas (Figura 4). O aumento da população psicotrófica anaeróbia foi de 5,20; 5,64 e 5,71 ciclos logarítmicos em atmosferas sob vácuo, 100% de CO + vácuo e 1% de CO + 99% de CO₂, e este crescimento resultou em populações de 2×10^8 ; $9,7 \times 10^7$ e $8,2 \times 10^7$ UFC.g⁻¹, respectivamente, ao final da estocagem de 25 dias. Já os filés embalados em ar atmosférico atingiriam população de psicotróficos anaeróbios acima de 10^7 UFC.g⁻¹, com aumento de 5,38 ciclos logarítmicos, aos 15 dias de estocagem.

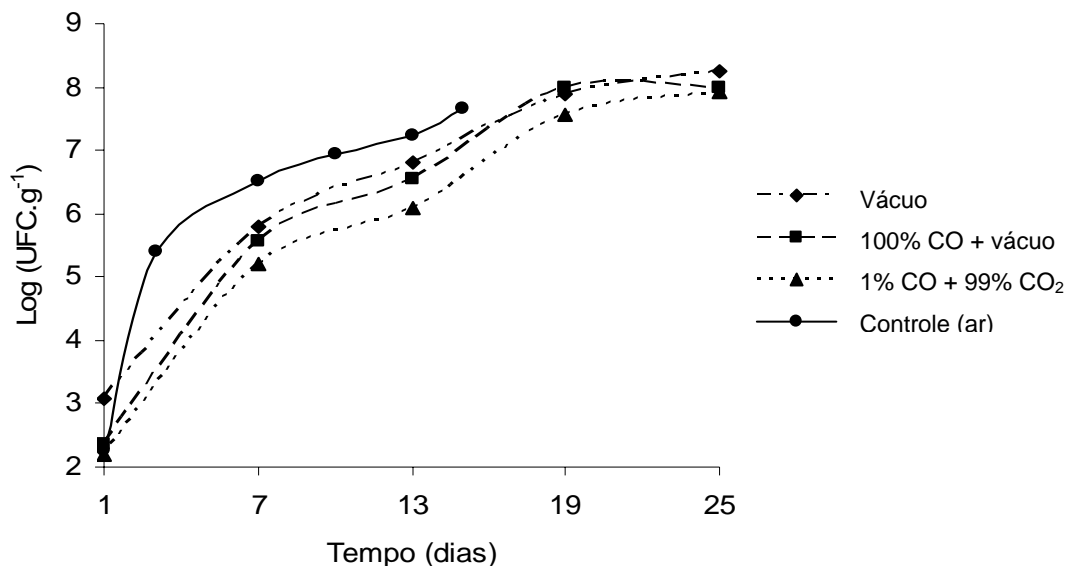


Figura 4 - Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias (Log UFC.g⁻¹) de bactérias psicotróficas anaeróbias em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.

À semelhança do verificado com bactérias aeróbias, a embalagem de filés de tilápias sob vácuo e em 100% de CO + vácuo não apresentou inibição sobre o crescimento de bactérias anaeróbias, que atingiram contagens de 10^7 UFC.g⁻¹ após 14 dias (vácuo) e cerca

de 15 dias (100% de CO + vácuo) de estocagem sob refrigeração. Nos filés embalados em atmosferas de 1% de CO + 99% de CO₂, contagens de anaeróbios de 10⁷ UFC.g⁻¹ foram obtidas após 16,5 dias de estocagem refrigerada. O fato da população de anaeróbios ter alcançado valores acima de 10⁷ UFC.g⁻¹ em menor tempo do que a população de aeróbios pode ser explicado pela maior efetividade que o CO₂ apresenta sobre bactérias Gram-negativas, que predominam no grupo dos aeróbios estritos e menor efetividade sobre Gram-positivos, predominantes entre os anaeróbios estritos ou facultativos (Gill e Tan, 1980, citados por VILLEMURE et al., 1986). As tilápias são peixes de água doce e possuem uma microbiota tanto de Gram-negativos como de Gram-positivos (SIKORSKI, 1994; ICMSF, 2000). VIANA et al. (2005) também verificaram pouco efeito de embalagens baseadas em 1% de CO + 99% de CO₂ sobre o crescimento de psicrotróficos anaeróbicos em lombo suíno.

O fato das maiores contagens de psicrotróficos anaeróbios ter ocorrido em filés embalados em ar atmosférico do que nos filés embalados em atmosferas modificadas (Figura 4) sugere que a microbiota anaeróbia predominante nos filés de tilápias é anaeróbia facultativa.

4.1.2.3. Bactérias lácticas nos filés de tilápias

Em todas as atmosferas modificadas avaliadas, o crescimento de bactérias lácticas foi muito semelhante, atingindo contagens entre 1,75 x 10⁷ e 4,45 x 10⁸ log UFC.g⁻¹, após 25 dias de estocagem sob refrigeração (Figura 5). Neste período, as contagens de bactérias lácticas aumentaram 4,11; 5,23 e 4,94 ciclos logarítmicos nas atmosferas de vácuo, 100% de CO + vácuo e 1% de CO + 99% de CO₂, respectivamente. Segundo (JAY, 1992; HUSS, 1998), o uso de atmosferas modificadas favorece o crescimento de bactérias lácticas.

Apenas nos filés embalados em ar atmosférico o crescimento de bactérias lácticas foi desfavorecido, atingindo, após 15 dias de estocagem, 7,9 x 10⁴ log UFC.g⁻¹, correspondente a um aumento de apenas 2,6 ciclos logaritmos. Este resultado se deve ao fato deste grupo de microrganismos ser, principalmente, microaerófilo (JAY, 1992). Além disto, a partir do sétimo dia, esta atmosfera já apresentava grande número de microrganismos psicrotróficos aeróbios e anaeróbios, criando um ambiente de competição que, provavelmente, inibiu o crescimento da microbiota láctica.

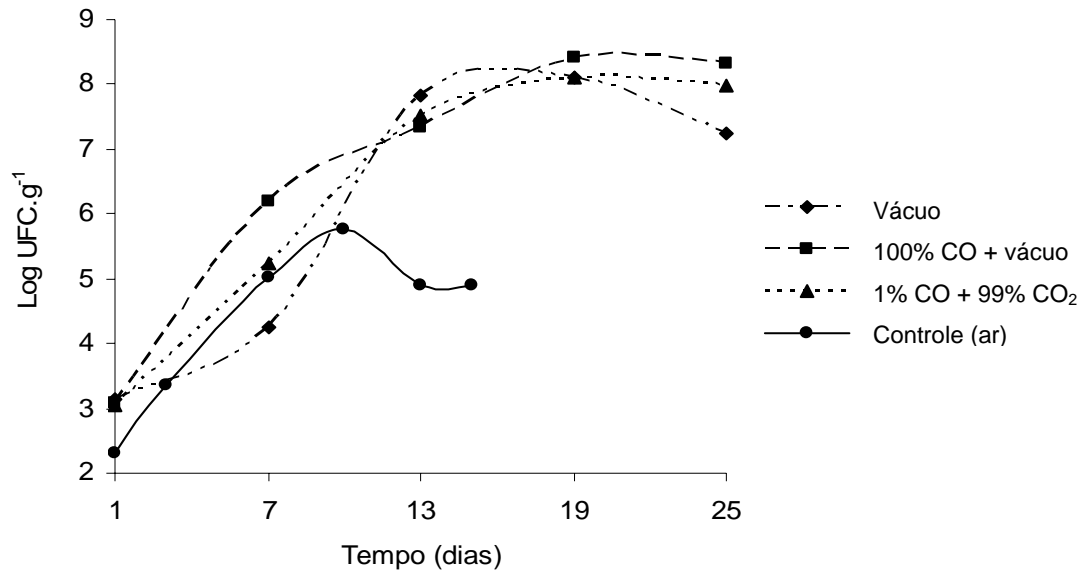


Figura 5 - Logaritmo do número de unidades formadoras de colônias (Log UFC.g⁻¹) de bactérias lácticas em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.

MASNIYOM et al. (2002) também evidenciaram que as contagens de bactérias lácticas em fatias de robalo (*Lates calcalifer*), embalados em atmosferas ricas em CO₂, foram maiores (P < 0,05) do que as de filés embalados em ar atmosférico.

À semelhança do observado para bactérias psicotróficas anaeróbicas, não se nota efeito negativo da atmosfera baseada em CO₂ sobre o crescimento de bactérias lácticas, o que se explica pelo fato de bactérias lácticas serem anaeróbicas ou, principalmente, microaerófilas (JAY, 1992) e, portanto, pouco afetadas pela presença de CO₂ na atmosfera (Gill e Tan, 1980, citados por VILLEMURE et al., 1986).

Após 7 dias de estocagem refrigerada, DEBERE e BOSKOU (1996) verificaram aumentos de 1 a 2 ciclos logarítmicos na população de bactérias lácticas em filés de bacalhau armazenados em diferentes atmosferas com concentração fixa (60%) de CO₂ e diferentes concentrações de O₂ e N₂. Pela Figura 5, é possível verificar que na atmosfera de 99% de CO₂ + 1% de CO, no mesmo período de 7 dias, as contagens de bactérias lácticas em filés de tilápias aumentou em 2 ciclos logarítmicos.

4.2. Análises físico-químicas dos filés de tilápias

4.2.1. pH

As análises de pH dos filés de tilápias não evidenciaram ($P > 0,05$) variação ao longo do período de estocagem nem diferença ou efeito das atmosferas avaliadas, as quais também não diferiram do pH dos filés embalados em atmosfera controle (Figura 6).

Variação do pH devido a diferentes atmosferas modificadas têm sido observadas em pescados (PARKIN et al., 1981; VILLEMURE et al., 1986; REDDY et al., 1994).

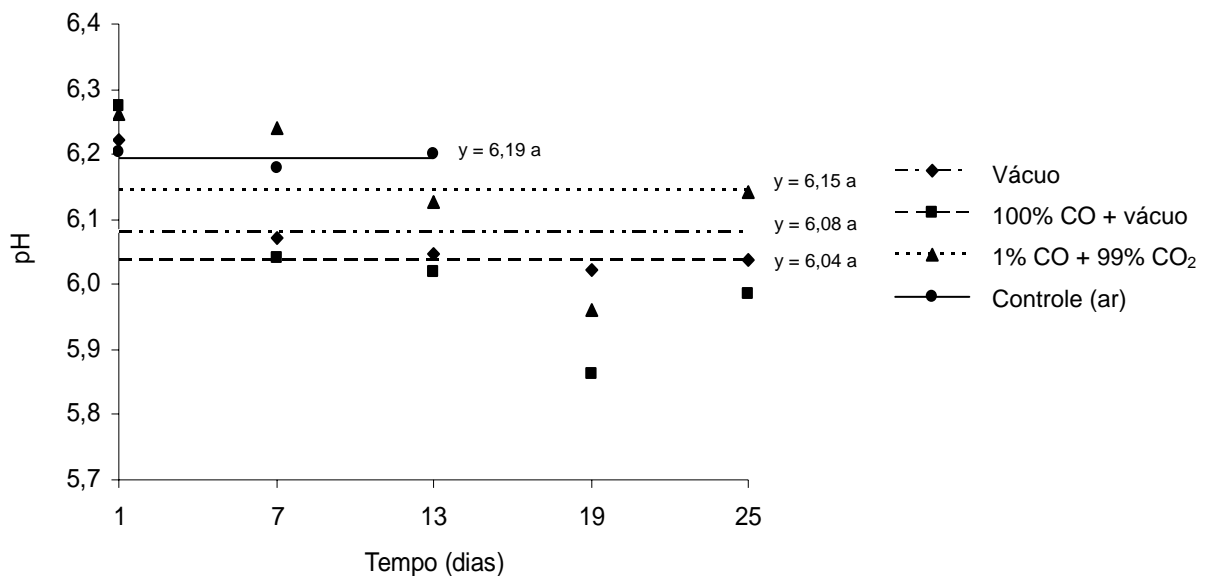


Figura 6 - Variação dos valores de pH em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas daqueles embalados em atmosfera controle pelo teste de Dunnett em nível de 5% de probabilidade.

Em filés com pele de rockfish embalados em atmosfera controle e atmosfera de 80% de CO_2 + 20% de ar foram constatadas diferenças no pH (PARKIN et al., 1981). Eles mostraram que enquanto o pH das amostras controle apresentou uma elevação acentuada após três dias de estocagem a $1,7^\circ\text{C}$, as amostras embaladas em 80% de CO_2 + 20% de ar decresceram até pH 6,3 aos três dias de estocagem e se mantiveram constante até o final do período de 14 dias. Também VILLEMURE et al. (1986) verificaram que o pH superficial de filés de bacalhau embalados em 100% de ar subiu de 6,91 para próximo de 7,0 e 7,1

após, respectivamente, 5 e 10 dias de estocagem e, nas amostras estocadas em atmosfera contendo 25% de CO₂ e 75% de N₂, nestes mesmos tempos, os valores de pH dos filés se encontravam entre 6,5 e 6,4.

Aumento de pH superficial de filés de tilápias embalados em ar atmosférico, a partir de um valor de pH inicial de 6,22, para valores de pH superiores a 6,6 foi constatado ao longo da estocagem a 4 °C (REDDY et al., 1994). Filés embalados em 25% de CO₂ + 75% de N₂ ou 50% de CO₂ + 50% de N₂ se manteve basicamente estável, com incrementos de 0,03 a 0,07 unidades de pH. Filés em atmosfera contendo 75% de CO₂ + 25% de N₂ apresentaram redução do pH superficial em 0,22 unidades após 30 dias de estocagem, o que os autores atribuíram à dissolução do CO₂ na superfície do músculo.

Entretanto, em filés de bacalhau embalados em altas concentrações de CO₂, o pH permaneceu constante (6,6 a 6,5) ao longo de 30 dias de estocagem a 0 °C (DALGAARD et al., 1993). A ausência de diferenças de pH entre filés de tilápia conservados em atmosferas (vácuo, controle de ar atmosférico e 60% de CO₂ + 40% de O₂) e durante a estocagem refrigerada por 20 dias também foi evidenciada por SOCCOL (2002).

Embora também não tenham evidenciando ($P > 0,05$) efeito de atmosfera sobre o pH de filés de truta, ARASHISAR et al. (2004) verificaram que este pH variou ($P < 0,05$) ao longo do tempo. O mesmo comportamento de ausência de efeito de atmosfera, mas com variação ao longo do tempo, foi observado por SILVA e WHITE (1994) quanto ao pH superficial de filés de piramutaba (*catfish*).

Porém, convém notar que nesses estudos, diferentemente da presente pesquisa e daquelas conduzidas por SOCCOL (2002) e ARASHISAR et al. (2004), que se basearam na medida de pH de amostra homogeneizada do filé, o pH foi medido na superfície dos filés. Assim, a dissolução de CO₂ na fase líquida da superfície dos filés (PARKIN et al., 1981; DANIELS et al., 1985; VILLEMURE, 1986; BARNETT et al., 1987; REDDY et al., 1994; SILVA e WHITE, 1994; MASNIYOM et al., 2002) explicaria esta diferença entre resultados. Como a dissolução do CO₂, com geração de ácido carbônico, provavelmente é apenas superficial, o efeito tamponante do músculo de peixes (SIKORSKI, 1994; HUSS, 1998; SOCCOL, 2002; MASNIYOM et al., 2002) não permitiria uma alteração de pH em amostras estocadas em atmosferas baseadas em CO₂, ao se promover uma homogeneização com as porções internas dos músculos onde o CO₂ não teve acesso.

Uma possível explicação para a ausência de efeito de pH ($P > 0,05$) para as diferentes amostras mantidas nas atmosferas testadas neste experimento bem como a ausência de

efeito ($P > 0,05$) de variação do pH ao longo do tempo da estocagem em cada atmosfera, está no fato de que, comparado com mamíferos, o músculo de pescados possui reservas muito baixa de carboidratos (HUSS, 1998), inferior a 0,5 % (GRAM e HUSS, 1996). Assim, mesmo nas atmosferas testadas (vácuo, 100% CO + vácuo e 1% CO + 99% CO₂), que tenderiam a favorecer o crescimento de bactérias lácticas, com conseqüente produção de ácidos láctico e pirúvico, gerando abaixamento do pH muscular ao longo do tempo, o desenvolvimento de acidez é mínimo. Em outras palavras, o baixo teor de carboidratos no músculo de tilápias não favorece uma produção suficientemente elevada de ácidos para sobrepujar o efeito tamponante do músculo de pescados e, assim, gerar diferenças de pH entre as atmosferas testadas ou o seu abaixamento no tempo, como provavelmente aconteceria com carnes de bovinos, suínos e aves. Esta hipótese se torna ainda mais provável pelo fato de, no presente experimento, as tilápias, antes de serem abatidas, terem permanecido no tanque com água corrente por uma semana sem alimentação. Isto, com certeza, provocou uma alteração no estado nutricional das tilápias, diminuindo as suas reservas musculares de carboidratos (HUSS, 1998) e, conseqüentemente, a produção de acidez muscular.

Embora não se tenha determinado a acidez titulável das amostras de filés, esta hipótese parece ser comprovada pelo fato de que, mesmo que as contagens de bactérias lácticas tenham alcançado 10^8 UFC.g⁻¹ em todas as amostras dos filés das atmosferas avaliadas, não se observou queda de pH durante o período de avaliação.

Finalmente, outra explicação possível para a ausência de alteração nos valores de pH ao longo do período de estocagem refrigerada está no fato de que a produção de bases voláteis totais (BNVT), conforme discutido mais à frente, se opõe ao efeito de redução de pH oriundo da dissolução do CO₂ no músculo e da produção de ácido láctico. Esta suposição está em consonância com a hipótese levantada por Olcott (1963), citado por VILLEMURE et al. (1986), de que os compostos ácidos e básicos gerados pela degradação microbiana de peixes tendem a se neutralizar.

Baseado nos limites de pH propostos pelo RIISPOA (2001) para identificação de pescados frescos, que é de 6,5 na porção interna e 6,8 na porção externa, verifica-se que os filés oriundos de cada uma das atmosferas avaliadas se mantiveram, durante todo o período avaliado, dentro dos padrões. Baseados neste parâmetro, estariam aptos para o consumo. Como as análises microbiológicas e sensoriais indicaram que os filés de tilápias já evidenciavam sinais de deterioração aos 13 dias de estocagem sob ar atmosférico e aos 19

dias nas atmosferas modificadas testadas, os dados da presente pesquisa, à semelhança do sugerido por Olcott (1963) citado por VILLEMURE et al. (1986), também sugerem que o pH não é um bom índice de frescor para pescados.

4.2.2. Nitrogênio não protéico (NNP)

Os teores de NNP não variaram ($P > 0,05$) ao longo do tempo de estocagem em nenhuma das atmosferas avaliadas. Entretanto, o teor de NNP variou ($P < 0,05$) em função do tipo de atmosfera. Enquanto o teor de NNP dos filés embalados em atmosfera de 100% de CO + vácuo não diferiram ($P > 0,05$) daquele de filés embalados em ar atmosférico (controle), o teor de NNP dos filés embalados em atmosferas de 1% de CO + 99% de CO₂ e a vácuo diferiram ($P < 0,05$) do controle (Figura 7).

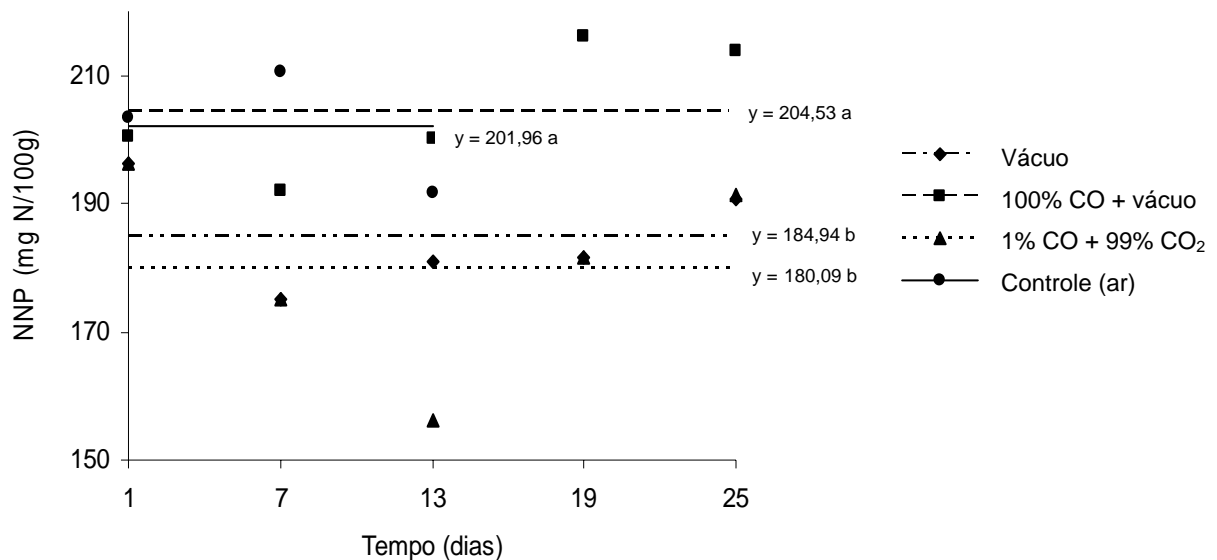


Figura 7 - Variação dos valores de NNP (mg N/100g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas daqueles embalados em atmosfera controle pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

Segundo SOCCOL (2002), que também não verificou variação de NNP em filés de tilápias durante a estocagem por 20 dias, a ausência de variação do teor de NNP durante a estocagem se deve a um comportamento irregular do NNP em função da utilização e

redução dos compostos originados de reações autolíticas e atividade proteolítica dos microrganismos. Isto é explicado pelo fato de que as substâncias nitrogenadas não protéicas são os principais substratos para os microrganismos contaminantes em pescados (BERAQUET e LINDO, 1985; LEITÃO, 1988; SIKORSKI, 1994; HUSS, 1998; ICMSF, 2000). KAI e MORAIS (1988) afirmam que aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não protéicas são rapidamente metabolizados por bactérias deterioradoras, em especial *Pseudomonas*. Entretanto, após a utilização deste tipo de substrato, ocorre elevação na atividade proteolítica, gerando, novamente, mais aminoácidos livres no meio, com conseqüente renovação dos níveis de NNP (BERAQUET e LINDO, 1985; KAI e MORAIS, 1988). Segundo LOAIZA (1996), apenas quando os compostos nitrogenados não protéicos forem insuficientes para o crescimento microbiano é que as proteínas serão degradadas.

Diferença no teor de NNP entre filés de tilápias embalados em ar atmosférico e aqueles embalados sob vácuo ou em atmosfera rica em CO₂ (60% CO₂ + 40% O₂) também foi verificada por SOCCOL (2002).

À semelhança do observado por QUEIROZ et al. (1991) em amostras de peixes estocadas sob gelo (NNP entre 220 e 290 mg N/100 g), LOAIZA (1996) verificou, em rãs refrigeradas a 4 ± 1 °C, que o NNP (200 a 250 mg N/100 g) apresentou uma tendência ($P < 0,05$) inicial de queda, seguida de sua restauração ao final do período de estocagem.

Assim, os resultados observados de ausência de diferenças de NNP ao longo da estocagem dos filés de tilápias e as referências supracitadas sugerem que o NNP também não é um bom índice para avaliar o grau de frescor dos filés de tilápias.

4.2.3. Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (BNVT)

Os teores de BNVT variaram ao longo do tempo (Figura 8). Outrossim, verificou-se (Figura 8) que os teores de BNVT foram afetados ($P < 0,05$) pela atmosfera utilizada para embalagem dos filés de tilápias. A atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂ foi a que apresentou um melhor efeito na manutenção deste índice em níveis mais adequados, não atingindo o limite legal de 30 mg N/100g (RIISPOA, 2001). Este resultado se assemelha àquele reportado por MASNIYOM et al. (2002) em fatias de robalo (*Lates calcalifer*) estocadas a 4 °C.

Nas demais atmosferas modificadas por vácuo ou pela injeção de 100% de CO com posterior realização de vácuo (100% de CO + vácuo), o limite regulamentado de BNVT (30 mg N/100 g) seria atingido aos 21 e 22 dias, respectivamente.

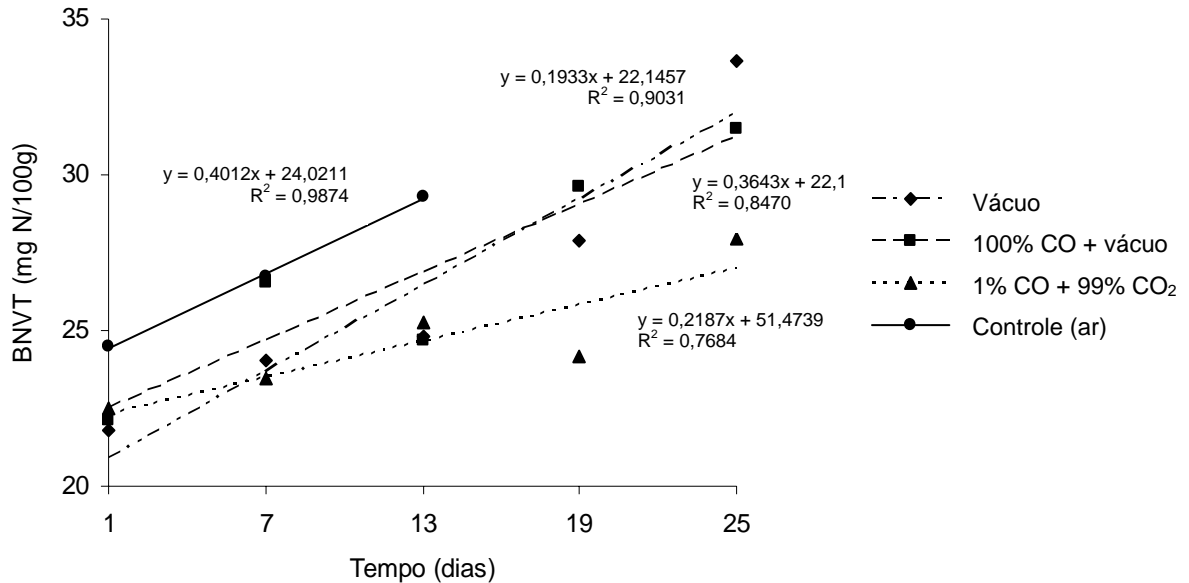


Figura 8 - Variação de BNVT (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$.

Já as tilápias embaladas em ar atmosférico apresentaram os piores resultados de BNVT, atingindo o limite preconizado pela legislação em torno do 16º dia de estocagem. Este resultado está em desacordo com aquele reportado por DEBEVERE e BOSKOU (1996). Estes autores verificaram, em filés de bacalhau embalados com teor fixo (60%) de CO₂, que a produção de trimetilamina, principal constituinte das BNVT, diminuiu com o aumento nos níveis de O₂. Segundo eles, o aumento na concentração de O₂ no meio diminui a necessidade dos microrganismos psicotróficos, especialmente *Alteromonas* e *Pseudomonas*, em utilizar o oxigênio como aceptor final de elétrons durante o seu metabolismo. Por este raciocínio, era de se esperar que a produção de BNVT fosse menor nos filés de tilápias embalados em ar atmosférico, o que não ocorreu, sendo de fato o tratamento que gerou as piores taxas de evolução de BNVT. Entretanto, este resultado pode ser explicado pelo fato de que, por não serem de origem marinha, as tilápias não apresentam níveis significativos de óxido de trimetilamina (OTMA), um osmorregulador que tende a apresentar concentrações mais elevadas em peixes maiores e naqueles oriundos

de águas com maiores concentrações salinas (SIKORSKI, 1994; GRAM e HUSS, 1996; HUSS, 1998; SIVERSTVIK et al., 2001). Assim, como o teor de OTMA em peixes de água doce, como a tilápias, é baixo (SHAHIDI e BOTTA, 1994; GRAM e HUSS, 1996; HUSS, 1998; OGAWA, 1999), a elevação de BNVT em tilápias se deve mais à elevação de outras bases voláteis, em especial a amônia, já que, neste tipo de peixes, é o principal componente das BNVT (KUAYE, 1982 e SIKORSKI, 1994). Em tilápias, a amônia seria gerada pela metabolização (desaminação) de aminoácidos, proteínas, creatinas, aminas e bases nucleicas (LEITÃO, 1988; SIKORSKI, 1994; MASNIYOM et al., 2002), o que é mais provável de ocorrer em meios ricos em oxigênio, devido ao crescimento de bactérias psicrotóficas aeróbias como as *Pseudomonas* e as *Alteromonas* (BANKS et al., 1980; JAY, 1992; GRAM e HUSS, 1996; SIVERTSVIK et al., 2001; MASNIYOM et al., 2002) e degradação anaeróbia (LEITÃO, 1988). A produção de amônia em fatias refrigeradas de seabass (*Lates calcalifer*) foi sensivelmente reduzida em amostras embaladas em atmosferas ricas em CO₂ (80% e 100% de CO₂) (MASNIYOM et al., 2002).

Uma menor taxa de evolução de BNVT em pescados embalados em atmosfera contendo CO₂ tem sido atribuída à inibição do crescimento microbiano, especialmente *Pseudomonas*, pelo CO₂ (BANKS et al., 1980; DEBEVERE e BOSKOU, 1996; MASNIYOM et al., 2002; OZOGUL et al., 2004). Além do que, no presente trabalho, verificou-se certo efeito inibitório de atmosfera baseada em 99% de CO₂ + 1% de CO sobre a redução na contagem de bactérias aeróbias. Parece provável também que, conforme sugerido por BANKS et al. (1980), a condição anaeróbia, assim como o menor pH, das atmosferas contendo CO₂ tenha impedido processos oxidativos que levam à liberação de amônia, com conseqüente elevação de BNVT, a partir de substâncias nitrogenadas não-protéicas. Em conjunto, estas duas hipóteses podem explicar porque as amostras embaladas em atmosfera de CO₂, seguidas daquelas embaladas sob vácuo e 100% de CO + vácuo, foram mais eficientes na contenção da evolução de BNVT. Nos filés embalados em ar atmosférico, a presença de oxigênio possibilitou o crescimento de bactérias aeróbias deterioradoras e processos oxidativos de substâncias nitrogenadas não-protéicas, que resultaram em valores de BNVT elevados.

Avaliando os efeitos das atmosferas de vácuo, 60% de CO₂ + 40% de N₂ e ar atmosférico sobre a vida útil de filés de sardinha, OZOGUL et al. (2004) encontraram aumento de BNVT desde o início da estocagem, alcançando valores de 17, 19 e 15 mg N/100 g de carne, respectivamente, nos últimos dias de aceitabilidade sensorial para cada

condição de atmosfera. Após quatro dias de estocagem estes autores verificaram que os valores de BNVT das amostras embaladas em 60% CO₂ diferiram ($P < 0,05$) daqueles de filés estocados em ar atmosférico e sob vácuo, os quais não diferiram ($P > 0,05$) entre si ao longo de todo o período de estocagem avaliado. Segundo estes autores, a menor taxa de elevação nos valores de BNVT em amostras embaladas contendo CO₂ se deve à inibição do crescimento microbiano.

LEMPEK et al. (2001) observaram menores valores e taxa de evolução de BNVT em amostras de pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) estocados sob vácuo do que sob ar atmosférico. Em filés de carpa-capim (*Ctenopharryngodon idella*) também foi constatado que os valores de BNVT embalados sob vácuo foram bastante inferiores àqueles de filés embalados em ar atmosférico (PRENTICE e SAINZ, 2005). Enquanto que os filés embalados a vácuo apresentaram valores de BNVT inferiores a 30 mg N/100 g após 60 dias de estocagem, as amostras embaladas em ar atmosférico apresentavam valor semelhante após um dia de estocagem.

4.2.4. Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARs)

Em nenhuma das atmosferas avaliadas foram observadas variações ($P > 0,05$) nos índices de TBARs durante o período de estocagem. Também não se observou diferença de TBARs entre os filés embalados nas atmosferas modificadas avaliadas, as quais também não diferiram ($P > 0,05$) da atmosfera controle (Figura 9).

Todas as amostras testadas apresentaram índices de TBARs inferiores aos limiares de percepção (1,51 mg malonaldeído/ kg) sugeridos por Ke et al. (1984) citados por LOAIZA (1996) em pescados. O valor máximo de TBARs foi de 0,51 mg de malonaldeído/kg.

Em ensaio *in vitro*, a saturação da hemoglobina de tilápias com CO gerou um pigmento (COHb) ($P < 0,01$) mais estável contra a autooxidação, relacionado a uma menor desnaturação e maior estabilidade protéica, com manutenção do grupo heme em seu estado reduzido por mais tempo do que amostras de sangue oxigenadas (HbO₂) (KRISTINSSON et al., 2005). Esses autores citam evidências de que os pigmentos oxihemoglobina (HbO₂) e deoxihemoglobina (Hb) promovem a oxidação lipídica, provavelmente, porque são facilmente oxidados a metahemoglobina (MMb). Assim, hipotetizam que a estabilização da hemoglobina com CO deve promover uma menor taxa de oxidação lipídica em sistemas modelos. Neste sentido, era de se esperar que, no presente experimento, as atmosferas

baseadas na aplicação de CO produzissem maior estabilidade significativa à oxidação (menores valores de TBARs) do que as amostras embaladas em ar (controle) ou sob vácuo.

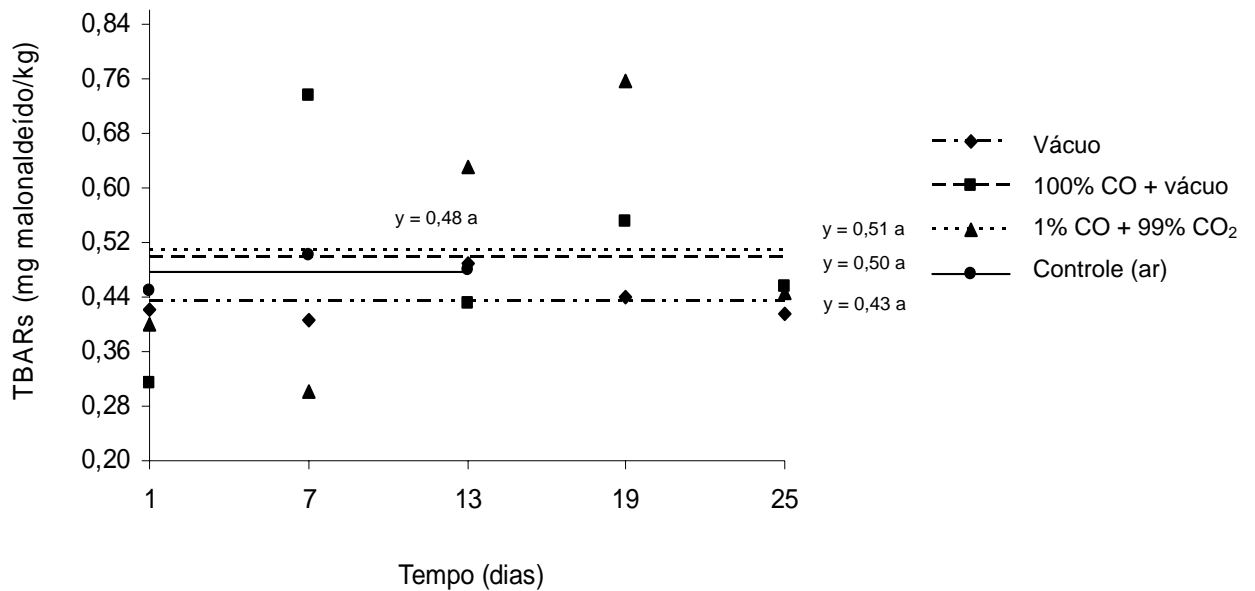


Figura 9 - Variação de TBARs (mg malonaldeído/kg) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett em nível de 5% de probabilidade.

A ausência de variação no valor de TBARs ao longo da estocagem se deve, provavelmente e, especialmente, ao baixo teor de lipídios ($0,48 \text{ mg}/100 \text{ g}$) em filés de tilápias. Outra possível explicação para ausência de diferença ($P > 0,05$) de índice de TBARs nos filés embalados sob vácuo, 1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo, bem como ausência ($P > 0,05$) de variação de TBARs no período de tempo, está no fato de que, em todas as atmosferas testadas, houve baixa concentração de oxigênio presente na embalagem, retardando o processo de oxidação dos ácidos graxos polinsaturados.

Embora também não tenha evidenciado diferença e evolução significativa de TBARs em filés de tilápias estocados em embalagens à vácuo e em ar atmosférico, SOCCOL (2002) verificou evolução significativa deste índice em filés estocados em atmosferas contendo 60% de CO₂ + 40% de O₂ que apresentaram, ao final de 20 dias, valores de TBARs superiores àqueles das outras atmosferas. Segundo ela, as altas concentrações de O₂ nesta última atmosfera induzem a oxidação de lipídios.

MASNIYOM et al. (2002) evidenciaram, em fatias de robalo estocados a 4 °C, evolução de TBARs ao longo da estocagem. Embora não tenham evidenciado diferenças de TBARs entre amostras embaladas em ar atmosférico (controle) e aquelas em 100% de CO₂, estes autores verificaram que amostras embaladas com concentrações de CO₂ entre 60% e 80% de CO₂, mesmo com ausência de O₂, tendem a se oxidar mais rapidamente do que aquelas embaladas em ar atmosférico, o que atribuíram à formação de ácido carbônico. Segundo eles, o ácido carbônico promoveria a desnaturação de proteínas musculares, liberando ferro livre para agir com pró-oxidante, e, ao mesmo tempo, desnaturaria sistemas enzimáticos endógenos antioxidantes.

Ausência de diferença ($P > 0,05$) dos índices de TBARs entre atmosfera de 100% CO₂ e sob vácuo foram evidenciados em filés de truta por ARASHISAR et al. (2004). Porém, estes autores mostraram que o índice de TBARs, independente da atmosfera analisada, aumentou ao longo do período de estocagem. Além disto, também evidenciaram valores mais elevados de TBARs em atmosferas contendo 60% CO₂ + 30% N₂ + 30% O₂. O fato de, diferentemente dos presentes resultados, ARASHISAR et al. (2004) terem evidenciado evolução de TBARs ao longo do período de estocagem, provavelmente se deve a um maior teor de gordura em trutas (> 5%) do que em tilápias (< 1%) (MACEDO-VIEGAS, 2002).

PRENTICE e SAINZ (2005), com valores inferiores ao do presente experimento, evidenciaram evolução lenta de TBARs em amostras de carpa-capim, um peixe magro (< 1% de gordura), ao longo da estocagem a 2 °C, sendo esta evolução menor em amostras embaladas com vácuo do que naquelas embaladas sem vácuo.

4.2.5. Determinação das coordenadas de cor

4.2.5.1. Luminosidade (L*)

Valores mais elevados de luminosidade (L*) são indicativos de uma coloração de carne mais clara, o que, geralmente, é desejado pelos consumidores, já que o escurecimento de carnes costuma estar associado à sua deterioração.

A análise das Figuras 10 e 11 permite evidenciar diferença nos valores de luminosidade (L*) entre os lados interno e externo dos filés de tilápias, o que se explica

pelo fato do lado externo dos filés de tilápias apresentarem, ao longo do seu eixo longitudinal, a presença de estrias avermelhadas.

Em ambos os lados (interno e externo) houve efeito ($P < 0,05$) de atmosferas sobre os valores de L^* . No lado interno (Figura 10), a luminosidade dos filés embalados em 1% de CO + 99% de CO₂ aumentou ($P < 0,05$) ao longo do período de estocagem, o que não foi evidenciado nas demais condições avaliadas. A luminosidade dos filés embalados em atmosferas sob vácuo e 100% de CO + vácuo não diferiram ($P > 0,05$) entre si ou daqueles embalados em ar atmosférico (Figura 10). No lado externo dos filés mantidos em 1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo foi evidenciado ($P < 0,05$) aumento da luminosidade ao longo do tempo. Os valores de L^* dos filés embalados em atmosfera sob vácuo não diferiu ($P < 0,05$) daqueles mantidos em ar atmosférico (Figura 11).

O aumento de luminosidade (L^*) em ambos os lados dos filés de tilápias embalados em atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂ ao longo do tempo é consistente com resultados apresentados por outros autores (SILVA e WHITE, 1994; JAYASINGH et al., 2001; MASNIYON et al., 2002). Este aumento, provavelmente, se deve ao efeito desnaturante do ácido carbônico gerado pela dissolução do CO₂ na superfície dos filés (SILVA e WHITE, 1994; autores citados por MASNIYON et al., 2002 e FAGAN et al., 2004). Esta desnaturação protéica, provavelmente, envolve a perda de capacidade de retenção de água (CRA) nas camadas superficiais dos filés, gerando uma superfície espelhada, aumentando a reflexão de luz e, conseqüentemente, aumentando os valores de L^* . Como a queda de pH favorece a formação do pigmento oxidado de metamioglobina (MMb) (LAWRIE, 1998; VARNAM e SUTHERLAND, 1995), no lado externo esta desnaturação também poderia estar afetando os pigmentos de mioglobina (Mb) e hemoglobina (Hb), através de sua oxidação à forma meta (MMb e MHb), tornando a coloração menos avermelhada e mais amarronzada. Entretanto, como se verá, a falta de alteração nos valores de a^* (índice de vermelho) parece excluir esta hipótese. Além disto, LINDAHL et al. (2001) verificaram, em carne suína, que o aumento de luminosidade está positivamente relacionado com aumento no teor de pigmentos oxigenados e diminuição nos teores de pigmentos oxidados (MMb) e desoxigenados (Mb).

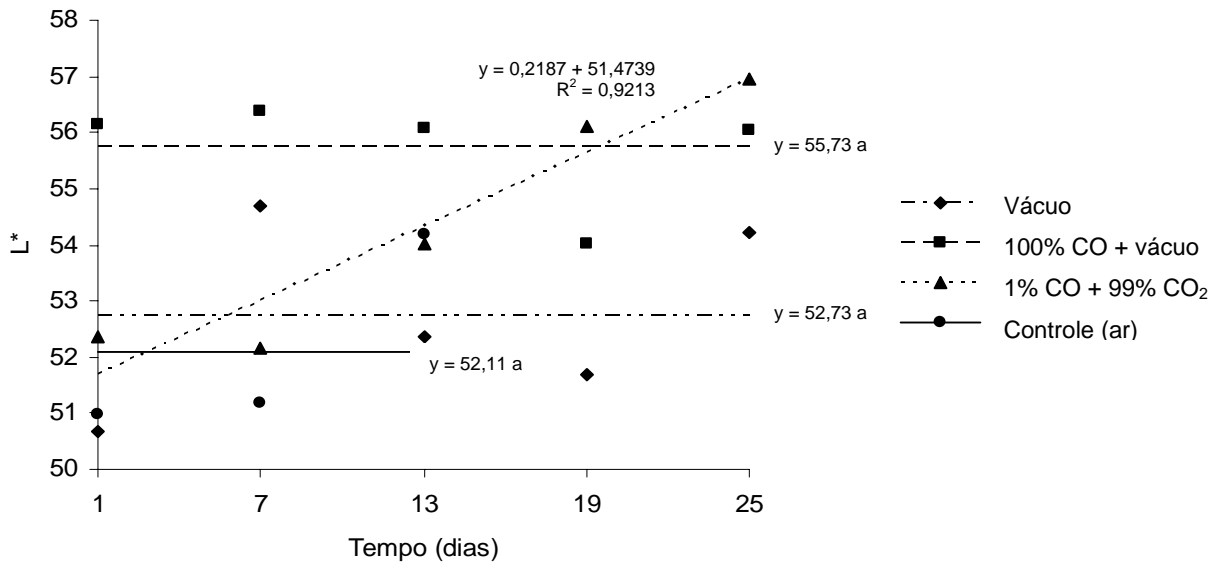


Figura 10 - Variação de luminosidade (L^*) do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

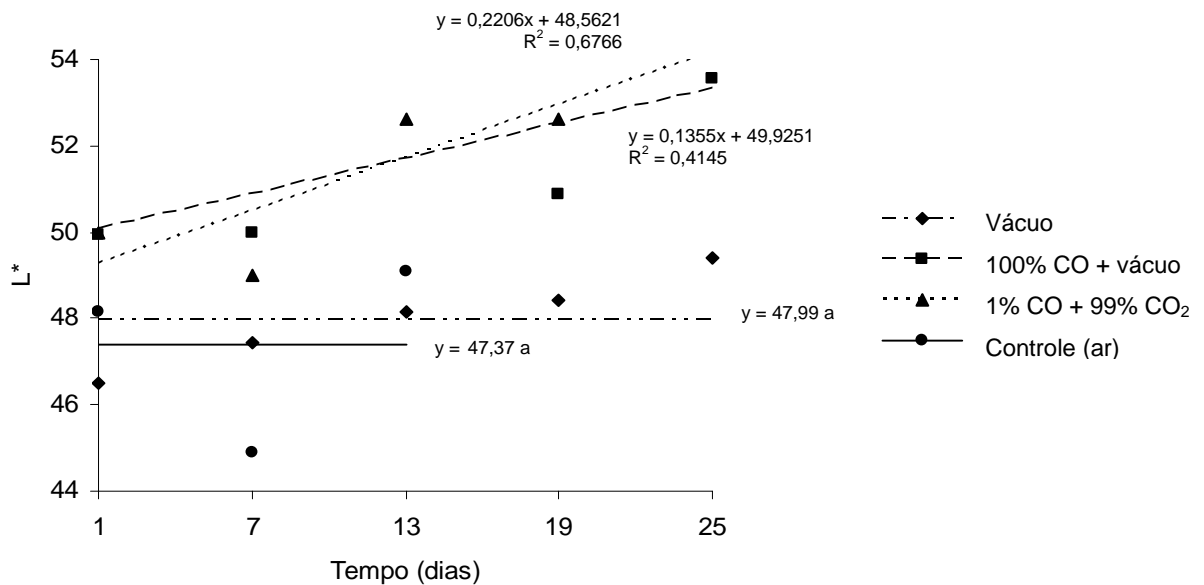


Figura 11 - Variação da luminosidade (L^*) do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

A luminosidade (L^*) elevada do lado externo dos filés embalados em atmosferas de 100% de CO + vácuo é, provavelmente, conseqüência da formação dos pigmentos vermelho claro brilhante, e estáveis, de carboxi-heme (COMb). Segundo LINDAHL et al. (2001) o aumento em L^* está relacionado com aumento no teor relativo de oximioglobina (MbO_2) que, à semelhança da COMb, também apresenta cor vermelho claro brilhante.

Lombos embalados em atmosfera de 99% de CO_2 + 1% de CO apresentaram, durante todo o tempo de estocagem, valores de luminosidade mais elevados que todos os demais tratamentos (VIANA et al., 2005).

Em contrafilé bovino, JAYASINGH et al. (2001) também evidenciaram que a luminosidade (L^*) dos bifés mantidos em atmosferas de 0,5% CO + 60% CO_2 + 39,5% N_2 e 100% de CO + vácuo foi maior que daqueles embalados em ar atmosférico. Para os bifés mantidos em atmosfera contendo de 0,5% CO + 60% CO_2 + 39,5% N_2 , os resultados indicaram uma tendência de aumento significativo da luminosidade (L^*) durante o período de estocagem. Nos bifés estocados em 100% de CO + vácuo, os resultados não evidenciaram variação significativa dos valores de L^* ao longo da estocagem. Nos bifés embalados em ar atmosférico, os dados registraram queda dos valores de L^* na primeira semana de estocagem e recuperação na segunda semana.

Em atmosferas com diferentes concentrações de CO_2 , N_2 e O_2 , TORRIERI et al. (2006) evidenciaram efeito ($P > 0,05$) de interação entre atmosferas e tempo de estocagem sobre a luminosidade da carne de robalo (*Dicentrarchus labrax*). Entretanto, nas atmosferas (ar atmosférico e 70% de CO_2 + 30% de N_2) similares à do presente experimento, estes autores não evidenciaram diferenças nos valores de L^* . Nestas atmosferas, também não houve variação do índice de vermelho ao longo tempo. A diferença entre os resultados desses autores e os da presente pesquisa quanto ao efeito de altas concentrações de CO_2 e a variação no tempo se deve ao fato de que, diferentemente da presente pesquisa, as atmosferas de TORRIERI et al. (2006) não apresentavam a presença de CO.

FAGAN et al. (2004) também não evidenciaram efeito significativo de atmosferas ou de período de estocagem sobre os valores de luminosidade (L) em filés de cavala e salmão. Entretanto, para pescada (*Merlangius merlangus*), estes autores verificaram que, apesar da ausência de efeito do tipo de atmosfera utilizada, houve variação de L ao longo do tempo.

4.2.5.2. Coordenada a^*

Diferença nos valores de a^* (índice de vermelho) entre os lados interno e externo dos filés de tilápias foi verificada (Figura 12 e 13), o que se explica pelo fato do lado externo dos filés de tilápias apresentarem, ao longo do seu eixo longitudinal, a presença de estrias avermelhadas. Assim, o lado externo dos filés apresenta valores de a^* mais elevados que o lado interno.

Em ambos os lados, verificou-se que os filés embalados em atmosferas contendo monóxido de carbono (1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo) apresentam ($P < 0,05$) maiores valores de a^* do que os filés embalados em atmosfera sob vácuo e sob ar atmosférico, o que se justifica pela estabilização dos pigmentos heme (Hb e Mb) do filé, em função de sua complexação com o monóxido de carbono.

A ausência de variação ($P > 0,05$) nos valores de a^* ao longo do tempo (Figuras 12 e 13), mesmo nas atmosferas controle (ar atmosférico) e sob vácuo, provavelmente se deve ao fato de tilápia ser um peixe classificado como de carne branca, possuindo baixos teores musculares de pigmentos heme (OGAWA e MAIA, 1999).

Os resultados da presente pesquisa diferem daqueles reportados por FAGAN et al. (2004), que não evidenciaram ($P > 0,05$) efeito da atmosfera modificada sobre os valores de a em filés de pescada, cavala e salmão. Embora esses autores também não tenham observado ($P > 0,05$) alteração no índice de vermelho (a) em filés de cavala e salmão, nos filés de pescada (*Merlangius merlangus*), um peixe de carne branca, os valores de a decresceram ($P < 0,05$) durante a estocagem refrigerada.

Variação no índice de vermelho (a^*) durante o tempo de estocagem em diferentes atmosferas modificadas tem sido observada em pescados (SILVA e WHITE et al., 1994; MASNIYOM et al. 2002; TORRIERI et al., 2006).

Em filés de piramutaba (*catfish*) mantidos em atmosferas com alta (80%) e baixa (25%) concentração de CO₂, ou em ar atmosférico, SILVA e WHITE (1994) evidenciaram um decréscimo inicial ($P < 0,05$), seguido de posterior elevação ($P < 0,05$), dos valores de a nos filés mantidos em atmosferas com alta concentração de CO₂ (80%), após 1 dia.

Em fatias de robalo (*Lates calcalifer*) estocadas sob refrigeração, foi verificado decréscimo gradual do índice vermelho (a) nas amostras, em atmosferas com diferentes concentrações (60, 80, 100%) de CO₂ e ar atmosférico (MASNIYOM et al., 2002). Entretanto, esses autores não deixaram claro se esse decréscimo foi significativo e não

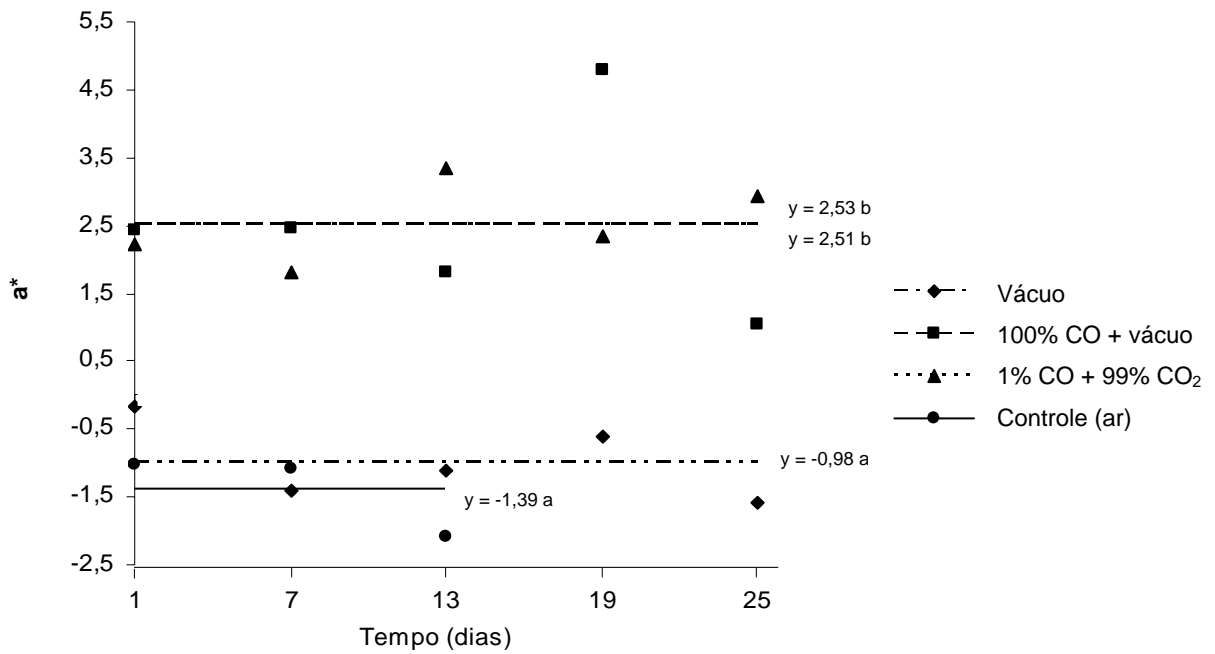


Figura 12 - Variação da coordenada a^* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

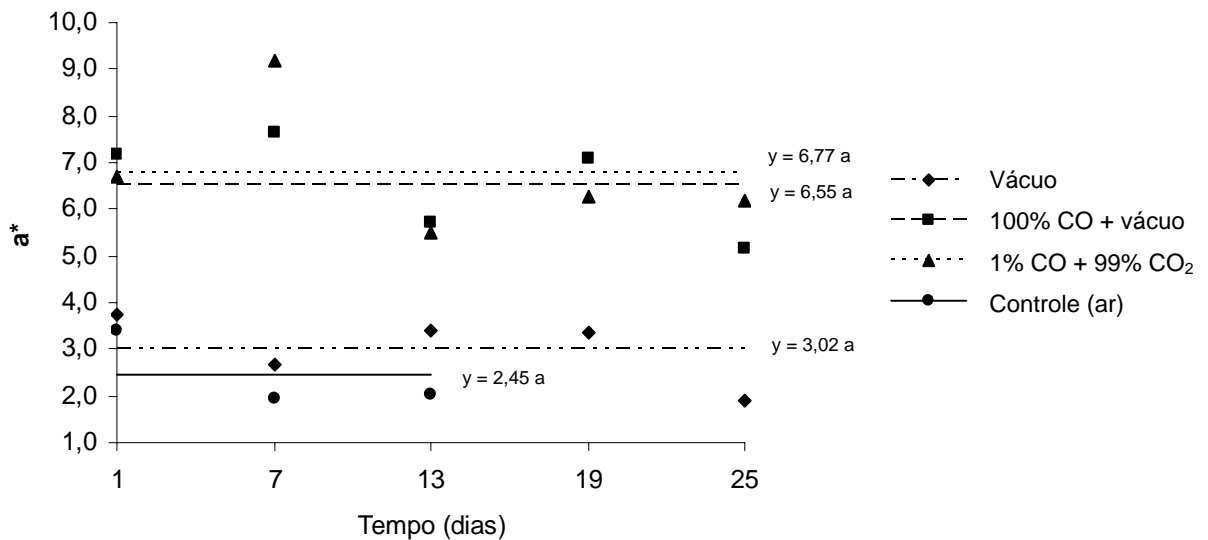


Figura 13 - Variação da coordenada a^* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

mencionam efeito de atmosfera sobre este índice de cor, embora seus dados denotem uma tendência de decréscimo nos valores de **a** com o aumento da concentração de CO₂ na embalagem. Segundo eles, o CO₂ causa mudança na cor devido à desnaturação da mioglobina, com deslocamento ou liberação do grupo heme.

Em pesquisa com robalo, TORRIERI et al. (2006) evidenciaram efeito de interação entre tratamento (atmosfera) e tempo de estocagem sob refrigeração, especialmente quando as atmosferas utilizadas combinavam diferentes níveis de CO₂, N₂ e O₂. Nas carnes embaladas em atmosferas similares às do presente experimento, baseadas em ar atmosférico ou contendo altas concentrações de CO₂ e sem oxigênio (70% CO₂ + 30%N₂), esses autores não evidenciaram variação do valor de **a*** ao longo da estocagem. Nessas atmosferas, exceto no tempo de cinco dias de estocagem, o valor de **a*** da carne embalada em atmosfera baseada em alto teor de CO₂ (70% de CO₂ + 30% de N₂) foi significativamente inferior à daquela embalada em ar atmosférico.

O CO é reconhecido como um gás que estabiliza a cor vermelha em carnes e vários estudos evidenciaram o efeito de CO sobre os valores de **a***, com sua manutenção ao longo do tempo em carnes bovina, suína e em sangue de tilápias (SØRHEIM et al., 1999; 2001; LUÑO et al., 2000; VIANA et al., 2005; KRISTINSSON et al., 2005).

SØRHEIM et al. (1999) obtiveram coloração vermelho-cereja e valores de **a*** elevados durante os 21 dias de estocagem de carne bovina e suína mantidas em atmosferas de 0,4% CO + 60% CO₂ + 40% N₂, a 4 °C. VIANA et al. (2005) evidenciaram, em lombos de carne de suína embalados com 99% de CO₂ + 1% de CO, maiores valores de **a*** e a estabilidade da cor vermelho brilhante durante os 25 dias de estocagem. LUÑO et al. (2000) utilizaram entre 0,1 e 1% de CO em misturas gasosas contendo 24% a 70% de O₂ para obter uma cor mais natural na carne bovina. Eles comprovaram que é necessário o uso de, no mínimo, 0,5% de CO para estabilizar a cor por um período maior. Para SØRHEIM et al. (2001), o uso de concentrações de 0,4% a 1% de CO parece ser suficiente para obtenção dos fins de cor desejados.

4.2.5.3. Coordenada b*

A análise das Figuras 14 e 15 permite evidenciar diferença nos valores de **b*** (índice de amarelo) entre os lados interno e externo dos filés de tilápias. A presença de estrias

avermelhadas do lado externo, provavelmente, explica os valores de **b*** mais elevados que o lado interno.

Em ambos os lados, verifica-se que os filés embalados em atmosferas contendo monóxido de carbono (1% de CO + 99% de CO₂) tendem, ao longo do período de estocagem, a apresentar ($P < 0,05$) valores de **b*** superiores aos de filés embalados nas demais atmosferas (100% de CO + vácuo, vácuo e ar atmosférico), os quais não diferiram entre si e não variaram durante a estocagem. Isto se justifica pela desnaturação dos pigmentos heme (Hb e Mb) dos filés em função de um provável aumento da concentração de ácido carbônico devido à dissolução do CO₂ na superfície muscular (MASNIYOM et al., 2002; TORRIERI et al., 2006). Nos filés estocados nas demais atmosferas, a ausência de formação de ácido carbônico na superfície do músculo é, aparentemente, responsável pela manutenção dos valores de **b*** ao longo do período de estocagem.

Os valores de **b** nos filés de robalo em atmosferas ricas em CO₂ foram superiores aos daqueles mantidos em atmosfera controle (ar atmosférico), o que foi atribuído à desnaturação do pigmento de mioglobina, com deslocamento ou liberação do grupo heme MASNIYOM et al. (2002).

Interação significativa entre tipo de atmosfera e tempo de estocagem dos valores de **b** de pescada foram constatados por FAGAN et al. (2004). Esses autores, à semelhança dos resultados aqui apresentados, evidenciaram que, em filés de salmão e de pescada, os valores de **b** foram significativamente maiores em amostras embaladas em atmosferas com alto teor de CO₂ do que em amostras embaladas em ar atmosférico.

TORRIERI et al. (2006), à semelhança do presente trabalho, não evidenciou, durante o período de estocagem, variação no valor de **b*** em músculos de robalo refrigerados, embalados em ar atmosférico. Entretanto, nas amostras embaladas em atmosfera com elevado teor de CO₂ (70% de CO₂ + 30% de N₂) os valores de **b*** dos filés de robalo tenderam a diminuir com o tempo de estocagem. Outrossim, seus resultados, diferentemente daqueles da presente pesquisa, não evidenciaram diferenças significativas entre os valores de **b*** de filés de robalo embalados em ar atmosférico e aqueles embalados em atmosferas com elevados teores de CO₂ (70% de CO₂ + 30% de N₂).

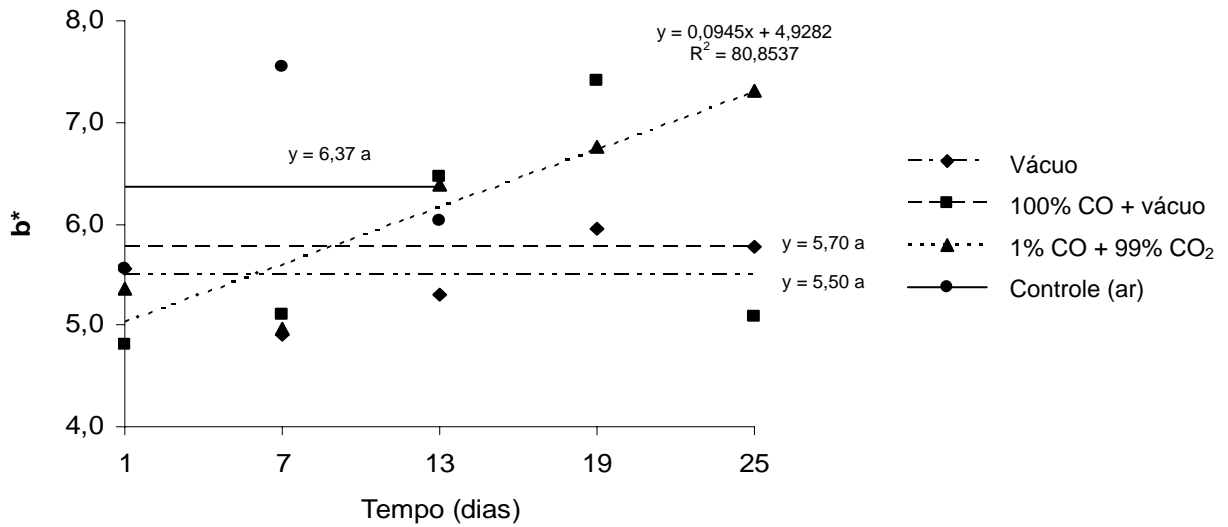


Figura 14 - Variação da coordenada b^* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

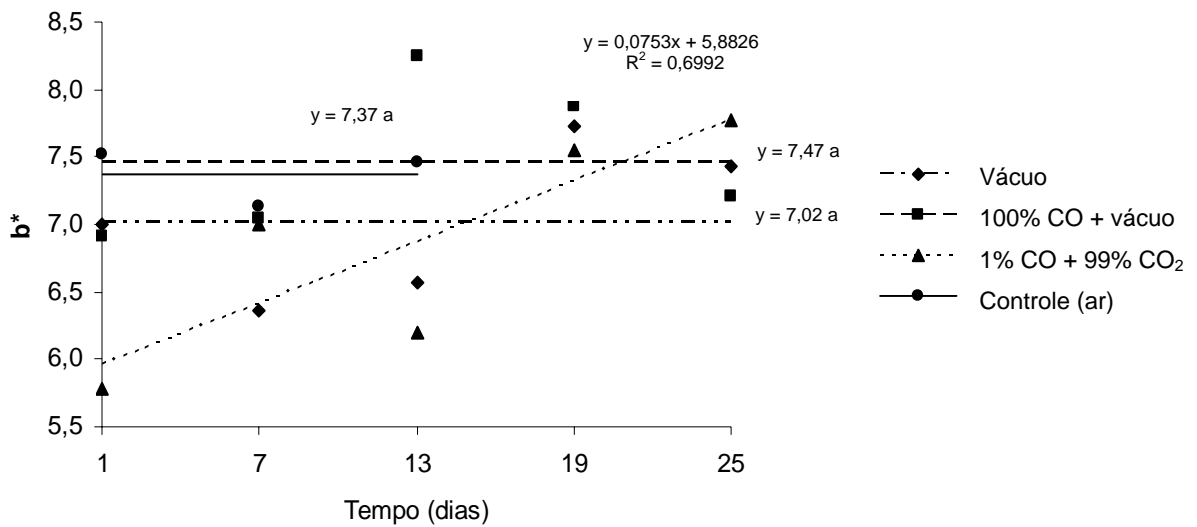


Figura 15 - Variação da coordenada b^* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

Em bifes de contrafilés bovinos embalados em atmosferas de 0,5% CO + 60% CO₂ + 39,5% N₂, após elevação inicial, os valores de **b*** não variaram durante o período de estocagem restante (JAYASINGH et al., 2001). Nos bifes embalados em atmosfera de 100% de CO + vácuo os valores de **b*** não apresentaram variação significativa e naqueles embalados em ar atmosférico os valores de **b*** apresentaram diminuição significativa ao longo da estocagem refrigerada.

4.2.5.4. Saturação (c*)

A análise das Figuras 16 e 17 permite verificar que, em geral, a saturação de cor (**c***) do lado externo dos filés são maiores do que aquelas do lado interno, indicando menor diluição de cor (menor presença de branco) nos lados externos dos filés. A maior saturação de cor (**c***) no lado externo dos filés se deve à presença de estrias vermelhas (maior concentração de pigmentos) ao longo do eixo longitudinal dos filés.

Também se pode verificar que, enquanto no lado externo os valores de **c*** dos filés embalados em 100% de CO + vácuo estão muito próximos daqueles embalados em 1% de CO + 99% de CO₂, no lado interno eles tendem a se diferenciar ($P < 0,05$) ao longo do período de estocagem.

Pelas Figuras 16 e 17, verifica-se que, com exceção do lado interno dos filés de tilápias embalados em atmosfera com 1% de CO + 99% de CO₂, as saturações de cor (**c***) não variaram ($P > 0,05$) durante o período de estocagem. Também se verifica que, no lado externo dos filés, não houve efeito ($P > 0,05$) do tipo de atmosfera sobre a saturação de cor (**c***). Apenas no lado interno verificou-se efeito de atmosfera sobre os valores de **c***, com saturação de cor dos filés embalados em 1% de CO + 99% de CO₂, diferindo daqueles embalados nas demais atmosferas.

Em contrafilé bovino, houve aumento dos valores de saturação (**c***) dos bifes embalados em 0,5% CO + 60% CO₂ + 39,5% N₂, durante o período de estocagem (JAYASINGH et al., 2001). Nos bifes embalados em atmosferas de 100% de CO + vácuo, os dados mostram que os valores de **c*** diminuíram daqueles iniciais, após 42 dias de estocagem. Os dados mostraram, ainda, que diferentemente, dos resultados da presente pesquisa, nos bifes embalados em ar atmosférico, os valores de **c*** apresentaram queda constante durante o período de estocagem refrigerada.

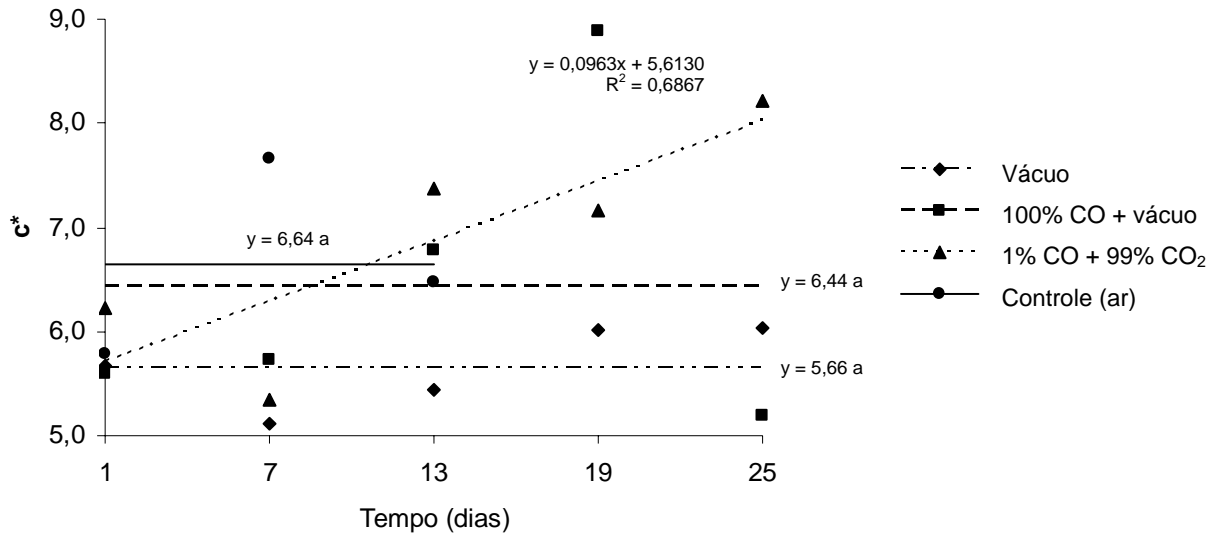


Figura 16 - Variação da coordenada c^* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

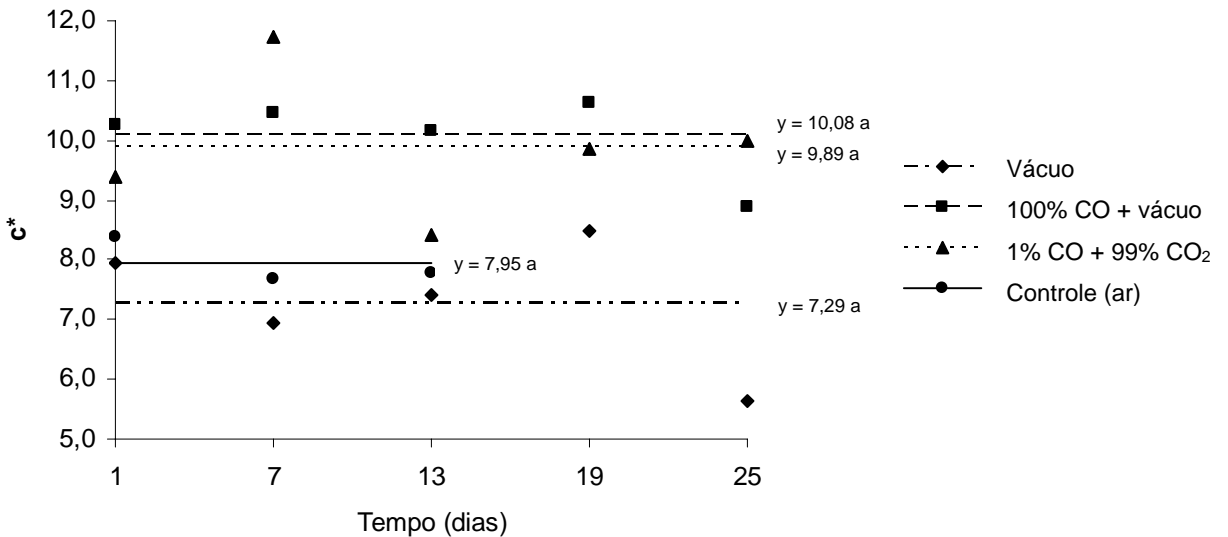


Figura 17 - Variação da coordenada c^* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

4.2.5.5. Tonalidade (h^*)

Ao se converter os ângulos de tonalidade (h^*) de radiano para graus, a análise das Figuras 18 e 19 evidencia que, no lado externo, os filés de todas as atmosferas avaliadas se localizam na tonalidade de cor vermelha. O mesmo acontece no lado interno para os filés embalados em atmosferas baseadas no uso de CO (100% de CO + vácuo e 1% de CO + 99% de CO₂). Porém, no lado interno, os filés embalados sob vácuo e em ar atmosférico apresentam ângulos de tonalidade (h^*) na região do verde.

Para o lado interno dos filés embalados em ar atmosférico, a associação dos valores de h^* com os valores de a^* (- 1,39 - Figura 12) e de L^* (52,11 - Figura 10), sugere uma coloração cinza amarronzada clara, caracterizando certa oxidação de pigmentos de cor. O mesmo se aplica para o lado interno dos filés embalados a vácuo, que apresentam tendência de suavização da coloração esverdeada durante a estocagem (aumento no valor negativo de h^* em radianos). Esta aparente desnaturação do pigmento de cor no lado interno dos filés embalados sob vácuo e em ar atmosférico, provavelmente, se deve a um maior metabolismo glicolítico neste lado dos filés. Este metabolismo glicolítico propiciaria uma maior produção de ácido lático e queda de pH no lado interno dos filés, o que induz à oxidação do pigmento de mioglobina (VARNAM e SUTHERLAND, 1995; LAWRIE, 1998).

A coloração avermelhada verificada no lado interno dos filés embalados em atmosfera contendo CO denota a estabilização do pigmento de cor pela formação do pigmento de carboxymióglobina (SORHEIM et al., 1999; 2001; KRISTINSSON et al., 2005; VIANA et al., 2005). Ao se analisar os valores de h^* em conjunto com os valores de c^* , também se verifica que, apesar de haver semelhança de tonalidade de cor entre os lados interno e externo da maioria dos filés das atmosferas avaliadas (Figuras 18 e 19), o lado externo sempre apresenta uma coloração mais intensa com menor presença de branco. Isto é, para a mesma tonalidade de cor, o lado externo dos filés apresenta uma coloração vermelha mais intensa que o lado interno.

A análise das Figuras 18 e 19 evidencia ainda que, exceto para os filés embalados a vácuo, os ângulos de tonalidade (h^*) dos lados interno e externo dos filés de tilápias não variaram ($P > 0,05$) ao longo do período de estocagem. Também se evidencia que, para os filés embalados nas demais atmosferas (ar atmosférico, 1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo), os ângulos de tonalidade do lado interno dos filés embalados em

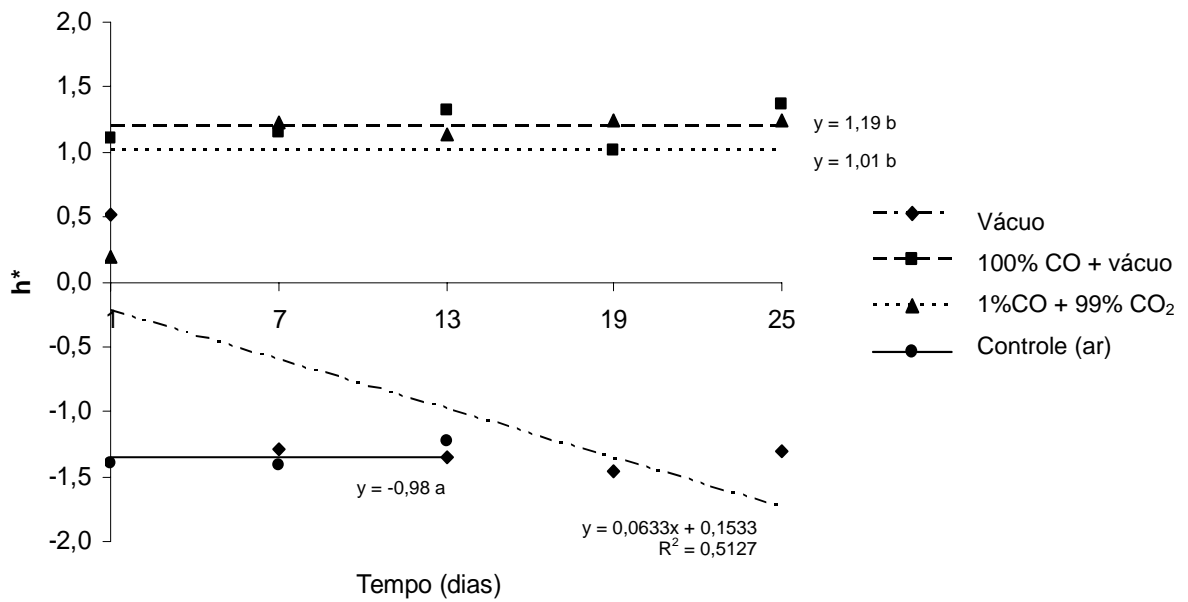


Figura 18 - Variação da coordenada h^* do lado interno em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

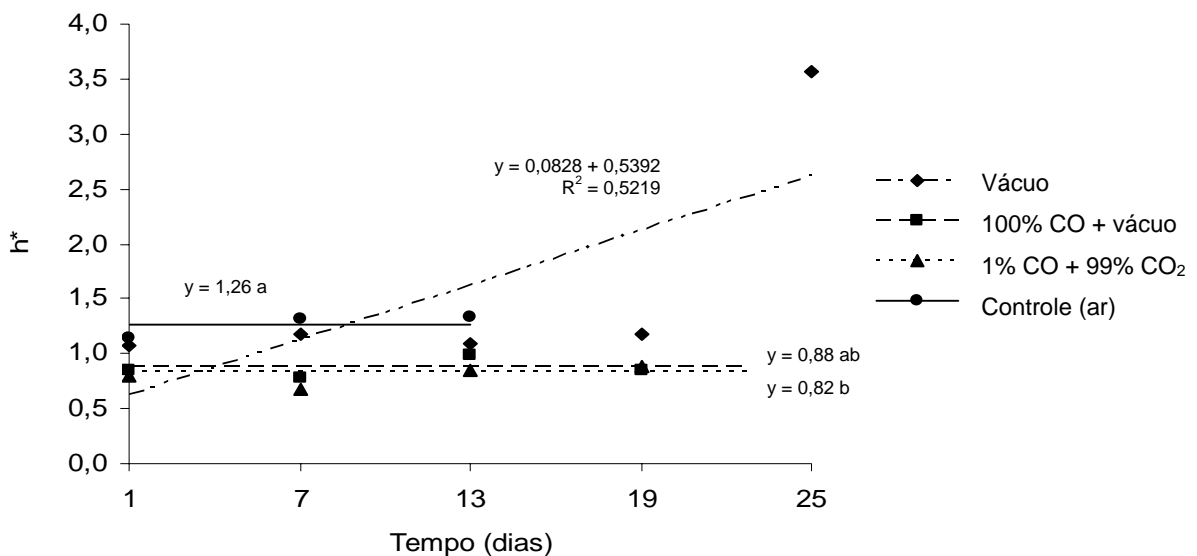


Figura 19 - Variação da coordenada h^* do lado externo em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C. Médias seguidas de mesma letra indicam ausência de diferença entre filés embalados em atmosferas modificadas e aqueles embalados em atmosfera controle (ar atmosférico) pelo teste de Dunnett, em nível de 5% de probabilidade.

atmosferas de 1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo não diferiram ($P > 0,05$) entre si e diferiram do ângulo daqueles embalados em ar atmosférico. No lado externo, os filés embalados em atmosferas de 1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo apresentaram ângulos de tonalidade (h^*) semelhantes ($P > 0,05$). Entretanto, houve diferença ($P < 0,05$) de h^* entre os filés embalados em ar atmosférico e aqueles embalados em 1% de CO + 99% de CO₂.

O ângulo de tonalidade (h^*) dos filés bovinos embalados em 0,5% CO + 60% CO₂ + 39,5% N₂ ou 100% de CO + vácuo foi menor que aqueles de filés embalados em ar atmosférico (JAYASINGH et al., 2001). Também não foi evidenciada variação significativa do ângulo de tonalidade em filés refrigerados, embalados em atmosfera contendo de 0,5% CO + 60% CO₂ + 39,5% N₂. Nos filés embalados em ar atmosférico, os resultados desses autores evidenciaram uma tendência significativa de elevação do ângulo de tonalidade, o que também pode ser observado nos filés embalados em 100% de CO + vácuo.

Filés de piramutaba mantidos em atmosferas com baixas e altas concentrações de CO₂ (25% e 80%) ou em ar atmosférico apresentaram uma queda inicial nos valores de h com subsequente tendência a aumentar durante a estocagem (SILVA e WHITE, 1994).

Lombo suíno estocado em atmosferas iguais à deste experimento apresentaram, em todos os tratamentos, estabilidade dos ângulos de tonalidade ao longo da estocagem (VIANA et al., 2005). Nesse estudo, os ângulos de tonalidade (h^*) foram mais próximos do vermelho nos lombos embalados em atmosferas de 1% de CO + 99% de CO₂ ($h^* \simeq 60$) e, especialmente, de 100% de CO + vácuo ($h^* \simeq 45$). Nas demais atmosferas (vácuo, ar atmosférico e 100% de CO₂), os ângulos de tonalidade (h^*) dos lombos tendiam para a cor laranja amarelada (h^* entre 65 e 85).

4.3. Teste sensorial descritivo dos filés de tilápias

4.3.1. Cor visual dos filés de tilápias

A Figura 20 mostra efeito ($P < 0,05$) de atmosferas sobre os escores sensoriais de cor. Mostra também que, exceto nos filés embalados sob vácuo, a cor tende a se tornar menos agradável ($P < 0,05$) com o tempo de estocagem.

Verifica-se que a cor dos filés embalados a vácuo é, no início do período de estocagem, menos agradável ($P < 0,05$) do que aquelas das demais atmosferas. Nesta atmosfera, os filés apresentaram coloração mais escura, característica do pigmento de deoximioglobina e considerada desagradável pelos consumidores.

Nos filés embalados em ar atmosférico, a cor inicial se apresentou ($P < 0,05$) mais agradável que a de filés embalados a vácuo e menos agradável que aquela das demais atmosferas. Porém, durante o período de estocagem, os filés embalados em ar atmosférico foram perdendo sua característica de cor agradável, tornando-se, após sete dias, menos agradável até que a cor a de filés embalados a vácuo, com tendência a se tornar esverdeada. Esta perda de coloração agradável tem sido relatada como consequência do desenvolvimento microbiano, que leva à redução da concentração de oxigênio a limites críticos e podem resultar na liberação de metabólitos oxidantes, como o peróxido de hidrogênio, o que induz à oxidação e possível degradação estrutural do pigmento de mioglobina (ZOTTOLA, 1988; JAY, 1992; RICHARDSON, 2003; VIANA et al., 2005).

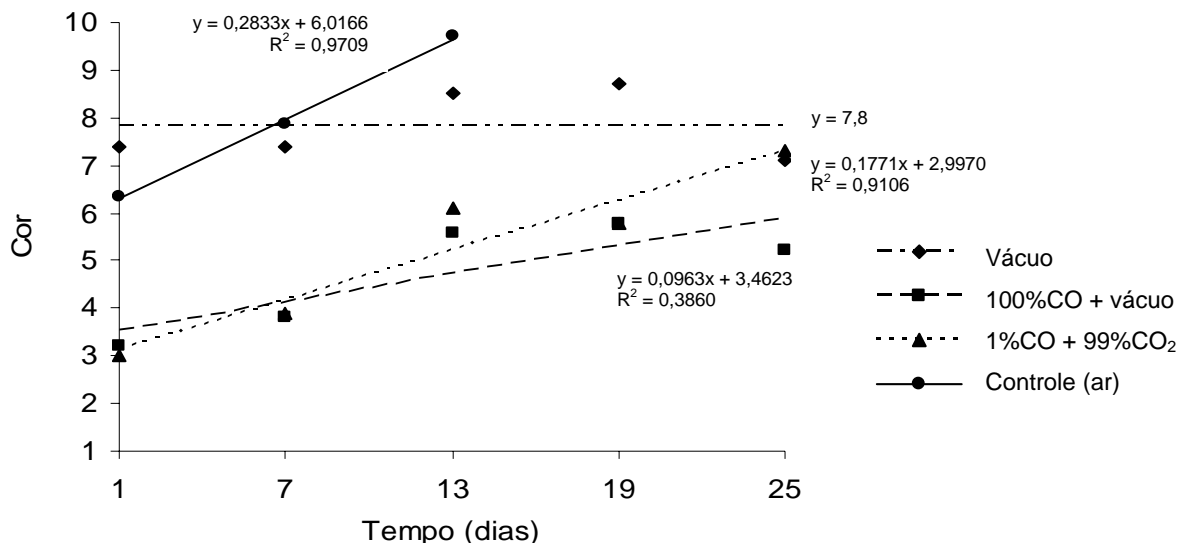


Figura 20 - Variação do escore sensorial de cor (1 = agradável; 15 = desagradável) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.

Nos filés embalados em atmosferas baseadas em CO (1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo) a cor foi sempre considerada mais agradável que aquela dos embalados a vácuo e em ar atmosférico. Este resultado pode ser atribuído à formação do pigmento de carboximioglobina. A carboximioglobina é um pigmento mais estável que os

pigmentos de oxi e deoximiglobina de carnes embaladas em presença e ausência de oxigênio (BREWER et al., 1994; SØRHEIM et al., 1997, 1999; LUÑO et al., 2000; VIANA et al., 2005). Nestas atmosferas, verifica-se que os filés embalados em 100%CO + vácuo tendem a apresentar maior estabilidade de cor que aqueles embalados em 1% de CO + 99% de CO₂, o que provavelmente se deve a um certo grau de desnaturação do pigmento de cor pelo ácido carbônico gerado, ao longo do tempo, a partir da dissolução do CO₂ na superfície dos filés (VILLEMURE et al., 1986; DANIELS et al., 1996; MASNIYOM et al., 2002; TORRIERI et al., 2006).

Lombos suínos embalados a vácuo apresentaram menor aceitação sensorial que aqueles embalados nas demais atmosferas após 24 horas de estocagem refrigerada (VIANA et al., 2005). Os resultados também evidenciaram que aqueles embalados em atmosferas baseadas na aplicação de CO (99% de CO₂ + 1% de CO e 100% de CO + vácuo) foram mais bem aceitos. À semelhança dos resultados do presente estudo, os resultados de VIANA et al. (2005) mostraram que, após 20 dias, os lombos suínos embalados em atmosferas baseadas na aplicação de CO continuaram sendo preferidos pelos consumidores, sendo aquele embalado em 100% de CO + vácuo o mais aceitável. Neste tempo (20 dias), as amostras de lombo embaladas em 100% de O₂ apresentavam coloração semelhante àquela das amostras embaladas a vácuo, o que foi atribuído ao desenvolvimento de microrganismos aeróbios, com decréscimo na concentração de O₂ nas embalagens, levando à oxidação do pigmento de oximioglobina a metamioglobina. Nos filés de tilápias, analisados no presente trabalho, a equipe sensorial evidenciou uma degradação acentuada na cor no período de 13 dias de estocagem.

As mudanças de cor nas carnes é consequência do crescimento microbiano, tornando a carne de cor esverdeada, cinza ou marrom. Entretanto, estas mudanças de cor só se tornam evidentes se a população de microrganismos supera 10⁶ a 10⁷ UFC.cm⁻² (ZOTTOLA, 1988). Porém, no presente experimento, e independentemente do tipo de atmosfera, foram observadas correlações baixas e não significativas ($P > 0,05$) entre cor dos filés e contagens microbianas (Quadro 2). Isto indicaria que, para filés de tilápias, a cor não é um bom índice de avaliação do grau de deterioração, o que talvez se deva ao baixo teor de pigmentos em seus músculos. Porém, vale ressaltar que, no caso da atmosfera controle (ar atmosférico), o número de dados não favorece a observação de correlações significativas.

As alterações sensoriais de cor, verificadas na Figura 20, estão em consonância com as alterações nos índices de cor objetiva, apresentando correlação significativa com os

valores de **a***, **c*** e **h*** (Quadro 2). Verificou-se que a diminuição no índice de vermelho (**a***) e na cromaticidade e o aumento no ângulo de tonalidade, levam a uma depreciação dos escores de cor pela equipe sensorial.

Quadro 2 - Coeficientes de correlação entre cor subjetiva, contagens microbianas e índices objetivos de cor (lado externo)*.

	PSA	PSAN	BL	L*	a*	b*	c*	h*
Geral (todas as atmosferas)	0,308 (0,1427) {24}	0,401 (0,0523) {24}	0,128 (0,5514) {24}	-0,238 (0,1625) {36}	-0,532 (0,0008) {36}	0,089 (0,6032) {36}	-0,500 (0,0060) {36}	0,521 (0,0011) {36}
Vácuo	0,467 (0,3502) {6}	0,273 (0,6005) {6}	0,455 (0,3640) {6}	-0,163 (0,6746) {9}	-0,057 (0,8826) {9}	0,156 (0,6878) {9}	0,113 (0,7704) {9}	0,172 (0,6589) {9}
100% CO + vácuo	0,755 (0,0825) {6}	0,656 (0,1567) {6}	0,618 (0,1903) {6}	0,703 (0,0348) {9}	-0,285 (0,4561) {9}	0,444 (0,2307) {9}	-0,178 (0,6461) {9}	0,289 (0,4509) {9}
1% CO + 99% CO ₂	0,555 (0,2529) {6}	0,571 (0,2369) {6}	0,788 (0,0628) {6}	0,462 (0,2104) {9}	-0,330 (0,3853) {9}	0,151 (0,6985) {9}	-0,317 (0,4051) {9}	0,268 (0,4865) {9}
Ar atmosférico (controle)	0,589 (0,2179) {6}	0,600 (0,2079) {6}	0,477 (0,3369) {6}	0,027 (0,9456) {9}	-0,198 (0,6089) {9}	-0,124 (0,7498) {9}	-0,178 (0,6461) {9}	0,288 (0,4509) {9}

PSA: psicrotróficos aeróbios, PSAN: psicrotróficos anaeróbios, BL: bactérias lácticas, L*: luminosidade, a*: índice vermelho, b*: índice amarelo, c*: cromaticidade, h*: tonalidade.

* Entre parêntesis estão os níveis descritivos de significância e entre colchetes o número de observações; todas as correlações significativas são apresentadas em negrito.

A aceitabilidade de cor de filés de sole (*Solea solea*) mantidos em atmosferas de ar atmosférico, 20% de CO₂ + 80% de ar e 40% de CO₂ + 60% de ar, também diminuiu ao longo do período da estocagem, especialmente quando embalados na presença de ar atmosférico (LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 1998). Adotando o critério de que a cor se tornava inaceitável após redução de 60% no escore sensorial, esses autores verificaram que os filés de sole se tornaram inaceitáveis após 11 dias de estocagem em ar atmosférico, após 15 dias de estocagem em 20% de CO₂ + 80% de ar e após 17 dias de estocagem em 40% de CO₂ + 60% de ar. Baseado neste critério de que a cor se torna inaceitável quando os escores sensoriais atingem 40% da escala, os resultados do presente trabalho evidenciaram que os filés de tilápias seriam considerados de cor inaceitável quando os escores de cor atingissem ou superassem o valor 9. Neste caso, verifica-se que, no período de estocagem avaliado, exceto os filés embalados em ar atmosférico, os filés embalados em atmosferas modificadas ainda seriam aceitáveis. Isto estaria de acordo com os resultados de SOCCOL (2002) que,

avaliando sensorialmente filés de tilápias em atmosferas de vácuo e 60% de CO₂ + 40% de O₂, evidenciou que os escores de cor se mantiveram aceitáveis por até 20 dias de estocagem. Entretanto, embora também tenha evidenciado ($P < 0,05$) efeito do tipo de atmosfera, SOCCOL (2002) não evidenciou ($P > 0,05$) variação nos escores de cor, durante a estocagem.

Efeito significativo da composição da atmosfera com diferentes níveis de mistura de CO₂, N₂ e O₂, especialmente do tempo de estocagem sobre a avaliação sensorial de cor do músculo de robalo eviscerado, foi relatado por TORRIERI et al. (2006). Em especial, os dados apresentados por eles indicam que, em todas as atmosferas, o músculo dos peixes tende a se tornar mais esbranquiçado (menos rosado) no decorrer da estocagem.

4.3.2. Limosidade sensorial dos filés de tilápias

Os escores de limosidade atribuídos pela equipe sensorial variaram ($P < 0,05$) ao longo do tempo em todos os filés embalados nas atmosferas avaliadas (Figura 21). Outrossim, verificou-se também que a limosidade foi afetada ($P < 0,05$) pela atmosfera utilizada para a embalagem de tilápias.

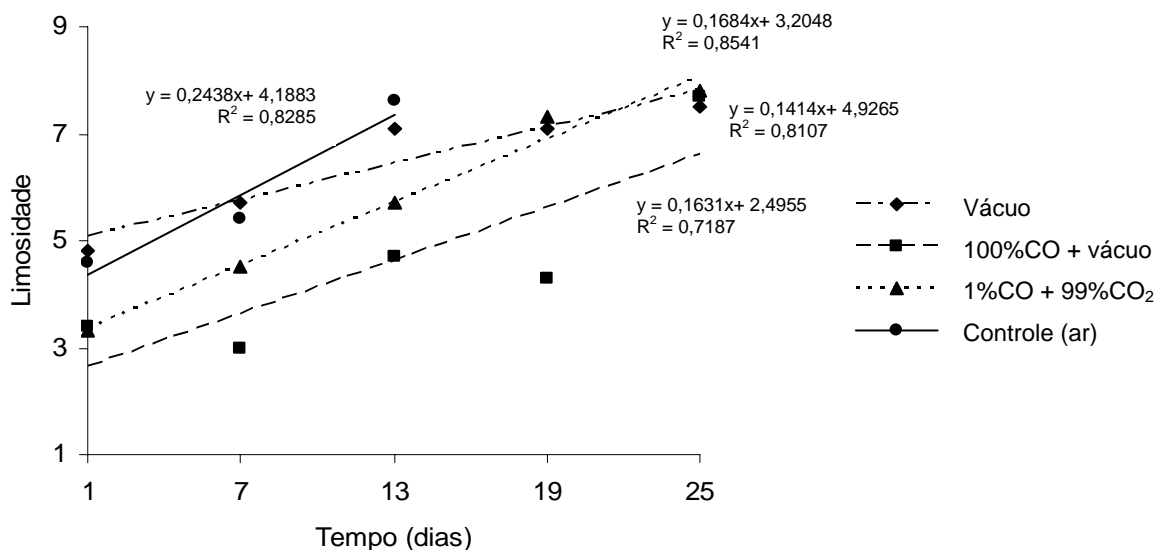


Figura 21 - Variação do escore sensorial de limosidade (1 = ausência; 15 = presença) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas estocados a 2 ± 1 °C.

Verifica-se que o desenvolvimento de limosidade tendeu a ser mais expressivo nos filés embalados em ar atmosférico e menos expressivo nos filés embalados em atmosferas baseadas na aplicação de CO (1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo). Maior desenvolvimento de limosidade em filés embalados em ar atmosférico se deveu ao fato desta atmosfera ser mais favorável ao desenvolvimento microbiano, especialmente de aeróbios. Mesmo sendo considerada, a presença de CO₂ não resultou em maior diminuição da limosidade nos filés embalados nas atmosferas de 1% de CO + 99% de CO₂ que naqueles embalados em 100% de CO + vácuo.

Em carnes, a limosidade é resultante da coalescência de colônias de microrganismos, resultando em consistência pegajosa das carnes deterioradas (JAY, 1992). Segundo esse autor, essa limosidade só é percebida quando as contagens de microrganismos atingem valores acima de 7,5 a 8,0 log UFC.cm⁻². LÓPEZ-GÁLVEZ et al. (1998) observaram limosidade em filés de sole (*Solea solea*) após sete dias de estocagem em ar atmosférico a 2 °C. Nesse tempo, as contagens microbianas já eram superiores a 10⁸ UFC.cm⁻². Já nos filés de sole, embalados em 20% de CO₂ + 80% de ar ou 40% de CO₂ + 60% de ar, as contagens jamais atingiram 10⁸ UFC.cm⁻² e a limosidade nos filés embalados nestas atmosferas não foi observada.

Tendo em vista que a limosidade só é percebida em contagens microbianas acima de 7,5 a 8,0 log UFC.cm⁻² (ZOTTOLA, 1988; JAY, 1992) e que estas populações de microrganismos não foram observadas nos filés de tilápia, senão em tempos de estocagem superiores a 15 dias, os resultados apresentados na Figura 19 parecem indicar que, apesar de haver uma correlação significativa (P = 0,023) entre limosidade e as contagens de psicotróficos anaeróbios (Quadro 3), a equipe sensorial detectou como limosidade um outro parâmetro de qualidade, provavelmente confundindo-a com umidade superficial. Até mesmo a correlação entre limosidade e psicotróficos anaeróbios parece corroborar que a equipe sensorial detectou umidade como se fosse limosidade, já que a literatura (ZOTTOLA, 1988; JAY, 1992) estabelece que o desenvolvimento de limosidade em carnes refrigeradas se deve ao crescimento de microrganismos aeróbios, especialmente *Pseudomonas*, em ambientes de elevada umidade relativa. Além disto, segundo ZOTTOLA (1988), as bactérias anaeróbias associadas a carnes são primariamente mesófilas ou termofílicas e não crescem sob refrigeração.

Isto sugere que a limosidade é de difícil percepção por consumidores que não têm experiência em identificar esta característica e, portanto, não é um atributo de qualidade satisfatório para julgamento do estado de frescor em peixes.

Quadro 3 - Coeficientes de correlação entre limosidade e contagens microbianas*.

	Psicrotróficos Aeróbios	Psicrotróficos Anaeróbios	Bactérias Lácticas
Geral (todas as atmosferas)	0,384 (0,0641) {24}	0,462 (0,0231) {24}	0,228 (0,2839) {24}
Vácuo	0,729 (0,1006) {6}	0,722 (0,1050) {6}	0,676 (0,1406) {6}
100% CO + vácuo	0,377 (0,4614) {6}	0,189 (0,7196) {6}	0,089 (0,8656) {6}
1% CO + 99% CO ₂	0,409 (0,4196) {6}	0,566 (0,2418) {6}	0,701 (0,1206) {6}
Ar atmosférico (controle)	0,591 (0,2171) {6}	0,539 (0,2699) {6}	0,481 (0,3347) {6}

* Entre parêntesis estão os níveis descritivos de significância e, entre colchetes, o número de observações; todas as correlações significativas são apresentadas em negrito.

No presente experimento as correlações entre limosidade e contagens de psicrotróficos aeróbios foram baixas ($r = 0,73$) e não significativas ($P > 0,05$), exceto para a correlação entre limosidade e contagens de psicrotróficos anaeróbios, que foram significativas (Quadro 3). Este resultado é diferente do observado por LOAIZA (1996), de que há uma correlação positiva elevada ($r = 0,92$) entre limosidade em rãs embaladas em sacos plásticos de polietileno à vácuo e contagens de microrganismos psicrotróficos aeróbios.

4.3.3. Textura sensorial dos filés de tilápia

A Figura 22 evidencia efeito ($P < 0,05$) de atmosferas sobre a avaliação sensorial de textura. Evidencia, também, que em todas as condições de atmosferas, a textura dos filés tende a se tornar flácida e inelástica ($P < 0,05$) com o tempo de estocagem.

A textura dos filés embalados em ar atmosférico, desde o início do período de estocagem, se apresentou mais firme e elástica ($P < 0,05$) do que aquelas das demais

atmosferas. A textura dos filés embalados sob vácuo se apresentou como a menos agradável (mais flácida e inelástica) e a textura dos filés embalados em atmosferas baseadas em monóxido de carbono (1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO + vácuo) se apresentou intermediária e semelhante entre si.

A perda de firmeza e elasticidade durante o período de estocagem refrigerada também ocorreu em robalos eviscerados (TORRIERI et al., 2006). Entretanto, durante os primeiros cinco dias de estocagem, a textura de robalos embalados em ar atmosférico foi superior (mais firme e elástica) àquela de robalos embalados em 70% de CO₂ + 30% de N₂, mas tornaram-se semelhantes aos sete e nove dias de estocagem.

Diferentemente dos resultados aqui apresentados, SOCCOL (2002) não evidenciou, em nenhum dos tempos de estocagem sob refrigeração, diferença (P > 0,05) de textura entre filés de tilápias embalados em ar atmosférico, vácuo ou 60% de CO₂ + 40% de O₂.

O aumento dos escores da textura (textura mais flácida e inelástica) de filés de tilápias, com o tempo de estocagem, também foi evidenciado por REDDY et al. (1994). Os resultados desses autores mostraram que a textura de filés embalados em ar atmosférico já se encontrava alterada antes de 10 dias de estocagem e, geralmente, quando as contagens microbianas eram de no mínimo 7,5 log UFC.g⁻¹.

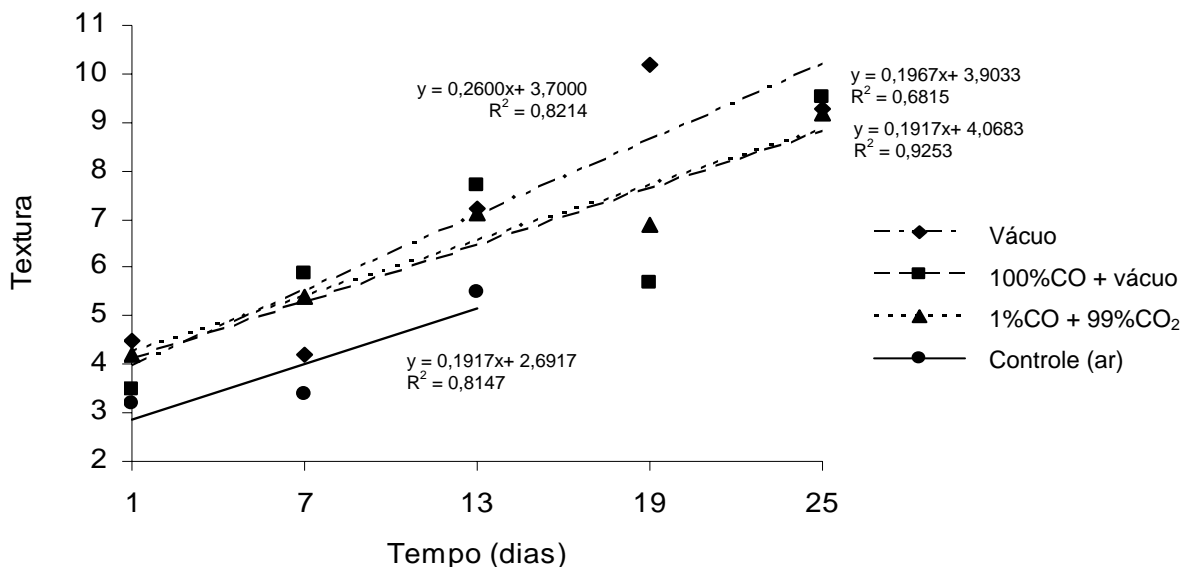


Figura 22 - Variação do escore sensorial de textura (1 = firme e elástica; 15 = flácida e inelástica) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.

Segundo SIKORSKI (1994), a degradação de textura em pescados se deve, principalmente, a processo proteolítico endógeno ou de origem microbiana, o qual causa uma série de mudanças estruturais no músculo do pescado, tornando-o mole.

Correlação significativa entre textura e contagens microbianas é apresentada no Quadro 4. Se for considerada a contagem de $7,5 \log \text{UFC.g}^{-1}$ como sendo aquela mínima para induzir alteração na textura dos filés de tilápias, como sugerido por REDDY et al. (1994) verificar-se-ia que a textura deteriorada deveria apresentar escores específicos para cada atmosfera. Nos filés embalados em ar atmosférico, a contagem de $7,5 \log \text{UFC.g}^{-1}$ estaria relacionada a um escore de 5,6. Nos filés embalados sob vácuo, esta mesma contagem estaria relacionada a um escore de textura de 8,6. Nos filés embalados em atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂, esta contagem estaria relacionada a um escore de textura acima de 8,8 e naqueles embalados em atmosfera de 100% de CO + vácuo, esta contagem estaria relacionada a um escore de 7,5. Estes resultados parecem indicar que a avaliação sensorial de textura não aparenta ser um bom indicador do estado de frescor de pescados, até porque, critérios subjetivos são bastante pessoais e o que é aceitável para uma pessoa pode ser totalmente inaceitável para outra. Portanto, não é possível estabelecer um único valor de textura que seja capaz de indicar a deterioração microbiológica em diferentes condições de embalagem e estocagem. No caso da textura, a perda de rigidez e elasticidade pode estar relacionada à perda de água pelas fibras musculares (perda de capacidade de retenção de água) e/ou à resolução do *rigor mortis* ou certo grau de maturação.

Segundo JAY (1992), alguns métodos físicos e químicos de acompanhamento de deterioração microbiana partem do pressuposto errôneo de que a deterioração de carnes em baixas temperaturas é acompanhada da degradação de proteínas primárias. Segundo ele, os métodos físicos e químicos tendem a mostrar apenas o que já é óbvio: que carnes que apresentam características sensoriais deterioradas já estão de fato deterioradas. Ou seja, a idéia inversa não é necessariamente verdadeira. Assim, é bem possível, especialmente tendo em vista a subjetividade dos testes sensoriais, que isto também se aplique à relação entre testes sensoriais e deterioração microbiológica.

Entretanto, outros autores (CORNEJO, 1988; LOAIZA, 1996; SOCCOL, 2002) acreditam que a textura pode ser utilizada como um critério para acompanhamento da deterioração de pescados resfriados.

Quadro 4 - Coeficientes de correlação entre textura e contagens microbianas*.

	Psicrotróficos Aeróbios	Psicrotróficos Anaeróbios	Bactérias Lácticas
Geral (todas as atmosferas)	0,424 (0,0390) {24}	0,496 (0,0137) {24}	0,374 (0,0715) {24}
Vácuo	0,854 (0,0307) {6}	0,744 (0,0902) {6}	0,931 (0,0070) {6}
100% CO + vácuo	0,564 (0,2439) {6}	0,535 (0,2745) {6}	0,624 (0,1851) {6}
1% CO + 99% CO ₂	0,303 (0,5599) {6}	0,232 (0,6576) {6}	0,357 (0,4875) {6}
Ar atmosférico (controle)	0,629 (0,1809) {6}	0,784 (0,0651) {6}	0,639 (0,1711) {6}

* Entre parêntesis estão os níveis descritivos de significância e, entre colchetes, o número de observações; todas as correlações significativas são apresentadas em negrito.

4.3.4. Odor dos filés de tilápia

Os resultados dos escores sensoriais para odor atribuídos pela equipe sensorial evidenciaram ($P < 0,05$) efeito da atmosfera sobre o odor dos filés (Figura 23). Também evidenciam que, em todas as condições de atmosfera, o odor dos filés tende ($P < 0,05$) a se tornar desagradável (não característico) com aumento no tempo de estocagem refrigerada.

Verificou-se, também, que os filés embalados em ar atmosférico foram aqueles que apresentaram ($P < 0,05$) maior e mais rápida deterioração de odor. Especialmente em pescados magros, o odor característico de deterioração resulta da degradação microbiana de aminoácidos, com geração de compostos carbonílicos e sulfurados, indol, amônia e diversas aminas, como putrescina, cadaverina, entre outros (JAY, 1992; SIKORSKI, 1994; HUSS, 1998). Esses compostos são percebidos quando a contagem microbiana, especialmente de aeróbios, atinge valores de log UFC.cm⁻² acima de 7,0 a 7,5 (JAY, 1992). Embora não se tenha evidenciado uma diferença expressiva na taxa de crescimento microbiano entre as atmosferas testadas (Figuras 3 e 4), a atmosfera contendo ar atmosférico foi a que propiciou uma maior taxa de crescimento microbiano. Outrossim, o Quadro 5 mostra uma correlação significativa entre escores de odor e contagens de psicrotróficos aeróbios, especialmente nos filés embalados em ar atmosférico.

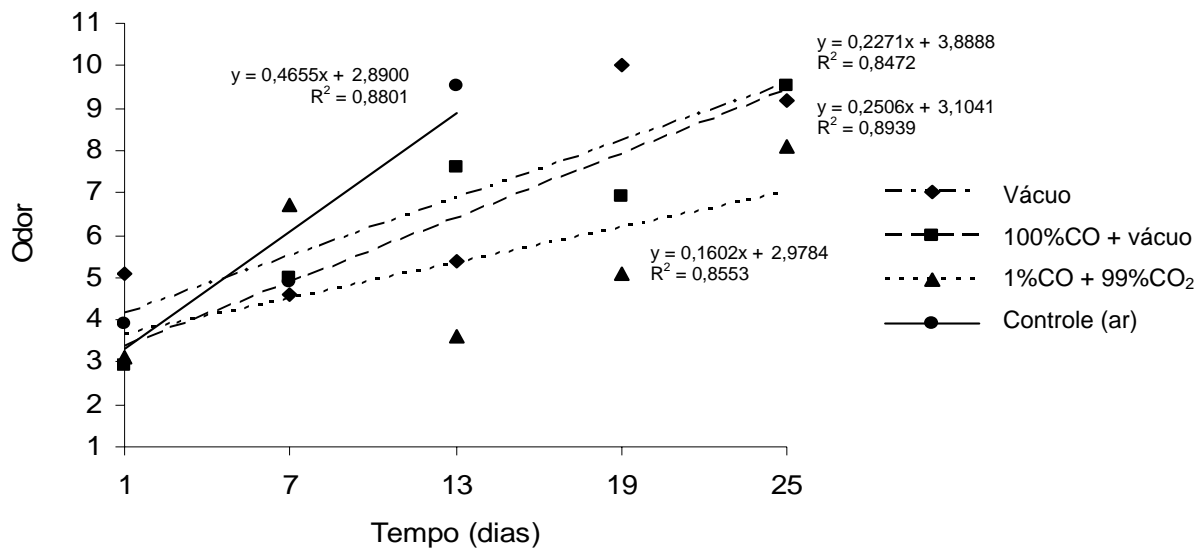


Figura 23 - Variação do escore sensorial de odor (1 = característico; 15 = não-característico) dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas e estocados a 2 ± 1 °C.

Exceto para o conjunto das atmosferas, em nenhuma atmosfera se observa correlação entre odor e contagens de psicotróficos anaeróbios e entre odor e bactérias lácticas. Segundo VIANA et al. (2005), o crescimento de bactérias lácticas não resulta em secreção expressiva de metabólitos, os quais possuem odores menos ofensivos e pútridos que aqueles produzidos por bactérias aeróbias. Por outro lado, ausência de correlação entre odor e psicotróficos anaeróbios nas atmosferas modificadas avaliadas é surpreendente, já que, segundo ZOTTOLA (1988), a decomposição anaeróbia de proteínas leva à produção de odores pútridos.

A análise da Figura 23 também mostra que o desenvolvimento de odor desagradável (aumento nos escores) foi mais lento nos filés embalados em atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂, provavelmente, devido à presença de CO₂, o qual atrasou o crescimento microbiano (Figuras 3 e 4). REDDY et al. (1994) verificaram que, em tilápias embaladas em atmosferas enriquecidas com CO₂, e sem O₂, a elevação nas contagens de aeróbios e anaeróbios foi mais demorada e o odor desagradável foi observado após tempos de refrigeração bem mais prolongados.

Quadro 5 - Coeficientes de correlação entre odor e contagens microbianas*.

	Psicrotróficos Aeróbios	Psicrotróficos Anaeróbios	Bactérias Lácticas
Geral (todas as atmosferas)	0,492 (0,0147) {24}	0,511 (0,0107) {24}	0,240 (0,2584) {24}
Vácuo	0,442 (0,3797) {6}	0,137 (0,7957) {6}	0,529 (0,2798) {6}
100% CO + vácuo	0,738 (0,0938) {6}	0,699 (0,1221) {6}	0,733 (0,0975) {6}
1% CO + 99% CO ₂	0,585 (0,2226) {6}	0,394 (0,4390) {6}	0,222 (0,6729) {6}
Ar atmosférico (controle)	0,881 (0,0206) {6}	0,774 (0,0711) {6}	0,796 (0,0582) {6}

* Entre parêntesis estão os níveis descritivos de significância e, entre colchetes, o número de observações; todas as correlações significativas são apresentadas em negrito.

O efeito significativo de atmosfera e de tempo de estocagem refrigerada sobre o odor de robalo também foi verificado e aqueles embalados em ar atmosférico apresentavam deteriorados com fortes odores pútridos e menores escores de odor após o nono dia de estocagem. Já as fatias embaladas em atmosferas ricas em CO₂ apresentavam escores de odor elevados e jamais atingiram uma redução de odor de 50% que indicaria a sua deterioração sensorial (MASNIYOM et al., 2002). TORRIERI et al. (2006) também evidenciaram ($P < 0,0001$) efeito do período de tempo e da composição da atmosfera sobre os escores de odor do músculo de robalo eviscerado, o que eles atribuíram ao crescimento bacteriano. A partir do quinto dia de estocagem, os escores de odor das amostras embaladas em ar atmosférico foram sempre significativamente inferiores àqueles de amostras embaladas em 70% de CO₂ + 30% de N₂, embora houvesse em ambos, após sete dias, redução superior a 50% na escala de odor.

O odor pútrido e forte de filés de sole (*Solea solea*) embalados em ar atmosférico foram notáveis após sete dias de estocagem (LÓPEZ-GÁLVEZ et al., 1998). Nos filés mantidos em atmosfera de 20% de CO₂ + 80% de ar, estes autores evidenciaram um ligeiro mau odor de mar, indicando a deterioração por desenvolvimento microbiano, após 11 dias de estocagem. Nos filés embalados em 40% de CO₂ + 60% de ar, esse indício de desenvolvimento microbiano, proveniente de maus odores (odor ácido), foi detectado após os 14 dias de estocagem.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Avaliou-se o efeito de diferentes atmosferas (vácuo, 100% de CO por 30 minutos, seguido de vácuo, 1% de CO + 99% de CO₂ e ar atmosférico) sobre a qualidade microbiológica, química, física (índices objetivos de cor) e sensorial de filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) estocados sobre refrigeração ($2 \pm 1^\circ\text{C}$).

A qualidade inicial dos filés atendeu aos padrões legais vigentes, apresentando ausência de *Salmonella* em 25 g. Clostrídios-sulfito redutores apresentaram contagens inferiores a 10^2 UFC.g⁻¹ e o NMP.g⁻¹ de coliformes a 45 °C variou de < 3 a 21. A microbiota aeróbia e anaeróbia nos filés embalados em 1% de CO + 99% de CO₂ alcançou valores de 10^7 UFC.g⁻¹, após 18 dias de estocagem, enquanto nas demais atmosferas, estas contagens foram atingidas por volta de 13 dias, mostrando que o CO₂ apresentou efeito bacteriostático sobre esta microbiota. O crescimento de bactérias lácticas foi semelhante nos filés embalados em atmosfera modificada, alcançando valores de 10^8 UFC.g⁻¹, mas apresentaram crescimento limitado em 10^5 UFC.g⁻¹ na presença de ar atmosférico.

Os valores de pH, NNP e TBARs dos filés de tilápias embalados em atmosferas modificadas e controle não foram afetados ($P > 0,05$) pela atmosfera ao longo do tempo de estocagem e sempre se apresentaram dentro dos valores limites propostos pela legislação. Os valores de BNVT dos filés variaram ($P < 0,05$) com o tipo de atmosfera e, ao longo do tempo, os filés embalados em ar atmosférico, vácuo e 100% de CO + vácuo ultrapassaram os níveis (30 mg N/100 g) legais próximo dos 16, 21 e 22 dias de estocagem, respectivamente. Os filés de tilápias embalados em 1% de CO + 99% de CO₂ não atingiram

o limite legal. A determinação de BNVT foi o melhor índice químico para indicar a qualidade de frescor dos filés de tilápias.

Em ambos os lados dos filés (interno e externo) houve efeito ($P < 0,05$) da atmosfera com 1% de CO + 99% de CO₂ e aumento da luminosidade (**L***) ao longo da estocagem. Os filés embalados em atmosferas de 1% de CO + 99% de CO₂ e 100% de CO+ vácuo se apresentaram mais avermelhados (maiores valores de **a***) que filés embalados em ar atmosférico e sob vácuo. Em nenhuma das atmosferas os valores de **a*** variaram ao longo da estocagem. Em ambos os lados dos filés embalados na atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂ verificou-se, ao longo da estocagem, a tendência de se apresentar ($P < 0,05$) mais amarelados (maiores valores de **b***) do que os filés embalados nas demais atmosferas. Apenas no lado interno dos filés embalados em atmosfera de 1% de CO + 99% de CO₂ os valores de **c*** não variaram ($P > 0,05$) durante o período de estocagem. Os valores de **h*** (lados interno e externo) dos filés não variaram ($P > 0,05$) ao longo do período de estocagem, exceto para os embalados à vácuo.

Os escores sensoriais evidenciaram ($P < 0,05$) que a cor dos filés embalados em 1% de CO + 99% de CO₂ e em 100% de CO + vácuo foi sempre considerada mais agradável que aquela de filés embalados a vácuo e em ar atmosférico, ao longo da estocagem. Embora não tenham sido considerados atributos de qualidade satisfatórios para julgamento do estado de frescor em peixes, os escores sensoriais de limosidade e textura sofreram efeito ($P < 0,05$) do tipo de atmosfera e variaram ($P < 0,05$) ao longo do tempo de estocagem. Os escores sensoriais de odor evidenciaram que, em todas as condições de atmosfera, o odor dos filés tende ($P < 0,05$) a se tornar desagradável (não característico) com aumento no tempo de estocagem refrigerada e que os filés embalados em atmosfera de 1%CO + 99%CO₂ apresentaram menor e mais lenta deterioração de odor.

Dos resultados obtidos, evidencia-se que a melhor atmosfera foi aquela composta por 1% de CO + 99% de CO₂, por ter conferido uma maior vida útil aos filés de tilápias, garantindo a qualidade microbiológica, físico-química e sensorial.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Resolução n. 12, de 2 de janeiro de 2001. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 59p, 10 jan. 2001.

ALISSON, E. Problemas à vista - Aqüicultura e pesca brasileira enfrentam desafios que podem minar a expansão das atividades no País. **FOOD INGREDIENTS**, Ano VI, n.36. p.24, 2005.

AL-KAHTANI, A.H.; ABU-TARBOUSH, H.M.; BAJABER A.S.; ATIA, M.; ABOUD-ARAB, A.A.; EL-MOJADDIDI. Chemical changes after irradiation and pos-irradiation storage in tilapia and spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v.61, n.4, p.729-733, 1996.

ANDREWS, W.H.; FLOWERS, R.S.; SILLIKER, J.; BAILEY, J.C. Salmonella. In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4. ed. Washington DC. American Public Health Association. Frances Pouch Downes & Keith Ito (Eds.), 2001. p.357-380.

ANUALPEC. Anuário de Pecuária Brasileira, 11ª Ed. São Paulo. FNP Consultoria & Comercio, 340p, 2005.

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.

BANKS, H.; RANZELL, N.; FINNE, G. Shelf-life studies on carbon dioxide finfish from the Gulf of Mexico. **Journal of Food Science**, v.45, n.2, p.157-162, 1980.

BARNETT, H.J.; CONRAD, J.W.; NELSON, R.W. Use of laminated high and low density polyethylene flexible packaging to store trout (*Salmo Gairdneri*) in a modified atmosphere. **Journal of Food Protection**, v.50, n.8, p. 645-651, 1987.

BERAQUET, N.J.; LINDO, M.K. Transformações bioquímicas “post mortem” em pescado. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.2, p.169-192, 1985.

BIATO, O.D. **Deteção e controle de *off flavor* em tilápias do Nilo (*Oreochromis Niloticus*) por meio de depuração e defumação**. São Paulo. 105p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.

BREWER, M.S.; WU, S.; FIELD, R.A.; RAY, B. Carbon monoxide effects on color and microbial counts of vacuum-packaged fresh steaks in refrigerated storage. **Journal of Food Quality**, v. 17, p. 231-244, 1994.

BRUGÈRE, C; RIDLER, N. Perspectivas de la acuicultura mundial en los próximos decenios: análisis de los pronósticos para 2030 de la producción acuícola de los principales países. FAO, Circular de Pesca N° 1001, Roma, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal - RIISPOA. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 2001. <http://www.agricultura.gov.br/sda>.

CASTRO, F.A. **Avaliação da composição de ácidos graxos de peixes de água doce**. 2003. 100p. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) - Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.

CANN, D.C., **Packing Fish in a Modified Atmosphere**. (Torry Advisory Note No 88) MAFF, Torry Research Station, Aberdeen, UK, 1984.

CHAVES, J.B.P. Cadernos Didáticos No. 33. **Métodos de Diferença em Avaliação Sensorial de Alimentos e Bebidas**, Imprensa Universitária, UFV, Minas Gerais, 91p, 2001.

CHURCH, I.J.; PARSONS, A.L. Modified atmosphere packaging technology: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.67, n.2, p.143-152, 1995.

CLARK, D.S; LENTZ, C.P.; ROTH, L.A. Use of carbon monoxide for extending shelf-life of prepackaged fresh beef. **Canadian Institute of Science and Technology**, v.9, n.3, p.114-117, 1976.

CYRINO, J.E.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. 533p, 2004.

DANIELS, J.A.; KRISHNAMURTHI, R.; RIZVI, S.H. A review of the effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality. **Journal of Food Protection**, v.48, n.6, p.532-537, 1985.

DALGAARD, P.; GRAM, L.; HUSS, H.H. Spoilage and shelf-life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. **International Journal of Food Microbiology**, v.19, p.283-294, 1993.

DEBEVERE, J.; BOSKOU, G. Effect of modified atmosphere packaging on the TVB/TMA-producing microflora of cod fillets. **International Journal of Food Microbiology**, v.31, n.1/3, p.221-229, 1996.

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

FAGAN, J.O.; GORMLEY, T.R.; MHUIRCHEARTAIGH, M.U. Effects of modified atmosphere packaging with freeze-chilling on some quality parameters of raw whiting, mackerel and salmon portions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 5, p. 205-214, 2004.

FARBER, J.M. Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology - a review. **Journal of Food Protection**, v.54, n.1, p.58-70, 1991.

FEY, M.S.; REGENSTEIN, J.M. Extending shelf-life of fresh wet red hake and salmon using CO₂-O₂ modified atmosphere and potassium sorbate ice at 1°C. **Journal of Food Science**, v.47, n.1, p.1048-1054, 1982.

FITZSIMMONS, K. Future trends of tilapia aquaculture in the Americas. In: COSTA-PIERCE, B. A.; RAKOCY, J. E. (Ed.). **Tilapia Aquaculture in the Americas**. Baton Rouge, Louisiana: World Aquaculture Society, p. 252-264, 2001.

GOMES, J.C. **Análises de Alimentos**. 1. ed., Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, Brasil, 152p. 2003.

GOMIDE, L. A. M. **Integration of production and postmortem technologies for improvement of USDA select grade beef**. West Lafayette: 165 p. Dissertação (Doutorado em Ciencia e Tecnologia de Alimentos) - Purdue University, 1992.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p.121-137, 1996.

HALL, P.A.; LEDENBACH, L.; FLOWERS, R.S. Acid-Producing microorganisms. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4. ed. Washington DC. American Public Health Association. Frances Pouch Downes & Keith Ito (Eds.), 2001. p.201-206.

HUSS, H.H. El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. Ed. **FAO Documento Técnico de Pesca 348**, 1998.

INTERNACIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms in foods: microbial ecology of foods commodities**. Gaithersburg, Maryland: Chapman & Hall, 2000. 615p.

JAY, J.M. **Modern food microbiology**, 5 ed. New York: Chapman & Hall, 1992. 661p.

JAYASINGH, P.; CORNFORTH, D.P.; CARPENTER, C.E.; WHITTIER, D.R. Evaluation of carbon monoxide treatment in modified atmosphere packaging or vacuum packaging to increase color stability of fresh beef. **Meat Science**, v.59, p.317-324, 2001.

JOHN, L.; CORNFORTH, D.; CARPENTER, C.E.; SORHEIM, O.; PETTEE, B.C.; WHITTIER, D.R. Color and thiobarbituric acid values of cooked top sirloin steaks packaged in modified atmospheres of 80% oxygen, or 0.4% carbon monoxide, or vacuum. **Meat Science**, v.69, p.441-449, 2005.

KAI, M.; MORAES, C. **Vias de deterioração do pescado**. In: Seminário sobre o controle de qualidade na indústria de pescado, 1988, Santos: Ed. Universitária Leopoldina, São Paulo: Loyola, p. 13-20.

KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. *Enterobacteriaceae*, Coliforms and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4. ed. Washington DC. American Public Health Association. Frances Pouch Downes & Keith Ito (Eds.), 2001. p. 69-82.

KRISTINSSON, H.G., MONY, S.S., PETTY, H.T. Properties of Tilapia Carboxy- and Oxyhemoglobin at Post-mortem pH. **Journal Agriculture of Food Chemistry**, v.53, p. 3643-364, 2005.

KUAYE, A.Y. **Comparação dos métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis em pescado: parâmetros críticos e modificações**. 1982. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Universidade Estadual de Campinas. São Paulo.

LABBE, R.G. *Clostridium perfringens*. In: **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4. ed. Washington DC. American Public Health Association. Frances Pouch Downes & Keith Ito (Eds.), 2001. p.325-330.

LABUZA, T.P. Shelf-life dating of foods. **Wesport: food and nutrition press**, 500p, 1982.

LAWRIE, R.A. **Lawrie's Meat Science**, 6^a ed. Woodhead Publishing Limited, 1998. 336p.

LEITÃO, M.F.F. **Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial e marinha**. In: seminário sobre controle de qualidade do pescado, 1988, Santos: Ed. Universitária Leopoldina/Edições Loyola, p.40-58.

LEMPEK, T.S.; PRENTICE, C.; LOPES, M.L. Efeito do vácuo na qualidade da pescada-foguete (*Macrondon ancylodon*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, n.1, p.64-67, 2001.

LIBRELATO, F.R.; SHIKIDA, R.L. Segurança alimentar: um estudo multidisciplinar da qualidade do filé de tilápias comercializado no município de Toledo-Paraná, 2004. Retirado em (16 de Julio, 2006) <http://cac-php.unioeste.br/revistas/gepec/download.php?id=17>.

LINDAHL, G., LUNDSTROM, K., TORNBERG, E. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. **Meat Science**, v. 59, p.141-151, 2001.

LIOUTAS, T.S. Challenges of controlled and modified atmosphere packaging: a food company's perspective. **Food Technology**, v.42, n.9, p.78-86, 1988.

LOAIZA, J.F.U. **Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial de carne de rã (*Rana catesbeiana*) estocada sob refrigeração e congelamento**. 1996. 112p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LÓPEZ-GÁLVEZ, D.E.; L. BLANCO, L. M.; ORDOÑEZ, J.A. Refrigerated storage (2° C) of sole (*Solea Solea*) fillets under CO₂-enriched atmospheres. **Journal Agriculture of Food Chemistry**, v.46, p.1143-1149, 1998.

LUÑO, M.; RONCALÉS, P.; DJENANE, D.; BELTRÁN, J.A. Beef shelf life in low O₂ and high CO₂ atmospheres containing different low CO concentrations. **Meat Science**, n. 55, p. 413-419, 2000.

MACEDO-VIEGAS, E.; DE SOUZA, M.; ZUANON, J.; DE FARIA, R. Rendimento e composição centesimal de filés *in natura* e pré-cozido em truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 1191-1195, 2002.

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

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

MORTON, R.D. Aerobic Plate Count. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4. ed. Washington DC. American Public Health Association. Frances Pouch Downes & Keith Ito (Eds.), 2001. p.63-67.

MUJICA, P.Y.C. **Avaliação da qualidade organoléptica, química e microbiológica de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), mantida à temperatura ambiente e sob gelo**. 1988. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

OETTERER, M. **Matéria-prima alimentar: pescado**. São Caetano do Sul: Centro de Pesquisas do Instituto Mauá de Tecnologia, 29p. 1991.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, v.1, 430p. 1999.

OSTRENKY, A.; BOEGER, W. **Piscicultura**: Fundamentos e Técnicas de Manejo. Livraria e Editora Agropecuária, 211p. 1998.

OZÖGUL, F.; POLAT, A; OZÖGUL, Y. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardines pilchardus*). **Food Technology**, v.85, n.1, p.49-57, 2004.

PADUA, D. M. **Fundamentos da Piscicultura**. Universidade Católica de Goiás, editora da UCG, Goiana, 341p, 2000.

PARMIGIANI, P. AB-Tilápias eleger nova diretoria para o biênio 2005-2007. **Revista Aqüicultura e Pesca**. Ed. N° 08, 2005.

PARKIN, K.L.; WELLS, M.J.; BROWN, W.D. Modified atmosphere storage of rockfish fillets. **Journal of Food Science**, v.47, n.1, p.181-184, 1981.

PEREIRA, A.D. **Efeito da adição de sangue tratado com monóxido de carbono sobre as características químicas e de cor de mortadela**. 2000. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PRENTICE, S.; SAINZ, R.L. Cinética de deterioração apresentada por files de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n.1, Campinas, 2005.

QUEIROZ, M.; TREPTOW, R; SILVA, C. Avaliação objetiva de textura do pescado estocado em gelo. **Boletim SBCTA**, v. 25, n.2, p.96-8, 1991.

REDDY, N.R.; SCHREIDER, 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.

RICHARDSON, I. Case ready Red Meat Packaging Technology. Brasil **Journal of Food Technology**, Especial Issue. In Proceedings of the 49th international congress of meat science and technology, 1-5 September 2003, Campinas, Brazil, p. 148-155, 2003.

SANCHEZ, L. **Pescado**: matéria-prima e processamento. Fundação Cargill. Campinas - São Paulo, 61p, 1989.

SGARBIERI, W.C. **Proteínas em alimentos protéicos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 516p, 1996.

SHAHIDI F.; BOTTA R. **Sea foods**: chemistry, processing technology and quality. Chapman & Hall, UK, Ed. N°1, 342p, 1994.

SIKORSKI, Z.E. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura. In: SIKORSKI, Z.E. (Ed.). **Tecnología de los productos del mar**: recursos, composition y conservation. Zaragoza: Acribia, 330p, 1994.

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

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W.K.; ROSNES, J.T. A review of modified packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 107-127, 2002.

SØRHEIM, O.; NISSEN, H.; NESBAKKEN, T. The storage life of beef and pork packaged in a atmosphere with low carbon monoxide and high carbon dioxide. **Meat Science**, v. 52, p. 157-164, 1999.

SØRHEIM, O.; TORE, A.; TRULS, N. Tecnological, hygienic and toxicological aspects of carbon monoxide used in modified-atmosphere packaging of meat. **Trends in Food Science & Technology**, v.8, p. 307-312, 1997.

SØRHEIM, O.; NISSEN, H.; NESBAKKEN, T. Use of carbon monoxide in retail meat Packaging. **Proceedings of the 54th Reciprocal Meat Conference**, p.47-51, 2001.

SOCCOL, M.C. **Otimização da vida útil da tilápias cultivada (*Oreochromis niloticus*), minimamente processada e armazenada sob refrigeração**. São Paulo. 124p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2002.

SIQUEIRA, A.A. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da Tilápias (*Oreochromis Niloticus*)**. São Paulo. 137p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2001.

SOUZA, M.L.R; MACEDO-VIEGAS, E.M. Effects of filleting methods on processing yields of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **In: International symposium on tilapia aquaculture**. Poceedings, p.415-457, Rio de Janeiro, 2000.

TAVARES, M. Métodos físico-químicos e sensoriais para análise de pescado: controle de qualidade de pescado. Santos Loyola, 1988.

TORRIERI, E.; CAVELLA, S.; VILLANI, F.; MASI, P. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 4, p.1078-1086, 2006.

VARNAM, A. H., SUTBERLAND, J. P. **Meat and meat products - tecnology, chemistry and microbiology**. 1 ed. London: Chaman&Hall, 1995. p. 46-120.

VIANA, E. S., GOMIDE, L. A. M., VANETTI, M. C. D. Effect of modified atmospheres on microbiological, color and sensory properties of refrigerated pork. **Meat Science**, v.71 n.4, p. 696–705, 2005.

VIANA, E. **Efeito de atmosferas modificadas sobre características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de carne suína refrigerada**. 2002. 60p. Dissertação

(Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.

VILLEMURE, G.; SIMARD, R.F.; PICARD, G. Bulk storage of cod fillets and gutted cod (*Gadus morhua*) under carbon dioxide atmosphere. **Journal of Food Science**, v.51, n.2, p.317-320, 1986.

WATTS, D.A.; WOLFE, S.K.; BROWN, W.D. Fate of [C^{14}] carbon monoxide in cooked or stored ground beef samples. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 1, p. 210-214, 1978.

WOLFE, S.K. Use of CO and CO₂ enriched atmospheres for meats, fish and produce. **Food Technology**, v.34, n.2, p.55-58, 1980.

ZOTTOLA, D. **Introduction to meat microbiology** (2nd ed.). Washington, DC: AMI Center for Continuing Education, American Meat Institute, 1988.

APÊNDICE

APÊNDICE

Quadro 1A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de pH de filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	0,0460ns
Erro a	6	0,1441
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	0,0432
Regressão	1	0,0811ns
Desvio de Regressão	3	0,0305ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	0,0666
Regressão	1	0,1688ns
Desvio de Regressão	3	0,0326ns
Tempo/Vácuo	4	0,0201
Regressão	1	0,0529ns
Desvio de Regressão	3	0,0092ns
Erro b	24	0,0204

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 2A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de pH de filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	0,0249ns
Erro a	8	0,1027
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	0,0160
Regressão	1	0,0280ns
Desvio de Regressão	1	0,0041ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	0,0595
Regressão	1	0,0962ns
Desvio de Regressão	1	0,0227ns
Tempo/Vácuo	2	0,0276
Regressão	1	0,0468ns
Desvio de Regressão	1	0,0084ns
Tempo/Controle	2	0,0005
Regressão	1	0,0000ns
Desvio de Regressão	1	0,0010ns
Erro b	16	0,0118

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 3A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de NNP (mg N/100 g) de filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	3002,7868*
Erro a	6	258,3872
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	742,8813
Regressão	1	3,6123ns
Desvio de Regressão	3	989,3044ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	305,9053
Regressão	1	104,2672ns
Desvio de Regressão	3	153,1180ns
Tempo/Vácuo	4	731,9287
Regressão	1	6,9216ns
Desvio de Regressão	3	973,5977ns
Erro b	24	387,4477

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 4A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de NNP (mg N/100 g) de filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	1747,70758*
Erro a	8	170,8393
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	1212,1800
Regressão	1	2422,4522ns
Desvio de Regressão	1	1,9078ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	68,5158
Regressão	1	0,1908ns
Desvio de Regressão	1	136,8409ns
Tempo/Vácuo	2	1212,1800
Regressão	1	2422,4522ns
Desvio de Regressão	1	1,9078ns
Tempo/Controle	2	275,3947
Regressão	1	209,92ns
Desvio de Regressão	1	340,8660ns
Erro b	16	581,8206

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 5A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de BNVT (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	13,7599ns
Erro a	6	38,9091
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	8,7557
Regressão	1	26,9120*
Desvio de Regressão	3	2,7036ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	28,1937
Regressão	1	95,5282*
Desvio de Regressão	3	5,7490ns
Tempo/Vácuo	4	42,2680
Regressão	1	152,6833*
Desvio de Regressão	3	5,4629ns
Erro b	24	4,3293

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 6A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de BNVT (mg N/100 g) em filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	10,9861
Erro a	8	12,3642
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	3,8377
Regressão	1	7,4802ns
Desvio de Regressão	1	0,1950ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	9,9138
Regressão	1	6,7860ns
Desvio de Regressão	1	13,0416ns
Tempo/Vácuo	2	4,8582
Regressão	1	9,0300*
Desvio de Regressão	1	0,6864ns
Tempo/Controle	2	7,3696
Regressão	1	14,5542*
Desvio de Regressão	1	0,1850ns
Erro b	16	1,6722

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 7A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de TBARs (mg malonaldeído/kg) em filés de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	0,0154ns
Erro a	6	0,0071
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	0,0674
Regressão	1	0,0594ns
Desvio de Regressão	3	0,0700ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	0,0494
Regressão	1	0,0018ns
Desvio de Regressão	3	0,0653ns
Tempo/Vácuo	4	0,0023
Regressão	1	0,0001ns
Desvio de Regressão	3	0,0030ns
Erro b	24	0,0240

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 8A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos valores de TBARs (mg malonaldeído/kg) em filés de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	0,0121
Erro a	8	0,0079
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	0,0572
Regressão	1	0,0529ns
Desvio de Regressão	1	0,0616ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	0,0942
Regressão	1	0,0132ns
Desvio de Regressão	1	0,1752ns
Tempo/Vácuo	2	0,0041
Regressão	1	0,0049ns
Desvio de Regressão	1	0,0033ns
Tempo/Controle	2	0,0061
Regressão	1	0,0025ns
Desvio de Regressão	1	0,0096ns
Erro b	16	0,0298

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 9A - Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L^*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	33,8346ns
Erro a	6	16,5164
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	14,0198
Regressão	1	51,6665*
Desvio de Regressão	3	1,4709ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	2,8174
Regressão	1	2,0645ns
Desvio de Regressão	3	3,0684ns
Tempo/Vácuo	4	8,5748
Regressão	1	4,9939ns
Desvio de Regressão	3	9,7685ns
Erro b	24	9,2814

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 10A - Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L^*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	31,5143ns
Erro a	8	15,5076
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	3,0721
Regressão	1	4,0838ns
Desvio de Regressão	1	2,0604ns
Tempo/100%CO + vácuo	1	0,0790
Regressão	1	0,0104ns
Desvio de Regressão	1	0,1476ns
Tempo/Vácuo	2	12,0645
Regressão	1	4,2001ns
Desvio de Regressão	1	19,9290ns
Tempo/Controle	2	9,6775
Regressão	1	15,3600ns
Desvio de Regressão	1	3,9950ns
Erro b	16	8,5391

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 11A - Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L^*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	64,0442*
Erro a	6	9,7746
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	19,4094
Regressão	1	52,5363*
Desvio de Regressão	3	8,3671ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	11,9600
Regressão	1	19,8291*
Desvio de Regressão	3	9,3369ns
Tempo/Vácuo	4	3,6029
Regressão	1	13,9810ns
Desvio de Regressão	3	0,1435ns
Erro b	24	4,4160

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 12A - Resumo da análise de Variância e da Regressão de luminosidade (L^*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	26,0935ns
Erro a	8	8,4027
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	17,4260
Regressão	1	10,3753ns
Desvio de Regressão	1	24,4767ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	17,0433
Regressão	1	25,6680*
Desvio de Regressão	1	8,4186ns
Tempo/Vácuo	2	2,1561
Regressão	1	4,2841ns
Desvio de Regressão	1	0,0280ns
Tempo/Controle	2	1,2154
Regressão	1	2,2448ns
Desvio de Regressão	1	0,1860ns
Erro b	16	3,7941

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 13A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (**a***) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	61,3793*
Erro a	6	9,5621
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	1,1184
Regressão	1	1,1721ns
Desvio de Regressão	3	1,1005ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	5,9091
Regressão	1	0,0546ns
Desvio de Regressão	3	7,8605*
Tempo/Vácuo	4	1,0362
Regressão	1	1,2772ns
Desvio de Regressão	3	0,9559ns
Erro b	24	1,2748

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 14A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (**a***) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	36,9732*
Erro a	8	5,2927
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	1,8989
Regressão	1	1,8704ns
Desvio de Regressão	1	1,9273ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	0,4101
Regressão	1	0,5890ns
Desvio de Regressão	1	0,2312ns
Tempo/Vácuo	2	1,2878
Regressão	1	1,3537ns
Desvio de Regressão	1	1,2220ns
Tempo/Controle	2	1,0736
Regressão	1	1,6960ns
Desvio de Regressão	1	0,4512ns
Erro b	16	0,9563

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 15A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (**a***) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	66,1804ns
Erro a	6	15,7313
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	6,0104
Regressão	1	4,5630ns
Desvio de Regressão	3	6,4929ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	3,3159
Regressão	1	6,1382ns
Desvio de Regressão	3	2,3752ns
Tempo/Vácuo	4	1,5929
Regressão	1	2,7421ns
Desvio de Regressão	3	1,2099ns
Erro b	24	3,9736

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 16A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice vermelho (**a***) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	51,7011ns
Erro a	8	15,0122
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	10,6075
Regressão	1	2,1600ns
Desvio de Regressão	1	19,0550ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	3,0340
Regressão	1	3,2120ns
Desvio de Regressão	1	2,8560ns
Tempo/Vácuo	2	0,8980
Regressão	1	0,1700ns
Desvio de Regressão	1	1,6260ns
Tempo/Controle	2	2,0629
Regressão	1	2,9400ns
Desvio de Regressão	1	1,1858ns
Erro b	16	4,0349

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 17A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (**b***) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	1,6516ns
Erro a	6	2,0418
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	2,8241
Regressão	1	9,6447*
Desvio de Regressão	3	0,5506ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	3,7368
Regressão	1	2,4083ns
Desvio de Regressão	3	4,1796*
Tempo/Vácuo	4	0,5096
Regressão	1	0,6601ns
Desvio de Regressão	3	0,4595ns
Erro b	24	0,6656

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 18A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (**b***) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	2,1636ns
Erro a	8	0,8191
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	1,6168
Regressão	1	1,6016ns
Desvio de Regressão	1	1,6320ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	2,3417
Regressão	1	4,1002*
Desvio de Regressão	1	0,5832ns
Tempo/Vácuo	2	0,3306
Regressão	1	0,0888ns
Desvio de Regressão	1	0,5724ns
Tempo/Controle	2	3,2809
Regressão	1	0,3313ns
Desvio de Regressão	1	6,2304ns
Erro b	16	0,8821

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 19A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (**b***) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	1,4229ns
Erro a	6	0,7959
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	2,1914
Regressão	1	6,1291*
Desvio de Regressão	3	0,8789ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	1,0010
Regressão	1	0,6106ns
Desvio de Regressão	3	1,1311ns
Tempo/Vácuo	4	0,9754
Regressão	1	1,4785ns
Desvio de Regressão	3	0,8077ns
Erro b	24	1,0667

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 20A - Resumo da análise de Variância e da Regressão do índice amarelo (**b***) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	2,5654ns
Erro a	8	1,0703
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	1,1604
Regressão	1	0,2604ns
Desvio de Regressão	1	2,0604ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	1,6213
Regressão	1	2,6667*
Desvio de Regressão	1	0,5760ns
Tempo/Vácuo	2	0,3157
Regressão	1	0,2730ns
Desvio de Regressão	1	0,3584ns
Tempo/Controle	2	0,1323
Regressão	1	0,0054ns
Desvio de Regressão	1	0,2592ns
Erro b	16	1,1684

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 21A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	5,6518ns
Erro a	6	5,9189
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	3,6484
Regressão	1	10,0225*
Desvio de Regressão	3	1,5237ns
Tempo/100%CO + Vácuo	4	6,6768
Regressão	1	1,6661ns
Desvio de Regressão	3	8,3470*
Tempo/Vácuo	4	0,4684
Regressão	1	0,8134ns
Desvio de Regressão	3	0,3534ns
Erro b	24	0,7243

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 22A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	2,4686ns
Erro a	8	2,5394
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	3,0895
Regressão	1	1,9838ns
Desvio de Regressão	1	4,1953ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	1,2661
Regressão	1	2,1241ns
Desvio de Regressão	1	0,4080ns
Tempo/Vácuo	2	0,2410
Regressão	1	0,0770ns
Desvio de Regressão	1	0,4050ns
Tempo/Controle	2	2,6982
Regressão	1	0,7350ns
Desvio de Regressão	1	4,6614*
Erro b	16	0,6785

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 23A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	36,4344ns
Erro a	6	7,4610
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	4,3524
Regressão	1	0,1374ns
Desvio de Regressão	3	5,7574ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	1,4601
Regressão	1	2,0176ns
Desvio de Regressão	3	1,2743ns
Tempo/Vácuo	4	3,6018
Regressão	1	2,9704ns
Desvio de Regressão	3	3,8123ns
Erro b	24	4,0132

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 24A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da saturação (c*) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	17,597ns
Erro a	8	5,4316
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	8,6772
Regressão	1	1,4308ns
Desvio de Regressão	1	15,9236ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	0,0638
Regressão	1	0,0204ns
Desvio de Regressão	1	0,1073ns
Tempo/Vácuo	2	0,7576
Regressão	1	0,4592ns
Desvio de Regressão	1	1,0560ns
Tempo/Controle	2	0,4549
Regressão	1	0,5400ns
Desvio de Regressão	1	0,3698ns
Erro b	16	3,7459

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 25A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (h^*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	21,6661*
Erro a	6	0,2988
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	0,6275
Regressão	1	1,3398ns
Desvio de Regressão	3	0,3901ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	0,0673
Regressão	1	0,0403ns
Desvio de Regressão	3	0,0763ns
Tempo/Vácuo	4	2,1123
Regressão	1	4,3320*
Desvio de Regressão	3	1,3724ns
Erro b	24	0,3620

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 26A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (h^*) em filés internos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	13,4037*
Erro a	8	0,3556
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	0,9820
Regressão	1	1,3442ns
Desvio de Regressão	1	0,6197ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	0,0390
Regressão	1	0,0682ns
Desvio de Regressão	1	0,0098ns
Tempo/Vácuo	2	3,407
Regressão	1	5,2828*
Desvio de Regressão	1	1,5312ns
Tempo/Controle	2	0,0329
Regressão	1	0,0416ns
Desvio de Regressão	1	0,0242ns
Erro b	16	0,4638

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 27A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (**h***) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	2	2,9404ns
Erro a	6	1,0656
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	4	0,0254
Regressão	1	0,0563ns
Desvio de Regressão	3	0,0151ns
Tempo/100%CO + vácuo	4	0,0217
Regressão	1	0,0252ns
Desvio de Regressão	3	0,0206ns
Tempo/Vácuo	4	3,5491
Regressão	1	7,4103*
Desvio de Regressão	3	2,2620ns
Erro b	24	1,0470

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 28A - Resumo da análise de Variância e da Regressão da tonalidade (**h***) em filés externos de tilápias embalados nas atmosferas durante 1, 7 e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	QM
Atmosferas (AM)	3	0,4549ns
Erro a	8	0,1309
Tempo/1%CO + 99%CO ₂	2	0,0236
Regressão	1	0,0042ns
Desvio de Regressão	1	0,0430ns
Tempo/100%CO + vácuo	2	0,0345
Regressão	1	0,0308ns
Desvio de Regressão	1	0,03083ns
Tempo/Vácuo	2	0,0073
Regressão	1	0,0002ns
Desvio de Regressão	1	0,0144ns
Tempo/Controle	2	0,0332
Regressão	1	0,0542ns
Desvio de Regressão	1	0,0122ns
Erro b	16	0,0207

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Quadro 29A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, 13, 19 e 25 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	COR	LIMO	TEXT	ODOR
Provadores	4	37,6290	165,0438	84,3798	116,7178
Atmosferas (AM)	2	207,6606*	88,8085*	18,0467*	63,6100*
Erro a	38	19,4883	10,5283	12,9109	8,4733
Tempo/1% CO+99% CO ₂	4	27,0855	44,8476	34,2343	40,5155
Regressão	1	157,9014*	153,2171*	121,1403*	138,6243*
Desvio de Regressão	3	5,5858ns	3,4305ns	11,1521ns	31,2832*
Tempo/100% CO+Vácuo	4	32,4545	49,9747	69,9149	71,6689
Regressão	1	50,1126*	143,6683*	292,8811*	339,0017*
Desvio de Regressão	3	8,5391ns	20,2446ns	30,6501*	12,8822ns
Tempo/Vácuo	4	23,3774	55,5176	68,3263	82,1878
Regressão	1	0,7921ns	180,0353*	356,9731*	278,5291*
Desvio de Regressão	3	10,3975ns	11,2155ns	25,4692*	37,6083*
Erro b	168	7,3021	8,0522	8,2510	5,7841

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$)

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).

Quadro 30A - Resumo da análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais dos filés de tilápias embalados nas atmosferas avaliadas durante 1, 7, e 13 dias a 2 ± 1 °C

Fontes de Variação	GL	COR	LIMO	TEXT	ODOR
Blocos	4	32,2676	125,1329	81,8534	111,8122
Atmosferas (AM)	3	194,2611*	52,4011*	20,3861ns	33,3097*
Erro a	52	17,1218	7,1754	8,4680	5,9824
Tempo/1% CO+99% CO ₂	2	17,5249	23,9820	23,2929	21,5906
Regressão	1	69,9213*	41,7720*	61,3470*	1,9253ns
Desvio de Regressão	1	4,3560ns	0,0284ns	0,6250ns	47,5240*
Tempo/100% CO+Vácuo	2	25,6509	19,6229	51,1156	51,7743
Regressão	1	41,3013*	11,5320ns	164,7367*	161,472*
Desvio de Regressão	1	3,5204ns	10,4040ns	2,6694ns	0,7840ns
Tempo/Vácuo	2	32,5493	38,8071	28,7899	37,3866
Regressão	1	9,2963ns	42,4830*	53,3333*	0,5880ns
Desvio de Regressão	1	3,6401ns	0,4988ns	24,9640ns	4,2684ns
Tempo/Controle	2	44,6459	38,7649	23,7978	64,5733
Regressão	1	86,7000*	64,2403*	39,4453*	234,0813*
Desvio de Regressão	1	0,4000ns	5,2321ns	9,4737ns	34,3484*
Erro b	112	5,6270	6,4439	8,2555	5,0345

* Significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

ns Não significativo em 5% de probabilidade ($P > 0,05$).