

JUAN FRANCISCO UQUILLAS LOAIZA

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DE
CARNE DE RÃ (*Rana catesbeiana*) ESTOCADA SOB
REFRIGERAÇÃO E CONGELAMENTO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
SETEMBRO - 1996

JUAN FRANCISCO UQUILLAS LOAIZA

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DE
CARNE DE RÃ (*Rana catesbeiana*) ESTOCADA SOB
REFRIGERAÇÃO E CONGELAMENTO

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

APROVADA: 28 de fevereiro de 1996.

Prof.^a. June Ferreira M. Parreiras
(Conselheira)

Prof. José Benício P. Chaves
(Conselheiro)

Prof.^a. Regina Célia S. Mendonça

Prof. Frederico José V. Passos

Prof. Lúcio A. de M. Gomide
(Orientador)

Aos meus pais

*Gonzalo Uquillas Baquero e Hilda Loaiza de Uquillas,
por todo o apoio, pelo carinho e pelo exemplo que sempre
tenho recebido.*

Aos meus irmãos

*Guadalupe, María de Lourdes, Gonzalo e Mauricio,
por toda a compreensão, pela união e pela ajuda que sempre me
têm brindado.*

*A Andrés Gonzalo, Daniel, Gabrielita, José Antonio,
Xavier Ignacio e muitos outros que virão
e são donos de uma parte do meu coração...*

AGRADECIMENTOS

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

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

Aos professores José Benício Paes Chaves, Samuel Lopes Lima, Carlos Roberto da Silva, Nélio José de Andrade e Frederico José Vieira Passos, pelas sugestões, pelas críticas e pelas informações técnicas sempre oportunas.

Às professoras Regina Célia Santos Mendonça e June Ferreira Maia Parreiras, pela colaboração, pelo apoio e pela amizade.

À Fabiana, pelo inestimável auxílio na realização deste trabalho.

Aos amigos Solange, Gabriel e Julio, pela vida partilhada.

Aos colegas Sílvio, Rejane, Sandra, Felipe, Bethe, Hércia, Kélia, Silvânia, Chico, Luciana, Alberto, Antônio, Renato, Luiz Carlos, Teresa, Marco Antônio, Zé Luis, Marina, Cristina, Carla, Paulo Rogério, Cristiane, Luciana, Edimar, Mila, Maurício, pela ajuda, pelos conselhos e pelos bons momentos que compartilhamos juntos, fazendo com que me sentisse em casa.

A todos os funcionários do DTA e em especial: Antônio Tito, Wandick, José Geraldo, Billy, Washington, Carlos Antônio Pio, Sr. Manoel, Oswaldo, Juarez, Sr. Luis, Sr. José e Marcos, pela ajuda e pelo apoio.

Aos funcionários do Ranário Experimental, em especial: Álvaro, Sr. Antônio Iria, Everaldo e José Antônio, pela colaboração prestada.

Às secretárias do DTA: Vânia, Sueli, Miriam, Maria Rita, Geralda, Salvadora, Rita Nohemi, pela ajuda e pela amizade.

A todos os professores, funcionários, colegas e amigos do DTA que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho.

BIOGRAFIA

Juan Francisco Uquillas Loaiza, filho de Gonzalo Uquillas Baquero e de Hilda Loaiza de Uquillas, nasceu em Quito, República do Equador, em 17 de abril de 1969.

Graduou-se em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Viçosa, em agosto de 1993.

Em setembro de 1993, iniciou o Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, submetendo-se aos exames finais de defesa de tese, em fevereiro de 1996.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE QUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
EXTRATO	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. A ranicultura no Brasil e no mundo	3
2.2. O abate de rãs	6
2.3. Vida útil e formas de deterioração de alimentos refrigerados e congelados	12
CAPÍTULO 1	15
ESTOCAGEM DE CARNE DE RÃ SOB REFRIGERAÇÃO	15
1. INTRODUÇÃO	15
1.1. Transformações bioquímicas e microbiológicas <i>post mortem</i> na carne de rã	15
1.2. Métodos de avaliação do frescor e da vida-de-prateleira da carne de rã refrigerada	18
2. MATERIAL E MÉTODOS	26

	Página
2.1. Sistemas de evisceração analisados	26
2.1.1. Etapas do sistema de abate tradicional	27
2.1.2. Etapas do sistema de abate alternativo	30
2.2. Análises microbiológicas, físico-químicas e sensorial	31
2.2.1. Análises microbiológicas	31
2.2.2. Análises físico-químicas	33
2.2.3. Análise sensorial	35
2.3. Delineamento do experimento	38
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.1. Análises microbiológicas	40
3.2. Análises físico-químicas	44
3.3. Análise sensorial	53
4. CONCLUSÕES	59
CAPÍTULO 2	61
ESTOCAGEM DE CARNE DE RÃ SOB CONGELAMENTO	61
1. INTRODUÇÃO	61
1.1. Principais alterações durante o congelamento e a estocagem de carne de rã	61
1.2. Métodos de avaliação da frescor e da vida-de-prateleira da carne de rã congelada	69
2. MATERIAL E MÉTODOS	72
2.1. Sistemas de evisceração analisados	72
2.2. Análises microbiológicas, físico-químicas e sensorial	73
2.2.1. Análises microbiológicas	73
2.2.2. Análises físico-químicas	73
2.2.3. Análise sensorial	74
2.3. Delineamento do experimento	74
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.1. Análises microbiológicas	75
3.2. Análises físico-químicas	80
3.3. Análise sensorial	86

	Página
4. CONCLUSÕES	92
CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
APÊNDICE	102

LISTA DE QUADROS

	Página
CAPÍTULO 1	
1. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do log de UFC/g dos microrganismos mesófilos, psicrotróficos, de fungos e leveduras, encontrados na carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	41
2. Número mais provável (NMP/g) de coliformes totais e fecais de carne de rã-touro eviscerada pelos métodos tradicional (ET) e alternativo (EA) e estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	43
3. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do pH de carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	45
4. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do NNP de carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	47
5. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do teor de BVT de carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	49
6. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do número de TBA para carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	51
7. Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para odor, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	53

	Página
8. Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para textura, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	53
9. Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para limosidade, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	54
10. Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para cor, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	54
11. Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para brilho, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	55
12. Modelos ajustados e seus coeficientes de determinação dos gráficos, apresentados na figura anterior (x=tempo de estocagem e y=atributo sensorial correspondente)	56
13. Coeficientes de correlação entre as análises físico-químicas, análises microbiológicas e atributos sensoriais de carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 15 dias	57
 CAPÍTULO 2	
1. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do log de UFC/g dos microrganismos mesófilos, psicrotróficos e fungos e leveduras, encontrados na carne de rã, estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$) ...	76
2. Número mais provável (NMP/g) de coliformes totais e fecais de carne de rã-touro eviscerada pelos métodos tradicional (ET) e alternativo (EA) e estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	78
3. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do pH de carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	80
4. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do NNP de carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	82
5. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do teor de BVT de carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	83

6. Resumo da Análise de Variância e da Regressão do número de TBA de carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	84
	Página
7. Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais da carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	87
8. Modelos ajustados e seus coeficientes de correlação das curvas apresentadas na figura anterior (x=tempo de estocagem e y=atributo sensorial correspondente)	88
9. Coeficientes de correlação entre as análises físico-químicas, análises microbiológicas e atributos sensoriais de carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$), durante 180 dias	91
1A. Resultados das análises microbiológicas da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	103
2A. Resultados das análises físico-químicas da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	104
3A. Resultados da análise sensorial da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	105
4A. Resultados das análises microbiológicas da carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	108
5A. Resultados das análises físico-químicas da carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	109
6A. Resultados da análise sensorial da carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	110

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
1. Fluxograma dos sistemas tradicional e alternativo para abate de rãs	32
2. Modelo da ficha utilizada para avaliação sensorial de carne de rã, refrigerada e congelada	37
3. Variação das contagens de mesófilos aeróbios, psicrotróficos, fungos e leveduras da carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	41
4. Variação do pH da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	46
5. Variação do nitrogênio não-protéico (NNP) da carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	48
6. Variação das bases voláteis totais (BVT) da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	50
7. Variação do número de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	52
8. Variação dos escores sensoriais de limosidade, textura, odor, brilho e cor da carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)	55

CAPÍTULO 2

1. Variação das contagens de mesófilos aeróbios, psicotróficos e fungos e leveduras da carne de rã, estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	76
2. Variação das bases voláteis totais (BVT) da carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	83
3. Variação do número de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) da carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	85
4. Variação dos escores sensoriais limosidade, textura, odor, brilho e cor da carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)	87

EXTRATO

UQUILLAS LOAIZA, Juan Francisco, M.S., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 1996. **Avaliação físico-química, microbiológica e sensorial de carne de rã (*Rana catesbeiana*) estocada sob refrigeração e congelamento.** Professor Orientador: Lúcio Alberto de Miranda Gomide. Professores Conselheiros: June Ferreira Maia Parreiras, José Benício Paes Chaves e Nélio José de Andrade.

Foram estudados dois sistemas de evisceração de rãs (tradicional e alternativo), com o objetivo de verificar sua influência na qualidade das carcaças, estocadas sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) até 15 dias, ou sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$), durante 180 dias. Periodicamente (0, 2, 4, 7, 10 e 15 dias, no caso da refrigeração, e 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias, no caso do congelamento) foram realizadas análises microbiológicas (contagens de mesófilos, psicrotróficos, fungos e leveduras e NMP de coliformes totais e fecais), físico-químicas (pH, NNP, BVT e TBA) e sensorial (limosidade, textura, odor, brilho e cor). Os resultados das análises mostraram que o índice de BVT e as contagens de mesófilos e psicrotróficos foram os melhores indicadores das alterações, ocorridas no produto estocado sob refrigeração, o qual foi considerado apto para consumo até o oitavo

dia. O odor, seguido da cor e da textura, foi o melhor atributo sensorial para se determinar a qualidade da carne refrigerada. Na carne de rã congelada, até 180 dias de estocagem, não foram detectadas alterações físico-químicas, microbiológicas ou sensoriais, que prejudicassem sua qualidade. Nenhum dos atributos sensoriais mostrou um comportamento, que permite ser utilizado como índice de qualidade de carne congelada. O sistema de evisceração alternativo mostrou-se superior ao tradicional, por apresentar menor contaminação com coliformes e por permitir menos operários na linha de abate. Sugere-se, portanto, a utilização do sistema de evisceração alternativo para o abate de rãs.

ABSTRACT

UQUILLAS LOAIZA, Juan Francisco, M.S., Federal University of Viçosa, september de 1996. **Physical-chemical, microbiological and sensory evaluation of frog meat (*Rana catesbeiana*) stored under refrigeration and freezing.** Advisor: Lúcio Alberto de Miranda Gomide. Counsellors: June Ferreira Maia Parreiras, José Benício Paes Chaves and Nélio José de Andrade.

Two frog evisceration systems (traditional and alternative) were tested to verify their influence upon the quality of carcasses stored under refrigeration ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) or freezing ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$) for 15 or 180 days, respectively. Microbiological (mesophilic, psychrotrophic, molds and yeasts counts, MPN of total and fecal coliforms), physical-chemical (pH, TVB, NPN, TBA), and sensory (slime, texture, odour, brightness and color) evaluations were made periodically (0, 2, 4, 7, 10 and 15 days under refrigeration, and 0, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days, under freezing). The results showed that, TVB, mesophilic and psychrotrophic counts were the best indicators of the changes occurring on the product stored under refrigeration. Refrigerated frog meat was considered fit for consumption up to the eighth day of storage. Odour, followed by color and texture, was the best sensory attribute determining the quality of the refrigerated frog meat. On frozen frog meat, stored up to 180 days, no physical-chemical, microbiological or

sensory alterations were detected that impair its quality. No sensory attribute showed a behavior that allow their utilization as a quality indicator of frozen frog meat. The alternative evisceration system showed to be superior than the traditional since it lead to less contamination with coliform and because it allows less workers in the slaughter line. It is sugested that the alternative evisceration system must be used for slaughtering frogs.

1. INTRODUÇÃO

A ranicultura é uma atividade agroindustrial que tem mostrado grande crescimento nas últimas duas décadas. Apesar do aumento do mercado, a carne de rã é muito pouco conhecida pelo mercado consumidor brasileiro.

A produção brasileira de carne de rã destina-se, praticamente, à exportação, pelo que se torna necessário o conhecimento de suas propriedades e características, com o objetivo de atender às exigências dos mercados consumidores. No entanto, o País carece de uma legislação própria e específica para regulamentar o mercado e a produção da carne de rã. Na atualidade, são adotadas, como critério de qualidade, as recomendações do CODEX ALIMENTARIUS (1984), assim como o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária (BRASIL, 1980), que define a carne de rã dentro da denominação genérica de “pescado”.

O sistema de abate, utilizado atualmente, tem se transformado no principal centro de atenção, em vista de sua importância na qualidade final do produto.

Em decorrência da inexistência de equipamentos especificamente destinados ao abate de rãs, várias etapas e equipamentos têm sido adaptados,

principalmente da indústria avícola, reduzindo as dificuldades do processo de abate que praticamente é feito de forma manual. Mesmo assim, a carne de rã tem mostrado problemas, em virtude da facilidade de contaminação a que está exposta, sendo muitas vezes veículo de microrganismos patogênicos para o homem (NOGUEIRA, 1991).

O sistema de abate amplamente difundido em nível nacional propõe que a evisceração seja realizada, posterior à retirada da pele. No entanto, esta seqüência tem o inconveniente de possibilitar o contato das vísceras com a carne, durante a retirada da pele, quando podem ocorrer na carcaça a ruptura das alças abdominais e a provável contaminação da carcaça.

A evisceração anterior à retirada da pele seria, dentre as alternativas para minimizar o risco de contaminação da carne de rã, durante o abate, uma das mais viáveis, pelo fato de não exigir grandes mudanças na linha de abate.

Portanto, o estudo que ora é apresentado tem como primeiro objetivo comparar as vantagens e as desvantagens dos sistemas de evisceração e abate propostos.

Propõe-se, ainda, estudar algumas das alterações físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, assim como a estabilidade da carcaça de rã, abatida pelos dois sistemas, quando armazenada sob temperaturas de refrigeração e congelamento.

Finalmente, o presente trabalho visa sugerir o estabelecimento de alguns índices de qualidade, que permitam diagnosticar o estágio de frescor da carne de rã.

Para isso, foi abatido, pelos dois métodos propostos, um total de 950 animais da espécie *Rana catesbeiana* ("rã-touro"), dos quais 440 carcaças foram mantidas à temperatura de $4\pm 1^{\circ}\text{C}$, durante um período de 15 dias, e submetidas a análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais, enquanto 510 carcaças foram mantidas à temperatura de $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante 180 dias, e submetidas às mesmas análises laboratoriais, a fim de se determinarem as alterações associadas à qualidade e à aceitação do produto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A ranicultura no Brasil e no mundo

A ranicultura é uma atividade agropecuária muito recente e em franca expansão no Brasil. Iniciou-se na década de 30, com a importação de 300 casais de rã-touro-gigante dos Estados Unidos e a instalação do primeiro ranário no País, no Estado do Rio de Janeiro (LIMA e AGOSTINHO, 1988 e MELLO, 1995).

Até os anos 70, houve pouco avanço e estímulo para esta atividade. Porém, na década de 80, já estavam implantados cerca de 2.000 ranários no Brasil, surgindo várias Associações de Ranicultores nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás e Bahia (LIMA e AGOSTINHO, 1992). Segundo estimativas, baseadas em informações de técnicos, Associações de Criadores e outras instituições, estimou-se que o número de ranários em funcionamento no Brasil, até 1992, estivesse em torno de 600, dos quais 157 registrados nas Associações de Criadores, a maioria nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro (MELLO, 1995).

O principal produto comercial da ranicultura é a carne, rica em proteínas de alta qualidade nutricional, baixo teor de lipídios, e com certas propriedades

terapêuticas. Em média, a carne de rã apresenta, segundo LINDAU e NOLL (1988), a seguinte composição: 16,5% de proteínas, 0,31% de lipídios, 83,7% de umidade e 0,89% de cinzas. Por outro lado, para AZEVEDO e OLIVEIRA (1988), a composição da carne de rã varia ligeiramente, sendo: 18,22% de proteínas, 0,33% de lipídios, 77,70% de umidade e 0,75% de cinzas. Dentre as características, que mais têm chamado a atenção está o seu baixo teor de sódio, quando comparado com outras fontes de proteína animal (81,9 mg/100 g contra níveis superiores a 100 mg/100 g na maioria de carnes).

De acordo com LIMA e AGOSTINHO (1992), a produção de carne de rã até 1988 estava em torno de 80 t, passando a 200 t em 1992. Apesar da crescente demanda, pesquisas têm mostrado que mais de 90% das pessoas não conhecem a carne de rã; cerca de 46% nunca a experimentaram; e outros 44% o fizeram uma única vez. No entanto, testes sensoriais têm mostrado uma aceitação superior a 70%, quando comparada com outros tipos de carne (MELLO, 1995).

Na atualidade, a criação de rãs tem ganhado um novo enfoque produtivo com o surgimento e o aprimoramento de modernos sistemas de criação, que têm aumentado a produtividade, derrubando o preconceito de grande parte dos consumidores, chegando ao ponto de a oferta de carne de rã não atender a 30% do mercado nacional (SILVA, 1995).

Várias espécies de rã são criadas no Brasil com fins comerciais, dentre as quais se destacam: *Rana catesbeiana* ("rã-touro"), *Leptodactylus ocellatus* ("rã-manteiga"), *L. macrosteroum*, *L. labyrinthicus*, *L. pentadactylus* ("rã-pimenta") e *L. flavopictus*. A rã-touro tem despertado maior interesse dos produtores, aparentemente pela sua precocidade e pelo rendimento (LIMA e AGOSTINHO, 1988). De acordo com QUEIROZ et al. (1995), a carcaça da rã-touro tem um fator de rendimento de 0,72 a 0,82 e um fator de correção de, aproximadamente, 1,76.

Em nível mundial, a carne de rã é comercializada de várias formas: animais vivos, carne resfriada e carne congelada. Os maiores importadores de carne de rã são: Estados Unidos, França, Alemanha, Canadá, Bélgica e Holanda.

Dentre os exportadores destacam-se: Indonésia, Índia, China, Japão, Cuba e México. A França importa animais vivos que pesam, individualmente, entre 30 e 150 gramas, com média de 50 gramas (Aubert, citado por AYUB, 1995). Os produtos comercializados "in natura", no mercado consumidor francês, são considerados como um produto de alta categoria e seu preço é bem mais alto do que as coxas de rã congeladas, apesar de ocupar uma percentagem bem menor no mercado de consumo, em comparação com o produto congelado (Aubert, citado por AYUB, 1995). Cabe destacar que a maior parte da carne de rã no mercado internacional provém da caça predatória, o que impede um fornecimento regular do produto e vêm diminuindo ano a ano os estoques naturais (LIMA e AGOSTINHO, 1988). Como consequência disso, os Estados Unidos deixaram de importar carne de rã do Japão, em virtude da contaminação da carne com inseticidas, usados nos arrozais, e do México, em razão da presença de salmonelas na carne proveniente deste País (LONGO, 1986).

Até 1985, o Brasil não exportava carne de rã (LONGO, 1986). Na atualidade, detém o primeiro lugar no mundo como produtor de rãs em cativeiro, com uma tecnologia única, inclusive no abate, obtendo com isso um produto final de alta qualidade e aceitação no mercado mundial (SILVA, 1995). VISEU (1995) chama a atenção para a enorme preferência do mercado consumidor norte-americano pela carne de rã-touro, produzida no Brasil, em decorrência dos seus sabor e textura refinados.

Ainda, há preferências em determinados países por carcaças inteiras, ou unicamente pela carne proveniente das coxas. Neveu e Reginer, citados por AYUB (1995), classificam as coxas de rãs tradicionalmente em três categorias: grandes (2 dúzias/kg), médias (4 dúzias/kg) e pequenas (de 7 a 8 dúzias/kg). Aubert, citado por AYUB (1995), mostra uma classificação mais detalhada, em que o tamanho das coxas de rã corresponde ao número de pares por quilograma, com categorias variando de 4 a 8 até de 81 a 100 pares de coxas por quilograma. No mercado internacional, as coxas têm a seguinte classificação, baseada em seu tamanho: a) Super Small - 60 pares/kg, b) Small - 50 pares/kg, c) Medium - 40

pares/kg, d) Large - 30 pares/kg, e) Big - 20 pares/kg e f) Jumbo - 10 pares/kg (LONGO, 1986).

Segundo ALBINATI (1994), no Brasil são abatidos animais com peso vivo, variando entre 150 e 250 gramas. LIMA e AGOSTINHO (1988) consideram que o mercado interno aceita carcaças com peso médio, a partir de 74 gramas, o que equivale a animais, pesando em torno de 113 gramas.

Em virtude da pequena produção, a carne de rã é comercializada no Brasil por 13 a 20 dólares/kg (LIMA, Comunicação pessoal, 1995), preço elevado, se comparado com outras fontes de proteína animal.

O artigo 438 do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1980), define com a denominação genérica "pescado" os peixes, os crustáceos, os moluscos, os anfíbios, os quelônios e os mamíferos de água doce ou salgada, usados na alimentação humana, incluindo dentro desta definição as rãs. O Ministério da Agricultura, mediante o Informativo Técnico 86/87 da Delegacia Federal de Agricultura (BRASIL, s.d.), estabelece algumas normas e diretrizes para o abate de rãs, para se obter um melhor aproveitamento higiênico-sanitário dos produtos. O informe sugere, como requisitos microbiológicos para a carne de rã, aqueles estabelecidos pelo Comitê Misto FAO/OMS, do CODEX ALIMENTARIUS (1984).

2.2. O abate de rãs

O abate e o processamento da carne de rãs ainda são bastante empíricos, em razão de ser um setor em constante crescimento e objeto de poucas pesquisas. Várias etapas da linha de processo são adaptações ou mudanças da linha e equipamentos, utilizados na indústria avícola. No Brasil, de maneira geral, o abate e o processamento têm seguido as seguintes etapas :

a. Seleção

Os animais a serem abatidos são previamente selecionados pelo aspecto, pelo tamanho, pelo peso e pelo estado sanitário, características que irão depender do mercado consumidor.

b. Transporte

De maneira geral, é durante o transporte que ocorre a maior quantidade de perdas (mortes) e injúrias na carne, em virtude principalmente da asfixia, do estresse, da temperatura e de outras condições adversas (LIMA e AGOSTINHO, 1988 e JUDGE et al., 1989). Portanto, devem ser observados alguns requisitos para minimizar as perdas durante esta etapa.

Quando o abatedouro está separado do local de engorda (anfigranja), o transporte deve ser feito nas horas menos quentes do dia, em veículos com ventilação suficiente. No Brasil, os abatedouros e criatórios, geralmente, estão na mesma propriedade, de modo que o transporte é feito em sacos de aniagem limpos e secos, amarrados e acondicionados em monoblocos vasados (LIMA e AGOSTINHO, 1988). A utilização de baldes, desde o criatório até à recepção no abatedouro, quando os dois estão integrados, pode também ser usada (BRASIL, s.d.).

c. Jejum

Tem como objetivo a eliminação e o esvaziamento do conteúdo intestinal, para minimizar os riscos de contaminação da carcaça por regurgitação e, ou, rompimento de alças intestinais (BRASIL, s.d. e LIMA e AGOSTINHO, 1988). Os animais são mantidos nas baias de engorda, ou em baias especiais (currais), sem alimentação. Deve-se garantir um fluxo de água clorada permanente (de 20 a 30 ppm) para eliminação dos restos de fezes e outros resíduos contaminantes, assim como iniciar o processo de desinfecção da pele.

Vários autores recomendam um tempo de jejum entre 24 e 72 horas. LONGO (1986) e LIMA e AGOSTINHO (1988) sugerem 24 horas, enquanto o Informativo Técnico do Ministério da Agricultura (BRASIL, s.d.), recomenda 36 horas e Mazzoni e Carveia, citados por ALBINATI (1994), sugerem 72 horas.

d. Recepção

As rãs chegam até ao abatedouro, sendo convenientemente acomodadas na sala de insensibilização e sangria. Após o manejo e o transporte, é necessário que exista um período de descanso, para permitir a recuperação do estresse que os animais sofreram nas etapas anteriores. Neste período, deve ser feita a inspeção *ante mortem* com a finalidade de separar e isolar animais visivelmente debilitados, ou com suspeita de qualquer enfermidade ou afecção (doença parasitária, infecciosa ou inespecífica), os quais serão submetidos a um exame mais acurado pelo médico veterinário da Inspeção Federal (ALBINATI, 1994 e BRASIL, s.d.).

De acordo com o CODEX ALIMENTARIUS (1984), são necessárias 24 horas de descanso, em recipientes com fundo falso, de arame, com saídas de água no fundo e entradas na parte superior, para eliminação de todas as fezes e sujidades. Porém, este tempo faz referência ao período de jejum, descrito anteriormente, quando as rãs são provenientes de captura e não de criatórios.

A recomendação do Ministério da Agricultura (BRASIL, s.d.) para este período é de 60 minutos, em recipiente plástico de 0,80 m x 0,50 m x 0,50 m, em cinco litros de água à temperatura de 20°C, para cada 100 rãs.

e. Insensibilização

Tem como objetivo minimizar o estresse dos animais, provocado durante a sangria, devendo permanecer inconscientes sem parada cardíaca (FORREST et al., 1979 e JUDGE et al., 1989), o que permite que maior quantidade de sangue seja retirado do corpo, melhorando a qualidade da carne, principalmente

microbiológica. De acordo com as tendências atuais, o animal que vai ser abatido para consumo deve ser submetido a um processo rápido e indolor, que não cause, ou minimize, o sofrimento do animal (FONSECA, 1995).

De um modo geral, os métodos de insensibilização, utilizados no processamento de rãs, podem ser divididos em dois grupos: a) imersão em água gelada e, ou, soluções salinas concentradas; e b) eletronarcore. No primeiro caso, utiliza-se água gelada, salmoura a 10% gelada ou salmoura a 10% à temperatura ambiente (BRASIL, s.d.; LONGO, 1986; LIMA e AGOSTINHO, 1988 e ALBINATI, 1994). LONGO (1986) sugere ainda a aplicação de 10 ml de benzocaína por 100 litros de água, como uma forma adicional de insensibilização.

A utilização de eletronarcore para o abate de rãs é mais recente (AYAPPAN PILLAI, 1986 e ALBINATI, 1994) e tem mostrado ser mais eficiente do que os métodos de insensibilização tradicionais (ALBINATI, 1994).

Uma vez insensibilizadas, as rãs serão dependuradas pelas patas traseiras em ganchos suspensos em trilhos ou em dispositivos, em forma de W.

f. Sangria

Visa o esgotamento sanguíneo e, conseqüentemente, a morte do animal. Em virtude da hemorragia provocada, o coração aumenta o batimento cardíaco com o objetivo de manter o suprimento sanguíneo dos órgãos vitais. Desta maneira, a concentração de sangue nos músculos diminui. Porém, mesmo em uma sangria bem feita, 50% do volume sanguíneo do corpo ficam retidos nos órgãos vitais (FORREST et al., 1979 e JUDGE et al., 1989).

Nas diretrizes do CODEX ALIMENTARIUS (1984) para o abate e processamento de coxas de rã, a sangria é feita através de um corte na altura da cintura pélvica e posterior imersão das coxas em solução salina gelada.

No Brasil, o aproveitamento da carcaça inteira da rã tem obrigado a se utilizarem outros métodos de sangria, que minimizem o risco de contaminação da carne. Desta maneira, o processo mais usado no País visa o corte dos grandes

vasos sanguíneos emergentes do coração; e inicia-se com um corte circular da pele na linha intermediária do corpo com a cabeça. Posteriormente, com a ajuda de um bisturi, introduzido através deste corte, é feita a secção dos grandes vasos do tronco cardíaco. Durante a sangria, que deverá durar não menos de oito minutos (BRASIL, s.d. e LIMA e AGOSTINHO, 1988), os animais ficam pendurados ou suspensos pelas patas traseiras, com a cabeça para baixo, e submetidos a jatos de água contínuos. ALBINATI (1994) sugere um tempo de sangria mínimo de 10 minutos, com os animais em idêntica posição, para se garantir a eficiência do processo.

g. Retirada da pele

Seguindo-se o método tradicional, a pele é desprendida no sentido da cabeça para as patas posteriores, mantendo o animal enganchado pela mandíbula. Este procedimento é normalmente realizado nos abatedouros do Brasil, na sala de evisceração (BRASIL, s.d. e LIMA e AGOSTINHO, 1988).

h. Evisceração

As vísceras são retiradas através da abertura da cavidade abdominal, feita com a ajuda de uma tesoura. O corte segue a linha média do abdômen em direção ao tórax. O agente da Inspeção Federal faz a visualização e a palpação das vísceras para detectar lesões e alterações, que possam levar à rejeição parcial ou total da carcaça.

Existem duas formas de realizar a evisceração. A primeira, sugerida pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, s.d.), é realizada com o animal suspenso pelas patas posteriores. As vísceras são removidas no sentido da cabeça. Em seguida, cortam-se as articulações dos côndilos occipitais e dos atlas, para a separação da cabeça e das vísceras. A carcaça fica suspensa no trilho ou gancho. No segundo método, sugerido por LIMA e AGOSTINHO (1988), após a retirada da pele, os animais continuam pendurados pela cabeça, sendo feito o corte das

articulações dos côndilos occipitais e dos atlas, promovendo a separação da cabeça e das vísceras, que ficam suspensas nos ganchos.

Qualquer que seja o método adotado, as vísceras deverão ser retiradas sem perfurações (em especial o trato gastrointestinal e a bexiga) para minimizar os riscos de contaminação microbiológica. A perfuração da bexiga pode contaminar a carne com urina remanescente, o que leva à presença de amônia, durante os primeiros dias de estocagem.

O CODEX ALIMENTARIUS (1984) não faz nenhuma menção a respeito de evisceração, visto que este documento visa unicamente ao aproveitamento das coxas. Assim, as vísceras são retiradas com o corte na cintura pélvica, realizado durante a sangria.

i. Toalete

Tem como objetivo a secção das extremidades dos membros, assim como a remoção de estruturas de tecidos dilacerados, coágulos de sangue, contusões, partes da pele remanescente e uma lavagem final da carcaça.

Após esta limpeza, as carcaças são submersas em caixas de água gelada, com o objetivo de promover um pré-resfriamento. Este procedimento é, normalmente, adotado nos abatedouros do Brasil (ALBINATI, 1994).

j. Acondicionamento

Uma vez pré-resfriadas, as carcaças são acondicionadas, individualmente, em filmes de polietileno e submetidas a um congelamento rápido, em congeladores de placa, a uma temperatura de -40°C , durante 3 horas (ALBINATI, 1994), ou -38°C por 3 horas e 30 minutos (BRASIL, s.d.). O produto congelado pode ser armazenado em câmaras de estocagem com temperatura em torno de -18°C . A embalagem final (filmes de polietileno com capacidade para meio e um quilo, ou caixas de papelão revestidas por filme

plástico) dependerá das exigências do mercado consumidor ao qual se destina o produto.

k. Expedição

O produto deverá ser separado e pesado em presença de um representante do Serviço de Inspeção Federal. Quando se destina ao comércio local, é transportado em veículos com carroceria isotérmica. Para transporte intermunicipal e, principalmente, interestadual, é necessário o uso de veículos frigorificados.

2.3. Vida útil e formas de deterioração de alimentos refrigerados e congelados

Vida útil ou vida-de-prateleira pode ser definida 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. De uma forma geral, a vida-de-prateleira da carne de rã, assim como da grande maioria de alimentos, é determinada pelas condições de processamento, estocagem e comercialização (LABUZA, 1982).

Em alimentos congelados, a perda de qualidade deve-se a alterações físicas e, ou, químicas, uma vez que os microrganismos não conseguem crescer sob estas condições. A temperatura de -18°C é normalmente considerada, como satisfatória para estocagem de produtos congelados, embora temperaturas inferiores sejam consideradas necessárias em países europeus (JASPER e PLACZEK, 1978). De acordo com estes autores, pode ser considerada como limite prático do crescimento microbiano a temperatura de -7°C .

As principais alterações físico-químicas, que podem acontecer em produtos cárnicos congelados são: (1) degradação de vitaminas, (2) insolubilização ou degradação de proteínas, (3) oxidação de lipídios e (4) reações que aumentam as perdas de água por gotejamento, durante o descongelamento (“drip loss”) (LABUZA, 1982).

Por outro lado, a conservação de alimentos sob refrigeração é amplamente usada por retardar reações como: (1) crescimento de microrganismos, (2) reações químicas deteriorativas, incluindo escurecimento enzimático, lipólise, degradação de pigmentos, autólise do pescado e perda do valor nutricional de forma geral e (3) perdas de umidade (LABUZA, 1982, 1985).

Os alimentos refrigerados e, em especial, os produtos cárnicos são deteriorados, principalmente, pela flora microbiana, uma vez que o efeito deteriorador causado é maior do que as alterações químicas (JASPER e PLACZEK, 1978). Nos produtos congelados, as alterações de origem química governam a deterioração destes alimentos.

Vários modelos matemáticos têm sido desenvolvidos com o objetivo de equacionar as perdas de qualidade de alimentos. Além destes modelos matemáticos, que visam determinar a vida útil de alimentos, especialmente de pescados, inúmeros estudos de ordem prática têm sido desenvolvidos, destacando-se os sensoriais.

Os métodos sensoriais, utilizados para avaliar a vida-de-prateleira de pescados e produtos derivados, são de três tipos: (a) aqueles destinados a verificar a aceitabilidade e, ou, palatabilidade; (b) aqueles em que algum atributo de qualidade é analisado, utilizando escalas para determinar sua intensidade; e (c) aqueles utilizados para comparar duas ou mais amostras, entre si, ou com uma amostra (MILLS, 1975).

CHARM et al. (1972) utilizaram uma escala sensorial para determinar a vida-de-prateleira de pescado resfriado, encontrando alta correlação com os métodos matemáticos. A escala utilizada consistia de seis níveis de qualidade e de 17 categorias, variando entre extremamente fresco e altamente deteriorado. O odor foi utilizado como primeiro indicador de qualidade e a textura, como um segundo critério de deterioração. Os autores concluíram, ainda, que a velocidade de deterioração é constante na faixa de temperatura entre -1 e 25°C.

GÓES (1987), estudando a qualidade sensorial da tilápia, conservada com gelo, avaliou a aparência geral, o odor das guelras, e a textura ao tato,

utilizando uma escala de nove pontos para cada atributo. Os resultados, obtidos para os três atributos, mostraram alta correlação com a vida útil, determinada por métodos bioquímicos. Resultados semelhantes foram encontrados por CORNEJO (1988).

Avaliando a vida-de-prateleira de 10 espécies de peixes resfriados, MONTIEL-MONTOYA (1990) encontrou alta correlação (de 0,77 a 0,99) entre métodos objetivos (BVT, TMA, TBA) e métodos subjetivos. A escala usada variava entre 0 (péssimo) até 5 (excelente). Foram estudados o odor, a aparência dos olhos, as guelras, as escamas e a carne, totalizando 20 níveis de deterioração e um total de 100 pontos na escala. De acordo com o painel sensorial, as espécies estudadas atingiam o valor-limite para consumo humano, quando o escore era de 60 a 70 pontos. A corvina apresentou o menor valor da escala sensorial (60,11), enquanto o peixe “sierra” teve o maior, totalizando 70,44. Estes resultados mostram-se em concordância com vários autores, citados por GÓES (1987), que informam que o limite máximo de aceitação do pescado tem sido estabelecido em 60% das suas características sensoriais ideais.

CAPÍTULO 1

ESTOCAGEM DE CARNE DE RÃ SOB REFRIGERAÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Em face da classificação da carne de rã como pescado, e em virtude da pouca informação científica sobre a mesma, os estudos de alterações da carne de rã baseiam-se, principalmente, na forma de deterioração do pescado.

1.1. Transformações bioquímicas e microbiológicas *post mortem* na carne de rã

A alta perecibilidade do pescado faz com que testes, provas, índices e análises sejam sugeridos na tentativa de se determinar o seu grau de frescor e sua vida-de-prateleira. FARBER (1965) descreve mais de 25 testes e análises físico-químicas, biológicas e sensoriais com o objetivo de acompanhar as alterações, sofridas no músculo do pescado sem, contudo, chegar a estabelecer, de forma clara e definitiva, nenhum índice de frescor. De acordo com KUAYE (1982), ainda não foi encontrado um método de avaliação química ou física que possa,

por si só, definir a condição do pescado, sendo sempre necessária uma correlação do(s) método(s) utilizado(s) com métodos sensoriais.

O processo deteriorativo do pescado inicia-se logo após a morte do animal, mediante autólise e ação microbiana (BERAQUET e LINDO, 1985). As alterações bioquímicas, que ocorrem após a morte, afetam os principais componentes dos tecidos, provocando diversas alterações estruturais, incluindo o *rigor mortis* e a desintegração da microestrutura muscular. Desta forma, inicia-se uma série de transformações irreversíveis nas proteínas, nos lipídios e nos açúcares do músculo.

Autores, citados por BERAQUET e LINDO (1985), sugerem a acumulação da hipoxantina para determinar o grau de autólise do pescado, a determinação de trimetilamina, dimetilamina e amônia, individualmente, ou em conjunto como bases voláteis totais, para medir o grau de decomposição, causado por microrganismos, e a formação de malonaldeído (mediante o teste do ácido tiobarbitúrico) para medir a rancidez oxidativa.

A autólise ocorre em decorrência da ação de enzimas hidrolíticas (catepsinas, fosfatases, lipases, proteases etc.), que, liberadas dos lisossomas, provocam a desintegração celular (BERAQUET e LINDO, 1985 e SIKORSKI et al., 1994a).

Nos produtos refrigerados, as alterações, sofridas por ação microbiana, são mais evidentes do que qualquer alteração bioquímica, originada por efeito da autólise da carne (BERAQUET e LINDO, 1985).

Como na autólise, na decomposição bacteriana as proteínas são primeiramente degradadas a aminoácidos, os quais são desaminados e descarboxilados, formando substâncias mais simples. Dentre os produtos finais da decomposição bacteriana, BERAQUET e LINDO (1985) destacam: substâncias inorgânicas como hidrogênio, dióxido de carbono e amônia; compostos sulfurados, como gás sulfídrico e mercaptanas; bases orgânicas, como dimetilamina e trimetilamina; diaminas, como putrescina e cadaverina; e compostos heterocíclicos, como indol e escatol.

Um grupo de microrganismos importante na microbiologia de produtos cárnicos corresponde aos psicotróficos, uma vez que, em sua maioria, os produtos da indústria da carne e do pescado utilizam a refrigeração como forma de conservação. Nesta categoria, merecem atenção especial as *Pseudomonas*, em razão da sua alta frequência no grupo dos psicotróficos (JAY, 1986 e NIVEN, 1994). Por outro lado, o número de bactérias psicotróficas do grupo *Acinetobacter* decresce, ao longo da estocagem sob refrigeração, tanto em frango quanto no pescado (JAY, 1986).

Estudos de quatro espécies de pescado revelam que a flora superficial inicial é constituída de *Pseudomonas-Alteromonas* (de 32 a 60%) e *Moraxella-Acinetobacter* (de 18 a 37%). Os microrganismos produtores de H₂S estariam presentes em estádios mais avançados de deterioração (JAY, 1986).

NOGUEIRA (1991) estudou os tipos mais frequentes de leveduras presentes na carcaça de rã, encontrando que os gêneros *Candida* (53,75%), *Rhodotorula* e *Kloeckera* (11,25%), *Trichosporon* (10,83%) e *Debaryomyces* (6,25%) são os mais frequentes na carne. Ainda, neste estudo, foram isoladas certas espécies patogênicas para o homem, como *Candida albicans* (6,25%).

Embora a maioria dos microrganismos patogênicos não cresça à temperatura de refrigeração, vários estudos têm mostrado sua presença em carcaças de rã. ANDREWS et al. (1977) isolaram vários sorotipos de salmonelas em coxas de rã provenientes da Índia, do Japão, de Bangladesh, da Indonésia e do México. SANG et al. (1987) mostraram a viabilidade do *Vibrio cholerae* 01 em coxas de rã estocadas a 4°C.

Por isso, as etapas de evisceração e retirada da pele da rã devem ter atenção especial, em virtude do elevado risco de contaminação destas operações, inclusive com microrganismos patogênicos.

1.2. Métodos de avaliação do frescor e da vida-de-prateleira da carne de rã refrigerada

O pH é um dos índices de qualidade mais utilizados, em decorrência da sua rapidez e da facilidade de medição. Sua variação *post mortem* está intimamente relacionada com reações metabólicas da glicose intramuscular. Em razão do colapso circulatório e respiratório, provocado durante a sangria e a morte, inicia-se um acúmulo de ácido lático no músculo, decorrente da hidrólise anaeróbia da glicose. No pescado, este processo inicia-se antes da primeira hora, após a morte do animal (JUGDE et al., 1989). O processo glicolítico anaeróbico conduz a uma queda gradual de pH até a uma concentração final, praticamente, nula de glicose e glicogênio. De acordo com SIKORSKI et al. (1994a), o pH atinge valores em torno de 6,2 em músculos de pescado no final da rigidez cadavérica. Para PACHECO (1988), a acidez, alcançada ao final do *rigor mortis*, embora baixa parece ser suficiente para retardar as reações autolíticas e bacterianas causadoras de deterioração, afetando a vida-de-prateleira do produto.

Após a queda inicial do pH, em pescados (marinhos principalmente), é claramente visível que, à medida que aumenta o tempo de estocagem, 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 (LAHIRY et al., 1963; KUAYE, 1982; BERAQUET e LINDO, 1985 e SIKORSKI et al., 1994a).

De acordo com o artigo 443 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, RIISPOA (BRASIL, 1980), o pescado fresco deve apresentar um pH inferior a 6,8 e 6,5 nas carnes externa e interna, respectivamente, para ser caracterizado como pescado fresco. Esta diferença deve-se à invasão microbiana, que a superfície do produto sofre nas etapas do abate, e à demora desta microflora para atingir o interior da peça.

As mudanças de pH dependerão, no entanto, de fatores como espécie animal, raça e alimentação, dentre outros, resultando difícil, senão impossível, a

adoção de um critério único para qualquer espécie sem se levar em consideração estes fatores. LAHIRY et al. (1963) não detectaram mudanças de pH em várias espécies de pescado de água doce, estocado sob gelo durante 12 dias. A espécie *Wallago attu* apresentou o menor valor de pH (6,4), enquanto *Ophicephalus* sp. tinha o maior valor (6,9). Após este período, houve um incremento de pH, em razão das aminas e da amônia, produzidas durante o processo deteriorativo do pescado.

No caso da carne de rã, em virtude do longo período de jejum pré-abate (48 horas, aproximadamente), as reservas de glicogênio são muito baixas, refletindo em uma curva de queda de pH *post mortem* muito suave. Mais estudos são necessários a este respeito.

O nitrogênio não-protéico (NNP) tem sido pouco utilizado como índice de qualidade, em razão das enormes controvérsias existentes sobre sua utilidade, como fator determinante da qualidade de pescado resfriado e refrigerado (FARBER, 1965 e CONTRERAS, 1994). Esta fração é a primeira a ser utilizada para o crescimento microbiano, uma vez que serve como fonte de energia para os microrganismos. De acordo com SIKORSKI et al. (1994a), o metabolismo destes compostos é o responsável pela perda gradual do frescor e da presença de sinais de putrefação, em razão da decomposição de alguns componentes não-protéicos, que participam no aroma do pescado fresco, na formação de compostos voláteis e na degradação parcial de proteínas. Muitos compostos aromáticos são formados, a partir do “pool” de aminoácidos livres e a partir de aminoácidos liberados pelas proteólises enzimática e bacteriana e, ainda, por outras reações não totalmente conhecidas.

Os produtos, obtidos como resultado do metabolismo de aminoácidos (aminas, aldeídos, sulfetos, mercaptanas e ácidos graxos de cadeia curta), exibem odores desagradáveis e pútridos. A descarboxilação de aminoácidos básicos, por ação bacteriana, representa um risco à saúde, pela formação de compostos tóxicos, dentre os quais se destacam as aminas biogênicas, principalmente a

histamina, a cadaverina e a espermidina, formadas a partir da histidina, da lisina e da glutamina (ou arginina), respectivamente (SIKORSKI et al., 1994a).

Apesar de os sistemas enzimáticos das bactérias contaminantes serem capazes de decompor proteínas, o melhor substrato para os microrganismos é proporcionado pelos produtos de hidrólise resultantes da autólise (aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não-protéicas presentes no músculo, como óxido de trimetilamina, uréia e histidina). Assim, somente nos estádios intermediários e finais do processo de deterioração é processada a degradação de proteínas por ação bacteriana (BERAQUET e LINDO, 1985).

MOORJANI et al. (1962) estudaram as alterações das frações nitrogenadas de vários peixes de água doce, estocados sob gelo, concluindo que o nitrogênio solúvel não apresentou mudanças significativas; e que a fração de nitrogênio não-protéico do pescado fresco era de, aproximadamente, 10% do conteúdo total de nitrogênio para todas as espécies, mostrando um decréscimo, durante 16 dias de estocagem sob gelo. Os autores concluem que, se as proteínas fossem hidrolisadas por ação bacteriana e enzimática, o nitrogênio não-protéico deveria aumentar significativamente. No entanto, como o teor de NNP mostrou um ligeiro decréscimo, a hidrólise protéica não foi significativa.

O estudo dos fatores de qualidade de pescado de água doce, estocado sob gelo, conduzido por LAHIRY et al. (1963), mostrou um decréscimo gradual dos aminoácidos livres durante, a estocagem. Esta diminuição deve-se em parte à lixiviação, provocada pelo efeito da lavagem do gelo fundido, utilizado na estocagem do produto.

De acordo com Netto, citado por CONTRERAS (1994), a tilápia-do-nilo apresentou 294 mgN% (mg de nitrogênio por 100 gramas de amostra), logo após a morte, diminuindo durante a estocagem em gelo até 208 mgN%, depois de 20 dias. CONTRERAS (1994), trabalhando com o mesmo pescado, encontrou um resultado próximo, com 344 mgN%, logo após a morte, e decréscimo até 258 mgN% em 16 dias. A diminuição do teor de NNP com o tempo de estocagem pode ser justificada pelas perdas por lixiviação, que ocorreram no produto. No

entanto, vários autores, citados pelo mesmo autor, sugerem um aumento no teor de NNP, durante a estocagem, atribuindo-o à atividade das catepsinas, na fase inicial, e às proteases microbianas, nas fases posteriores.

Ainda, segundo SIKORSKI et al. (1994a), várias proteases (oligopeptidases, trieptidases e dipeptidases, transaminases, amidases, carnosinase, tiaminase) têm sido isoladas da fração sarcoplasmática de músculos de várias espécies de pescados, sendo as lisossomais (catepsinas) as que apresentam maior atividade. No entanto, as enzimas lisossomais exigem faixas de pH relativamente baixo (de 3 a 5) para terem uma atividade hidrolítica considerável (PENNY, 1984 e GOLL, 1991). Desta maneira, a hidrólise de proteínas e macropéptidos será um processo lento e, em maior grau, em virtude das proteases microbianas.

A determinação das bases voláteis totais (BVT), também chamadas de bases nitrogenadas voláteis, tem sido, sem dúvida, o teste mais usado para estudar o grau de alteração em pescados (BERAQUET e LINDO, 1985), em razão de seu aumento progressivo, durante o tempo de estocagem e alta correlação com a avaliação sensorial, principalmente de atributos como odor e limosidade, dentre outros. O método é de enorme valor no controle de qualidade, porque detecta os produtos da ação microbiana sobre o óxido de trimetilamina, aminoácidos livres e péptidos de pequeno porte, sendo um reflexo das alterações autolíticas e bacterianas, que ocorrem no pescado. Do ponto vista microbiano, estas alterações seriam provocadas, inicialmente, pela microflora mesofílica, que, posteriormente, é sobrepujada pelos microrganismos psicotróficos (CONTRERAS, 1994), que apresentam alto potencial proteolítico e putrefativo.

Dentro da denominação genérica de BVT, encontram-se diferentes substâncias como amônia, trimetilamina, dimetilamina, etilamina, monometilamina, putrescina, cadaverina, espermidina, normalmente presentes em pescados deteriorados (KUAYE, 1982; BERAQUET e LINDO, 1985; CONTRERAS, 1994 e SIKORSKI et al., 1994b).

KUAYE (1982) e CONTRERAS (1994) estudaram os diferentes métodos de determinação das BVT.

O método de Lucke e Geidel (1935), consiste na destilação direta do músculo, por arrastre de vapor, triturado em meio levemente alcalino ($\text{pH} \approx 9,8$). A destilação direta do músculo é inconveniente, pela formação de amônia, durante a fase de aquecimento, provocado pela ação das desaminases, o que levaria a um aumento do teor das BVT. Com o objetivo de contornar este problema, esses autores sugerem a precipitação da fração proteica do músculo com ácido tricloroacético e destilação do filtrado não-protéico da carne. Diferenças de até 40% no valor final de BVT têm sido encontradas entre os dois métodos (KUAYE, 1982). O método da microdifusão de Conway e Byrne (1933) utiliza um extrato de músculo, obtido com ácido tricloroacético, alcalinizado com carbonato de potássio, realizando a determinação em placas com tampa hermética e dupla câmara, em uma das quais é colocado o ácido para captação das bases voláteis (CONTRERAS, 1994).

Segundo KUAYE (1982), o aumento constante das BVT pode ser devido às condições analíticas, não representando necessariamente produtos metabólicos de deterioração dos tecidos musculares. As bases nitrogenadas voláteis adicionais poderiam gerar-se da hidrólise das amidas dos ácidos glutâmico e aspártico, em virtude da destilação do músculo em meio alcalino ($\text{pH} 9,0$).

De acordo com Zaitsev, citado por BERAQUET e LINDO (1985), o teor de bases voláteis totais, em pescado fresco, varia entre 15 e 20 $\text{mgN}/100 \text{ g}$. O RIISPOA (BRASIL, 1980), em seu artigo 443, estabelece um limite máximo de 30 mg de nitrogênio por 100 gramas de carne ($30 \text{ mgN}/100 \text{ g}$) utilizando o método da microdifusão. Apesar de este limite ser aceito pelas legislações da Argentina, do Japão, da Austrália, da Alemanha e dos Estados Unidos (BERAQUET e LINDO, 1985), existem ainda enormes diferenças de critério, por parte de outros países, os quais sugerem limites, que variam entre 20 e 60 $\text{mgN}/100 \text{ g}$ (KUAYE, 1982 e CONTRERAS, 1994).

Os resultados de KUAYE (1982), avaliando as alterações da tilápia em gelo, mostraram que o valor de BVT atingiu níveis superiores a 30 mg de N/100 g de carne, após 21 dias de estocagem. MONTIEL-MONTOYA (1990), estudando 10 espécies diferentes de pescado, estocado em gelo, encontrou valores superiores a 30 mgN/100 g de amostra, em períodos de 12 a 15 dias de estocagem. Nos dois casos, os resultados apresentaram alta correlação com diversos atributos sensoriais.

Diversos pesquisadores, citados por BERAQUET e LINDO (1985), estudaram as transformações microbiológicas, químicas e organolépticas em pescados, armazenados sob refrigeração, observando que havia uma correlação linear entre o teor de BVT do músculo, as contagens de microrganismos psicrotróficos, diversas características sensoriais (avaliadas mediante degustação) e o tempo de estocagem, concluindo que a adoção do índice do BVT é bastante válida, fornecendo indicações quanto à qualidade do pescado e provável período de armazenamento. Segundo alguns destes autores, os valores-limites de BVT, associados à deterioração, variam de acordo com a espécie de pescado, com a zona de pesca e com a estação do ano.

BERAQUET e LINDO (1985), revisando diversos trabalhos, mostram que fatores relacionados com o processamento (tipo de salga, processos térmicos etc.) também têm efeito sobre o teor de BVT dos pescados processados.

As alterações, que a fração lipídica pode sofrer, são normalmente estudadas e quantificadas, por meio do número de TBA, do índice de peróxido e da percentagem de ácidos graxos livres.

O número de TBA é considerado o método mais usado para acompanhar a oxidação dos lipídios de produtos cárnicos (MELTON, 1983). Fundamenta-se na formação de um complexo de coloração vermelha, resultante da condensação de dois moles do ácido 2-tiobarbitúrico com um mol de aldeído malônico, ou de seus tautômeros, originados na oxidação de lipídios (NISHIKAWA e ARANHA, 1988). Uma revisão completa sobre a química, metodologia, interferentes,

limitações e correlações, do método pode ser encontrada em HOYLAND e TAYLOR (1991).

A utilização do número de TBA, como índice de qualidade, em produtos cárnicos tem levantado muitas controvérsias. De acordo com HOYLAND e TAYLOR (1991), o número de TBA não é indicado para acompanhar a oxidação lipídica em estudos de vida-de-prateleira, em produtos, que apresentem um aumento e posterior diminuição deste valor, uma vez que este comportamento poderia levar a conclusões contraditórias. Já YU e SINHUBER (1957) confirmaram a utilidade deste índice em estudos de vida útil de alimentos, apresentando valores de referência para vários produtos, mostrando alta correlação com as avaliações organolépticas. KE et al. (1984), trabalhando com várias espécies de pescados, sugerem que valores inferiores a 8 $\mu\text{mol TBARS}^1/\text{kg}$ (0,576 mg MA²/kg) são considerados como baixa, ou nenhuma rancidez, entre 9 e 20 $\mu\text{mol TBARS}/\text{kg}$ (0,648 e 1,44 mg MA/kg), como levemente rançosos, mas ainda aceitáveis, e valores superiores a 21 $\mu\text{mol TBARS}/\text{kg}$ (1,51 mg MA/kg) consideram-se rançosos e inaceitáveis. No estudo da vida-de-prateleira de 10 espécies de pescados, MONTIEL-MONTOYA (1990) encontrou valores de TBA, entre 0,53 e 1,65 mg de malonaldeído/kg de produto, no final da vida útil, determinada por avaliação sensorial. Esta grande oscilação estaria relacionada com o teor de lipídios dos pescados analisados.

No caso da carne de rã resfriada, em razão do seu baixo teor de lipídios, outros tipos de alterações parecem estar, diretamente, envolvidos na determinação da vida-de-prateleira do produto. Assim, o número de TBA para carne de rã pode ser indicado, como uma alternativa para quantificar o grau de deterioração deste produto

A resolução nº 13/78, de 31 de março de 1978, da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos-CNNPA (ABIA, 1985), estabelece os critérios microbiológicos para carnes e pescados frescos, refrigerados ou congelados.

¹ TBARS: Substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico.

² MA: Malonaldeído.

Estes padrões diferem, ligeiramente, das diretrizes para a avaliação da qualidade de coxas de rãs, destinadas ao consumo humano, estabelecidas pela Comissão Mista FAO/OMS, do CODEX ALIMENTARIUS (s.d) no documento CX/FH/75/6. Esta diversidade mostra, claramente, a necessidade de se estabelecer um critério único para a avaliação microbiológica da carne de rã. Ainda, o CODEX ALIMENTARIUS (s.d.) faz referência unicamente às coxas de rã, como porção comestível, mas, na atualidade, existe uma tendência generalizada de se comercializar e consumir a carcaça de rã de maneira integral.

Estudando a flora microbiana da carne de rã, AZEVEDO e OLIVEIRA (1988) analisaram amostras de carne de animais recém-abatidos. Foram realizadas análises de microrganismos aeróbios mesófilos, fungos e leveduras, coliformes totais e fecais, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* coagulase positivo, clostrídios sulfito redutores e *Streptococcus*. Os resultados mostraram contagens de $1,4 \times 10^4$ UFC/g de mesófilos aeróbios, $2,7 \times 10^2$ NMP/g de coliformes e presença de *Salmonella* e clostrídios sulfito redutores, em 100 e 75% das amostras. Não foi detectada a presença de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* coagulase positivo e *Streptococcus*.

As alterações físico-químicas, microbiológicas e sensoriais que ocorrem em pescados e carnes são bastante conhecidas. No entanto, na literatura consultada não existem informações relacionadas com as transformações que ocorrem na carne de rã, durante a sua estocagem. Assim, os objetivos do presente estudo foram comparar e avaliar dois sistemas de evisceração, de forma a verificar qual dos sistemas apresenta maiores vantagens, assim como avaliar atributos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais da carne de rã, estocada sob refrigeração.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Sistemas de evisceração analisados

Cento e cinquenta animais da espécie *Rana catesbeiana*, provenientes do Ranário Experimental do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), com peso vivo entre 120 gramas e 150 gramas (alimentados com ração comercial para trutas), foram mantidos em jejum pré-abate durante 48 horas. Os animais foram abatidos no Laboratório de Processamento de Produtos Cárnicos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV.

Foram avaliados dois sistemas de evisceração, para os quais, os animais foram divididos em dois grupos de 75 animais. No primeiro sistema de evisceração, ou tradicional, a retirada da pele foi feita anterior à evisceração, enquanto, no segundo, ou alternativo, a retirada da pele era feita posterior à evisceração. Foram efetuados três abates em épocas diferentes, totalizando 450 animais. Após cada abate, as carcaças foram embaladas a vácuo, em sacos de polietileno, e estocadas sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante um período de 15 dias.

2.1.1. Etapas do sistema de abate tradicional

a. Pré-lavagem

Após o jejum obrigatório de 48 horas (para esvaziamento do trato intestinal) e o posterior transporte, desde o Ranário Experimental da UFV até o local de abate, grupos de 25 animais foram colocados, durante 5 a 10 minutos, em recipientes plásticos com capacidade para 50 litros, contendo 10 litros de água, com os objetivos de promover uma lavagem da pele e remover restos de fezes, terra e outras sujidades.

b. Lavagem com água clorada

Depois da lavagem inicial, foi feita uma segunda lavagem com água clorada (150 ppm de cloro residual livre). Esta lavagem visava à redução da carga microbiana da pele dos animais. Os animais permaneciam, entre 5 e 10 minutos, imersos em 10 litros de água clorada, dentro de uma caixa plástica, com capacidade para 50 litros, após o que se procedeu à insensibilização.

c. Insensibilização

Os animais foram suspensos, individualmente, pelas extremidades posteriores, e insensibilizados mediante choque elétrico (60 V, 60 Hz), durante sete segundos, como definido por ALBINATI (1994). A insensibilização foi individual, colocando-se um dos pólos elétricos na mandíbula e o outro em uma das extremidades posteriores de cada animal, utilizando duas “garras-jacaré”, de forma a garantir que a corrente elétrica circulasse, através do cérebro, efetuando a eletronarcolese.

d. Sangria

Foi realizada, imediatamente após a insensibilização, mediante o corte total dos vasos do tronco aórtico, com a ajuda de um bisturi cirúrgico com lâminas nº 10 ou 12. Após o corte, os animais permaneciam durante 3 a 4 minutos, sob jatos contínuos de água, com a finalidade de impedir a coagulação e o depósito do sangue na pele do animal, além de diminuir o risco de contaminação da carcaça, pelo corte realizado nesta operação.

e. Recorte da pele na cintura escapular

Com a ajuda de uma tesoura, foi feito um recorte, ao longo de toda a cintura escapular (“colarinho”). O corte iniciava e terminava na incisão, feita na sangria, passando pelas comissuras labiais, atrás dos ouvidos, objetivando facilitar a retirada da pele em etapa posterior.

Ainda, nesta etapa, eram retiradas as patas anteriores e posteriores de cada animal.

f. Retirada da pele

Os animais, suspensos pelas pernas posteriores, eram invertidos e dependurados pela cabeça, mediante ganchos, que atravessavam a mandíbula e de uma das cavidades oculares. Uma vez invertida a posição, a pele do animal era manualmente retirada, desprendendo-se-a, inicialmente, na região dos membros anteriores, continuando-se com a região torácica e abdominal e, finalmente, a pele dos membros posteriores. Todo o processo de retirada da pele foi efetuado, sob jatos de água contínuos, por ser um dos pontos críticos de contaminação da carcaça.

g. Evisceração

Uma vez retirada a pele, a carcaça foi novamente invertida e suspensa, pelos membros posteriores. Nesta posição, a cavidade torácico-abdominal foi aberta, utilizando-se tesouras para cortar a cartilagem costal e a musculatura da parede abdominal na sua linha média.

As alças abdominais foram liberadas, de forma a permitir a exposição das vísceras e da cavidade abdominal, que eram continuamente lavadas com jatos de água. Assim, as vísceras, juntamente com a cabeça, eram retiradas da carcaça pelo corte, feito na articulação dos côndilos occipitais e o atlas. Tomou-se extremo cuidado de retirar, integralmente, os ouvidos e todas as vísceras das cavidades torácica e abdominal.

h. Toaleta

Teve por finalidade a lavagem final da carcaça e o corte da cloaca. Nesta etapa, eram retirados coágulos de sangue, pedaços de pele (aderidos principalmente nas extremidades) e estruturas possivelmente danificadas, durante o processo de abate. As carcaças que apresentavam qualquer anomalia ou característica fora do normal eram retiradas do lote.

i. Pré-resfriamento

Após a limpeza e a inspeção final, as carcaças eram removidas da linha e deixadas em contato direto com gelo, escamado para promover um pré-resfriamento e retardar qualquer tipo de alteração ou proliferação microbiana, que viesse a prejudicar a qualidade da carne.

j. Acondicionamento

Cada carcaça foi individualmente embalada a vácuo (-700 mm Hg), em sacos de polietileno de 10 x 20 cm, em máquina seladora Selovac modelo CV18. Uma vez acondicionadas, as carcaças foram estocadas sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$).

2.1.2. Etapas do sistema de abate alternativo

As etapas iniciais: (a) pré-lavagem, (b) lavagem com água clorada, (c) insensibilização e (d) sangria foram comuns aos dois sistemas estudados, tendo sido descritas no item 2.1.1. A seguir, foram retiradas as patas dianteiras e traseiras, mediante corte com tesoura.

e. Evisceração

Dependurada pelos membros posteriores, a evisceração consistia em um corte, ao longo das cartilagens costais e da musculatura da parede abdominal, tomando-se o cuidado de não perfurar as vísceras. Após o corte e a abertura, as vísceras eram lavadas com jatos constantes de água, a fim de minimizar a possibilidade de contaminação microbiana da carcaça, proveniente da pele que ainda não havia sido retirada. A etapa seguinte foi o corte da cabeça e a remoção das vísceras, feita da mesma maneira e tomando-se os mesmos cuidados que no processo tradicional.

f. Retirada da pele

Como anteriormente descrito, a pele da região anterior da carcaça (membros anteriores) era desprendida, inicialmente, para facilitar a sua retirada da região dorsotorácica, abdômen e extremidades posteriores.

As etapas seguintes: (h) toaleta, (i) pré-resfriamento, e (j) acondicionamento foram desenvolvidas, seguindo-se a metodologia descrita para o processo tradicional.

Tanto no processo de evisceração tradicional quanto no alternativo, os operadores da linha utilizaram luvas de borracha. Para as etapas de evisceração, empregaram-se luvas cirúrgicas para aumentar a eficiência desta operação, em virtude do melhor contato do operador com as vísceras, e evitar o risco de perfuração das mesmas e contaminação da carcaça em cada uma destas etapas.

Identicamente para os sistemas tradicional e alternativo, as luvas, tesouras e outros utensílios, que estavam em contato direto com as carcaças em qualquer etapa do processo, foram periodicamente sanificadas, mediante a imersão em solução de 200 ppm de cloro livre.

O fluxograma, apresentado na Figura 1, mostra os dois processos utilizados no abate.

2.2. Análises microbiológicas, físico-químicas e sensorial

As carcaças provenientes dos dois sistemas de evisceração, anteriormente descritos, foram analisadas com 0, 2, 4, 7, 10 e 15 dias de estocagem, realizando-se, simultaneamente, as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais, descritas a seguir. Em cada dia de análise, foram utilizadas três, quatro e cinco carcaças para as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais, respectivamente, provenientes de cada tipo de evisceração.

2.2.1. Análises microbiológicas

Foram realizadas análises de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos (contagem-padrão em placa), microrganismos psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos, fungos e leveduras, coliformes totais e fecais (mediante a técnica do número mais provável).

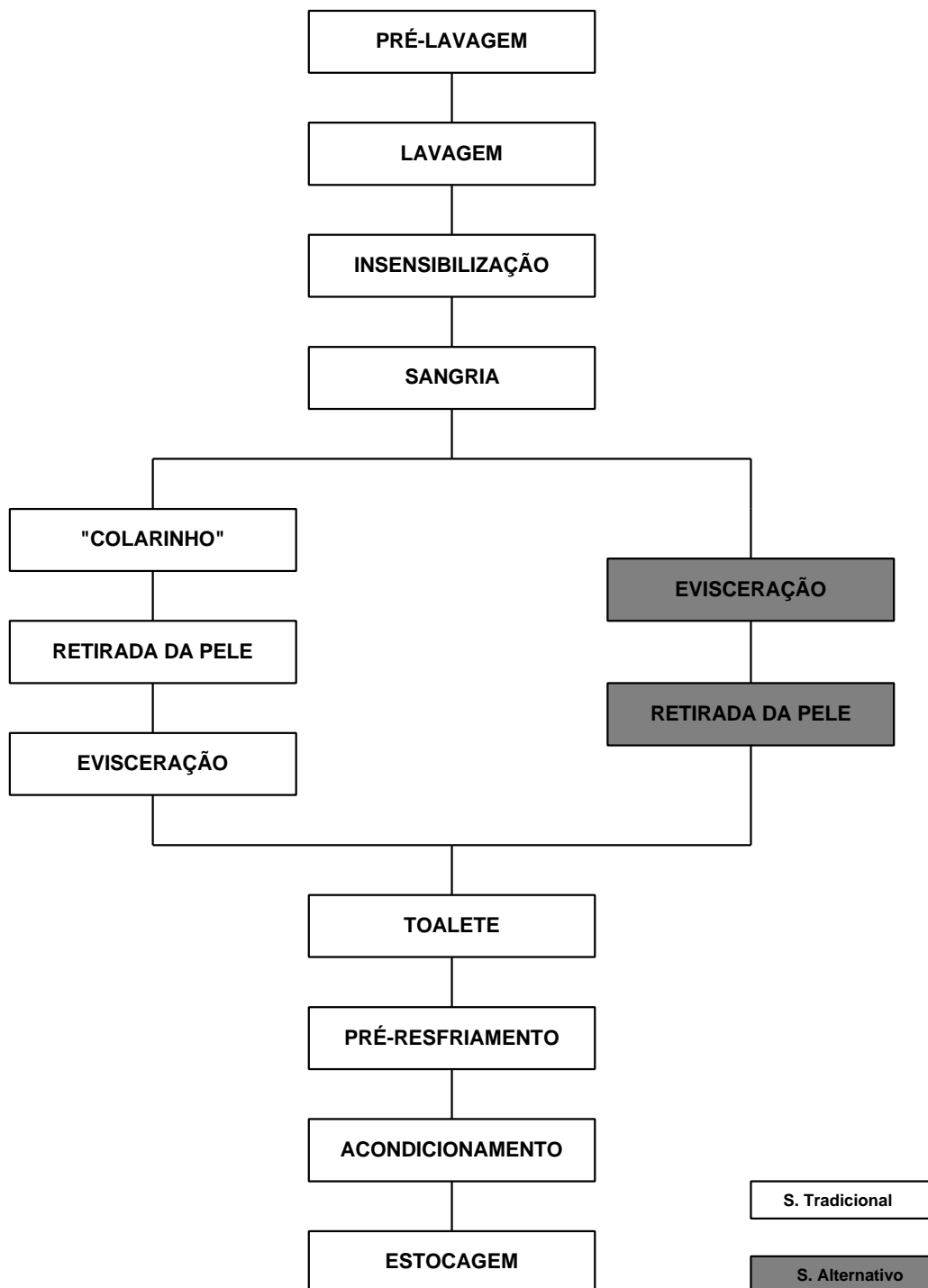


Figura 1 - Fluxograma dos sistemas tradicional e alternativo para abate de rãs.

Foram retiradas assepticamente 25 gramas de carne, provenientes das coxas e da musculatura ventral da carcaça, as quais foram homogeneizadas, durante 60 segundos com 225 ml de água peptonada 0,1%, em liquidificador doméstico esterilizado. A partir desta diluição (10^{-1}), foram preparadas as diluições sucessivas (até 10^{-5}) para as análises microbiológicas.

O número de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos e de microrganismos psicrotróficos foi determinado, utilizando-se placas de ágar PCA como meio de crescimento, incubadas a 35°C/48 horas e 7°C/8 dias, respectivamente (BRASIL, 1993).

Caldo lauril sulfato triptose foi utilizado para o teste presuntivo de coliformes, incubando-se séries de três tubos a 37°C/48 horas. Os tubos positivos para a produção de gás foram confirmados em caldo verde brilhante lactose 2%, incubado por igual período de tempo. O número mais provável de coliformes totais foi calculado, de acordo com a tabela descrita em APHA (1984).

O número mais provável de coliformes fecais foi determinado, após a repicagem e a incubação em caldo EC ($44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ /48 horas) dos tubos, que apresentaram resultado positivo no teste presuntivo de coliformes totais. O cálculo do número mais provável de coliformes fecais foi feito com base na tabela, apresentada em APHA (1984), considerando-se a presença de gás no caldo, como resultado positivo para coliformes fecais.

Para a contagem de fungos e leveduras foi utilizado o ágar batata dextrose, incubado a 25°C, durante quatro dias, previamente acidificado com solução 10% de ácido tartárico estéril (BRASIL, 1993).

2.2.2. Análises físico-químicas

As amostras foram preparadas pela retirada de porções da musculatura dos membros posteriores e da musculatura da região abdominal das carcaças, sendo trituradas em liquidificador doméstico até à formação de uma massa homogênea.

As análises físico-químicas efetuadas foram pH, bases voláteis totais (BVT), número de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) e nitrogênio não-protéico (NNP).

O pH foi medido em um potenciômetro marca WL BRASIL modelo 3002, como descrito por GOMIDE (1992). Duas gramas da massa de carne, obtidas como descrito anteriormente, foram homogeneizadas com 10 ml de tampão cloreto-iodoacetato (5 mM de iodoacetato de sódio e 150 mM de cloreto de potássio), em um homogeneizador tipo Ultra-Turrax marca Marconi modelo MA-102 até à trituração completa da amostra. A solução obtida foi utilizada para a determinação do pH.

Para análise de BVT, foi seguida a técnica modificada de KUAYE (1982). Três gramas da massa homogeneizada de carne de rã, obtidas como descrito anteriormente, foram homogeneizadas com, aproximadamente, 20 ml de água, até à trituração completa da amostra, adicionando-se 1 a 2 gramas de óxido de magnésio (elevando o pH até cerca de 9,8) e algumas gotas de antiespumante (“Antifoam A” - SIGMA), destiladas por arraste de vapor em um destilador micro-Kjeldahl. O destilado foi coletado em Erlenmeyer de 250 ml, contendo 25 ml de solução 4% de ácido bórico com indicador misto de Tashiro, coletando-se 125 ml de destilado, i.e., até um volume final de 150 ml no frasco coletor. O destilado foi titulado com solução 0,01 N de HCl e o resultado expresso em mg de N por 100 g de amostra, conforme a seguinte fórmula:

$$\text{BVT}(\text{mgN} / 100 \text{ g}) = \frac{14 * v * f}{p}$$

em que

BVT(mgN/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 gastos na titulação;

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

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

O número de TBA foi determinado, de acordo com a metodologia descrita por TARLADGIS et al. (1960), com leitura a 530 nm em espectrofotômetro marca Micronal modelo 342II. O valor da absorvância foi multiplicado por 7,8 e o resultado, expresso em mg de malonaldeído por kg de amostra.

Para a determinação de NNP, foi utilizada a técnica, descrita por CRESPO (1990). Para isto, $8,5 \pm 0,5$ gramas da massa de carne foram homogeneizadas com 45 ml de água destilada, em um homogeneizador tipo Ultra-Turrax marca Marconi modelo MA-102 até à trituração completa da amostra. Após repouso de 15 minutos (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. 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), destiladas e tituladas com solução 0,01 N de HCl, de acordo com o método Kjeldahl, expressando-se o resultado em mg de N por 100 g de amostra, como descrito anteriormente para BVT.

2.2.3. Análise sensorial

Limosidade, textura, odor, brilho e cor foram avaliados por uma equipe de nove provadores treinados, utilizando-se uma escala não-estruturada para cada atributo. O painel analisou as carcaças com 0, 2, 4, 7, 10 e 15 dias de estocagem.

Os provadores foram pré-selecionados da população e treinados, durante várias sessões em que, carcaças de rã eram apresentadas e analisadas, mediante testes à cega, juntamente pelo painel e pelo líder da equipe para cada um dos atributos citados. Os provadores que apresentaram escores mais consistentes, ao longo do treinamento, foram selecionados, passando a fazer parte do painel sensorial.

A escala utilizada consistia em uma linha horizontal, sem pontos marcados, com 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. 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, 1993).

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 Figura 2 mostra a ficha, utilizada pela equipe de provadores para a avaliação sensorial.

As amostras consistiram em uma carcaça de rã, embalada em saco de polietileno, escolhida ao acaso do lote, codificada e apresentada individualmente.

A limosidade foi definida como a sensação tátil, produzida pela presença de muco (limo) na superfície da carcaça. Uma vez que esta substância é característica de elevado grau de deterioração, sua presença foi considerada indesejável, recebendo notas acima da metade da escala.

A textura normal da carne das carcaças de rã foi considerada como aquela que, a carne mediante uma leve pressão, exercida pelos dedos, apresentasse elasticidade suficiente, de forma a permitir que, após retirada a pressão aplicada, voltasse à sua forma original. Carne com esta característica foi considerada como carne de rã, proveniente de carcaças recentemente abatidas (“fresca”) recebendo escores próximos à metade da escala. A textura flácida (valores inferiores à metade da escala) foi considerada, quando submetida à pressão, a carne não voltava à sua forma original. Da mesma forma, a carne foi considerada ressecada (valores superiores à metade da escala), quando, por problemas de sublimação principalmente, apresentava-se mais “seca, fibrosa ou lenhosa”.

Foi considerado como odor característico da carne de rã aquele apresentado pela carne de rã fresca, com um leve odor de pescado fresco. Odores de pescado muito intensos foram considerados não-característicos, assim como qualquer odor pútrido ou desagradável.

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CARÇA DE RÃ

NOME: _____

DATA: _____ **AMOSTRA:** _____

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

LIMOSIDADE

_____ | _____ | _____
Ausência Presença

TEXTURA

_____ | _____ | _____
Flácida Ressecada

ODOR

_____ | _____ | _____
Característico Não-característico

BRILHO

_____ | _____ | _____
Presença Ausência

COR

_____ | _____ | _____
Característico Não-característico

OBSERVAÇÕES: _____

Figura 2 - Modelo da ficha utilizada para avaliação sensorial de carne de rã, refrigerada e congelada.

A presença de brilho foi relacionada com a superfície da carne lisa e brilhante, que mostrasse uma reflexão intensa de raios luminosos, característica da carne fresca.

A cor característica da carne de rã foi considerada como esbranquiçada, ou levemente rosada, uniforme e sem manchas escuras. A presença de coágulos na superfície da carcaça não foi considerada como defeito, uma vez que era proveniente das etapas do abate, principalmente da insensibilização, e não do processo deteriorativo da própria carcaça.

2.3. Delineamento do experimento

O experimento foi conduzido, segundo delineamento em parcelas subdivididas, com método de evisceração nas parcelas (em dois níveis) e tempo de estocagem nas subparcelas (em seis níveis), com três repetições, de acordo com o seguinte modelo matemático:

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

em que

Y_{ijk} = valor observado do i -ésimo sistema de evisceração da j -ésima repetição, após o k -ésimo tempo de estocagem;

$###$ = média geral;

E_i = efeito do i -ésimo sistema de evisceração;

e_{ij} = erro associado à j -ésima repetição do i -ésimo sistema de evisceração;

T_k = efeito do tempo de estocagem k ;

$(ET)_{ik}$ = efeito da interação do i -ésimo do sistema de evisceração no k -ésimo tempo de estocagem; e

e_{ijk} = erro associado à j -ésima repetição do i -ésimo sistema de evisceração no k -ésimo tempo de estocagem.

Em cada tempo, foram realizadas análises físico-químicas (pH, BVT, NNP e TBA) e microbiológicas (microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos, psicrotróficos, fungos e leveduras, NMP de coliformes totais e fecais).

Para a avaliação sensorial, o experimento foi conduzido, segundo delineamento em parcelas subdivididas com nove provadores e dois métodos de evisceração nas parcelas e tempo de estocagem (em seis níveis) nas subparcelas, de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + P_j + (EP)_{ij} + T_k + (ET)_{ik} + e_{ijk}$$

em que

Y_{ijk} = valor observado do i-ésimo sistema de evisceração do j-ésimo provador, após o k-ésimo tempo de estocagem;

= média geral;

E_i = efeito do i-ésimo sistema de evisceração;

P_j = efeito do j-ésimo provador;

$(EP)_{ij}$ = erro associado ao i-ésimo sistema de evisceração do j-ésimo provador;

T_k : efeito do k- tempo de estocagem;

$(ET)_{ik}$ = efeito da interação do i-ésimo do sistema de evisceração no k-ésimo tempo de estocagem; e

e_{ijk} = erro associado ao j-ésimo provador do i-ésimo sistema de evisceração no k-ésimo tempo de estocagem.

Neste modelo, assumiu-se que os efeitos das interações provador*tempo e tratamento*provador*tempo eram negligíveis e foram agrupados com o erro experimental (CHAVES, s.d.)

As Análises Estatísticas (Análise de Variância e Análise de Regressão) foram feitas, utilizando-se o programa SAS System for Windows, versão 6.10.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análises microbiológicas

O Quadro 1 mostra o resumo da Análise de Variância e da Regressão das contagens de microrganismos mesófilos, psicrotróficos, fungos e leveduras, em função do tipo de evisceração e do tempo de estocagem. Não foi detectada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os dois sistemas de evisceração para as contagens de nenhum destes microrganismos, mostrando que os sistemas de abate estudados não influenciam na microflora da carne de rã.

A Figura 3 mostra a variação das contagens de mesófilos, psicrotróficos, de fungos e leveduras.

O limite máximo de mesófilos (5×10^5 UFC/g), sugerido pelo CODEX ALIMENTARIUS (1984) para coxas de rãs, foi atingido após oito dias de estocagem (Figura 3). No entanto, segundo a Resolução N^o 13/78 da CNNPA (ABIA, 1985), o limite máximo para pescados e carnes frescos resfriados é de, respectivamente, 10^6 UFC/g e de 3×10^6 UFC/g, valores que foram atingidos depois de nove dias de refrigeração.

Quadro 1 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do log de UFC/g dos microrganismos mesófilos, psicrotróficos, de fungos e leveduras, encontrados na carne de rã estocada sob refrigeração (4±1°C)

Fontes de Variação	GL	QM _{MESOF}	QM _{PSICRO}	QM _{FUG/LEV}
Evisceração (Evis)	1	0,0022ns	0,0136ns	0,5088ns
Erro a	4	0,4812	1,4658	1,6059
(Tempo)	(5)	(12,8515)	(18,5523)	(5,7873)
Regressão	1	60,7034*	88,0157*	27,2310*
Desvio da Regressão	4	0,8885ns	1,1864ns	0,4264ns
Evis x Tempo	5	0,2496ns	0,1130ns	0,4595ns
Erro b	20	0,4620	0,5795	0,4435

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

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

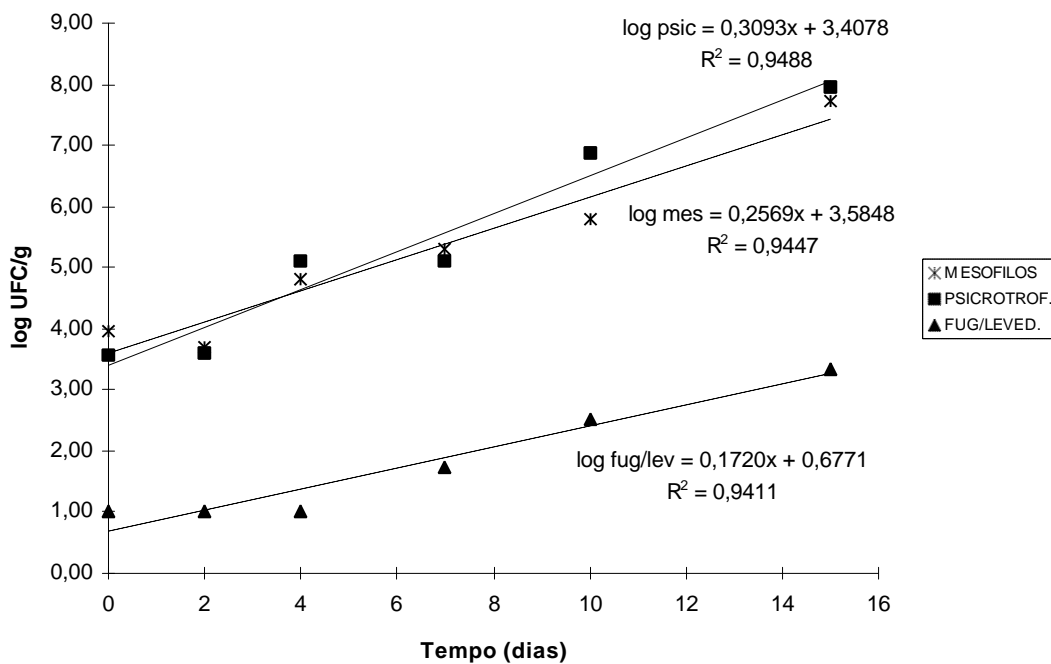


Figura 3 - Variação das contagens de mesófilos aeróbios, psicrotróficos, fungos e leveduras da carne de rã, estocada sob refrigeração (4±1°C).

O logarítmo das contagens de psicotróficos aumentaram linearmente (Figura 3), atingindo valores (log UFC/g) superiores a 6,0 no oitavo dia de refrigeração.

Embora não exista nenhuma recomendação legal para se utilizar o número de microrganismos psicotróficos, como índice de qualidade, este mostrou-se altamente útil e também poderia ser amplamente utilizado com esta finalidade. A sua utilidade como indicador de vida-de-prateleira reside no fato de ser o tipo de microrganismo que melhor se desenvolve à temperatura de estocagem, sob refrigeração, da carne de rã, e dos produtos cárnicos em geral, o que foi verificado pelo rápido desenvolvimento que apresentaram, ultrapassando as contagens de mesófilos, após o terceiro dia de estocagem.

Ainda, como pode ser verificado na Figura 3, em virtude do rápido crescimento apresentado pela microflora psicotrófica, ela é a primeira a atingir as contagens, sugeridas por JUDGE et al. (1989) e por Ayres, citado por JAY (1986), nas quais seriam perceptíveis odores desagradáveis e limosidade superficial em carnes e derivados.

Ademais, KAI e MORAIS (1988) alertam para o fato de que a grande maioria destes microrganismos apresenta atividade proteolítica e lipolítica, contribuindo para a desintegração dos tecidos, levando a uma série de reações bioquímicas indesejáveis, provocando a total decomposição do pescado. De acordo com Lima dos Santos, citado por LEITÃO (1988), as bactérias gram-negativas predominam (aproximadamente, 60% da flora bacteriana) em pescados de origem fluvial, destacando-se os gêneros *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, a maioria psicotróficos. O mesmo autor sugere que, em peixes lacustres, *Aeromonas* e *Acinetobacter* representam mais de 75% da flora bacteriana (49,5 e 26,2%, respectivamente).

As baixas contagens de fungos e leveduras seriam devidas ao acentuado crescimento de bactérias (mesófilas e psicotróficas) que, em condições semelhantes, encontram melhores condições de desenvolvimento na carne do que fungos e leveduras (JUDGE et al., 1989). Ademais, as carcaças de rãs foram estocadas a vácuo, gerando um ambiente de anaerobiose, o que desfavorece o crescimento de fungos e leveduras, que são, predominantemente, aeróbicos

(JUDGE et al., 1989), e favorecendo o desenvolvimento de bactérias anaeróbicas estritas e facultativas.

De acordo com as características, apresentadas pelas colônias no ágar batata dextrose, as leveduras foram predominantes sobre os fungos.

O sistema de evisceração tradicional (retirada da pele anterior à evisceração) resultou em maior contaminação de coliformes totais e fecais, ao longo do tempo de estocagem da carne de rã (Quadro 2).

Quadro 2 - Número mais provável (NMP/g) de coliformes totais e fecais de carne de rã-touro eviscerada pelos métodos tradicional (ET) e alternativo (EA) e estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)

Tempo (dias)	Coliformes totais		Coliformes fecais	
	ET	EA	EA	ET
0	500	30	197	30
2	375	70	67	67
4	1.083	157	300	30
7	1.100	1.033	30	<1
10	310	157	30	<1
15	667	900	30	133

A contagem superior, apresentada pelo sistema tradicional, pode ser devida a diferenças observadas nos sistemas de evisceração utilizados. Foi notado que, no sistema tradicional, a retirada da pele do animal exercia uma certa pressão na região abdominal da carcaça, o que poderia provocar o extravasamento do conteúdo intestinal, com conseqüente contaminação das carcaças por material fecal. Associado a isto, no sistema tradicional, a carcaça, uma vez desprovida da pele, fica mais exposta à contaminação proveniente dos manipuladores, dos utensílios, da água etc. e, principalmente, à contaminação proveniente de vísceras. Após a retirada da pele, no sistema tradicional, a superfície da carne que, pode ser atingida pelos microrganismos, é praticamente duplicada, se comparada com o método alternativo.

A Portaria nº 13/78 da CNNPA (ABIA, 1985) estabelece limites para coliformes de origem fecal para pescados (10^2 UFC/g) e carnes (3×10^2 UFC/g) crus, frescos, refrigerados ou congelados. Com base nestes limites, a carne de rã não ultrapassou o padrão estabelecido para carnes. Porém, em se considerando o padrão corresponde a pescados, em que se incluem as rãs (artigo 438 do RIISPOA), os limites já foram ultrapassados pelas carcaças de rã, evisceradas pelo método tradicional no tempo zero, enquanto as carcaças, evisceradas pelo método alternativo, só ultrapassaram estes padrões no décimo quinto dia de estocagem.

3.2. Análises físico-químicas

O Quadro 3 mostra o resumo da Análise de Variância e da Regressão do pH da carne de rã, em função do tipo de evisceração e do tempo de estocagem. Nota-se que o efeito do tipo de evisceração não foi significativo ($P > 0,05$). Este resultado era esperado, uma vez que a queda de pH muscular *post-mortem* depende apenas de fatores que afetam os teores de glicogênio e oxigênio residual da carne, nenhum dos quais é influenciado pelo sistema de evisceração. A única maneira, pela qual o tipo de evisceração poderia ter alguma influência sobre o pH da carne, seria indireta, por meio de uma diferença na contaminação das carcaças, o que, como mostrado no Quadro 1, não ocorreu.

O pH, encontrado no tempo zero (5,79), pode ser considerado como o pH final da carne de rã, em razão das características do músculo de rã, de possuir fibras predominantemente brancas, e pelo tempo transcorrido, entre a determinação do pH e o abate (6 horas, aproximadamente).

AZEVEDO e OLIVEIRA (1988), estudando a composição e as propriedades nutricionais da carne de rã-touro recém-abatida, encontraram um pH de 6,25. Os autores, entretanto, não informaram o tempo transcorrido entre a determinação e o abate. Esta diferença com respeito ao pH, encontrado no presente estudo, pode ser devida ao espaço de tempo entre o abate do animal e a determinação do pH, assim como, também, à idade e ao peso dos animais estudados, e ao período de jejum pré-abate.

Quadro 3 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do pH de carne de rã, estocada sob refrigeração (4±1°C)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	0,0000ns
Erro a	4	0,0655
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>		
(Tempo)	(5)	(0,0372)
Regressão	2	0,0861*
Desvio da Regressão	3	0,0046ns
Evis x Tempo	5	0,0117ns
Erro b	20	0,0086

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

ns Não-Significativo em 5% de probabilidade (P>0,05).

A evolução dos valores de pH, ao longo da estocagem sob refrigeração (Figura 4), mostra um aumento inicial (P<0,05) até ao 10^o dia de estocagem, aproximadamente, e diminuição entre o 10^o e o 15^o dia. O aumento inicial pode ser devido ao acúmulo de bases nitrogenadas, produzidas pela hidrólise bacteriana de compostos nitrogenados da carne e, em menor grau, à autólise, conduzindo a um aumento do pH (BERAQUET e LINDO, 1985; CONTRERAS, 1994 e SIKORSKI, 1994b). A queda do pH entre o 10^o e 15^o dia poderia ser devida ao desenvolvimento de bactérias lácticas e a produtos da lipólise (ácidos graxos livres), provocada por microrganismos psicotróficos. O desenvolvimento de bactérias lácticas foi comprovado, mediante a redução do púrpura de bromocressol em placas de ágar APT e PCA, realizado no 15^o dia de estocagem. De acordo com Shelef, citado por KRAFT (1986), alguns tipos de bactérias produtoras de ácido láctico podem inibir o desenvolvimento de bactérias gram-negativas, causadoras de deterioração, com conseqüente aumento de pH em produtos cárnicos mantidos sob refrigeração, concordando com DUBOIS et al. (1979), que estudaram o efeito inibidor de algumas estirpes de Streptococcaceae e Lactobacillaceae sobre bactérias gram-negativas dos gêneros *Serratia*, *Enterobacter* e *Pseudomonas*, isoladas de carne.

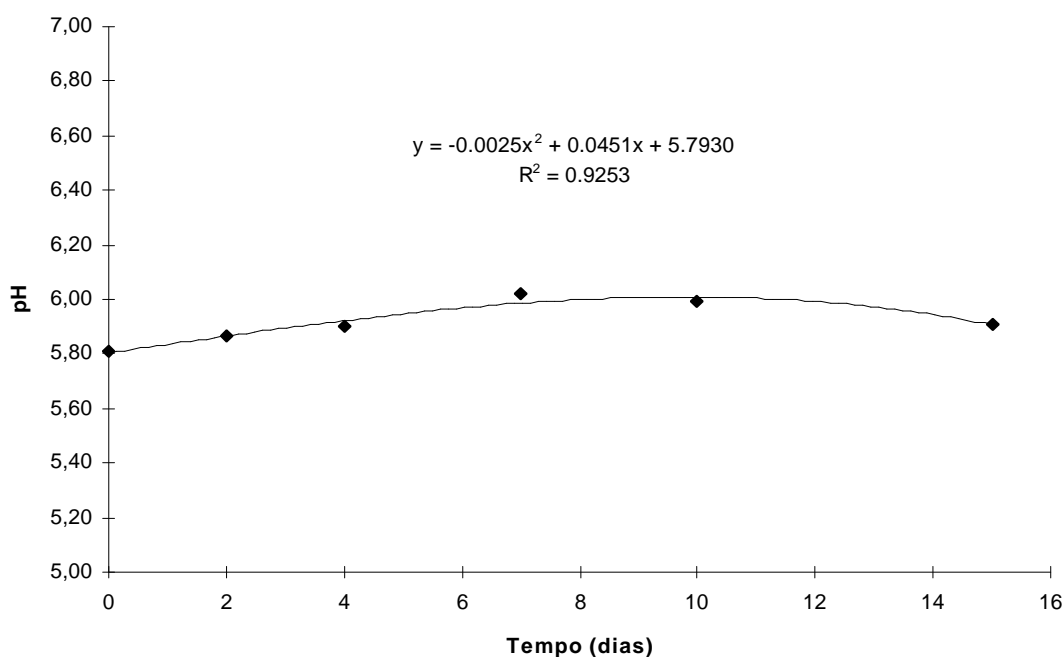


Figura 4 - Variação do pH da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$).

Também é possível que a ação lipolítica de várias estirpes de bactérias psicrotróficas tenha provocado um aumento de ácidos graxos livres, com uma conseqüente diminuição de pH, após o 10^o dia de estocagem. De acordo com ALFORD (1960) e ALFORD e PIERCE (1963), bactérias dos gêneros *Pseudomonas* e *Achromobacter* têm mostrado maior atividade lipolítica, quando incubadas a temperaturas de 5, 15 e 20°C do que a temperaturas de 31 a 37°C.

Outra possibilidade para esta queda de pH, após o 10^o dia de estocagem, é a presença de um exudado leitoso na embalagem (percebida nos últimos dias de estocagem), o que poderia ter ocasionado perda de peptídios e proteínas solúveis, assim como substâncias nitrogenadas solúveis de baixo peso molecular, responsáveis por grande parte do poder tamponante da carne, e pelo aumento de pH, respectivamente, provocando como conseqüência uma diminuição do pH.

Embora estatisticamente tenha existido uma variação do pH, do ponto de vista prático os valores podem ser considerados constantes, uma vez que uma diferença de 0,2 unidade de pH, como encontrado na rã, teria pouca ou nenhuma influência tecnológica no produto final.

Os limites de pH de 6,5 e 6,8, estipulados pelo RIISPOA (BRASIL, 1980) para pescado fresco nas regiões interna e externa da carne, respectivamente, não são apropriados na determinação da qualidade da carne de rã, resfriada e embalada a vácuo, já que a carne jamais alcançou estes valores, mesmo quando já eram evidentes os sinais da sua deterioração. Além disso, a Figura 4 mostra que o pH não apresenta uma variação uniforme, inicialmente aumentando com o tempo, atingindo um valor máximo, e, posteriormente, decrescendo. Este tipo de comportamento torna impossível se saber, com base na simples determinação do pH, se o produto está apto para consumo ou não. Sugerem-se novos estudos a este respeito para o estabelecimento de padrões de pH, como índices de qualidade e frescor da carne de rã.

Os resultados, apresentados no Quadro 4, mostram que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos teores de NNP, entre os dois sistemas de evisceração. Este resultado era esperado uma vez que, segundo BERAQUET e LINDO (1985) e SIKORSKI et al. (1994a), as variações no teor de NNP em carnes devem-se à ação de enzimas endógenas, ou de origem microbiana. Não é de se esperar que o sistema de evisceração tenha influência na atividade de enzimas endógenas, e os resultados das análises microbiológicas (Quadro 1) mostraram que o tipo de evisceração não afetou a contaminação da carcaça.

Quadro 4 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do NNP de carne de rã, estocada sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	1039,8475ns
Erro a	4	200,0944
(Tempo)	(5)	(1625,1209)
Regressão	3	2188,4891*
Desvio da Regressão	2	780,0686ns
Evis x Tempo	5	78,2454ns
Erro b	20	375,2898

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

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

Pela Figura 5, pode-se notar que o NNP diminuiu até ao décimo dia, aumentando posteriormente até atingir níveis próximos àqueles do tempo zero, no 15º dia de estocagem, indicando um consumo inicial dos compostos nitrogenados de baixo peso molecular pela flora bacteriana existente, antes de se ter início uma proteólise elevada. Apenas quando os compostos nitrogenados existentes são insuficientes para satisfazer as exigências nutricionais, os microrganismos iniciarão a degradação de proteínas, a fim de suprir suas necessidades energéticas. Isto está de acordo com BERAQUET e LINDO (1985), segundo os quais o melhor substrato para as bactérias contaminantes é proporcionado pelos produtos resultantes da autólise, e, somente nos estádios intermediários e finais do processo de deterioração, ocorre a degradação de proteínas pela ação bacteriana. Neste período, ocorrerá um aumento do teor de substâncias nitrogenadas não-protéicas.

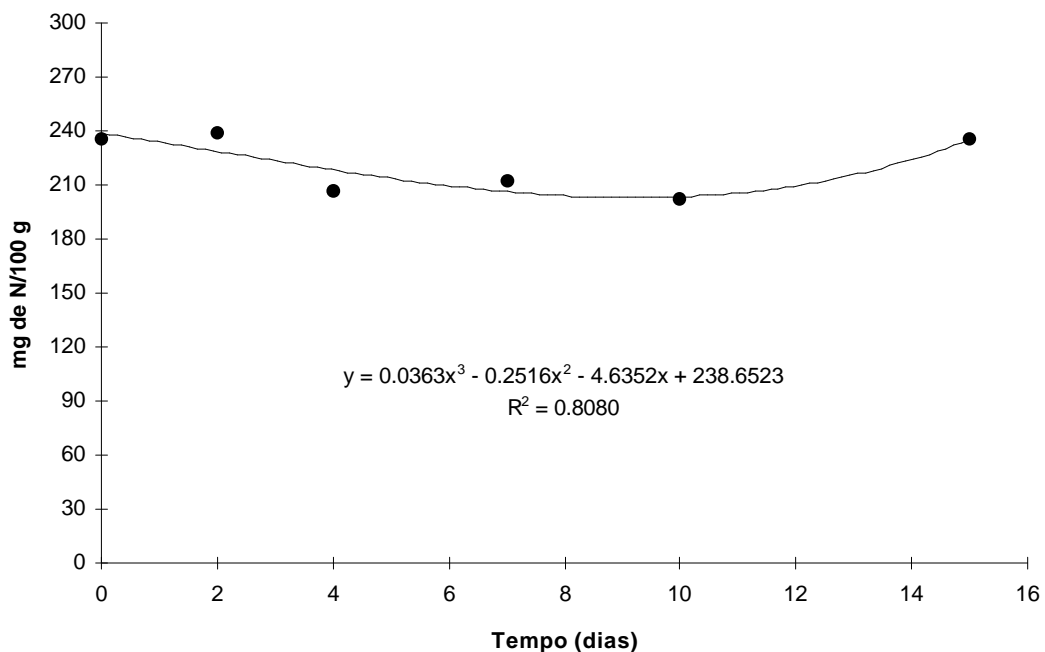


Figura 5 - Variação do nitrogênio não-protéico (NNP) da carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$).

CONTRERAS (1994) descreve teores de NNP de 210, 253, 327, 330, 332 e 343 mg de N% para mandi, corimbatá, pacu, carpa, tambaqui e tilápia frescos, respectivamente, espécies de pescado de água doce brasileiras, coletadas em diferentes épocas do ano. QUEIROZ et al. (1991) encontraram valores entre 220 e 290 mg/100 g de NNP para amostras de pescado estocadas sob gelo durante oito dias, apresentando um comportamento similar ao registrado pela carne de rã (decréscimo inicial e aumento posterior), no presente estudo. Estes resultados são coerentes com o teor de NNP encontrado no presente estudo (de 200 a 250 mg de N/100 g de amostra).

O Quadro 5 mostra que não houve diferença significativa ($P>0,05$), entre os métodos de evisceração para o teor de bases voláteis totais (BVT). Uma vez que não houve diferença de contaminação (Quadro 1) entre os tipos de evisceração, estes resultados eram de se esperar, já que não é provável que o tipo de evisceração venha a influenciar o teor, ou a atividade de enzimas endógenas da carne.

Quadro 5 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do teor de BVT de carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	28,3734ns
Erro a	4	24,4280
(Tempo)	(5)	(161,0218)
Regressão	1	771,0036*
Desvio da Regressão	4	8,5264ns
Evis x Tempo	5	1,3978ns
Erro b	20	1,6195

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

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

As BVT mostraram-se um bom índice químico para avaliar o frescor da carne de rã, já que apresentaram um aumento permanente no tempo (Figura 6), denotando a deterioração da carne de rã, durante a estocagem sob refrigeração. Este comportamento mostra o consumo constante de fontes nitrogenadas de baixo peso molecular, no início da estocagem (diminuição do NNP) e posterior utilização de compostos da degradação protéica, originários da atividade enzimática bacteriana na fase final.

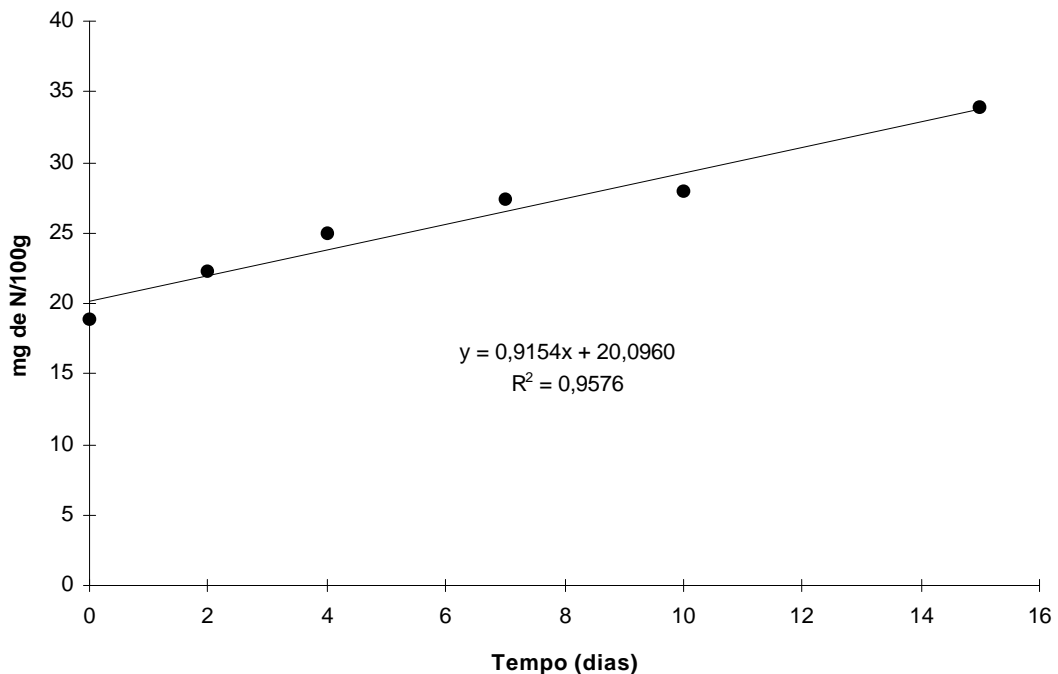


Figura 6 - Variação das bases voláteis totais (BVT) da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$).

De acordo com BERAQUET e LINDO (1985), teores de BVT entre 35 e 40 mg de N/100 g são normalmente considerados como limites, acima dos quais o peixe refrigerado estaria deteriorado para consumo humano. Porém, Netto, citado por CONTRERAS (1994), mostrou que nos peixes de água doce, as BVT variam pouco e de maneira errática, não atingindo o valor de 30 mg/100 g, apesar

de terem sido rejeitadas sensorialmente. Portanto, segundo ele, este teste não seria recomendável para avaliação do frescor de peixes de água doce.

O artigo 443 do RIISPOA (BRASIL, 1980) estabelece 30 mg de N/100 g, como limite de BVT para pescados, determinado pelo processo de microdifusão. Apesar de o método, utilizado no presente trabalho, não ter sido aquele estipulado pela legislação, os resultados do presente estudo mostraram que este limite foi atingido por volta do 10^o dia de estocagem.

O Quadro 6 mostra que a oxidação foi igual ($P > 0,05$) para as dois sistemas de evisceração. Este resultado era esperado, uma vez que o tipo de evisceração não afeta o teor, ou tipo de lipídio presente na carne de rã, bem como não leva ao aumento de catalisadores da reação de oxidação, o que apenas seria de se esperar, caso houvesse uma diferença, entre elas, quanto à contaminação microbiana, o que não ocorreu (Quadro1).

Quadro 6 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do número de TBA para carne de rã, estocada sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	0,0003ns
Erro a	4	0,0179

(Tempo)	(5)	(0,0436)
Regressão	3	0,1050*
Desvio da Regressão	2	0,0027ns
Evis x Tempo	5	0,0061ns
Erro b	20	0,0036

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

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

Embora a variação ($P < 0,05$) no número de TBA tenha sido uniforme (Figura 7), a sua utilização para a determinação do frescor de carnes de rãs é questionável, uma vez que, mesmo após 15 dias de estocagem, quando já se apresentava fora dos padrões microbiológicos, a carne de rã apresentava números

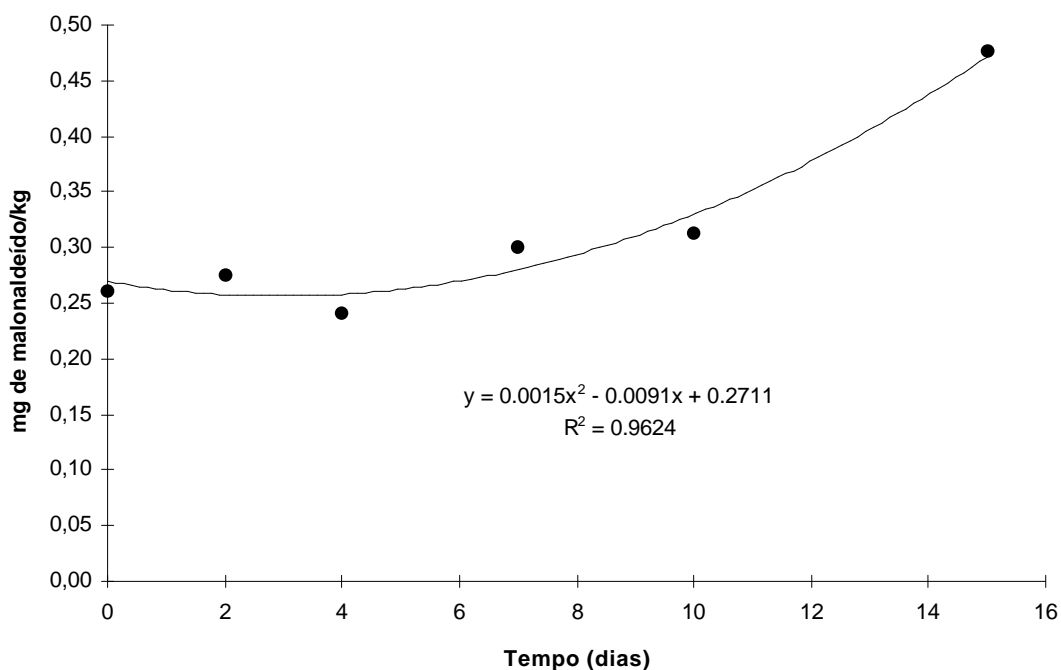


Figura 7 - Variação do número de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$).

de TBA inferiores aos limiares de percepção sugeridos por KE et al. (1984) e por CONNELL (1975) em pescados. Este resultado não é de se estranhar tendo em vista o baixo teor de lipídios da carne de rã (AZEVEDO e OLIVEIRA, 1988 e LINDAU e NOLL, 1988).

Segundo BERAQUET e LINDO (1985), no pescado fresco estocado em gelo, a oxidação não é considerada importante, porque o agente mais expressivo de deterioração é a ação microbiana e, assim, antes que os odores e sabores a ranço tornem-se dominantes, o peixe já está deteriorado. Este critério é coincidente com SIKORSKI et al. (1994a), que afirmam que o ranço torna-se imperceptível com a decomposição bacteriana, ao ponto de painéis sensoriais treinados serem incapazes de detectar sabores e odores rancificados, quando o produto é estocado sob refrigeração.

3.3. Análise sensorial

Os Quadros de 7 a 11 mostram o resumo da Análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais, em função do tipo de evisceração e do tempo de estocagem. Os resultados mostram que o painel de provadores não detectou diferença significativa ($P > 0,05$) entre os dois sistemas de evisceração para nenhum dos atributos, os quais variaram ($P < 0,05$) com o tempo.

Quadro 7 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para odor, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Provador	8	6,9265
Evisceração (Evis)	1	0,1008ns
Erro a	8	0,4085
(Tempo)	(5)	(172,3593)
Regressão	2	424,3791*
Desvio da Regressão	3	4,3461ns
Evis x Tempo	5	0,7446ns
Erro b	80	3,08157

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

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

Quadro 8 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para textura, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Provador	8	13,5746
Evisceração (Evis)	1	1,0015ns
Erro a	8	1,3261
(Tempo)	(5)	(12,5700)
Regressão	1	58,5813*
Desvio da Regressão	4	1,0672ns
Evis x Tempo	4	0,3868ns
Erro b	80	1,2518

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

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

Quadro 9 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para limosidade, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)

FV	GL	QM
Provador	8	3,6559
Evisceração (Evis)	1	0,1268ns
Erro a	8	0,2953

(Tempo)	(5)	(14,8496)
Regressão	2	35,1370*
Desvio da Regressão	3	1,3247ns
Evis x Tempo	5	0,2728ns
Erro b	80	0,7669

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

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

Quadro 10 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para cor, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)

FV	GL	QM
Provador	8	14,7805
Evisceração (Evis)	1	1,7633ns
Erro a	8	1,0329

(Tempo)	(5)	(43,4778)
Regressão	2	107,6015*
Desvio da Regressão	3	0,7285ns
Evis x Tempo	5	4,1591ns
Erro b	80	3,8487

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

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

Quadro 11 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos escores sensoriais para brilho, atribuídos à carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^\circ\text{C}$)

	FV	GL	QM
Provador		8	7,1459
Evisceração (Evis)		1	0,0334ns
Erro a		8	1,3101

(Tempo)		(5)	(10,4414)
Regressão		2	24,9612*
Desvio da Regressão		3	0,7616ns
Evis x Tempo		5	1,5730ns
Erro b		80	1,3218

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

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

A Figura 8 mostra a evolução dos escores dos atributos sensoriais e o Quadro 12, os seus respectivos modelos, ajustados com os coeficientes de determinação.

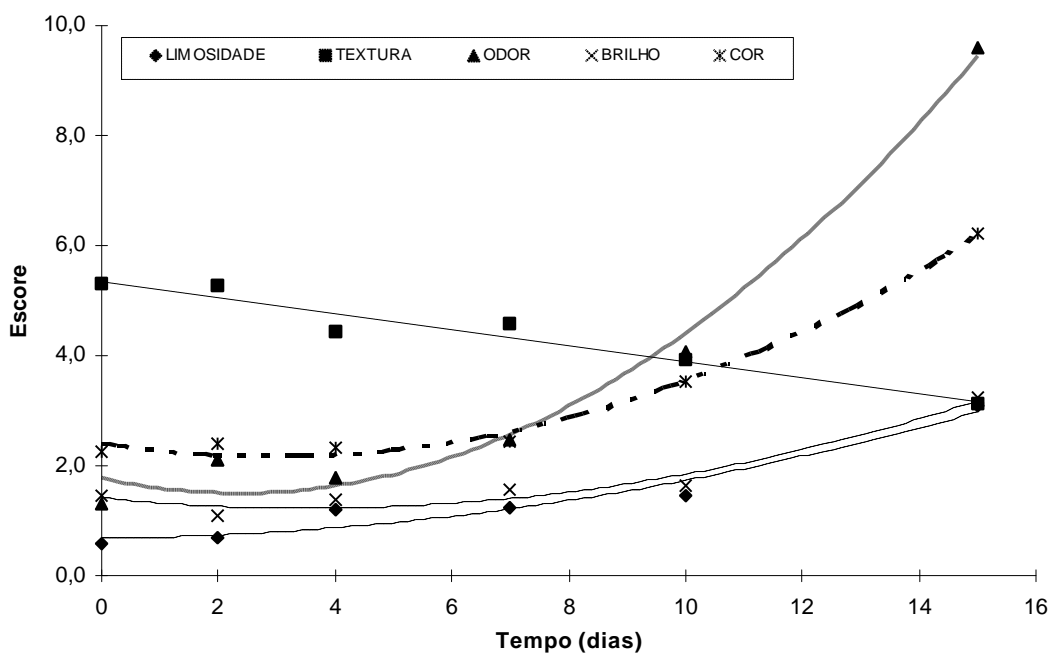


Figura 8 - Variação dos escores sensoriais de limosidade, textura, odor, brilho e cor da carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^\circ\text{C}$).

Quadro 12 - Modelos ajustados e seus coeficientes de determinação dos gráficos, apresentados na figura anterior (x=tempo de estocagem e y=atributo sensorial correspondente)

ATRIBUTO	MODELO	R ²
Limosidade	$y = 0,0096x^2 + 0,0098x + 0,6780$	0,9465
Textura	$y = -0,1457x + 5,3616$	0,9321
Odor	$y = 0,0478x^2 - 0,2043x + 1,7452$	0,9849
Brilho	$y = 0,0150x^2 - 0,1076x + 1,4157$	0,9562
Cor	$y = 0,0277x^2 - 0,1648x + 2,4161$	0,9899

Todos os atributos sensoriais, à exceção da textura, mostraram uma tendência de crescimento do escore (deterioração da qualidade), durante a estocagem (Figura 8). Todos eles apresentam coeficientes de correlação superiores a 0,80, com a maioria das análises físico-químicas e microbiológicas (Quadro 13), indicando que é possível utilizá-los para se estimar o frescor da carne de rã resfriada.

Segundo ZOTTOLA (1988), a carne é considerada deteriorada, quando se apresenta estética e sensorialmente (cor, odor, presença aparente de microrganismos etc.) inaceitável para o consumidor, alertando para o fato de que o aceitável para um indivíduo pode não o ser para outro.

Embora o painel tenha acompanhado ($P < 0,05$) a variação do odor no tempo, Ayres, citado por JAY (1986), indica que, em galinhas abatidas e carnes bovinas embaladas, a percepção de odor apenas ocorre, quando as contagens de bactérias são superiores a 10^7 UFC/cm². Segundo ZOTTOLA (1988), em hambúrgueres, a deterioração só é percebida, quando a contagem total é de, aproximadamente, 3×10^8 /grama. Estas contagens na carne de rã só foram atingidas no 15º dia de estocagem. Neste dia (15º), quando o odor era indubitavelmente objetável, os escores de odor apresentaram um aumento acentuado, passando para 9,5, contra 4,5 no 10º dia de estocagem, o qual mostrava, contagens (log UFC/g) de mesófilos e de psicrotóxicos de 6,2 e 6,5, respectivamente.

Quadro 13 - Coeficientes de correlação entre as análises físico-químicas, análises microbiológicas e atributos sensoriais de carne de rã, estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$) durante 15 dias¹

	pH	BV	NP	TBA	MS	PS	FL	LM	TX	OD	BR	CR
pH	1,00											
BV	0,59	1,00										
NP	-0,75	-0,22	1,00									
TBA	0,18	0,85	0,29	1,00								
MS	0,44	0,95	-0,13	0,90	1,00							
PS	0,52	0,94	-0,30	0,81	0,96	1,00						
FL	0,45	0,90	-0,77	0,91	0,95	0,95	1,00					
LM	0,29	0,94	0,29	0,94	0,97	0,92	0,90	1,00				
TX	-0,46	-0,95	0,26	-0,82	-0,97	-0,99	-0,92	-0,95	1,00			
OD	0,18	0,88	0,20	0,99	0,93	0,87	0,93	0,97	-0,89	1,00		
BR	0,11	0,82	0,22	0,96	0,93	0,82	0,87	0,96	-0,86	0,96	1,00	
CR	0,13	0,85	0,21	0,98	0,92	0,87	0,92	0,96	-0,89	1,00	0,96	1,00

¹ BV: bases voláteis totais, NP: nitrogênio não-proteico, MS: logaritmo da contagem de mesófilos, PS: logaritmo da contagem de psicrotóxicos, FL: logaritmo da contagem de fungos e leveduras, LM: limosidade, TX: textura, OD: odor, BR: brilho, CR: cor.

No 15^o dia de estocagem, foi possível distinguir um líquido leitoso esverdeado na superfície da carcaça. Este líquido pode ser resultante da deterioração da carcaça, e, provavelmente, contém substâncias responsáveis pelo odor desagradável da carne em decomposição.

A diminuição nos escores de textura (Figura 8) indicam proteólise da carne de rã, oriunda de enzimas endógenas e exógenas (microbianas). A ausência de ressecamento é explicada pela embalagem da carne antes da sua estocagem. Segundo CHARM et al. (1972) e CORNEJO (1988), a textura pode ser utilizada como um critério para acompanhamento da deterioração de pescados resfriados. Segundo GÓES (1987), a textura apresenta alta correlação com a vida útil, determinada por métodos bioquímicos, de tilápia conservada em gelo.

Apesar de variar ($P < 0,05$), durante a estocagem do ponto de vista prático a limosidade não pode ser considerada como um atributo satisfatório para estabelecer limites de qualidade, uma vez que apresentou pouca sensibilidade e variabilidade. Este resultado pode ser esperado, considerando-se que as contagens

microbianas (log UFC/g) não ultrapassaram o valor de log de 7,5 a 8,0 UFC/cm², o qual, segundo Ayres, (citado por JAY, 1986), é o limite populacional para a percepção de limosidade superficial em carcaças de galinha e carne bovina embalada. Estes limites de contagem só foram atingidos no 15^o dia de estocagem.

De forma geral, a cor da carne de rã é similar à do frango, mostrando uma coloração pérola rosada, logo após o abate e durante os primeiros dias de estocagem. Paulatinamente, a coloração mudou para tonalidades mais rosadas. Até o 10^o dia de estocagem não foram detectadas pigmentações estranhas, produto de lipólise e degradação de pigmentos oriundos da carne, como relatado por SIKORSKI et al. (1994b). Apenas, no 15^o dia de estocagem, notou-se o aparecimento de uma tonalidade cinza esverdeada na superfície da carcaça, a qual foi relacionada com o estado de deterioração, já que, neste dia, as contagens estavam acima do limite de 10⁶ a 10⁷, sugerido por ZOTTOLA (1988), como nível populacional necessário para causar alterações na cor de carnes.

Embora tenha sofrido variação (P<0,05) no tempo (Figura 8), do ponto de vista prático a alteração no brilho foi pequena. Isto se justifica, já que o brilho em carnes deve-se à presença de umidade superficial, a qual é afetada pela capacidade de retenção de água e pelas condições de estocagem.

A capacidade de retenção de água parece ter sido pouco afetada, uma vez que o pH manteve-se, do ponto de vista prático, basicamente inalterado (Figura 4). O líquido leitoso superficial, presente no 15^o dia de estocagem, provavelmente contribuiu para manter o brilho característico da carne de rã.

A utilização de embalagens plásticas impediu as perdas por evaporação na superfície, não permitindo o seu ressecamento, e, assim, mantendo o brilho da carne.

4. CONCLUSÕES

Com base nos padrões microbiológicos (contagem de mesófilos e de psicrotróficos), a carne de rã-touro, embalada a vácuo e mantida sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$), apresentou uma vida útil de oito dias.

Sugere-se a inclusão da contagem de psicrotróficos como um padrão microbiológico para a carne de rã resfriada, uma vez que estes microrganismos são os principais agentes deterioradores em carnes resfriadas, e que a sua contagem superou, a partir do terceiro dia de estocagem, as contagens de mesófilos.

As características físico-químicas, microbiológicas (à exceção do NMP de coliformes totais e fecais) e sensoriais, estudadas na carne de rã, não diferiram quando se utilizou o sistema de evisceração tradicional, ou o sistema alternativo.

O sistema de evisceração alternativo mostrou-se superior ao tradicional, por levar a uma menor contaminação por coliformes, além de permitir trabalhar com menos operários na linha de abate (oito, contra nove no sistema tradicional).

Dentre as análises físico-químicas, a determinação do teor de bases voláteis totais (BVT) foi a que apresentou maior utilidade e informação na determinação da vida útil da carne de rã, uma vez que mostrou uma tendência de

crescimento permanente, durante o tempo de estocagem, além de manifestar altas correlações com as análises microbiológicas e sensoriais. As demais análises físico-químicas permitiram caracterizar a carne de rã, porém foram de reduzida utilidade para estabelecer parâmetros de qualidade.

O odor foi, seguido de cor e de textura, o melhor atributo sensorial para se determinar a qualidade da carne de rã, estocada sob refrigeração, uma vez que foi o atributo que apresentou maior variação, ao longo do tempo.

CAPÍTULO 2

ESTOCAGEM DE CARNE DE RÃ SOB CONGELAMENTO

1. INTRODUÇÃO

O congelamento é, na atualidade, o método mais utilizado para conservar e comercializar a carne de rã. Mas, à semelhança de todos os produtos cárnicos estocados, desta maneira, a carne de rã sofre uma série de alterações, que irão determinar a sua vida-de-prateleira. Algumas destas alterações derivam do tipo de congelamento, flutuações de temperatura, durante a estocagem, umidade relativa, e embalagem.

1.1. Principais alterações durante o congelamento e a estocagem da carne de rã

As alterações que os produtos cárnicos sofrem durante a estocagem sob congelamento são determinadas pelo tipo de congelamento a que foram expostos. É amplamente conhecido que os processos de congelamento rápido produzem menos alterações do que o congelamento lento (FRAZIER e WESTHOFF, 1985).

Além de diminuir a velocidade das reações bioquímicas, a estocagem sob congelamento diminui a velocidade do crescimento microbiano.

A microflora dos alimentos congelados está constituída por microrganismos mais resistentes do que os que compunham a sua flora inicial. Os esporos mostram alta resistência ao congelamento e, provavelmente, sobrevivam sem mudanças significativas em suas contagens iniciais (OLSON e NOTTINGHAM, 1980).

Embora JASPER e PLACZEK (1978) considerem a temperatura de -7°C como limite prático de crescimento microbiano, FRAZIER e WESTHOFF (1985) descrevem várias espécies de microrganismos que têm mostrado potencial de crescimento a temperaturas inferiores, destacando o crescimento de uma levedura a -34°C .

SANG et al. (1987), em estudos com carne de rã congelada, mostraram que *Vibrio cholerae* tolera temperaturas de -20°C (mas sem apresentar crescimento), durante 28 dias de estocagem.

Diversos estudos têm sido desenvolvidos, objetivando determinar a ocorrência de *Salmonella* sp. em carne de rã (SHRIVASTAVA, 1978; RODRIGUES et al., 1994 e SILVA e OLIVEIRA, 1994). SHRIVASTAVA (1978) encontrou presença de salmonelas em, aproximadamente, 40% das amostras analisadas. SILVA e OLIVEIRA (1994) relataram resultados similares, com 21,2% de frequência. No entanto, RODRIGUES et al. (1994), analisando amostras de carne de rã congelada, obtidas no Estado do Rio de Janeiro, comprovaram a presença de salmonelas em 29 das 30 amostras analisadas. Esta alta contaminação seria proveniente das etapas de processamento incorretamente realizadas.

Apesar de o crescimento microbiano não ser significativo em alimentos estocados a temperaturas inferiores a -10°C , a maioria dos seus sistemas enzimáticos permanecem ativos, o que determina a vida útil de alimentos congelados (OLSON e NOTTINGHAM, 1980).

As alterações, que os produtos cárnicos e pescados congelados podem sofrer, relacionam-se diretamente com mudanças nas frações protéica e lipídica, principalmente, e interações entre as duas.

A desnaturação protéica do pescado, há muito tempo conhecida, produz mudanças na conformação da molécula, perdas de solubilidade e diminuição da atividade enzimática (SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994). SHENOUDA (1980) faz uma ampla revisão sobre o assunto, focalizando, principalmente, os fatores e as conseqüências que a desnaturação protéica implica. Segundo este autor, os inúmeros fatores, que provocam a desnaturação protéica, podem ser agrupados em três categorias: (a) fatores relacionados com a diminuição da fração aquosa, em virtude do congelamento da água; (b) fatores relacionados com as alterações na fração lipídica; e (c) fatores relacionados com a atividade de enzimas específicas.

As alterações na fração aquosa do músculo congelado criam condições para a desnaturação protéica, provocada por: (a) formação e acúmulo de cristais de gelo, (b) desidratação e (c) aumento na concentração salina (SHENOUDA, 1980 e FRAZIER e WESTHOFF, 1985).

O processo de congelamento (lento principalmente) provoca a formação de cristais de gelo inter e intracelulares, que levam à ruptura das células e das membranas, e a desorganização da ultra-estrutura tissular. No congelamento lento, a região extracelular sofre uma queda de temperatura mais rápida, levando a uma separação da água e solutos, com formação de cristais de gelo grandes e aumento na concentração salina da fração líquida não-congelada. Por processos de osmose, os fluidos intracelulares tendem a sair da célula para diminuir o desequilíbrio salino. Já nos processos de congelamento rápido, aparentemente não ocorre a migração de água da região intracelular (em razão da velocidade de congelamento igual nos fluidos intra e extracelulares), havendo formação de cristais de gelo de menor tamanho, migração de água e alterações na ultra-estrutura celular menos acentuadas (SHENOUDA, 1980).

Flutuações de temperatura durante a estocagem fazem com que os cristais de gelo de menor tamanho se fundam e se agreguem aos maiores, produzindo maiores alterações no tecido muscular quando do descongelamento (SHENOUDA, 1980 e FRAZIER e WESTHOFF, 1985).

Um fenômeno pouco estudado é o aumento do volume específico da água a temperaturas inferiores a 4°C (SHENOUDA, 1980), exercendo pressão nas organelas celulares, provocando ruptura e desorganização da microestrutura celular.

A estabilidade da estrutura tridimensional das moléculas protéicas é, em grande parte, dependente de pontes de hidrogênio. A desidratação das moléculas protéicas, provocada pela formação de cristais de gelo, resulta na ruptura destas pontes e na exposição de regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, as segundas, anteriormente protegidas, tornando-as vulneráveis (SHENOUDA, 1980). Desta maneira, formam-se interações hidrofóbicas e hidrofílicas, antes inexistentes, inclusive dentro da mesma molécula, provocando a deformação da estrutura tridimensional e induzindo à formação de interações proteína-proteína e agregação das mesmas, com conseqüente diminuição de solubilidade (SHENOUDA, 1980 e SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994).

O aumento da concentração salina na fração aquosa não-congelada provoca uma diminuição na hidratação das proteínas, uma vez que os íons inorgânicos, concentrados, competirão pelas moléculas de água (SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994). De acordo com SHENOUDA (1980), a percentagem de água líquida diminui rapidamente, quase de forma exponencial, como função da temperatura. Inicialmente, há um decréscimo acentuado da fase aquosa a temperaturas variando entre 0 e -10°C, e mais lento a temperaturas inferiores, representando claramente a água livre e a água ligada, respectivamente. Charm e Moody, citados por SHENOUDA (1980), trabalhando com filés de peixes da família *Gadidae* (“haddock”), demonstraram que, em temperaturas entre -17,7 e -23°C, toda a água livre era congelada, e a fração remanescente representava a fração ligada. SHENOUDA (1980) afirma que 90% da umidade será congelada a

temperaturas de congelamento convencionais (de -10 a -20°C), produzindo uma concentração de dez vezes dos solutos na fração líquida não-congelada. Este aumento da concentração afeta a permeabilidade da membrana celular e as propriedades das proteínas. A concentração salina crítica (concentração na qual ocorre um máximo de injúria na estrutura protéica) difere, de acordo com o tipo de íon e tecido implicado. CONNELL (1975), no entanto, afirma que a concentração crítica seria de 10% de NaCl. Ainda, o efeito dos íons pode participar na desnaturação protéica, catalisando os processos de autooxidação e hidrólise de lipídios (SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994).

O efeito dos lipídios na estabilidade das proteínas, durante o processo de congelamento e estocagem de produtos cárnicos e pescados, varia de acordo com o estado e o tipo de lipídio estudado (SHENOUDA, 1980).

Os lipídios intactos (não-oxidados, nem hidrolisados) podem exercer um efeito protetor, como também, ajudar nas alterações da fração protéica. A este respeito, SHENOUDA (1980) analisa fatores, como teor e tipo de lipídios no músculo do pescado e seu efeito nas proteínas musculares, concluindo que a solubilidade das proteínas está diretamente relacionada com o teor de gordura do músculo, de tal maneira que, nas espécies magras (menos de 1% de gordura), ocorreria uma diminuição mais acelerada da solubilidade protéica do que nas espécies gordas.

Por outro lado, o processo de congelamento altera a estrutura membranosa da célula, provocando a saída, ou a liberação dos lipídios associados a esta estrutura. Este fenômeno facilitaria a formação de novas interações, inexistentes quando o músculo não estava congelado (SHENOUDA, 1980).

Os lipídios oxidados e, ou, hidrolisados, principalmente os ácidos graxos livres, reduzem marcadamente a solubilidade das proteínas miofibrilares em sistemas modelos (SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994). O acúmulo de ácidos graxos livres aumenta com o tempo de estocagem e contribui para a formação de agregados lipídio-proteína (SHENOUDA, 1980 e SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994). No entanto, este efeito estaria relacionado com o teor

de gordura do músculo. LEMOS e ANTUNES (1993/94) e CORRÊA (1988) estudaram as alterações na solubilidade das proteínas miofibrilares do músculo de rã-touro, encontrando um decréscimo na sua solubilidade, paralelamente ao aumento dos ácidos graxos livres (6,5% inicialmente, para 47,8% após 182 dias). SIKORSKI et al. (1976) afirmam que a formação de ácidos graxos livres precede a diminuição da solubilidade das proteínas miofibrilares, e que este efeito é mais acentuado em espécies de pescado magro (menos de 1% de gordura intramuscular). A função dos ácidos graxos livres é mais acentuada em peixes de baixo teor de gordura, uma vez que, nos peixes de elevado teor de gordura, os ácidos graxos livres mostram uma tendência a interagirem, preferencialmente, com a fração lipídica (SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994).

O mecanismo de interação entre ácidos graxos livres e proteínas não está bem esclarecido. No entanto, SHENOUDA (1980) e SIKORSKI e KOLAKOWSKA (1994) sugerem que os ácidos graxos livres interagem hidrofóbica e hidrofílicamente com sítios específicos da proteína, criando novas regiões hidrofóbicas na superfície da molécula protéica, no lugar em que anteriormente existiam regiões hidrofílicas. Conseqüentemente, há uma diminuição na solubilidade das proteínas ou, inclusive, aumento nas ligações protéicas intermoleculares, em quantidade suficiente para diminuir a sua solubilidade. De acordo com LEMOS e ANTUNES (1993/94), os possíveis mecanismos de insolubilização de proteínas podem incluir a destruição de interações lipídio-actomiosina preexistentes e, ou, a interação de ácidos graxos livres com a actomiosina, com a conseqüente geração de regiões hidrofóbicas na superfície da proteína.

Os processos de hidrólise e oxidação são as principais vias de deterioração que os lipídios de carnes e pescados sofrem, durante a estocagem sob congelamento. Estas alterações, no caso do pescado de baixo teor de gordura, estariam relacionadas com a diminuição do valor nutricional (BERAQUET e LINDO, 1985), provocada pela formação de complexos com as proteínas.

Segundo SIKORSKI e KOLAKOWSKA (1994), alterações sensoriais, provocadas por rancidez hidrolítica, ou oxidativa, não são detectáveis em pescados magros.

A principal causa da oxidação lipídica em produtos marinhos congelados é a desidratação do tecido durante o congelamento e a exposição ao oxigênio atmosférico (KHAYAT e SCHWALL, 1983). Vários fatores desempenham uma função importante nas reações oxidativas do pescado, destacando-se (1) o tipo de gordura (tipo de ácidos graxos e seu grau de insaturação, e proporção de fosfolipídios); (2) distribuição da gordura no corpo e no tecido muscular; (3) presença/ausência de outras substâncias químicas, como aceleradores/inibidores de oxidação; e (4) fatores externos como luz, calor e radiação UV (KHAYAT e SCHWALL, 1983).

Para OLSON e NOTTINGHAM (1980), as lipases de origem microbiana continuam a liberar ácidos graxos, sob temperaturas muito inferiores às de congelamento. Daí se conclui que o armazenamento de produtos congelados, principalmente pescados, esteja fortemente afetado pelos microrganismos produtores de lipases.

De acordo com BERAQUET e LINDO (1985), a fração lipídica do pescado é mais rapidamente oxidada do que outros alimentos, por apresentar ácidos graxos altamente insaturados. SARVADEVA e SRIKAR (1982) estudaram a composição da fração lipídica da carne de rã (*Rana hexadsctyla*), encontrando 54,1%, 26,6% e 9,1% de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados, respectivamente, mostrando ser um tipo de carne com grande possibilidades de oxidação e lipólise.

De acordo com SIKORSKI e KOLAKOWSKA (1994), a hidrólise dos fosfolipídios é a causa principal para o acúmulo rápido de ácidos graxos livres na carne congelada de muitas espécies de pescado. Segundo SIKORSKI et al. (1976), a oxidação dos fosfolipídios é responsável por 70 a 80% das alterações da fração lipídica do pescado. Porém, para KHAYAT e SCHWALL (1983), em espécies de pescado com baixo teor de gordura, os fosfolipídios e os triglicerídios

são igualmente hidrolisados. No entanto, os resultados de LEMOS e ANTUNES (1993/94) mostraram que os fosfolipídios da carne de rã-touro diminuíram durante a estocagem (-18°C/182 dias), passando de 91,3% para 49,2% do total de lipídios da carne. Resultados similares foram obtidos por SARVADEVA e SRIKAR (1982), os quais encontraram uma diminuição no teor de fosfolipídios em carne de *Rana hexadactyla*, estocada a -20°C durante 150 dias. Os dois estudos mostram resultados muito próximos até os 60 dias de estocagem. Entretanto, após este período, LEMOS e ANTUNES (1993/94) encontraram uma diminuição muito acentuada, atingindo 49,2% de fosfolipídios após 180 dias de estocagem, enquanto os valores apresentados por SARVADEVA e SRIKAR (1982) não registraram uma diminuição tão acentuada, apresentando 85,2% de fosfolipídios após 150 dias.

Pelos resultados anteriores, pode-se observar que as enzimas lipolíticas mantêm sua atividade, inclusive sob temperaturas abaixo do ponto de congelamento. De acordo com SHENOUDA (1980), a atividade lipolítica máxima em várias espécies de pescado ocorre em temperaturas imediatamente inferiores à de congelamento (-4°C). No entanto, pode-se notar que as enzimas lipolíticas (fosfolipases A e B, principalmente presentes em tecidos animais) têm atividade acentuada em temperaturas muito baixas, inclusive de -25 e -30°C (SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994).

Nos pescados de baixo teor de gordura, os ácidos graxos livres, acumulados durante a estocagem, não interferem na sua qualidade sensorial, influenciando unicamente na textura (em virtude de interações com proteínas) e, ou, nos processos oxidativos dos lipídios (SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994). REDDY et al. (1981) estudaram a variação na composição da fração lipídica de camarões de água doce (*Macrobrachium rosenbergii*), encontrando um decréscimo no teor de ácidos graxos livres, após seis meses de estocagem congelada (-18°C). O teor da maioria dos ácidos graxos livres saturados e monoinsaturados da carne de *Rana hexadactyla* diminuiu durante a estocagem sob congelamento a -20°C (SARVADEVA e SRIKAR, 1982). Após 150 dias de

estocagem, os níveis de ácidos graxos saturados e monoinsaturados decresceram de 45,5 e 42% para 39,1 e 34,6%, respectivamente. No entanto, o teor de ácidos graxos polinsaturados aumentou de 8,9 para 13,3%, evidenciando um maior grau de lipólise de fosfolipídios (pela ação de fosfolipases, principalmente) do que oxidação de gordura (LEMOS e ANTUNES, 1993/94).

LEMOS e ANTUNES (1993/94) acompanharam as transformações da gordura da carne de rã-touro congelada, durante seis meses estocada a -18°C. O índice de peróxido, utilizado como índice de determinação de alterações nos lipídios, apresentou um incremento inicial até o terceiro mês e uma queda posterior até o final da estocagem. A diminuição dos valores de peróxido pode ser explicada pela degradação do hidroperóxido (produto intermediário e altamente instável da oxidação) a compostos carbonílicos (compostos finais do processo oxidativo).

1.2. Métodos de avaliação do frescor e da vida-de-prateleira da carne de rã congelada

A estocagem sob congelamento diminui a velocidade de praticamente todas as reações enzimáticas na carne e no pescado. No entanto, alterações nas frações nitrogenada e lipídica podem ocorrer.

O armazenamento sob congelamento provoca alterações nas proteínas do tecido muscular, desde a desnaturação até às reações secundárias das proteínas com outros componentes do músculo. As proteínas perdem parte da sua solubilidade e apresentam menor atividade enzimática. Como resultado destas alterações, há mudanças das propriedades funcionais, manifestadas pela diminuição da capacidade de retenção de água, facilidade para formação de géis e possibilidade de emulsão de gordura, assim como deterioração da textura e maior secura do pescado (SIKORSKI et al., 1976; SHENOUDA, 1980 e SIKORSKI e KOLAKOWSKA, 1994). De acordo com SIKORSKI e KOLAKOWSKA (1994), a textura do pescado, mantido durante longos períodos a temperatura de -18°C, é

frequentemente descrita como dura, fibrosa e ressecada, em decorrência de perdas por sublimação na superfície do produto e de reações catalisadas pelo formaldeído (originário da degradação da trimetilamina), que provocam desnaturação protéica.

Embora seja conhecido que todos estes fenômenos acontecem durante a estocagem de produtos cárnicos congelados, poucos estudos, objetivando determinar a vida-de-prateleira de carne ou pescados congelados, têm sido desenvolvidos com base em índices diretamente relacionados com a fração protéica do músculo, sendo a fração lipídica objeto de maior preocupação. Os trabalhos de SARVADEVA e SRIKAR (1982); CORRÊA (1988) e LEMOS e ANTUNES (1993/94) mostram claramente as alterações ocorridas na fração lipídica da carne de rã. REDDY et al. (1981) chegaram aos mesmos resultados, ao trabalhar com *Macrobrachium rosenbergii* (“camarão gigante da Malásia”).

A rancidez tem sido utilizada como parâmetro sensorial de pescado e produtos derivados, estocados sob congelamento. No entanto, este tipo de análise parece ser mais importante em alimentos de elevado teor de gordura. REDDY et al. (1981) não detectaram sabor de rancidez no camarão gigante da Malásia, após estocagem durante 180 dias sob congelamento. Portanto, a avaliação sensorial da rancidez de produtos com baixo teor de lipídios parece não ser confiável como limite de qualidade e vida-de-prateleira.

De acordo com Reay, citado por MILLS (1975), o brilho do pescado fresco é mais intenso do que o de pescado congelado. No entanto, são necessários provadores altamente treinados para detectar estas diferenças, dificultando, assim, a utilização deste critério.

CORRÊA (1988) comparou a aparência, o odor estranho, o sabor, a textura e a impressão global de amostras de carne de rã-touro fresca e congelada, durante 182 dias a -18°C , concluindo que, mediante a aparência, não foi possível diferenciar a carne fresca da congelada. O odor, o sabor e a textura mostraram-se atributos sensoriais bastante úteis para representar as mudanças, ocorridas na

carne armazenada a -18°C . A impressão global refletiu, de forma bastante coerente os resultados das avaliações de odor, sabor e textura.

Os valores de pH de carne e pescado congelado têm levado a algumas controvérsias. Alguns autores, citados por MILLS (1975), afirmam não ocorrer alteração, durante o armazenamento sob congelamento, enquanto outros defendem que há ligeiros aumentos, ou decréscimos. O autor conclui que estas observações conflitantes não devem surpreender, uma vez que as reações, que produzem ácidos e bases durante o congelamento, são inúmeras. Ainda, os valores de pH parecem estar intimamente correlacionados com alterações na textura da carne, com perdas por gotejamento e com alterações de sabor.

CORRÊA (1988) não detectou nenhuma alteração significativa de pH, ao longo do armazenamento congelado de carne de rã-touro ($-18^{\circ}\text{C}/182$ dias), com valores variando entre 6,28 e 6,51.

Poucos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de avaliar as mudanças ocorridas na carne de rã, quando estocada. Assim, os objetivos do presente experimento foram: estudar a influência de dois sistemas de evisceração sobre a qualidade da carne de rã-touro, estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$), durante um período de 180 dias, e testar a utilização de alguns atributos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais para se avaliar, no tempo, a qualidade da carne de rã congelada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Sistemas de evisceração analisados

Cento e setenta animais da espécie *Rana catesbeiana*, provenientes do Ranário Experimental do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), com peso vivo entre 120 gramas e 150 gramas (alimentados com ração comercial para trutas), foram mantidos em jejum pré-abate, durante 48 horas. Os animais foram abatidos no Laboratório de Processamento de Produtos Cárnicos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV.

Dois sistemas de evisceração foram analisados, para os quais os animais foram divididos em dois grupos de 85 animais. No primeiro sistema de evisceração, ou tradicional, a retirada da pele foi feita anterior à evisceração, enquanto no segundo, ou alternativo, a retirada da pele era feita posterior à evisceração. Foram efetuados três abates em épocas diferentes, totalizando 510 animais. Após cada abate, as carcaças foram embaladas a vácuo, em sacos de polietileno, e estocadas sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$), durante um período de 180 dias.

As etapas dos sistemas de abate encontram-se descritas no capítulo referente à refrigeração de carne de rã, itens 2.1.1. e 2.1.2.

2.2. Análises microbiológicas, físico-químicas e sensorial

Após o acondicionamento a vácuo em sacos de polietileno, as carcaças, evisceradas pelos métodos tradicional e alternativo, foram congeladas em armário criogênico de nitrogênio até à temperatura final de -50°C , na câmara de congelamento, e armazenadas em “freezer” horizontal marca CONSUL, à temperatura de $-18\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante um período de 180 dias.

Com o objetivo de determinar as alterações, durante o tempo de estocagem, foram realizadas análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais aos 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de estocagem. Em cada dia, foram utilizadas três, quatro e cinco carcaças, provenientes de cada tipo de evisceração, para as análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais, respectivamente.

2.2.1. Análises microbiológicas

Foram realizadas análises de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos (contagem-padrão em placa), microrganismos psicrotróficos aeróbios estritos e facultativos, fungos e leveduras, coliformes totais e coliformes fecais (mediante a técnica do número mais provável), conforme relatado no capítulo de refrigeração, item 2.2.1., e descrito em APHA (1984) e em BRASIL (1993).

2.2.2. Análises físico-químicas

Paralelamente às análises microbiológicas, foram determinados os valores de pH, BVT, TBA, NNP, conforme metodologias descritas no capítulo referente à refrigeração de carne de rã, item 2.2.2.

Inicialmente, as carcaças foram descongeladas, pela manutenção à temperatura de refrigeração (4°C), durante um período de 12 horas. Após o descongelamento, foram retiradas porções da musculatura dos membros posteriores e da região abdominal das carcaças, as quais foram trituradas em liquidificador doméstico até à formação de uma massa homogênea.

2.2.3. Análise sensorial

Limosidade, textura, odor, brilho e cor foram avaliados, mediante um painel sensorial de oito provadores treinados, utilizando-se uma escala não-estruturada para cada atributo. O painel analisou as carcaças com 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de estocagem, de acordo com as diretrizes descritas no capítulo referente à refrigeração de carne de rã.

2.3. Delineamento do experimento

O experimento foi conduzido, segundo delineamento em parcelas subdivididas, com método de evisceração nas parcelas (em dois níveis) e no tempo de estocagem nas subparcelas (em sete níveis), com três repetições, de acordo com o modelo matemático, sugerido no capítulo relacionado com a refrigeração, no item 2.3.

Para a avaliação sensorial, o experimento foi feito, segundo delineamento em parcelas subdivididas, com oito provadores e dois métodos de evisceração nas parcelas e no tempo de estocagem (em seis níveis) nas subparcelas, de acordo com o modelo matemático, descrito no capítulo referente à refrigeração de carne de rã, no item 2.3.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análises microbiológicas

O Quadro 1 mostra a Análise de Variância e da Regressão das contagens de mesófilos, psicrotróficos e de fungos e leveduras, em função do tipo de evisceração e do tempo de estocagem congelada. Não houve diferença significativa ($P>0,05$), entre os dois sistemas de evisceração para nenhum destes microrganismos.

A Figura 1 mostra a variação das contagens microbiológicas, ao longo dos 180 dias de estocagem.

BRASIL (s.d.), estudando carnes de rã, reportou contagens de mesófilos cujo logaritmo oscilava entre 5,0 e 5,4 UFC por superfície de rã estimada (UFC/SREst). Não foram fornecidas informações sobre o tipo de estocagem utilizada e o tempo de armazenamento. As amostras, analisadas por RODRIGUES et al. (1994) em carne de rã (*Leptodactylus* sp.) congelada, comercializada em Niterói, Estado do Rio de Janeiro, apresentaram contagens (log UFC/g) entre 5,3 e 5,5. CORRÊA (1988) encontrou contagens (log UFC/g) de 3,41 e 1,84 em carne de rã-touro fresca e estocada sob congelamento, durante 182 dias, respectivamente.

Quadro 1 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do log de UFC/g dos microrganismos mesófilos, psicrotróficos e fungos e leveduras, encontrados na carne de rã, estocada sob congelamento (-18±2°C)

Fontes de Variação	GL	QM _{MESOF}	QM _{PSICRO}	QM _{FUG/LEV}
Evisceração (Evis)	1	0,8288ns	0,0006ns	0,0206ns
Erro a	4	3,7333	0,3730	0,3497
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>				
Tempo	(6)	(0,9048)	(0,9637)	(0,3358)
Regressão	1	3,3349*	3,8161*	1,0293*
Desvio da Regressão	5	0,4188ns	0,3932ns	0,1971ns
Evis x Tempo	6	0,3716ns	0,2014ns	0,2433ns
Erro b	24	0,3937	0,2090	0,1818

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

* ns Não-Significativo em 5% de probabilidade (P>0,05).

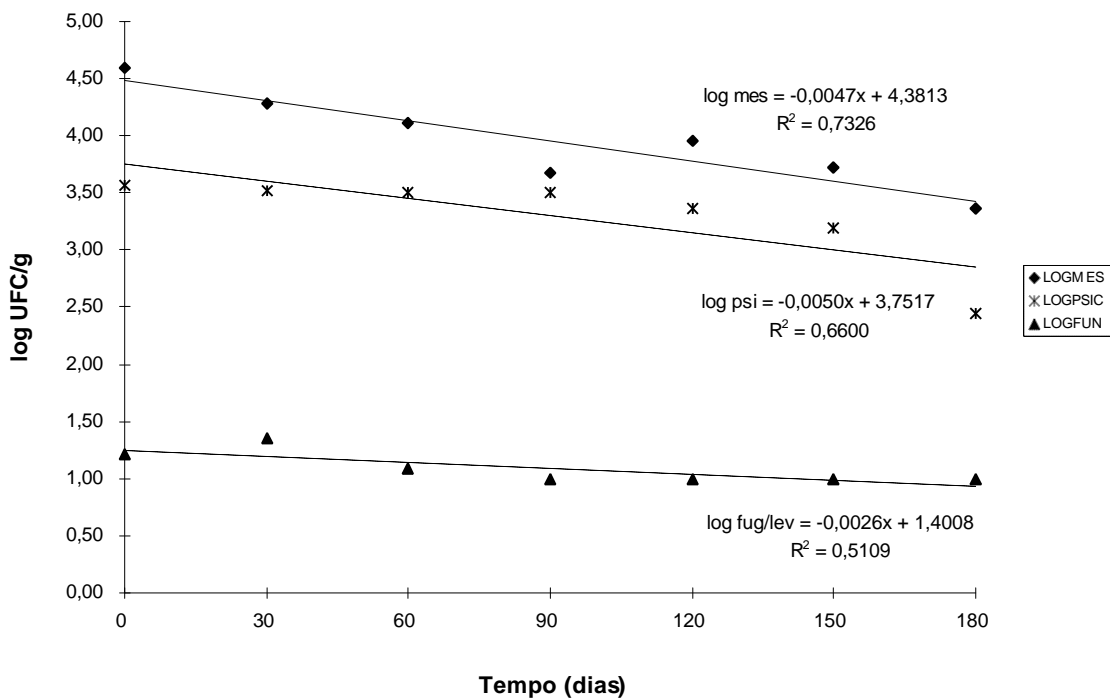


Figura 1 - Variação das contagens de mesófilos aeróbios, psicrotróficos e fungos e leveduras da carne de rã, estocada sob congelamento (-18±2°C).

As contagens, encontradas no presente estudo, são inferiores às aquelas citadas por BRASIL (s.d.) e por RODRIGUES et al. (1994), o que pode ser devido às condições de abate e estocagem, utilizadas no presente trabalho.

Os níveis de microrganismos mesófilos, apresentados pela carne de rã-touro durante a estocagem congelada, estão dentro dos requisitos estabelecidos pelo CODEX ALIMENTARIUS (1984), que determina como limite máximo de mesófilos contagens de 5×10^5 UFC/g, e pela Resolução nº 13/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos (ABIA, 1985), que estabelece como limite para microrganismos mesófilos contagens de 3×10^6 UFC/g para carnes cruas, frescas, refrigeradas ou congeladas e de 10^6 UFC/g para pescados crus, frescos, refrigerados ou congelados.

A literatura consultada não relata estudos a respeito do número de microrganismos psicotróficos, em carne de rã, da mesma maneira que o CODEX ALIMENTARIUS (1984), nem a Comissão Nacional de Normas e Padrões de Alimentos - CNNPA (ABIA, 1985) não estabelecem requisitos para este tipo de microrganismo. Tanto as contagens de mesófilos quanto de psicotróficos tiveram uma diminuição de um ciclo logarítmico, após os 180 dias de estocagem (Figura 1).

Segundo DAUDIN (1991), as bactérias psicotróficas do gênero *Pseudomonas*, principalmente, e outros gêneros predominantemente psicotróficos são altamente sensíveis ao congelamento.

O número de fungos e leveduras manteve-se, praticamente constante ao longo do tempo de estocagem (Figura 1). Este comportamento pode ser explicado pela formação de esporos, os quais protegeriam a estrutura celular, durante a estocagem sob congelamento, minimizando a morte e a injúria celular e permitindo a sua recuperação, após o descongelamento.

NOGUEIRA (1991) isolou vários tipos de leveduras provenientes de coxas de rã-touro, porém não faz nenhuma referência à resistência, ou recuperação destes microrganismos, sob determinadas condições de estocagem. O CODEX ALIMENTARIUS (1984) e o CNNPA (ABIA, 1985) não estabelecem

nenhum critério como limite de aceitação de carnes de rã ou pescados, referente à contagem de fungos e leveduras.

O número de coliformes (totais e fecais) do sistema tradicional foi superior àquele do sistema alternativo (Quadro 2). Esta diferença pode ser devida à pressão, exercida na região abdominal, durante a retirada da pele, o que provocaria a ruptura das vísceras e a contaminação da carcaça com material fecal. No sistema alternativo, a retirada das vísceras não provoca esta pressão, uma vez que elas são removidas antes da retirada da pele. Ainda, o maior tempo de contato entre as vísceras e a carne no sistema tradicional pode ser também a causa desta diferença.

Quadro 2 - Número mais provável (NMP/g) de coliformes totais e fecais de carne de rã-touro eviscerada pelos métodos tradicional (ET) e alternativo (EA) e estocada sob congelamento (-18±2°C)

Tempo (dias)	Coliformes totais		Coliformes fecais	
	ET	EA	ET	EA
0	500	30	197	30
30	300	39	8	1
60	67	27	8	3
90	21	163	3	4
120	148	12	17	<1
150	76	12	7	<1
180	9	34	<1	3

Os valores apresentados por BRASIL (s.d.), são altamente correlatos aos encontrados no presente trabalho. RODRIGUES et al. (1994) analisaram 30 amostras de carne de rã (*Leptodactylus* sp.) congelada, comercializada em Niterói (RJ), encontrando níveis de coliformes totais superiores a 10³ UFC/g em 50% das amostras e superiores a 10² UFC/g em 43% das amostras. CORRÊA (1988), analisando amostras congeladas, durante 182 dias, encontrou 1,8x10³ UFC/g, e sugeriu como principal fonte de contaminação a água de lavagem das carcaças.

Análises, realizadas na água utilizada no presente estudo, não indicaram a presença de coliformes.

A diminuição, encontrada ao longo da estocagem, justifica-se pela utilização de temperaturas de congelamento, as quais inibiriam o desenvolvimento destes microrganismos. De acordo com JAY (1986), as bactérias do grupo coliforme podem crescer a temperaturas de -2°C . Porém, temperaturas inferiores a 5°C propiciam um crescimento muito lento.

O número de coliformes fecais diminui, durante a estocagem, em virtude, provavelmente, da baixa resistência destes microrganismos a temperaturas de congelamento. Segundo OLSON e NOTTINGHAM (1980), microrganismos gram-negativos, dentre eles a *Escherichia*, são mais sensíveis ao congelamento do que os gram-positivos. Desta maneira, o efeito do congelamento é mais letal para estas bactérias.

O CODEX ALIMENTARIUS (1984) e a Resolução nº 13/78 da CNNPA (ABIA, 1985) não estabelecem padrões para o número de coliformes totais para nenhum tipo de carne, nem pescado (cru, refrigerado, congelado etc.)

Os resultados, encontrados para coliformes de origem fecal, são similares àqueles relatados por BRASIL (s.d.). Neste caso, foram encontrados níveis de 10 UFC/g em 90% das amostras estudadas. RODRIGUES et al. (1994) reportaram contagens superiores a 10^3 UFC/g em 16% das amostras, superiores a 10^2 UFC/g em 37% das amostras e inferiores a 10^2 UFC/g em 47% das amostras analisadas. No entanto, CORRÊA (1988) não detectou presença de coliformes fecais em carne de rã-touro, estocada sob congelamento durante 182 dias.

O CODEX ALIMENTARIUS (1984) não estabelece nenhum critério microbiológico para o número de coliformes fecais em carne de rã. A Resolução nº 13/78 da CNNPA (ABIA, 1985) determina como limite para coliformes fecais contagens de 3×10^2 UFC/g para carnes cruas, frescas, refrigeradas ou congeladas e de 10^2 UFC/g para pescados crus, frescos, refrigerados ou congelados. Segundo este último critério, as carcaças evisceradas pelo sistema tradicional excedem o limite, estabelecido pela legislação.

Por outro lado, de acordo com LISTON (1980), os estreptococos de origem fecal, determinados no produto congelado, proporcionam uma idéia melhor da higiene do processo do que *E. coli*, em razão da sua maior resistência ao congelamento. JUDGE et al. (1989) chamam a atenção para o fato de que, embora a sua patogenicidade para o homem não tenha sido totalmente comprovada, *Streptococcus faecalis* tem sido isolado de produtos cárnicos.

3.2. Análises físico-químicas

O Quadro 3 mostra o resumo da Análise de Variância e da Regressão do pH, em função do tipo de evisceração e do tempo de estocagem congelada da carne de rã-touro. Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os sistemas de evisceração, nem ao longo do tempo de estocagem. Este resultado era esperado, uma vez que o pH muscular *post-mortem* é influenciado por fatores, que afetam os teores de glicogênio e oxigênio residual da carne, nenhum dos quais é afetado pelo sistema de evisceração. A única maneira, pela qual o tipo de evisceração poderia ter alguma influência sobre o pH da carne, seria indireta, por meio de uma diferença na contaminação das carcaças, o que, como mostrado no Quadro 1, não ocorreu.

Quadro 3 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do pH de carne de rã estocada sob congelamento ($-18 \pm 2^\circ\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	0,0012ns
Erro a	4	0,0022
Tempo	(6)	(0,0158)
Regressão	2	0,0329ns
Desvio da Regressão	4	0,0072ns
Evis x Tempo	6	0,0012ns
Erro b	24	0,0118

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

Os valores de pH oscilaram entre 5,91 no tempo zero (6 horas após o abate) até 5,97 (após 90 dias de estocagem). Posteriormente, houve uma queda, mantendo-se praticamente constante em 5,92, a partir dos 150 dias de estocagem.

A literatura é conflitante com respeito às mudanças de pH do pescado, durante o armazenamento congelado, não sendo possível chegar a um acordo a respeito do comportamento do pH. Para MILLS (1975), a constante produção de ácidos e as bases justificariam este comportamento, ao longo da estocagem.

CORRÊA (1988) não encontrou diferença de pH entre carnes de rã-touro resfriadas e congeladas, embora os valores de pH por ela encontrados tenham sido superiores aos encontrados no presente estudo. Esta diferença pode ser devida à época de abate, idade, alimentação, período de jejum pré-abate etc. (MILLS, 1975).

O RIISPOA (BRASIL, 1980) estabelece limites máximos de pH de 6,5 e 6,8, para pescado fresco nas regiões interna e externa da carne, respectivamente. Estes limites não foram atingidos em nenhum instante, ao longo do período de estocagem, mostrando, juntamente com os resultados das análises microbiológicas, que a carne de rã pode ser considerada fresca e de boa qualidade, se conservada nas condições estabelecidas.

Os resultados, apresentados no Quadro 4, mostram que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos níveis de NNP entre os tipos de evisceração, nem ao longo do tempo de estocagem. O sistema de congelamento utilizado pode ter minimizado as alterações (hidrólise e desnaturação protéica e a utilização de aminoácidos pelos microrganismos) na fração nitrogenada, justificando, assim, as pequenas variações dos teores de NNP no tempo.

A utilização de baixas temperaturas de estocagem inibe, em grande parte, ou totalmente, a atividade proteolítica endógena e microbiana, pelo que não é esperada a produção de compostos de baixo peso molecular, originários de hidrólise protéica. Associado a isto, como não houve crescimento microbiano (Figura 1), é de se esperar que os níveis de NNP permaneçam praticamente constantes, durante o armazenamento. No presente estudo, o teor de NNP variou

Quadro 4 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do NNP de carne de rã estocada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	58,1509ns
Erro a	4	707,0600
<hr style="border-top: 1px dashed black;"/>		
Tempo	(6)	(118,4367)
Regressão	2	140,2111ns
Desvio da Regressão	4	107,5496ns
Evis x Tempo	6	102,5618ns
Erro b	24	331,7371

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

entre 235 e 268 mg de N/100 g de amostra, evidenciando a eficiência do armazenamento sob congelamento. Este resultado é concordante com vários autores, citados por CORRÊA (1988), os quais observaram que a fração do nitrogênio não-protéico manteve-se constante, durante o armazenamento sob congelamento de diferentes tipos de pescado.

O Quadro 5 mostra que não houve diferença significativa ($P>0,05$), entre os tipos de evisceração, quanto aos teores de bases voláteis totais (BVT), porém houve um incremento ($P<0,05$) constante ao longo do tempo (Figura 2).

LAKSHMANAN et al. (1992), estudando peças de pescado congelado, encontraram um incremento nos valores de BVT durante o tempo de estocagem. O incremento era maior, à medida que se elevava a temperatura de estocagem.

De acordo com KUAYE (1982), pertencem ao grupo das bases nitrogenadas compostos voláteis característicos de mudanças químicas e microbiológicas, que ocorrem no músculo do pescado durante a deterioração. Dentre estas substâncias, a amônia é, aparentemente, uma das mais importantes, principalmente em espécies de água doce, nas quais o OTMA (óxido de trimetilamina) e a TMA (trimetilamina) estão praticamente ausentes (KUAYE, 1982 e CONTRERAS, 1994).

Quadro 5 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do teor de BVT de carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	1,7815ns
Erro a	4	1,3966
(Tempo)	(6)	(62,7876)
Regressão	1	340,0629*
Desvio da Regressão	5	7,3325ns
Evis x Tempo	6	0,2557ns
Erro b	24	1,3171

* Significativo em 5% de probabilidade.

ns Não-Significativo em 5% de probabilidade.

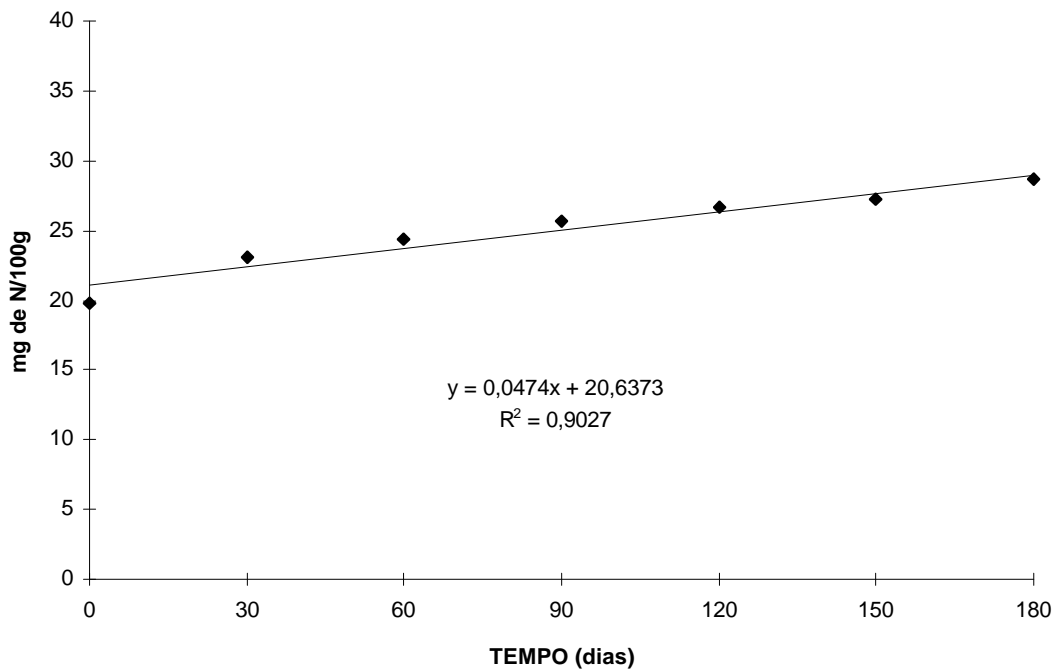


Figura 2 - Variação das bases voláteis totais (BVT) da carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C).

Diversos mecanismos de formação de amônia são relatados na literatura, destacando-se a degradação do ATP e de aminoácidos, assim como a hidrólise da uréia, todos eles provocados pela ação de enzimas autolíticas e microbianas que, apesar da baixa temperatura de estocagem, mostram ainda uma pequena ação hidrolítica (KUAYE, 1982; BERAQUET e LINDO, 1985 e SIKORSKI et al., 1994a).

Apesar do aumento do teor de BVT até aos níveis próximos aos 30 mg de N/100 g, estipulados pela legislação (BRASIL, 1980) como índice de frescor de pescado, a carne de rã-touro congelada não atingiu este limite até aos 180 dias de estocagem e não apresentou nenhum sinal de deterioração, que possa levar à sua condenação.

Como mostrado no Quadro 6, os valores de TBA, ao longo da estocagem, variaram significativamente ($P < 0,05$). Porém, não houve diferença significativa entre os dois sistemas de evisceração estudados.

Quadro 6 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão do número de TBA de carne de rã estocada sob congelamento ($-18 \pm 2^\circ\text{C}$)

Fontes de Variação	GL	QM
Evisceração (Evis)	1	0,0003ns
Erro a	4	0,0008

(Tempo)	(6)	(0,0293)
Regressão	3	0,0311*
Desvio da Regressão	3	0,0276*
Evis x Tempo	6	0,0015ns
Erro b	24	0,0074

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

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

Este resultado é esperado, pois, apesar da utilização de temperaturas de estocagem abaixo do ponto de congelamento, os sistemas enzimáticos da carne de rã e microbianos, responsáveis pela oxidação de lipídios, continuam tendo

atividade, pelo que ocorrem lipólise e oxidação de lipídios (SIKORSKI et al., 1994a).

Apesar de o desvio da Regressão do tempo mostrar-se significativo em nível de 5% de significância ($P < 0,05$), este valor unicamente ilustra a existência de outro modelo matemático, que poderia explicar melhor o comportamento do TBA, ao longo da estocagem sob congelamento. Dentre os modelos matemáticos disponíveis e estudados, o modelo cúbico foi o que apresentou o maior coeficiente de determinação ($R^2 = 0,5234$).

Como pode ser visto na Figura 3, os valores de TBA mantiveram-se, relativamente, constantes durante os 30 primeiros dias de estocagem, apresentando um incremento acentuado, a partir dos 30 dias e atingindo o seu valor máximo, após 120 dias de congelamento. O decréscimo posterior deve-se à degradação do malonaldeído e à reação de outras substâncias reativas ao TBA, com outros constituintes dos alimentos (TARLADGIS et al., 1960 e SHAMBERGER et al., 1977), gerando compostos que não são determinados pelo teste do TBA.

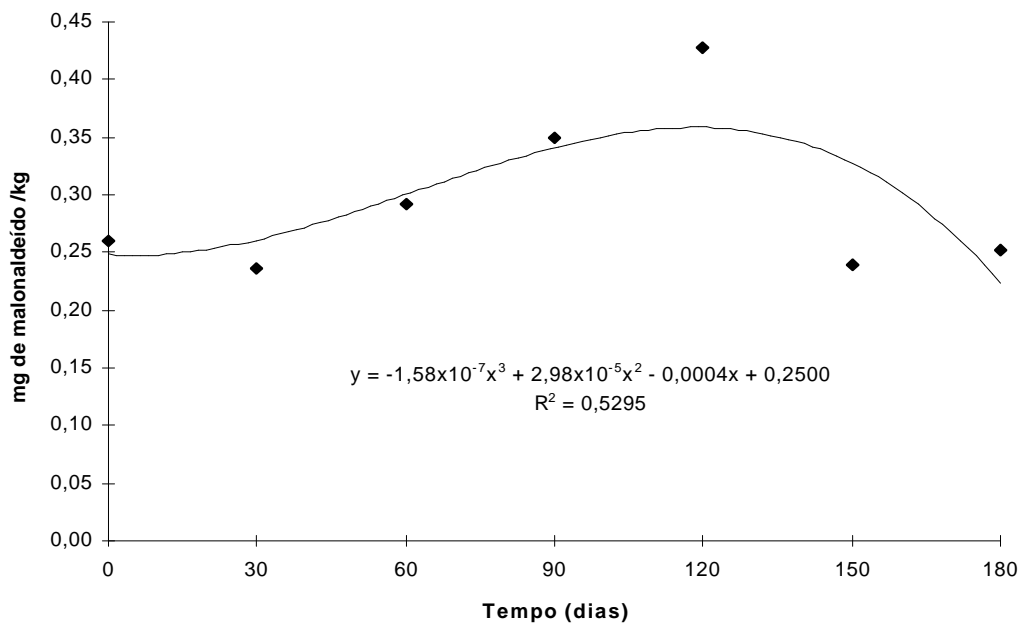


Figura 3 - Variação do número de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) da carne de rã estocada sob congelamento ($-18 \pm 2^\circ\text{C}$).

REDDY et al. (1981), trabalhando com camarão-gigante da Malásia (*Macrobrachium rosenbergii*), obteve resultados similares. Na estocagem sob congelamento (-18°C), durante 180 dias, valores máximos de TBA foram detectados no quarto mês de estocagem (120 dias), independentemente do sistema de estocagem utilizado (embalagem a vácuo, em gelo etc.), diminuindo para valores próximos ao inicial, nos quinto e sexto meses de estocagem.

Segundo KE et al. (1984), as carnes de rã seriam consideradas rancificadas, quando apresentassem valores de TBA superiores a 8 µmol TBARS/kg (0,576 mg MA/kg). Já CONNELL (1975) indica valores de TBA entre 1 e 2 mg malonaldeído/kg como limite de percepção de ranço em pescados.

De acordo com estes critérios de classificação, a carne de rã-touro está abaixo do limiar de percepção do sabor rançoso.

CORRÊA (1988) e LEMOS e ANTUNES (1993/94) determinaram o índice de peróxido da carne de rã-touro, estocada sob congelamento (-18°C) durante 182 dias. Os resultados reportados mostraram um comportamento similar àquele do número de TBA. Os valores do índice de peróxido aumentaram, desde 14,2 até 47,1 depois de três meses de estocagem, diminuindo para 8,8 após seis meses de estocagem. A diminuição dos valores de peróxido seriam devidos à decomposição e à degradação dos hidroperóxidos até aos compostos carbonílicos.

3.3. Análise sensorial

O resumo da Análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais, em função do tipo de evisceração e do tempo de estocagem, é apresentado no Quadro 7. O painel de provadores não detectou diferença ($P > 0,05$) entre os dois sistemas de evisceração para os atributos sensoriais, os quais, à exceção da limosidade, variaram ($P < 0,05$) ao longo do tempo de estocagem.

A Figura 4 mostra a evolução dos escores sensoriais e o Quadro 8, os seus respectivos modelos, ajustados com os coeficientes de determinação.

Quadro 7 - Resumo da Análise de Variância e da Regressão dos atributos sensoriais da carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C)

FV	GL	QM _{ODOR}	QM _{TEXT}	QM _{LIMO}	QM _{COR}	QM _{BRI}
Provador	7	5,4146	13,7796	2,8892	17,6478	8,9969
Evisceração (Evis)	1	0,4629ns	0,0014ns	0,7394ns	1,7751ns	0,7072ns
Erro a	7	1,9882	1,6198	0,6094	1,4204	0,9436
(Tempo)	(6)	(6,8735)	(4,7243)	(1,4418)	(9,9243)	(3,3271)
Regressão	3	10,4180*	7,1127*	0,9687ns	10,7508*	6,5215*
Desvio da Reg.	3	3,3291ns	2,3360ns	1,9148*	9,0977*	0,1326ns
Evis x Tempo	6	2,7799ns	0,7623ns	0,3548ns	2,6147ns	1,0306ns
Erro b	84	2,3634	1,3432	0,3998	2,5446	1,1346

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

ns Não-Significativo em 5% de probabilidade (P>0,05).

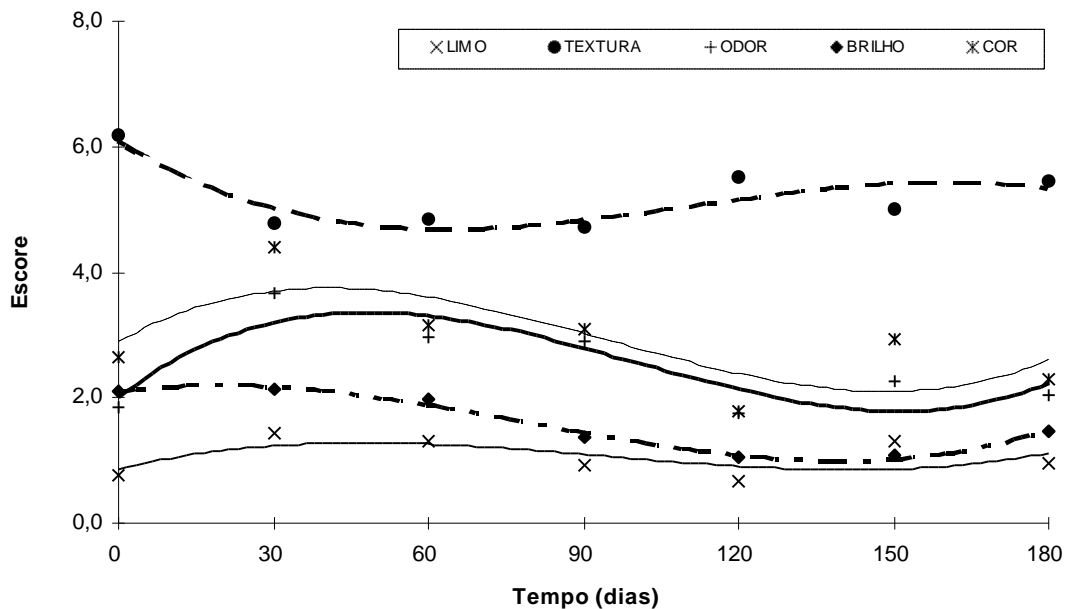


Figura 4 - Variação dos escores sensoriais limosidade, textura, odor, brilho e cor da carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C).

Quadro 8 - Modelos ajustados e seus coeficientes de correlação das curvas apresentadas na figura anterior (x=tempo de estocagem e y=atributo sensorial correspondente)

ATRIBUTO	MODELO	R ²
Limosidade	$y = 1,016 X 10^{-6} x^3 - 0,0003x^2 + 0,0205x + 0,8829$	0,3359
Textura	$y = -1,7360 X 10^{-6} x^3 + 0,0006x^2 - 0,0522x + 6,1098$	0,7528
Odor	$y = 2,6880 X 10^{-6} x^3 - 0,0008x^2 + 0,0598x + 2,0079$	0,7578
Brilho	$y = 1,2990 X 10^{-6} x^3 - 0,0003x^2 + 0,0102x + 2,1046$	0,9800
Cor	$y = 2,5140 X 10^{-6} x^3 - 0,0007x^2 + 0,0451x + 2,9073$	0,5416

Analisando-se o comportamento dos escores dos atributos (Figura 4), percebe-se que todos eles apresentam um comportamento errático (crescimento, queda e novo crescimento), o que inviabiliza a sua utilização para avaliar a qualidade da carne de rã, embalada a vácuo e estocada sob congelamento.

De acordo com CORRÊA (1988), o odor de amostras aquecidas de carne de rã-touro congelada, foi diferente ($P < 0,05$) daquele apresentado por amostras frescas igualmente preparadas. Embora esta diferença também tenha sido detectada ($P < 0,05$), no presente estudo, do ponto de vista prático, esta variação pode ser considerada de pouca utilidade, em razão da sua magnitude, uma vez que os escores variaram dentro de uma faixa de 1,7 ponto durante o tempo de estocagem (de 1,8 até 3,5, aproximadamente), dentro de 15 pontos disponíveis na escala. O painel jamais notou a presença de odor desagradável.

A ausência de odor desagradável em qualquer dos tempos de estocagem é de se esperar, já que as contagens microbiológicas, relacionadas com o aparecimento de odor, jamais atingiram níveis ($\geq 10^7/g$), indicados por ZOTTOLA (1988) e por Ayres, citado por JAY (1986), que levassem à deterioração deste atributo.

Ao longo da estocagem, foi percebida uma perda da elasticidade normal da carne, tomando características de flacidez. Esta variação na textura pode ser

relacionada com a desnaturação protéica (SHENOUDA, 1980) e com as perdas de exudado, ocorridas durante o descongelamento das amostras. Porém, a textura jamais foi um atributo que comprometesse a qualidade sensorial da carne congelada.

O painel não detectou características de textura ressecada, uma vez que as carcaças foram embaladas, evitando-se os problemas de sublimação.

Os escores de limosidade variaram, de forma errática, entre 0,7 e 1,3, durante os 180 dias de estocagem. Apesar de a Análise de Regressão detectar uma variação significativa ($P < 0,05$), ao longo da estocagem, a variação, do ponto de vista prático, foi imperceptível. Este comportamento é compreensível, uma vez que a limosidade é um sinal de elevada putrefação e visível, quando, segundo Ayres, citado por JAY (1986), as contagens microbiológicas são superiores a 10^8 UFC/g. No presente estudo, as contagens não excederam 10^4 UFC/g, durante os 180 dias de estocagem congelada, o que explica os baixos escores de limosidade (inferiores a 1,5, em uma escala de 15 pontos) e a sua ausência na superfície da carne de rã.

O modelo matemático, utilizado para a regressão cúbica dos valores de limosidade, não foi significativo ($P > 0,05$), enquanto o desvio da regressão foi significativo em 5% de probabilidade ($P < 0,05$). No entanto, de todos os modelos matemáticos testados, a equação cúbica apresentada foi a que melhor representou o comportamento dos dados obtidos.

Apesar de os escores de brilho terem apresentado uma variação significativa, durante a estocagem sob congelamento (Quadro 7), esta variação foi extremamente pequena, não caracterizando uma alteração do ponto de vista prático.

Estes resultados estão em contradição com os reportados por Reay, citado por MILLS (1975), que afirma que o pescado descongelado tem menos brilho do que o pescado fresco e que este brilho depende do histórico da cadeia do frio do produto. No entanto, esta perda de brilho estaria relacionada com perdas por sublimação e evaporação superficial do produto, durante a estocagem e perdas

por gotejamento (“drip loss”) no descongelamento. No entanto, estes processos foram evitados, ou minimizados, com o tipo de acondicionamento, utilizado no presente estudo.

À semelhança do brilho, os escores de cor, apesar de terem apresentado uma variação significativa, durante a estocagem sob congelamento (Quadro 7), esta variação não caracteriza uma alteração do ponto de vista prático, tornando difícil a utilização deste atributo, como índice de qualidade de carne de rã-touro, embalada a vácuo e estocada sob congelamento.

Esta ausência de variação da cor, durante a estocagem sob congelamento, é de se esperar, já que nenhum dos fatores que a poderiam alterar como: contagens microbianas acima de 10^6 - 10^7 UFC/g (ZOTTOLA, 1988), queima pelo frio etc. fizeram-se presentes (JUDGE et al., 1989). As contagens microbiológicas mantiveram-se sempre abaixo de 10^5 UFC/g, com tendência de queda, e a queima pelo frio foi evitada pela embalagem da carne de rã em sacos de polietileno.

Embora o desvio da regressão tenha sido significativo ($P < 0,05$), o modelo cúbico, utilizado para equacionar as notas, atribuídas pelo painel sensorial para cor, foi o que apresentou melhor ajuste dentre os analisados.

CORRÊA (1988), avaliando a aparência e a impressão global de carne de rã-touro, encontrou diferença significativa ($P < 0,01$) entre a carne fresca e a carne congelada, previamente aquecidas.

A maioria dos coeficientes de correlação (Quadro 9), entre os atributos sensoriais, índices físico-químicos e análises microbiológicas, foi baixo, ilustrando, por um lado, o excelente estado de conservação da carne de rã, após 180 dias de estocagem e, por outro, a pouca utilidade das avaliações sensorial e físico-química da carne de rã congelada, com a finalidade de determinar a qualidade da carne de rã, embalada a vácuo e estocada sob congelamento.

Quadro 9 - Coeficientes de correlação entre as análises físico-químicas, análises microbiológicas e atributos sensoriais de carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C), durante 180 dias¹

	pH	BV	NP	TBA	MS	PS	FL	LM	TX	OD	BR	CR
pH	1											
BV	0,65	1										
NP	0,49	0,18	1									
TBA	0,27	0,22	0,64	1								
MS	-0,51	-0,82	0,08	0,24	1							
PS	0,34	-0,24	0,20	0,34	0,49	1						
FL	0,03	-0,57	-0,21	-0,43	0,15	0,34	1					
LM	0,42	0,06	-0,25	-0,65	-0,35	0,28	0,62	1				
TX	-0,90	-0,40	-0,33	0,05	0,35	-0,49	-0,27	-0,72	1			
OD	0,60	-0,11	0,15	-0,30	-0,07	0,48	0,71	0,78	-0,83	1		
BR	-0,34	-0,77	-0,47	-0,50	0,40	0,17	0,83	0,33	0,08	0,47	1	
CR	0,31	-0,33	0,02	-0,56	0,01	0,32	0,80	0,82	-0,63	0,92	0,60	1

¹ BV: bases voláteis totais, NP: nitrogênio não-proteico, MS: logaritmo da contagem de mesófilos, PS: logaritmo da contagem de psicrótrópicos, FL: logaritmo da contagem de fungos e leveduras, LM: limosidade, TX: textura, OD: odor, BR: brilho e CR: cor.

4. CONCLUSÕES

A carne de rã, conservada sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 180 dias, apresentou poucas alterações físico-químicas, microbiológicas ou sensoriais, que possam comprometer sua vida útil, durante este período.

O sistema de evisceração alternativo mostrou-se superior ao tradicional, por apresentar menor contaminação com coliformes e por necessitar de menos operadores na linha de abate (oito contra nove).

A determinação de Bases Voláteis Totais (BVT) foi o melhor índice físico-químico de qualidade, apresentando crescimento constante, ao longo do tempo de estocagem. Porém, o limite estabelecido para pescados, pela legislação (30 mg N/100 g), não foi atingido, mesmo após 180 dias de estocagem.

Nenhum dos atributos sensoriais estudados (limosidade, textura, odor, brilho e cor) mostrou um comportamento que permita a sua utilização, como índice de qualidade de carne de rã congelada.

RESUMO E CONCLUSÕES

Foi estudada a qualidade microbiológica (contagens de mesófilos, psicrotróficos, fungos e leveduras, e NMP de coliformes totais e fecais), físico-química (pH, NNP, BVT e TBA) e sensorial (limosidade, textura, odor, brilho e cor) de carcaças de rãs (*Rana catesbeiana*) evisceradas segundo o sistema tradicional (remoção da pele anterior à evisceração) e alternativo (remoção da pele após a evisceração), e estocadas sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$), ou sob congelamento ($-18\pm 2^{\circ}\text{C}$).

Os resultados obtidos levaram às seguintes conclusões:

O sistema de evisceração alternativo é superior ao tradicional, por levar a uma menor contaminação por coliformes e por necessitar de menos operários na linha de abate (oito contra nove).

As contagens microbiológicas indicam que a carne de rã resfriada está apta para o consumo, até o oitavo dia de estocagem, e que a carne de rã congelada pode ser comercializada, até 180 dias de estocagem.

As contagens de mesófilos e psicrotróficos foram os melhores índices de qualidade para a carne de rã, estocada sob refrigeração.

BVT foi o melhor índice físico-químico para determinar a qualidade da carne de rã.

A análise sensorial mostrou pouca utilidade para se determinar o grau de qualidade (estado de frescor) da carne de rã congelada. Para a carne estocada, sob refrigeração, o odor mostrou-se o atributo mais eficiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBINATI, F.L. **Avaliação de diferentes métodos de insensibilização e sangria de rãs.** Viçosa, MG. 69p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, 1994.
- ALFORD, J.A. Effect of incubation temperature on biochemical tests in the genera *Pseudomonas* and *Achromobacter*. **J. Bacteriol.**, v.79, p.591-3, 1960.
- ALFORD, J.A., PIERCE, D.A. Production of lipase by *Pseudomonas fragi* in a synthetic medium, **J. Bacteriol.**, v.86, p.24-8, 1963.
- ANDREWS, W.H., WILSON, C.R., POELMA, P.L. et al. Comparison of methods for the isolation of *Salmonella* from imported frog legs. **Appl. Environm. Microbiol.**, v.33, n.1, p.65-8, 1977.
- APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compedium of methods for the microbiological examination of foods.** 2. ed. Washington, DC, 1984. 914p.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS-ABIA. **Compêndio da legislação de alimentos: consolidação das normas e padrões de alimentos.** São Paulo, 1985. v.1: Atos do Ministérios da Saúde.
- AYAPPAN PILLAI, S. Development of an apparatus for humane method of killing frogs for frogleg processing industry. **Food Sci. Technol. Abst.**, v.18, n.9, p.177, 1986. (Abstract).

- AYUB, C.L.S.C. Aspectos do mercado de rãs na França: consumo, comércio e criação. In: INTERNATIONAL MEETING OF FROG RESEARCH AND TECHNOLOGY, 1: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: ABETRA/UFV, 1995. p.49-60.
- AZEVEDO, S., OLIVEIRA, C.C. Composição química e análise microbiológica de carne de rã. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 6, 1988, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Associação dos Ranicultores do Estado de Rio de Janeiro, 1988. p.262-70.
- BERAQUET, N.J., LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas “post mortem” em pescado. **Bol. ITAL.** v.22, n.2, p.169-92, 1985.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.** Brasília, DF, 1980. 166p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Técnicas de abate de rãs, como perspectivas de um melhor aproveitamento higiênico-sanitário dos produtos obtidos.** Brasília, DF, s.d. 12p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e da Reforma Agrária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Decreto nº 81.771, 7 jun. 1978. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n. 156, p.11937, 17 de ago. 1978. Seção 1, pt.
- CHARM, S.E., LEARSON, R.J., RONSIVALLI, L.J. et al. Organoleptic technique predicts refrigeration shelf life of fish. **Food Technol.**, v.22, p.65-8, 1972.
- CHAVES, J.B.P. **Metodologia de pesquisas em alimentos.** [s.l.: s.n., s.d.]. (Mimeograf.).
- CHAVES, J.B.P. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas.** Viçosa, MG: UFV, 1993. 81p.
- CODEX ALIMENTARIUS. Proyecto - Código de prácticas higiénicas para la elaboración de ancas de rana. [s.l.]: FAO/OMS, s.d. n.p.
- CODEX ALIMENTARIUS. Recommended international code for hygienic practice for the processing of frog legs. Rome, FAO, 1984. v.c. n.p.
- CONNELL, J.J. **Control of fish quality.** London: Fishing News Books, 1975. 179p.
- CONTRERAS, E. **Bioquímica de pescados e derivados.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409p.

- CORNEJO, M. P. I. **Avaliação da qualidade organoléptica, química e microbiológica de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantida à temperatura ambiente e sob gelo.** Viçosa, MG. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, 1988.
- CORRÊA, A.L.S. **Avaliação composicional de diferentes espécies de rãs e efeitos do armazenamento a -18°C sobre as frações protéicas e lipídicas do músculo de rã touro (*Rana catesbeiana*).** Campinas. 123p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, 1988.
- CRESPO, F.L. **Técnicas analíticas de control de calidad en las industrias cárnicas.** Córdoba: s.n., 1990. (Mimeograf.).
- DAUDIN, J.D. La congelación. In: GIRARD, J.P. (Ed.). **Tecnología de la carne y de los productos cárnicos.** Zaragoza: Acribia. 1991. p.1-33.
- DUBOIS, G., BEAUMIER, H., CHARBONNEAU, R. Inhibition of bacteria isolated from ground meat by Streptococcaceae and Lactobacillaceae, **J. Food Sci.**, v.44, p.1649-52, 1979.
- FARBER, L. Freshness tests. In: BORGSTROM, G (Ed.). **Fish as food.** New York, Academic Press, 1965. v. 4. p.65-126.
- FONSECA, S.P. Abate Humanitário: "não há nenhuma razão para que o governo demore para liberar a lei". **R. Nac. Carne.**, v.215, n.1, p.52-60, 1995.
- FORREST, J.C., ABERLE, E.D., HEDRICK, H.B., et al. **Fundamentos de la ciencia de la carne.** Zaragoza: Acribia, 1979. 364p.
- FRAZIER, W.C., WESTHOFF, D.C. **Microbiología de los alimentos.** 3. ed. Zaragoza: Acribia, 1985. 522p.
- GÓES, J.A.W. **Efeito do atraso no resfriamento sobre a caracterização da qualidade da tilápia (*Oreochromis niloticus*) conservada com gelo.** Lavras. 118p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1987.
- GOLL, D.E. Role of proteinases and protein turnover in muscle growth and meat quality. In: ANNUAL RECIPROCAL MEAT CONFERENCE, 44, 1991, Manhattan. **Proceedings...** Manhattan: American Meat Science Association, 1991. p.25-33.
- GOMIDE, L.A.M. **Integration of production and postmortem technologies for improvement of USDA select grade beef.** West Lafayette: 165 p. Dissertação (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Purdue University, 1992.

- HOYLAND, D.V., TAYLOR, A.J. A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. **Food Chem.**, v.40, p.271-291, 1991.
- JASPER, W., PLACZEK, R. **Conservación de la carne por el frío**. Zaragoza: Acribia, 1978. 131p.
- JAY, J.M. **Modern food microbiology**. 3. ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1986. 642p.
- JUDGE, M.D., ABERLE, E.D., FORREST, J.C. et al. **Principles of meat science**. 2. ed. Bubuque: Kendall/Hunt, 1989. 351p.
- KAI, M., MORAIS, C. de. Vias de deterioração do pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, 1988, Santos. **Controle de qualidade de pescado ...** Santos: Ed. Universitária Leopoldina, São Paulo: Loyola, 1988. p.13-20.
- KE, P.J. CERVANTES, E., ROBLES-MARTÍNEZ, C. Determination of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in fish tissue by an improved distillation-spectrophotometric method. **J. Sci. Food Agric.** v.35, p.1248-54, 1984.
- KHAYAT, A., SCHWALL, D. Lipid oxidation in seafood. **Food Technol.**, v.37, p.130-40, 1983.
- KRAFT, A.A. Psychrotrophic organisms. In: PEARSON, A.M., DUTSON, T.R. (Ed.). **Advances in meat research**. Wesport: Elsevier Applied Science. 1986. v.2, p.191-208.
- KUAYE, A.Y. **Comparação dos métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescado: parâmetros críticos e modificações**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1982. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, 1982.
- LABUZA, T.P. **Shelf-life dating of foods**. Wesport: Food and Nutrition Press, 1982. 500p.
- LABUZA, T.P. An integrated approach to food chemistry: illustrative cases. In: FENNEMA, O. (Ed.). **Food chemistry**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1985. p.913-58.
- LAHIRY, N.L., MOORJANI, M.N., BALIGA, B.R. Factors influencing the keeping quality of fresh-water fish in ice. **Food Technol.**, v.15, p.123-5, 1963.

- LAKSHMANAN, P.T., VARMA, P.R., IYER, T.S.G. Studies on the quality changes of frozen fish in retail cold stores. **Food Sci. Technol Abst.**, v.24, n.2, p.190, 1992. (Abstract).
- LEITÃO, M.F.F. Microbiologia e deterioração do pescado fresco e refrigerado de origem fluvial e marinha. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, 1988, Santos. **Controle de qualidade de pescado ...** Santos: Ed. Universitária Leopoldina, São Paulo: Loyola, 1988. p. 35-47.
- LEMONS, A.L.S.C., ANTUNES, A.J. Changes in lipids of bullfrog (*Rana catesbeiana*) muscle during frozen storage and its relationship to myofibrillar proteins solubility. **Alim. Nutr.**, v.5, p.57-63, 1993/94.
- LIMA, S.L. **Comunicação pessoal.** (Ranário Experimental, UFV, Departamento de Biologia Animal, 36570-000 - Viçosa, Minas Gerais, Brasil). 1995.
- LIMA, S.L., AGOSTINHO, C.A. **A criação de rãs.** Rio de Janeiro: Globo, 1988. 187p.
- LIMA, S.L., AGOSTINHO, C.A. **A tecnologia de criação de rãs.** Viçosa, MG: UFV, 1992. 168p.
- LINDAU, C.F., NOLL, I.B. Determinação do valor nutritivo da carne de rã. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 6, 1988, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Associação dos Ranicultores do Estado de Rio de Janeiro, 1988. p.43-50.
- LISTON, J. Pescados, mariscos y sus productos. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS-ICMSF. (Ed.). *Ecología microbiana de los alimentos*, 2: productos alimenticios. Zaragoza: Acribia, 1980. p.573-612.
- LONGO, A.D. **Manual de ranicultura:** uma nova opção da pecuária. 3. ed. São Paulo: Ícone, 1986. 221p.
- MELLO, S.C.R.P. Situação da ranicultura e do mercado de carne de rãs no Brasil. In: INTERNATIONAL MEETING OF FROG RESEARCH AND TECHNOLOGY, 1: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: ABETRA/UFV, 1995. p.15-22.
- MELTON, S.L. Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. **Food Technol.**, v.37, p.105-11, 1983.
- MILLS, A. Measuring changes that occur during frozen storage of fish: a review. **J. Food Technol.**, v.10, n.5, p. 483-96, 1975.

- MONTIEL-MONTOYA, J. Freshness evaluation in 10 species of iced fish. In: SPIESS, W.E.L., SCHUBERT, H. (Ed.). **Engineering and food**. New York: Elsevier Applied Science, 1990. v.2, p.519-21.
- MOORJANI, M.N., BALIGA, B.R., VILJAYARANGA, B. et al. Post-rigor changes in nitrogen distribution and texture of fish during storage in crushed ice, **Food Technol.**, v.16, p.80-4, 1962.
- NISHIKAWA, A.M., ARANHA, S. Métodos físicos e químicos para controle de pescado. In: Seminário sobre controle de qualidade na indústria de pescado, 1988, Santos. **Controle de qualidade de pescado ...** Santos: Ed. Universitária Leopoldina, São Paulo: Loyola, 1988. p. 55-71.
- NIVEN, J.C.F. Microbiología y parasitología de la carne. In: PRICE J.F., SCHWEIGERT, B.S.(Eds.). **Ciencia de la carne y de los productos cárnicos**. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 2. ed. 1994. p.199-237.
- NOGUEIRA, M.G.A. **Microbiota fúngica em coxas de rãs** (*Rana catesbeiana* Shaw 1802). Belo Horizonte. 110p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia)-Universidade Federal de Minas Gerais, 1991.
- OLSON, J.C., NOTTINGHAM, P.M. Temperatura. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS-ICMSF. (Ed.). *Ecología microbiana de los alimentos*, 2: productos alimenticios. Zaragoza: Acribia, 1980. p.1-38.
- PACHECO, T.D.P. **Efeito da alimentação e do tempo de armazenamento sob a conservação e flora microbiana de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) mantidas a temperatura ambiente e sob gelo**. Lavras. 88p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos)-Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1988.
- PENNY, I.F. Enzimología de la maduración. In: LAWRIE, R. (Ed.). *Avances de la ciencia de la carne*. Zaragoza: Acribia, 1984. p.148-81.
- QUEIROZ, M.I., TREPTOW, R.O., SILVA, C.V. Avaliação objetiva da textura do pescado estocado em gelo. **Bol. SBCTA**, v. 25, n.2, p.96-8, 1991.
- QUEIROZ, V.M.V., COELHO, A.I.M., SANT'ANA, H.M.P., et al. Carne de rã: fatores de correção e de rendimento. In: INTERNATIONAL MEETING OF FROG RESEARCH AND TECHNOLOGY, 1: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8, 1995, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: ABETRA/UFV, 1995. p.123.

- REDDY, S.K., NIP, W.K., TANG, C.S. Changes in fatty acids and sensory quality of fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) stored under frozen conditions. **J. Food Sci.**, v.46, p.353-6, 1981.
- RODRIGUES, R.L., LEITE, M.O., FRANCO, R.M. et al. Avaliação bacteriológica de carne de rã (*Leptodactylus sp*) congelada, comercializada em Niterói, RJ. **Higien. Alim.**, v.8, n.31, p.19-24, 1994.
- SANG, F.C., HUGH-JONES, M.E., HAGSTAD, H.V. Viability of *Vibrio cholerae* 01 on frog legs under frozen and refrigerated conditions and low dose radiation treatment, **J. Food Protect.**, v.50, n.8, p.662-4, 1987.
- SARVADEVA, A., SRIKAR, L.N. Changes in fatty acids of frog legs during frozen storage. **J. Food Technol.**, v.17, p. 79-85, 1982.
- SHAMBERGER, R.J. SHAMBERGER, B.A., WILLIS, C.E. Malonaldehyde content of food, **J. Nutr.**, v.107, p.1404-9, 1977.
- SHENOUDA, S.V. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. **Adv.Food Res.**, v.26, p.275-311, 1980.
- SHIRIVASTAVA, K.P. The Occurrence of salmonellas in raw frozen frog legs. **J. Appl. Bacteriol.**, v.45, p.407-10, 1978.
- SIKORSKI, Z., KOLAKOWSKA, A. Congelación de alimentos marinos. In: SIKORSKI, Z. (Ed.). **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación.** Zaragoza: Acribia, 1994. Cap. 7, p.149-68.
- SIKORSKI, Z., KOLAKOWSKA, A., BURT, J.R. Cambios bioquímicos y microbianos subsiguientes a la captura. In: SIKORSKI, Z. (Ed.). **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación.** Zaragoza: Acribia, 1994a. Cap. 4, p.73-101.
- SIKORSKI, Z., KOLAKOWSKA, A., PAN, B.S. Composición nutritiva de los principales grupos de animales marinos utilizados como alimento. In: SIKORSKI, Z. (Ed.). **Tecnología de los productos del mar: recursos, composición y conservación.** Zaragoza: Acribia, 1994b. Cap. 3, p. 39-72.
- SIKORSKI, Z., OLLEY, J., KOSTUCH, S. Protein changes in frozen fish, **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.8, n.1, p.97-129, 1976.
- SILVA, D.L. Mercado de rãs no Brasil. In: INTERNATIONAL MEETING OF FROG RESEARCH AND TECHNOLOGY, 1: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8, 1995, Viçosa. **Anais...Viçosa, MG: ABETRA/UFV, 1995.** p.23-25.

- SILVA, N.R., OLIVEIRA, L.A.T. Ocorrência de salmonela na carne de rã (*Rana catesbeiana*, Shaw - 1802), **Higien. Alim.**, v.31, n.8, p.36-40, 1994.
- TARLADGIS, B.G., WATTS, B.M., YOUNATHAN, M.T. A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods, **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v.37, n.1, p.44-8, 1960.
- WISEU, A. Frog Culture and frog meat market situation in the United States of America. In: INTERNATIONAL MEETING OF FROG RESEARCH AND TECHNOLOGY, 1: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8, 1995, Viçosa. **Anais...**Viçosa, MG: ABETRA/UFV, 1995. p.47-8.
- YU, T.C., SINHUBER, R.O. 2-Thiobarbituric acid method for the measurement of rancidity in fishery products. **Food Technol.**, v. 11, p.104-8, 1957.
- ZOTTOLA, E. **Introduction to meat microbiology**. Washington: American Meat Institute, (1988). 1v.

APÉNDICE

APÊNDICE

Quadro 1A - Resultados das análises microbiológicas da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)

EVISC.	TEMPO	REPET	MES	PSI	FUN	CTOT	CFEC
Tradic.	0	1	4,22	3,53	1,00	200	<1
Tradic.	0	2	4,23	4,07	1,00	1.100	90
Tradic.	0	3	3,75	3,18	1,00	200	<1
Altern.	0	1	4,00	3,36	1,00	90	<1
Altern.	0	2	4,42	4,31	1,00	500	90
Altern.	0	3	3,18	3,00	1,00	<1	<1
Tradic.	2	1	4,01	3,84	1,00	23	<1
Tradic.	2	2	4,51	4,37	1,00	1.100	200
Tradic.	2	3	3,43	3,20	1,00	<1	<1
Altern.	2	1	3,06	3,00	1,00	9	<1
Altern.	2	2	4,14	4,04	1,00	200	200
Altern.	2	3	3,00	3,11	1,00	<1	<1
Tradic.	4	1	4,99	5,04	1,00	150	<1
Tradic.	4	2	4,68	4,76	1,00	2.000	900
Tradic.	4	3	5,04	5,48	1,00	1.100	<1
Altern.	4	1	4,60	4,78	1,00	40	<1
Altern.	4	2	4,67	4,59	1,00	230	90
Altern.	4	3	4,91	5,98	1,00	200	<1
Tradic.	7	1	4,30	4,30	1,00	200	<1
Tradic.	7	2	5,24	4,96	3,11	2.000	90
Tradic.	7	3	5,93	5,48	1,00	1.100	<1
Altern.	7	1	4,69	5,49	1,00	1.100	<1
Altern.	7	2	5,14	4,90	3,28	900	<1
Altern.	7	3	6,41	5,48	1,00	1.100	<1
Tradic.	10	1	5,20	5,93	1,00	90	<1
Tradic.	10	2	5,19	6,48	3,53	140	90
Tradic.	10	3	6,92	7,81	1,00	700	<1
Altern.	10	1	5,54	5,48	3,48	200	<1
Altern.	10	2	5,78	7,46	3,38	40	<1
Altern.	10	3	6,03	8,04	2,77	230	<1
Tradic.	15	1	7,26	6,48	3,42	1.100	<1
Tradic.	15	2	6,84	8,29	4,49	400	90
Tradic.	15	3	8,21	9,05	2,11	500	<1
Altern.	15	1	7,65	6,48	3,48	1.100	<1
Altern.	15	2	7,12	8,45	4,12	900	400
Altern.	15	3	9,33	9,00	2,43	700	<1

Quadro 2A - Resultados das análises físico-químicas da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)

EVISC	TEMPO	REPET	pH	BVT	NNP	TBA
Tradic.	0	1	5,90	16,31	246,80	0,22
Tradic.	0	2	5,70	19,57	219,22	0,45
Tradic.	0	3	5,91	19,41	231,14	0,18
Altern.	0	1	5,89	18,53	259,19	0,20
Altern.	0	2	5,43	19,19	259,60	0,35
Altern.	0	3	6,02	20,20	199,86	0,18
Tradic.	2	1	5,95	21,97	219,58	0,18
Tradic.	2	2	5,81	18,94	255,63	0,36
Tradic.	2	3	5,95	22,94	232,89	0,24
Altern.	2	1	5,91	22,50	235,55	0,18
Altern.	2	2	5,61	22,15	244,28	0,38
Altern.	2	3	5,94	25,16	242,17	0,32
Tradic.	4	1	5,93	24,58	206,52	0,18
Tradic.	4	2	5,95	20,81	186,45	0,32
Tradic.	4	3	5,87	26,94	214,67	0,26
Altern.	4	1	5,84	25,12	226,26	0,26
Altern.	4	2	5,83	24,60	186,91	0,26
Altern.	4	3	6,01	28,10	222,45	0,17
Tradic.	7	1	6,00	25,85	201,58	0,29
Tradic.	7	2	5,99	24,19	186,52	0,29
Tradic.	7	3	6,13	30,06	235,13	0,29
Altern.	7	1	6,05	26,85	222,59	0,30
Altern.	7	2	5,83	25,77	189,55	0,33
Altern.	7	3	6,12	31,23	236,27	0,31
Tradic.	10	1	6,08	26,09	189,55	0,26
Tradic.	10	2	5,91	24,73	204,88	0,29
Tradic.	10	3	5,91	31,21	196,52	0,28
Altern.	10	1	6,04	28,05	193,40	0,40
Altern.	10	2	5,94	26,55	199,15	0,33
Altern.	10	3	6,06	30,91	228,40	0,33
Tradic.	15	1	5,82	30,96	211,01	0,52
Tradic.	15	2	5,82	30,50	231,01	0,63
Tradic.	15	3	5,85	35,05	225,81	0,44
Altern.	15	1	5,90	35,42	248,69	0,41
Altern.	15	2	5,95	35,29	241,62	0,50
Altern.	15	3	6,11	36,45	252,45	0,37

Quadro 3A - Resultados da análise sensorial da carne de rã estocada sob refrigeração ($4\pm 1^{\circ}\text{C}$)

EVISC	TEMPO	PROV	LIMO	TEXTURA	ODOR	BRILHO	COR
Tradic.	0	1	0,8	4,3	1,8	2,0	2,4
Tradic.	0	2	0,0	5,7	1,7	1,8	3,7
Tradic.	0	3	0,2	5,7	1,0	0,0	1,5
Tradic.	0	4	0,5	5,6	2,5	2,7	4,1
Tradic.	0	5	2,0	5,1	1,7	2,7	3,0
Tradic.	0	6	0,3	3,9	0,7	0,3	0,9
Tradic.	0	7	0,2	5,4	1,3	1,3	2,0
Tradic.	0	8	0,4	6,2	0,4	0,4	0,4
Tradic.	0	9	0,7	6,0	0,6	0,7	0,8
Altern.	0	1	2,1	2,6	3,4	3,7	4,7
Altern.	0	2	0,3	4,8	1,4	1,2	3,7
Altern.	0	3	0,2	5,5	1,4	0,5	2,0
Altern.	0	4	0,5	6,1	2,0	2,9	3,5
Altern.	0	5	0,7	7,1	2,2	3,4	3,2
Altern.	0	6	0,2	3,7	0,2	0,3	0,5
Altern.	0	7	0,3	5,2	0,4	1,2	1,4
Altern.	0	8	0,4	6,2	0,4	0,4	2,3
Altern.	0	9	0,3	6,4	0,4	0,4	0,5
Tradic.	2	1	1,2	2,7	3,2	1,1	2,2
Tradic.	2	2	0,0	5,6	1,1	0,9	2,0
Tradic.	2	3	0,0	6,0	0,0	0,2	0,0
Tradic.	2	4	0,5	4,3	3,3	1,9	3,3
Tradic.	2	5	1,3	5,8	1,1	1,2	1,2
Tradic.	2	6	0,6	5,6	0,3	0,5	0,4
Tradic.	2	7	1,3	5,4	5,3	1,7	8,2
Tradic.	2	8	0,7	6,2	3,2	0,6	2,0
Tradic.	2	9	1,0	4,4	1,3	1,3	1,8
Altern.	2	1	1,1	3,0	1,6	1,9	3,1
Altern.	2	2	0,0	6,0	0,7	0,6	2,2
Altern.	2	3	0,0	6,0	0,2	0,0	0,0
Altern.	2	4	0,5	5,7	3,3	2,2	3,0
Altern.	2	5	0,8	7,0	0,9	1,3	1,0
Altern.	2	6	1,0	2,9	1,6	0,9	1,3
Altern.	2	7	1,0	7,9	7,7	1,9	8,7
Altern.	2	8	0,4	6,2	1,9	0,6	1,8
Altern.	2	9	1,0	4,4	1,1	0,9	0,7
Tradic.	4	1	2,8	3,5	1,4	1,8	4,0
Tradic.	4	2	0,6	3,9	0,9	1,0	1,5
Tradic.	4	3	0,0	5,5	0,1	0,0	0,0
Tradic.	4	4	0,5	4,0	1,6	1,1	3,0

Continua ...

Quadro 3A, Cont.

EVISC	TEMPO	PROV	LIMO	TEXTURA	ODOR	BRILHO	COR
Tradic.	4	5	2,3	4,7	1,3	3,1	1,5
Tradic.	4	6	1,6	1,7	2,3	5,6	5,6
Tradic.	4	7	1,0	6,9	2,3	1,0	2,3
Tradic.	4	8	0,6	4,3	2,7	2,4	3,0
Tradic.	4	9	2,2	3,3	2,8	1,1	1,9
Altern.	4	1	2,0	3,4	3,0	2,6	4,0
Altern.	4	2	0,8	5,7	3,3	0,5	1,5
Altern.	4	3	0,1	5,3	0,0	0,0	0,3
Altern.	4	4	1,0	4,6	1,6	0,4	2,2
Altern.	4	5	0,4	5,7	0,5	1,5	1,6
Altern.	4	6	1,1	3,6	1,2	0,7	0,7
Altern.	4	7	2,3	6,9	1,6	0,5	3,7
Altern.	4	8	0,6	3,3	2,7	0,7	4,1
Altern.	4	9	1,8	3,3	2,7	0,8	1,3
Tradic.	7	1	2,1	2,4	3,0	1,7	5,2
Tradic.	7	2	0,3	6,2	1,1	0,3	1,1
Tradic.	7	3	0,2	5,9	0,1	0,1	0,0
Tradic.	7	4	0,3	4,7	2,2	1,4	2,9
Tradic.	7	5	0,5	4,1	1,4	1,4	1,4
Tradic.	7	6	1,1	3,0	2,7	3,1	3,2
Tradic.	7	7	4,8	5,0	3,3	0,4	2,7
Tradic.	7	8	0,7	3,9	6,2	1,3	2,4
Tradic.	7	9	0,7	5,7	3,0	0,8	2,9
Altern.	7	1	2,0	2,8	3,4	2,5	3,1
Altern.	7	2	0,1	5,4	0,7	0,8	1,5
Altern.	7	3	0,2	4,9	1,7	1,9	0,1
Altern.	7	4	1,0	4,0	4,9	2,5	2,7
Altern.	7	5	1,8	7,4	2,8	1,4	1,3
Altern.	7	6	3,0	5,7	3,3	2,7	2,7
Altern.	7	7	1,2	3,8	5,8	0,8	4,7
Altern.	7	8	1,1	3,7	1,7	3,6	3,0
Altern.	7	9	1,1	3,9	1,2	1,2	2,7
Tradic.	10	1	1,9	3,6	2,7	3,5	3,9
Tradic.	10	2	1,2	4,4	3,0	0,4	3,6
Tradic.	10	3	1,3	4,1	6,9	0,5	4,8
Tradic.	10	4	2,6	3,0	5,8	2,3	4,4
Tradic.	10	5	1,0	4,0	4,3	1,5	0,6
Tradic.	10	6	1,4	1,9	3,5	1,7	2,0
Tradic.	10	7	0,5	6,8	2,1	0,5	1,5
Tradic.	10	8	1,9	4,4	6,5	2,9	6,7
Tradic.	10	9	1,0	4,0	1,6	0,9	1,9

Continua ...

Quadro 3A, Cont.

EVISC	TEMPO	PROV	LIMO	TEXTURA	ODOR	BRILHO	COR
Altern.	10	1	2,0	2,5	3,7	4,0	4,8
Altern.	10	2	0,4	4,6	3,6	0,1	3,0
Altern.	10	3	1,3	4,2	6,7	0,7	5,0
Altern.	10	4	0,9	2,7	5,0	1,9	4,4
Altern.	10	5	0,7	5,1	0,9	2,6	1,0
Altern.	10	6	1,4	1,1	5,7	2,1	2,5
Altern.	10	7	1,8	6,5	1,4	0,6	4,0
Altern.	10	8	2,7	3,4	8,6	2,4	7,8
Altern.	10	9	2,1	4,2	1,3	0,5	1,8
Tradic.	15	1	3,6	2,3	7,8	6,5	6,7
Tradic.	15	2	1,5	0,3	12,9	3,2	12,5
Tradic.	15	3	0,7	3,8	7,9	0,1	5,2
Tradic.	15	4	3,9	2,1	9,4	3,6	5,3
Tradic.	15	5	3,7	2,8	7,3	2,0	5,2
Tradic.	15	6	4,6	0,3	11,5	4,6	8,9
Tradic.	15	7	4,9	5,7	12,4	6,4	12,2
Tradic.	15	8	1,0	3,2	12,1	1,3	7,7
Tradic.	15	9	1,5	5,2	9,0	1,0	1,7
Altern.	15	1	2,1	1,2	7,1	7,2	7,7
Altern.	15	2	2,5	0,6	11,5	2,7	12,0
Altern.	15	3	1,7	6,4	8,1	5,5	4,8
Altern.	15	4	4,8	3,0	8,5	3,3	3,3
Altern.	15	5	3,7	4,2	5,9	1,3	2,1
Altern.	15	6	2,8	1,0	9,6	4,6	4,7
Altern.	15	7	5,9	7,2	8,3	2,5	3,6
Altern.	15	8	1,8	3,2	12,3	1,3	5,4
Altern.	15	9	4,9	3,7	11,2	1,0	2,8

Quadro 4A - Resultados das análises microbiológicas da carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C)

EVISC	TEMPO	REPET	MES	PSI	FUN	CTOT	CFEC
13	0	1	5,22	3,53	1,00	200	0
13	0	2	4,63	2,56	1,00	23	4
13	0	3	4,75	3,18	2,28	200	0
23	0	1	4,00	3,38	1,00	90	0
23	0	2	4,78	2,78	1,00	90	0
23	0	3	4,18	3,00	1,00	0	0
13	30	1	4,21	4,35	2,23	200	0
13	30	2	3,53	3,57	1,00	200	0
13	30	3	4,63	4,06	2,44	500	23
23	30	1	4,01	3,64	1,00	4	4
23	30	2	3,32	2,00	1,00	23	0
23	30	3	3,00	2,00	1,95	90	0
13	60	1	4,86	4,68	1,00	0	0
13	60	2	3,46	3,44	1,00	90	0
13	60	3	4,95	5,18	1,00	110	23
23	60	1	3,36	3,00	1,00	9	4
23	60	2	2,93	3,00	1,00	23	0
23	60	3	5,10	4,78	3,07	50	4
13	90	1	3,90	4,05	1,00	0	0
13	90	2	4,23	3,00	1,00	40	9
13	90	3	3,40	3,00	1,00	23	0
23	90	1	4,68	3,94	1,00	90	9
23	90	2	3,64	3,11	1,00	200	4
23	90	3	5,20	3,92	1,00	200	0
13	120	1	4,48	3,90	1,00	43	43
13	120	2	3,81	3,48	1,00	200	9
13	120	3	4,31	3,60	1,00	200	0
23	120	1	4,57	3,18	1,00	4	0
23	120	2	3,04	3,00	1,00	23	0
23	120	3	3,53	3,00	1,00	9	0
13	150	1	4,40	3,62	1,00	4	0
13	150	2	3,66	3,49	1,00	200	21
13	150	3	3,75	3,00	1,00	23	0
23	150	1	4,51	3,00	1,00	23	0
23	150	2	3,00	3,00	1,00	4	0
23	150	3	3,00	3,00	1,00	9	0
13	180	1	3,76	2,68	1,00	4	0
13	180	2	2,30	2,00	1,00	9	0
13	180	3	3,84	2,00	1,00	15	0
23	180	1	4,01	3,11	1,00	0	0
23	180	2	3,69	2,41	1,00	93	9
23	180	3	2,63	2,45	1,00	9	0

Quadro 5A - Resultados das análises físico-químicas da carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C)

EVISC	TEMPO	REPET	pH	BVT	NNP	TBA
Tradic.	0	1	5,90	16,31	246,80	0,2158
Tradic.	0	2	5,70	19,57	219,22	0,1844
Tradic.	0	3	5,91	19,41	231,14	0,4472
Altern.	0	1	5,89	18,53	259,19	0,1976
Altern.	0	2	5,43	19,19	259,60	0,1794
Altern.	0	3	6,02	20,20	199,86	0,3484
Tradic.	30	1	5,97	22,10	266,97	0,3614
Tradic.	30	2	5,92	24,05	235,67	0,2106
Tradic.	30	3	5,93	22,33	198,89	0,1560
Altern.	30	1	5,96	24,49	262,80	0,2756
Altern.	30	2	5,97	23,10	274,15	0,2236
Altern.	30	3	5,94	22,24	207,88	0,1898
Tradic.	60	1	5,95	25,40	209,14	0,4342
Tradic.	60	2	6,00	25,35	243,93	0,2236
Tradic.	60	3	5,88	22,07	238,38	0,1860
Altern.	60	1	5,96	25,45	231,07	0,4472
Altern.	60	2	5,98	24,07	245,69	0,2340
Altern.	60	3	5,88	23,48	237,94	0,2237
Tradic.	90	1	5,93	24,25	248,14	0,3042
Tradic.	90	2	6,06	26,32	259,42	0,4238
Tradic.	90	3	5,96	25,01	222,80	0,3666
Altern.	90	1	5,92	25,69	249,17	0,2938
Altern.	90	2	5,98	26,56	254,51	0,3588
Altern.	90	3	5,93	26,36	238,64	0,3484
Tradic.	120	1	6,00	27,16	241,28	0,3822
Tradic.	120	2	5,96	26,61	260,78	0,4602
Tradic.	120	3	5,85	25,38	236,72	0,3588
Altern.	120	1	5,90	27,44	235,15	0,3848
Altern.	120	2	6,02	27,67	249,86	0,5148
Altern.	120	3	5,86	25,37	240,68	0,4652
Tradic.	150	1	5,95	27,04	247,92	0,2158
Tradic.	150	2	5,92	26,45	228,38	0,2678
Tradic.	150	3	5,88	27,91	245,23	0,2548
Altern.	150	1	5,89	26,19	236,89	0,2184
Altern.	150	2	5,97	27,92	233,03	0,2470
Altern.	150	3	5,91	27,64	241,43	0,2366
Tradic.	180	1	5,88	27,21	261,50	0,2730
Tradic.	180	2	5,90	29,17	233,77	0,2444
Tradic.	180	3	5,95	29,59	223,21	0,2678
Altern.	180	1	5,85	27,65	222,60	0,2392
Altern.	180	2	5,92	28,92	234,31	0,2288
Altern.	180	3	6,00	29,18	234,26	0,2626

Quadro 6A - Resultados da análise sensorial da carne de rã estocada sob congelamento (-18±2°C)

EVISC	TEMPO	PROV	LIMO	TEXTURA	ODOR	BRILHO	COR
Tradic	0	1	0,6	7,5	1,4	1,7	1,4
Tradic.	0	2	0,0	6,8	2,1	3,1	4,2
Tradic.	0	3	0,3	6,4	0,0	0,4	0,2
Tradic.	0	4	3,0	4,4	6,4	6,5	7,8
Tradic.	0	5	0,5	7,3	0,5	1,1	1,2
Tradic.	0	6	0,3	7,5	0,6	0,5	0,9
Tradic.	0	7	0,6	6,4	1,7	1,1	2,4
Tradic.	0	8	0,5	6,4	1,0	0,3	1,5
Altern.	0	1	2,5	5,6	3,1	3,7	2,2
Altern.	0	2	0,4	5,4	3,0	1,3	4,7
Altern.	0	3	0,3	6,3	0,2	2,7	1,6
Altern.	0	4	1,7	5,0	4,8	6,5	6,5
Altern.	0	5	0,5	5,1	3,6	2,5	1,5
Altern.	0	6	0,6	4,8	0,4	0,3	0,2
Altern.	0	7	0,5	7,3	0,9	1,8	2,0
Altern.	0	8	0,2	7,2	0,3	0,4	4,4
Tradic	30	1	1,4	4,1	3,5	2,0	2,6
Tradic.	30	2	1,2	4,3	3,1	1,8	3,2
Tradic.	30	3	1,2	4,5	3,2	1,8	3,6
Tradic.	30	4	1,3	4,3	3,4	1,9	3,8
Tradic.	30	5	1,3	4,8	2,9	1,8	3,2
Tradic.	30	6	1,2	5,1	1,6	1,1	2,9
Tradic.	30	7	1,1	5,5	1,8	1,0	3,6
Tradic.	30	8	1,2	5,6	2,4	1,1	4,1
Altern.	30	1	3,9	2,6	4,2	5,3	8,5
Altern.	30	2	0,4	6,8	2,2	1,3	3,0
Altern.	30	3	0,5	6,8	1,2	0,4	1,6
Altern.	30	4	0,9	3,2	5,3	2,6	7,0
Altern.	30	5	2,3	3,4	8,3	4,3	7,8
Altern.	30	6	2,0	3,7	3,4	2,5	3,1
Altern.	30	7	2,0	4,6	6,2	2,1	7,4
Altern.	30	8	1,6	6,8	3,4	2,6	3,6
Tradic	60	1	1,2	5,2	3,7	2,1	3,4
Tradic.	60	2	0,7	4,5	7,8	4,1	7,3
Tradic.	60	3	0,9	5,3	1,3	1,6	1,4
Tradic.	60	4	0,8	5,1	2,1	1,0	0,9
Tradic.	60	5	0,8	7,1	1,6	1,4	0,8
Tradic.	60	6	1,7	1,7	3,6	3,5	3,3
Tradic.	60	7	1,6	5,9	2,3	1,4	6,6
Tradic.	60	8	0,7	4,1	4,8	0,7	2,4

Quadro 6A, Cont.

EVISC	TEMPO	PROV	LIMO	TEXTURA	ODOR	BRILHO	COR
23	60	1	3,3	2,8	5,8	5,5	6,8
23	60	2	1,8	3,9	1,6	2,4	6,7
23	60	3	0,2	6,6	0,7	0,4	0,6
23	60	4	2,8	5,7	1,9	1,4	0,8
23	60	5	1,1	5,7	1,3	1,2	1,5
23	60	6	1,5	2,2	2,9	2,3	3,2
23	60	7	1,6	4,1	3,5	1,8	2,3
23	60	8	0,6	7,6	3,0	1,1	3,2
13	90	1	1,6	1,8	3,7	4,2	5,9
13	90	2	0,7	4,1	2,6	0,7	3,5
13	90	3	1,2	5,6	6,2	0,2	2,3
13	90	4	0,7	6,6	1,4	0,6	1,0
13	90	5	0,4	6,8	1,4	0,7	2,3
13	90	6	1,2	2,4	2,0	1,2	2,5
13	90	7	0,9	7,6	7,1	1,9	5,0
13	90	8	0,4	4,1	1,1	2,4	4,4
23	90	1	1,6	2,2	3,7	4,2	6,5
23	90	2	1,0	4,6	2,4	0,7	3,3
23	90	3	0,4	4,1	3,8	0,2	0,8
23	90	4	0,6	6,2	1,8	0,8	1,3
23	90	5	0,4	7,0	0,6	0,4	1,1
23	90	6	1,6	1,5	2,1	1,8	2,2
23	90	7	2,2	6,5	5,8	1,2	6,0
23	90	8	0,4	4,9	1,1	1,3	2,1
13	120	1	1,0	3,4	2,0	2,9	3,3
13	120	2	0,5	5,1	1,8	1,4	3,3
13	120	3	0,1	5,5	1,0	0,1	0,3
13	120	4	0,5	6,2	1,2	0,6	2,2
13	120	5	0,3	6,8	0,8	0,6	0,7
13	120	6	1,1	3,6	0,4	0,7	0,8
13	120	7	0,6	5,5	2,3	0,5	1,1
13	120	8	0,4	6,5	3,4	1,0	2,3
23	120	1	1,9	3,7	3,9	3,2	4,8
23	120	2	0,6	4,9	0,9	0,5	2,1
23	120	3	0,3	6,3	1,3	0,3	0,2
23	120	4	0,5	6,7	1,0	0,6	1,5
23	120	5	0,3	8,0	1,5	0,6	1,0
23	120	6	1,3	4,6	1,2	1,4	0,8
23	120	7	1,2	5,3	2,4	1,0	2,0
23	120	8	0,4	6,5	3,4	1,8	2,4

Quadro 6A, Cont.

EVISC	TEMPO	PROV	LIMO	TEXTURA	ODOR	BRILHO	COR
13	150	1	2,5	4,1	2,5	2,8	3,6
13	150	2	2,3	4,2	1,8	1,2	4,1
13	150	3	1,2	5,2	1,8	0,5	1,7
13	150	4	0,8	4,8	2,6	1,3	1,6
13	150	5	0,6	7,0	1,3	0,6	1,0
13	150	6	1,1	1,3	1,2	1,3	1,5
13	150	7	0,7	6,4	0,7	0,8	5,8
13	150	8	2,5	4,9	3,9	1,7	2,5
23	150	1	2,9	3,5	5,2	2,1	4,9
23	150	2	2,7	4,9	4,4	1,0	4,8
23	150	3	0,5	5,9	1,4	0,5	1,3
23	150	4	0,4	4,4	2,7	0,5	2,6
23	150	5	0,8	6,9	1,6	0,6	2,5
23	150	6	1,0	3,3	0,6	0,5	2,4
23	150	7	0,6	7,0	0,9	1,0	3,2
23	150	8	0,5	6,5	4,1	1,3	3,5
13	180	1	2,8	6,7	4,1	4,5	6,3
13	180	2	2,2	3,9	2,7	1,1	2,2
13	180	3	0,5	4,3	2,1	1,1	1,4
13	180	4	0,6	5,1	3,1	1,7	3,3
13	180	5	0,8	6,2	2,1	0,9	2,6
13	180	6	0,5	3,5	1,2	0,5	0,7
13	180	7	0,4	7,0	1,8	0,7	0,8
13	180	8	0,4	6,6	1,8	2,3	3,4
23	180	1	1,6	4,5	2,8	3,8	3,7
23	180	2	2,3	5,4	1,8	1,1	1,9
23	180	3	0,5	4,5	1,7	1,1	1,3
23	180	4	0,6	5,7	2,0	1,3	2,3
23	180	5	0,5	6,7	1,9	0,9	1,7
23	180	6	0,5	4,5	1,2	0,5	0,7
23	180	7	0,9	6,9	1,1	1,1	3,5
23	180	8	0,5	6,2	1,6	0,9	1,6