

**URI - CAMPUS ERECHIM  
CENTRO TECNOLÓGICO  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS - CPGEAL**

**ESTUDO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE EMPANADOS DE PEIXE**

**Adriane da Silva**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

**ERECHIM, RS - BRASIL  
SETEMBRO 2006**

# **ESTUDO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE EMPANADOS DE PEIXE**

Adriane da Silva

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

---

Alexandre José Cichoski, D. Sc.

Orientador

---

Helen Treichel, D. Sc.

Orientadora

---

Neusa Fernandes de Moura, D. Sc.

---

Eunice Valduga, D. Sc.

Erechim, 26 de setembro de 2006

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS DE ERECHIM.

Aos meus pais Vidal B. da Silva e Anita B. da Silva (*in memoriam*), à minha amada filha Camila Gasparin. Aos meus irmãos Roberto e Luiz, à minha cunhada Maristela, as minhas sobrinhas Gabriela e Luisa.  
Obrigada pelo amor, carinho, respeito e apoio recebido durante toda minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A Deus

Aos meus orientadores Alexandre José Cichoski e Helen Treichel pelo apoio, carinho, dedicação e compreensão.

Aos professores Débora de Oliveira, Alice Teresa Valduga, Francine Ferreira Padilha, Cláudio Dariva, Everton Zanoello, Lúcio Cardoso Filho.

Ao estagiário João Zitkoski pelo auxílio dispensado.

A Cardume Indústria e Comércio de Peixes Ltda pelo fornecimento das matérias-primas e insumos para a realização dos experimentos.

Ao colega e amigo Milto De Faveri pelo apoio incentivo, amizade e auxílio dispensado durante a realização deste.

A todos os funcionários do Centro Tecnológico da URI - Campus de Erechim, principalmente da Central de Materiais, pela atenção dispensada.

Agradeço ao Departamento Regional do SENAI/SC e ao SENAI/CTAL-Chapecó na direção da Sra. Ivânia B. Thomas e do Sr. Almeri Dedonato pelo apoio e atenção dispensada.

Às queridas amigas Andresa Carla Feihmann, Claudia Kuavinski, Giovana Cristina Ceni, Geciane Toniazco, Ieda Rotava, bem como aos seus familiares pelo carinho, apoio, acolhida e atenção recebida ao longo da fase escolar e na elaboração desta.

Aos demais colegas da turma de mestrado pelo coleguismo e amizade.

A Empresa Bremil - Indústria de Produtos Alimentícios nas pessoas do Sr. Ernesto Machado Miguel e do Sr. Juliano Dallanora.

A Empresa Viscofan do Brasil na pessoa da Sra Siliane Rigotto.

A URI – Campus de Erechim pela oportunidade de aperfeiçoamento e conhecimento propiciado ao longo da execução

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo.  
Aquilo que colocamos nela corre por nossa conta”.

Chico Xavier

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

## ESTUDO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE EMPANADOS DE PEIXE

Adriane da Silva

Setembro/2006

Orientadores: Alexandre José Cichoski

Helen Treichel

O trabalho objetivou o uso da metodologia de planejamento de experimentos para avaliação de parâmetros de processo na produção de empanados de peixe. Inicialmente realizou-se a caracterização físico-química e microbiológica das matérias-primas majoritárias (como polpa e filé de peixe) e do produto final. Para verificação dos efeitos das variáveis independentes estudadas foi utilizado um planejamento fatorial completo  $2^4$  com triplicata do ponto central na etapa de mistura. Foram avaliadas as temperaturas de entrada do filé e da polpa no misturador ( $-6^{\circ}\text{C}$  a  $-2^{\circ}\text{C}$ ), temperatura de entrada da gordura ( $10^{\circ}\text{C}$  a  $14^{\circ}\text{C}$ ), temperatura de entrada da água ( $6^{\circ}\text{C}$  a  $10^{\circ}\text{C}$ ) e relação tempo de extração das proteínas/tempo de emulsão (4/12 min a 8/14 min). As respostas avaliadas foram os resultados de análises microbiológicas e físico-químicas de cada um dos 19 ensaios referentes ao planejamento de experimentos. As variações de processo foram realizadas em ambiente industrial e foi possível identificar parâmetros de produção que influenciam no produto final na etapa da mistura, com melhora estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nas respostas estudadas. Nos dezenove experimentos as análises microbiológicas mostraram que as contagens dos coliformes totais variaram de  $\log_{10} 2,24$  UFC/g a  $\log_{10} 3,62$  UFC/g, coliformes fecais entre  $\log_{10} 1,00$  UFC/g e  $\log_{10} 2,77$  UFC/g, e os *Staphylococcus* coagulase positiva variaram entre  $\log_{10} 1,00$  UFC/g a  $\log_{10} 1,60$  UFC/g. Nas análises físico-químicas foram observados os seguintes aspectos; quanto maior a temperatura de adição da polpa menor era a quantidade de proteína no produto. Em relação ao tempo de mistura foi observado que quanto maior o tempo, maior era a quantidade de gordura no produto final. Isso aconteceu em temperaturas onde não ocorreu desnaturação das proteínas, pois esse maior tempo promoveu maior extração das proteínas, maior homogeneidade, e estabilidade da emulsão formada. Foi observado ainda que quanto menor a temperatura das matérias-primas filé e polpa maior é o teor de proteínas na massa do empanado em função disso aconselhasse trabalhar com estas temperaturas mais baixas pois assim será produzido um produto com alto teor de proteínas.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Master in Food Engineering

## ASSESSMENT OF PRODUCTION OF FISH NUGGETS

Adriane da Silva

September/2006

Advisors: Alexandre José Cichoski  
Helen Treichel

This work aimed to use experimental design for assessment of process parameters in the production of fish nuggets. The physico-chemical and microbiological characterization of the main ingredients of the formulations (as fish pulp and fillet) and of the final product was carried out. The effect of the independent factors on the physico-chemical and microbiological parameters was investigated using a complete 24 experimental design with three central points. The studied factors included the temperature of fish fillet and pulp in the mixer (-6°C to -2°C), the temperature of the added fat (10°C 14°C), temperature of the water (6°C to 10°C) and the ratio between the protein extraction time/emulsion time (4/12 to 8/14 min). The experiments were carried out in the industry and it was possible to identify parameters of manufacturing that affect the final product, improving the studied responses with statistical significance ( $p < 0.05$ ). The microbiological analyses of the 19 experimental runs showed that the total coliforms varied between  $\log_{10}$  2.24 CFU/g to  $\log_{10}$  3.62 CFU/g, faecal coliforms between  $\log_{10}$  1.00 UFC/g and  $\log_{10}$  2.77 CFU/g and *Staphylococcus* coagulase positive varied between  $\log_{10}$  1.00 CFU/g to  $\log_{10}$  1.60 CFU/g. The physico-chemical analyses showed that the higher the temperature of the fish pulp and fillet, the lower was the protein in the final product. For this reason, it is recommended to process the ingredients at lower level of temperature (-6°C) to increase the protein content in the final product. When the mixing time was increased, the fat content in the final product was also increased. This latter effect occurred at temperatures that did not cause protein denaturation, since higher mixture time leads to higher extraction of protein, more homogeneity and stability of the emulsion.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 Produção de Pescados .....	10
2.2 Obtenção do Pescado .....	11
2.3 Habitat.....	15
2.3.1 Água.....	15
2.4 Composição química e microbiológica do Pescado.....	16
2.4.1 Composição química do pescado.....	16
2.4.2 Desnaturação das proteínas.....	19
2.4.3 Rigor mortis.....	22
2.4.4 Composição Microbiológica do Pescado.....	23
2.5 Utilização de pescados em produtos industrializados.....	29
2.6 Produção dos empanados.....	30
2.6.1 Emulsões cárneas.....	30
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Matérias Primas .....	32
3.2 Descrição do Processo de produção de empanados.....	32
3.2.1 Retirada da matéria-prima da câmara .....	32
3.2.2 Pesagem das matérias-primas, aditivos .....	32
3.2.3 Moagem das matérias-primas cárnicas .....	32
3.2.4 Moagem da proteína de soja concentrada em forma de flocos.....	33
3.2.5 Mistura das matérias-primas, aditivos e ingredientes.....	33
3.3 Caracterização do Produto .....	34
3.3.1 Coleta das amostras.....	34
3.3.2 Análises Físico-químicas .....	34
3.3.2.1 Determinação de Proteína.....	34
3.3.2.2 Determinação de Lipídios.....	34
3.3.2.3 Determinação de Cinzas.....	34
3.3.2.4 Determinação de Potencial Hidrogeniônico(pH).....	34
3.3.2.5 Determinação de Atividade de Água(Aw).....	35
3.3.2.6 Índices de cor.....	35
3.3.3 Análises Microbiológicas .....	35

3.3.3.1	Preparação das mostras.....	35
3.3.3.2	Pesquisa de Salmonella spp.....	35
3.3.3.3	Contagem de Staphylococcus coagulase positiva.....	36
3.3.3.4	Contagem de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes.....	36
3.3.3.5	Análise Estatística.....	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
4.1	Planejamento de Experimentos.....	38
4.2	Análises Físico-Químicas .....	39
4.2.1	Gordura.....	40
4.2.2	Proteína.....	46
4.2.3	Cinzas.....	49
4.2.4	pH.....	50
4.2.5	Atividade de água .....	54
4.2.6	Umidade.....	55
4.2.7	Índice de cor.....	57
4.3	Análises Microbiológicas.....	59
4.3.1	Coliformes Totais.....	59
4.3.2	Coliformes Fecais.....	62
4.3.3	Salmonella.....	65
4.3.4	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	67
5.1	CONCLUSÕES .....	69
5.2	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	69
6.	REFERÊNCIAS .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A oferta de produtos derivados de pescado e a sua diversificação poderão incrementar o consumo de peixes, em particular na região sul do Brasil, onde tradicionalmente o consumo de carnes das chamadas espécies de açougue apresenta o maior índice per capita.

O Estado de Santa Catarina ocupa hoje lugar de destaque no cenário nacional com a produção de peixes de água doce, mantendo em crescimento anual em torno de 10%, tendo produzido cerca de 18 mil toneladas de pescado em 2003 (EPAGRI, 2004).

Nos últimos anos houve um aumento na produção de peixes na região oeste de Santa Catarina, isto se deve ao fato de que a piscicultura integrada com suínos tornou-se uma atividade altamente rentável por sua simplicidade, rápido retorno do capital investido (três anos), mão de obra barata e comodidade na criação de peixes. Este tipo de cultivo não causa contaminação do músculo do peixe desde que a quantidade de matéria orgânica aportada seja tecnicamente bem orientada (PILARSKI, 1998).

Segundo a FAO, atualmente os pescados são a principal fonte de proteína para a alimentação humana em nível mundial (OGAWA e MAIA, 1999).

Atualmente, sabe-se bem que a carne dos peixes tem características muito especiais e importantes, tais como os ácidos graxos da série ômega 3 . (FERRETI *et al.*, 1994; OSSA, 1995; SPERANDIO, 2003; SU, *et al.*, 2003). Por esta razão, o consumo de peixes e derivados de pescado tem aumentado.

O pescado, bem como a Carne de Pescado Separada Mecanicamente (CPSM), são alimentos de fácil digestão e fonte de proteínas, minerais, principalmente cálcio e fósforo, vitaminas A, D e complexo B, o que o torna um produto de alto valor nutricional (HALL,1992; SUZUKI, 1987; RANKEN,1993).

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é atualmente a segunda espécie de pescado mais cultivada mundialmente (JORY *et al.*, 2000). Ela se converteu rapidamente em um dos produtos mais populares no mercado de produtos aquáticos dos Estados Unidos, tanto em volume como na diversidade de apresentação (tilápia eviscerada fresca e congelada, inteira e em filés). A prova disso é o aumento na importação ocorrida nos últimos anos, o qual, em peixe inteiro congelado, foi de 12.062 para 21.535 toneladas, e em filés frescos, de 1.460 para 3.590 toneladas, isso de 1995 para 1998. A importação dos filés congelados, em 1998, chegou a 2.696 toneladas (JORY *et al.*, 2000). O filé também é comercializado com pele; no entanto, a porcentagem de comercialização nessa forma de processamento é reduzida.

Segundo CASTILLO CAMPO (2001), os Estados Unidos, em 2000, importaram 40.469 toneladas de tilápia, sendo 27.781 toneladas de peixe inteiro congelado, 5.185 de filé congelado e 7.501 de filé fresco. O consumo de tilápia (produzida no país e a importada), foi de 90.720 toneladas em peso vivo, no final do ano 2000, enquanto em 1998 alcançara 50.803 toneladas.

Os principais exportadores de tilápia inteira e filés congelados são os países asiáticos, como a Tailândia, Taiwan e Indonésia; e de filés frescos, países latino-americanos como a Costa Rica, o Equador e Honduras (JORY *et al.*, 2000). Entretanto, existe a expectativa de que o Equador se transforme no fornecedor líder de filés frescos de tilápia ao mercado norte-americano, ultrapassando a Costa Rica, onde a produção de tilápia teve um incremento superior a 10% ao ano (REDMAYNE, 2000). Em relação ao Brasil, dados de 1993 indicavam um baixo índice de consumo de pescado, cujos fatores estavam a falta de conhecimento da importância do pescado na alimentação (RANKEN, 1993). A partir de 1995, a produção de pescado advindo da aquicultura produziu em torno de 27.250 toneladas, o que colocou o Brasil em trigésimo terceiro entre os principais países que praticavam a aquicultura (HILSDORF e PEREIRA, 1999). Em 2000 a produção anual de tilápia passava para 30 a 40 mil toneladas (KUBITZA E KUBITZA, 2000).

Considerando que a demanda de produtos alimentícios será cada vez maior, principalmente aqueles compostos com proteínas de alto valor nutricional e valor tecnológico agregado, a recuperação das proteínas de pescado, de espécies de baixo valor comercial ou dos subprodutos de sua industrialização, constitui-se numa alternativa promissora.

Neste contexto este trabalho teve como objetivo geral estudar parâmetros de processo de um industrializado derivado de peixe através de respostas como características físico-químicas e microbiológicas do produto.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Produção de Pescados

Estimativas da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura FAO (2000a) a produção pesqueira mundial foi da ordem de 125.000.000 toneladas, no ano de 1999, sendo a China, o Peru, o Japão e o Chile os principais países em captura total de pescado. Os dados revelam, ainda, que a China, Índia, Japão e Indonésia são os maiores produtores de pescado provenientes da aqüicultura.

Conforme WILFELS (1999b), a produção pesqueira latino-americana encontra-se concentrada. Em 1996, 35 grandes portos do continente responderam por 60% da produção, principalmente na captura, transformação e serviços, aproveitando a sinergia existente entre as atividades.

Sendo destaque nesta região o Chile e o Equador países esses que lideram a produção. O Chile tornou-se o principal país produtor do continente nos últimos anos, passando de 4.758 toneladas em 1987 para 217.903 toneladas em 1996, com um crescimento médio anual de 46,6% no período. Outros países latino-americanos cuja produção cresce rapidamente são o Brasil e a Colômbia (WIEFELS, 1999a)

A produção aqüícola brasileira cresce pois passou de 23,4 mil toneladas em 1991 para próximo a 141 mil toneladas em 1999, representando um aumento de 501% (OSTRENSKY *et. al.*, 2000).

Quanto ao consumo per capita de pescados no Brasil os valores giram em torno de 6,4 kg/ano. Isso significa 11 vezes menos que o Japão, que é de 71,9 kg/ano; 10 vezes menos do que Portugal, que é de 60,2 kg/ano; e bem inferior ao da Noruega, de 41,1, e da Espanha, de 37,7 kg/ano. No entanto, os dados revelam que na Amazônia o consumo per capita é de 55 kg/ano, superando as médias espanhola e norueguesa, chegando bem perto de um grande consumidor: como Portugal (BORGUETTI, 2000).

Nos estados do Sul quem lidera o ranking na produção de pescados é o Rio Grande do Sul com quase 22% da produção brasileira, seguido por Santa Catarina, com cerca de 19% e do Paraná com 15% da produção. Verifica-se portanto, o predomínio da Região Sul, que é responsável por cerca de 56% do total da produção nacional (CEPENE, 2000)

Em Santa Catarina a produção total de peixes de água doce no ano de 2003 foi de 18.775 toneladas, sendo que 18.358,5 toneladas foram de peixes tropicais e 416,5 de trutas, das espécies cultivadas destacam-se as tilápias com 6.920,5 toneladas, carpa comum com 5.263,5 toneladas, carpa capim com 1.550 toneladas, carpa cabeça grande com 1.495,7

toneladas, bagre americano com 1.273,4 toneladas carpa prateada com 737,6 toneladas (EPAGRI, 2004).

A região Oeste de SC é responsável por aproximadamente 30% do total da produção do estado, com um total aproximado de 5.584,57 toneladas de peixes produzidos. Se considerar o preço médio de comercialização de R\$1,70 por quilo de peixe, Ter-se-á um montante de R\$ 9.493.769,00 movimentados pela piscicultura do Oeste de SC no ano de 2003.

## 2.2 Obtenção do Pescado

A tradição da criação de peixes iniciou-se com as carpas e vem com as colonizações alemãs e italianas do sul do país. Primeiro a carpa comum com escama, criada em açudes, na maioria das vezes sem sistema de escoamento, onde permaneciam por anos se reproduzindo.

A partir da década de 70 o surgimento do serviço de extensão específico para fomentar a piscicultura em Santa Catarina, com estímulo a produção de alevinos de carpa comum para povoamento de açudes.

Na região oeste do Estado, o modelo básico para a criação de peixes é o policultivo, o qual tem sido reconhecido pela eficiente ocupação do espaço físico dos viveiros bem como a utilização dos nichos alimentares (ZIMMERMANN & NEW, 2000). Este sistema consiste na criação simultânea de duas ou mais espécies de peixes em um mesmo viveiro, com o objetivo de maximizar a produção, utilizando organismos com diferentes hábitos alimentares e distribuição espacial, propiciando a oportunidade de aumentar a produtividade e a rentabilidade dos cultivos, devido às alterações sinérgicas que ocorrem neste sistema, em que uma espécie potencializa o crescimento da outra espécie (KESTMOND, 1995).

No policultivo cabe analisar a combinação de espécies e a taxa de estocagem entre elas. O aumento significativo na taxa de estocagem consequentemente na produção de certas espécies, são obtidas através do policultivo, isso acontece porque diversas espécies juntas aproveitam melhor o espaço para crescimento e a produtividade total do viveiro. Este é mais apropriado para as espécies que utilizam alimentos naturais e diferentes, dentre elas carpas e tilápias.

Para a realização do policultivo é indispensável planejamento, pois este propicia classificar o uso de espécies em Principal(is), sendo a que entre em maior quantidade no cultivo, principalmente pelas disponibilidades dos alimentos no viveiro. Quando do uso de fertilizantes orgânicos as espécies principais utilizadas em SC são: Carpa Comum e ou

Tilápia Nilótica. As espécies Secundárias são as que entram em uma quantidade intermediária, nos policultivos integrados as espécies usadas são as Carpas Prateada e Carpa Cabeça Grande, essas desempenham um papel importante no policultivo: são controladoras do excesso do fitoplâncton e matéria orgânica particulada, ainda pode ser usada como espécie secundária a Tilápia Nilótica. As espécies Complementares entram em pequenas quantidades, aproveitam alimentos naturais não utilizados por outras espécies. Nos policultivos integrados as espécies complementares mais usadas são a Carpa Capim, Pacu, Bagres Americanos e Africanos, Cascudo, Curimatã, Tambaqui, Jundiá, dentre outros conforme pode-se observar na tabela 1.

Tabela 1 - Espécies de peixes indicadas para o policultivo no Estado de Santa Catarina e seus respectivos hábitos alimentares.

ESPÉCIES (Nome comum)	NOME CIENTÍFICO	HÁBITO ALIMENTAR
Carpa Comum	<i>Cyprinus carpio</i>	Omnívoro, Bentófago
Carpa Prateada	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Fitoplantófago, planctófago
Carpa Cabeça Grande	<i>Aristichthys nobilis</i>	Zooplactófago
Carpa Capim	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	Macrofitófago
Tilápia Nilótica	<i>Oreochromis niloticus</i>	Fitoplantófago, planctófago, omnívoro
Pacu	<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Frutívoro, omnívoro
Cascudo	<i>Hypostomus spp</i>	Perifitoplantófago
Bagre Africano	<i>Clarias gariepinus</i>	Omnívoro
Bagre Americano	<i>Ictalurus punctatus</i>	Omnívoro, nectófago
Tambaqui	<i>Colossoma macropomum</i>	Omnívoro
Jundiá	<i>Rhamdia quelen</i>	Omnívoro

Fonte: CASACA e TOMAZELLI, (1999).

Espécies nativas da bacia do Rio Uruguai também possuem potencial para serem usadas nos policultivos integrados, dentre elas pode-se destacar: Piranjuba ou pracaçuva (*Brycon orbignyanus*), Piava ou piapara (*Leporinus elongatus*), Surubim ou bocudo (*Steindachneridion scripta*), Pati (*Luciopimelodus pati*) e o Mandi pintado (*Pimelodus maculatus*) (ZANIBONI FILHO, 1999).

Dentre as espécies citadas acima merecem destaque a Tilápia Nilótica (*O. niloticus*) e a Carpa Comum (*C. carpio*). A Carpa Comum (*C. carpio*) (Figura 1) é um peixe originário da Ásia Central. Há mais de 2.000 anos ela é criada na China (MATOS, 1996)

A carpa comum é considerada um peixe omnívoro (alimenta-se de quase tudo) sendo que a carpa jovem consome principalmente protozoários e zooplâncton, como os copépodos e cladóceros, aceita também os alimentos artificiais tanto suplementares como ração completa.

A carpa comum dentro do policultivo é considerada uma espécie principal e apresenta um bom desempenho com crescimento de 5,0g/dia, principalmente as variedades melhoradas geneticamente como as carpas de origem da Hungria e Israel (PROENÇA E BITTENCOURT, 1986)



Figura 1 - Exemplar de carpa comum, variedade Espelho (*C. carpio*).

Depois da carpa comum, são as tilápias os peixes tropicais mais cultivados no mundo. A espécie de tilápia cultivada na região Oeste de Santa Catarina é a tilápia Nilótica (*O. niloticus*) (Figura 2). É a espécie que cresce melhor entre as tilápias. Alimenta-se de algas grandes em colônias, zooplâncton, folhas e ramos de certas plantas aquáticas. Utiliza bem os alimentos naturais e também artificiais. Sua maturação sexual é muito rápida em viveiros bem fertilizados (PROENÇA e BITTENCOURT, 1986).

A tilápia pertence à família Ciclidae, com cerca de 700 espécies, está distribuída na África, América Central, México, metade da América do Sul e parte da Índia. A distribuição mundial das tilápias abrange uma área isotérmica em torno de 20°C, com extensão ao Sul dos USA e leste Europeu (MATOS, 1996).

A Tilápia Nilótica é um excelente peixe para ser criado como espécie principal ou secundária nos policultivos integrados. Possui hábito alimentar omnívoro e aproveitam muito bem o fitoplâncton, zooplâncton, detritos orgânicos e aceita bem rações comerciais.

Nas características do Oeste de Santa Catarina a Tilápia Nilótica deve ser criada nos períodos mais quentes do ano (setembro a março). O crescimento médio anual da tilápia na

região é de 2,5g/dia. Quando bem alimentada e no período mais quente do ano, o seu crescimento (EPAGRI, 2004)



Figura 2 - Exemplar de tilápia Nilótica (*O. niloticus*).

Durante muitos anos o período de cultivo de peixes era pré-estabelecido como sendo de um ano. A partir do uso dos policultivos integrados chegou-se a resultados que permitem períodos de cultivos menores (entre 8 e 10 meses), obtendo-se peixes de tamanho comercial exigidos para a região (TOMAZELLI e BONASSI, 2000).

Para alimentação dos peixes são utilizados dejetos, principalmente de suínos. Aproveitando o potencial de produção de nutrientes através dos dejetos do grande efetivo de suínos da região oeste de Santa Catarina e, segundo TAIGANIDES (1978), a dificuldade de transporte, devido a grande quantidade de água presente nestes dejetos, a facilidade em fertilizar o viveiro sem a necessidade de armazenagem especial e pouca exigência em mão de obra, foram as principais razões que levaram o produtor rural escolher os dejetos de suínos ao de aves para o cultivo orgânico de peixes.

Os fertilizantes orgânicos são importantes para o desenvolvimento de organismos tanto autotróficos quanto heterotróficos. A matéria orgânica utilizada serve como substrato para o crescimento de bactérias e protozoários, que por sua vez, são alimentos ricos em proteínas para o zooplâncton, animais bentônicos e os peixes. Os nutrientes minerais resultantes são utilizados para o desenvolvimento do fitoplâncton. A produção autotrófica nos viveiros fertilizados é a base da cadeia alimentar e determinante da produtividade do viveiro (SHROEDER, 1978).

A quantidade de material orgânico aportado aos viveiros diariamente por hectare de área alagada é relativo a quantidade produzida por 60 suínos, ou 50 kg de cama de aviário.

No caso dos suínos, são utilizados animais tipo integração, com peso inicial de 20 kg e final de 90 a 100 kg (CASACA e TOMAZELLI, 1999).

## 2.3 Habitat

O local escolhido para construção dos viveiros deve satisfazer alguns requisitos, a fim de otimizar a ocupação do terreno, minimizar custos de implantação e que as futuras instalações possam oferecer condições para um bom manejo. Para isso devem ser observados alguns itens:

### 2.3.1 Água

Um dos questionamentos mais polêmicos à integração com dejetos animais é quanto a concentração de bactérias patogênicas presentes na água de cultivo e do efluente gerado. A fim de investigar este problema, durante dois anos o Centro de Pesquisa para Pequenas Propriedades - CPPP, da EPAGRI pesquisou a qualidade de água em cultivos integrados à suinocultura nos três modelos de aporte, vertical (bacias sobre os viveiros), horizontal (dejetos canalizados de esterqueiras) e variável (dejetos lançados manualmente). Os resultados obtidos mostram que a qualidade de água destes cultivos estão de acordo com as normas bacteriológicas da legislação ambiental (RESOLUÇÃO DO CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA N.º 20, 1986) para águas de classe II, ou seja, 80 % de pelo menos 5 amostras mensais com contagem inferior a 1.000 NMP/100 mL, e de classe III, ou seja, 80 % de pelo menos 5 amostras mensais com contagem inferior a 4.000 NMP/100 mL (CASACA e TOMAZELLI, 1998).

De acordo com a RESOLUÇÃO DO CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA N.º 20, de 18 de junho de 1986, as águas doces de classe II são destinadas, entre outras, à criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana. As águas doces de classe III são destinadas ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional; à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; e à dessedentação de animais.

Em estudo realizado por NOVATO, (2000) os parâmetros físico-químicos da água dos viveiros para a criação de tilápia tiveram valores os quais cumpriram as exigências da legislação, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores mínimos e máximos dos parâmetros físico-químicos da água dos viveiros

<b>Variáveis</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Temperatura (°C)	21,0	32,9
Oxigênio Dissolvido (mg/L)	3,6	11,1
Potencial hidrogeniônico (pH)	6,5	8,6
Alcalinidade (mg/L)	29,5	58,0
Condutividade Elétrica (uS/cm)	101,6	176,7
Transparência (cm)	10,0	49,7
Amônia (mg/L)	0,00	0,22

Segundo CASACA e TOMAZELLI (1998) a sustentação futura do cultivo orgânico de peixes dependerá dos esforços de todos os segmentos da cadeia produtiva, para fortalecer boas práticas de manejo que minimizem o uso da água, garantam o aumento da renda do produtor rural e levem ao consumidor final um produto de alta qualidade, adicionado da importante consciência de preservação ambiental.

## 2.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO PESCADO

### 2.4.1 Composição química do pescado

O músculo do pescado pode conter 60 a 85% de umidade; aproximadamente 20% de proteína; 1 a 2% de cinzas; 0,3 a 1,0% de carboidrato e 0,6 a 36% de lipídeos. Estes componentes apresentam variações em função do tipo de músculo corporal, sexo, idade, época do ano, habitat e dieta, entre outros fatores (GUHA, 1962).

A água em pescado apresenta-se de duas formas: a água livre, que se encontra imobilizada entre os tecidos, atuando como meio de dissolução e no transporte de nutrientes e produtos metabolizados, além de participar da manutenção do equilíbrio de eletrólitos e controle da pressão osmótica e a água de constituição que se encontra fortemente ligada às proteínas e carboidratos através de ligações de hidrogênio, sendo difícil a sua avaliação, mas, em geral, a água de constituição contribui com 15 a 25% da água total no músculo do pescado. A água livre, devido ao seu caráter de solvente congela entre  $-1$  e  $-2^{\circ}\text{C}$  já a água de constituição, pelo fato de estar fortemente ligada é difícil de congelar mesmo em temperaturas muito baixas (MACHADO, 1984).

As proteínas musculares podem ser classificadas de acordo com a sua solubilidade em proteínas sarcoplasmáticas (são solúveis em água ou em soluções diluídas de sais de força iônica igual ou inferior a 0,1M), proteínas miofibrilares (solúveis em soluções salinas com concentrações maiores que 0,5M) e proteínas estromáticas (insolúveis em água e

soluções salinas, porém uma fração solubiliza-se em álcali). Uma outra classificação divide as proteínas em proteínas intracelulares e proteínas intercelulares. As proteínas intracelulares incluem as proteínas sarcoplasmáticas (do plasma celular) e as proteínas miofibrilares (da estrutura muscular); as proteínas intercelulares incluem as proteínas do estroma (do tecido conectivo) e as proteínas insolúveis (dos vasos sangüíneos, nervos) (SIKOSKI *et al.*, 1994).

A composição de proteínas em músculos de pescado, um percentual de 60 a 75% da proteína total é composto de proteínas miofibrilares, 20 a 35% de proteínas sarcoplasmáticas e 2 a 5% de proteínas estromáticas. Comparando-se com as proteínas musculares de mamíferos (50% miofibrilar, 30-35% sarcoplasmática e 15-20% estromática) verifica-se que no pescado o conteúdo de estroma é menor e que a proteína miofibrilar é maior, uma razão para que a carne de peixe seja mais tenra do que a de gado. A carne escura de peixe apresenta teores mais elevados de proteína sarcoplasmática do que a carne branca (OGAWA e MAIA, 1999).

As proteínas sarcoplasmáticas compreendem mais de cem tipos diferentes de proteínas que, em sua maioria apresentam ponto isoelétrico entre pH 6,0 e 7,0, pesos moleculares que variam entre 10.000 e 100.000 e, em geral, são proteínas globulares. As proteínas deste grupo compreendem as enzimas da glicólise que compreendem em torno de 70% das proteínas hidrossolúveis, a parvalbumina, uma proteína que se encontra ligada ao  $Ca^{2+}$  na proporção de aproximadamente 2 mols de Ca/mol de proteína e a mioglobina, um pigmento protéico que se liga reversivelmente ao oxigênio. As proteínas miofibrilares incluem proteínas contráteis, como a miosina e a actina, responsáveis pela contração muscular; proteínas reguladoras, como a tropomiosina, troponina e proteínas microrreguladoras como a  $\alpha$ -actinina e proteínas de suporte, como a conectina. Os principais componentes das proteínas do estroma são o colágeno e uma pequena fração de elastina (OGAWA e MAIA, 1999).

As proteínas do pescado mostram semelhança na composição dos aminoácidos, independente da espécie. Proteínas de peixes contêm alta quantidade de lisina, essencial para o crescimento. O conteúdo de triptofano na carne de peixes é de 1,25 a 1,35%, não sendo muito diferente da carne de gado (FERNANDES, 2000).

O conteúdo de lipídeos em pescado é muito variável em quantidade e qualidade de uma espécie para outra. Em geral, peixes de carne vermelha apresentam alto conteúdo de lipídeo no músculo e os peixes de carne branca apresentam teor de lipídeos abaixo de 1%. Os produtos de pesca podem ser classificados de acordo com o teor de gordura em magros

(até 2%), semigordos (entre 2 e 8%) e gordos (teor de gordura superior a 8%) (SALINAS, 2002).

De acordo com suas funções, podem ser divididos em lipídeos de depósito, como os triglicérides, e lipídeos tissulares, constituídos pelos fosfolipídeos, glicolipídeos e esteróis. O conteúdo de lipídeos tissulares não varia significativamente entre espécies e, portanto, as grandes diferenças devem-se aos lipídeos de depósito. Os lipídeos de pescado variam com as condições ambientais (temperatura da água, profundidade, habitat, etc), condições fisiológicas (idade, sexo, grau de maturação), alimentação (tipo e volume da dieta), justificando assim porque o conteúdo de lipídeos varia para uma mesma espécie, quando o peixe é capturado em diferentes áreas e períodos de pesca (SIKORSKI *et al.*, 1994).

O conteúdo de lipídeos e a composição dos ácidos graxos de peixes cultivados são diretamente influenciados pela sua dieta alimentar. A maioria dos ácidos graxos existentes no pescado é composta de ácidos graxos com 14 a 22 átomos de carbono ( $C_{14}$  a  $C_{22}$ ), podendo ser saturados ou insaturados. VISENTAINER *et al.*, (2003) encontraram no fígado de tilápias um total de 48 ácidos graxos com predominância dos ácidos 18:1n-9 (28,9%), 16:0 (19,1%) e 18:2n-6 (15,3%). Dentre os ácidos graxos da família  $\omega$ -3, o ácido com maior percentagem foi o ácido docosaexanóico, DHA (5,1%) seguido pelo ácido linolênico, LNA (1,1%). A somatória de ácidos graxos saturados foi de 29,0%, monoinsaturados de 39,4%, poliinsaturados de 13,2%,  $\omega$ -3 de 7,3% e  $\omega$ -6 de 22,6% (VISENTAINER, 2003).

Os principais carboidratos do pescado são glicogênio e mucopolissacarídeos mas também existem açúcares livres e fosfossacarídeos. Certos mariscos estocam parte de sua reserva energética como glicogênio, o qual contribui para o sabor adocicado característico destes produtos. Em peixes com espinha o conteúdo de carboidratos é zero, podendo ser encontrada pequenas quantidades que variam de 0,3 a 1%; os crustáceos como caranguejo e lagosta apresentam teores de carboidratos inferiores a 1%, já os moluscos como vieiras, mexilhões, ostras e caramujos contém 3 a 5% ou mais de carboidratos (JAY, 2002).

As vitaminas são micronutrientes essenciais, exigidos pelo organismo em pequenas quantidades. Elas podem ser lipossolúveis (vitaminas A, D, E e K) ou hidrossolúveis (por exemplo, vitaminas do complexo B e vitamina C). Dentre estas, as mais encontradas nos peixes são A, D e do complexo B, principalmente a B6 (piridoxina). Uma das formas da vitamina A (retinol) é um componente dos fotorreceptores (células nervosas sensíveis à luz) da retina. Sua deficiência causa cegueira noturna. Já a vitamina D auxilia na absorção de cálcio e fósforo no intestino, crescimento, reparação e mineralização óssea. A vitamina B6 é importante para o metabolismo dos aminoácidos e das gorduras (FRANCO, 1982). Nos peixes com teores de gordura acima de 15%, são encontrados níveis elevados de vitaminas

A e D na musculatura (carne); nos demais, a concentração é sempre elevada no fígado (FRANCO, 1982).

Os elementos minerais desempenham importantes funções nas células e nos corpos dos seres vivos, podendo ser encontrados na forma livre, na forma de íons dissolvidos na água intra e extracelular, ou também associados a outras moléculas como, por exemplo, aos lipídios, formando os fosfolipídios, um dos componentes da membrana celular. Sob a forma iônica, os minerais regulam o metabolismo de diversas enzimas, mantêm o equilíbrio ácido-base e a pressão osmótica, além de manterem a irritabilidade muscular e nervosa. Nos peixes, há também o cálcio, fósforo, ferro e, nos peixes marinhos, o iodo, flúor e quantidades apreciáveis de cobalto (KRAUSE, 1985).

#### 2.4.2 Desnaturação das proteínas

A desnaturação de proteínas caracteriza-se por alterações estruturais, ou seja, alteração no tamanho e na forma das moléculas, quase sempre irreversíveis que causam perdas da atividade fisiológica e propriedades físico-químicas das proteínas. As proteínas do pescado são mais instáveis que as dos animais terrestres, desnaturando-se mais facilmente (CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D., 1986)

Os fatores que influenciam a desnaturação das proteínas são; pH extremamente ácido ou alcalino, presença de compostos oxidantes, redutores, uréia, dodecil sulfato sódico – um detergente, solventes orgânicos, emulsificantes, aquecimento, congelamento, causando alterações da carne do pescado durante o processamento e estocagem. Esses fatores promovem a clivagem da várias ligações da molécula protéica ou a formação de novas ligações. Em conseqüência, destrói-se parcial ou totalmente a conformação da proteína nativa (JUDGE *et al.*, 1989).

O principal grupo de proteínas musculares do pescado é representado pelas proteínas miofibrilares, sendo de fácil desnaturação. Entretanto, a desnaturação é difícil de ser confirmada devido as proteínas serem moléculas muito grandes e possuírem estruturas bastante complexas (OGAWA e MAIA, 1999).

Devido a desnaturação, moléculas de miosina ou de outras proteínas ligam-se entre si, ocorrendo o fenômeno de coagulação; no entanto, alterações físico-químicas da proteína pela desnaturação não implicam necessariamente em alterações fisiológicas paralelas. No caso de uma proteína com mais de uma função fisiológica como a miosina que apresenta atividade ATPase, capacidade de ligação com a actina e de formação de filamentos grossos, quando ocorre o fenômeno de desnaturação algumas funções são perdidas,

enquanto outras permanecem inalteradas, sendo complicado verificar em qual parte e que tipo de alteração ocorreu na molécula protéica (FENNEMA, 1993).

Diante das dificuldades mencionadas, para se detectar o grau de desnaturação é necessário eleger um indicador específico. As proteínas miofibrilares possuem funções bioquímicas específicas que podem servir como indicadores de desnaturação protéica como a atividade ATPase da actimiosina e uma suspensão de miofibrilas, a solubilidade da actimiosina em solução salina, a superprecipitação e viscosidade da actimiosina, o potencial de formação de filamento grosso e de ligação entre actina e miosina, o potencial de conversão de actina-G em actina-F, a atividade de algumas proteínas sarcoplasmáticas, a contração térmica do colágeno, uma proteína do estroma, etc. (OGAWA e MAIA, 1999).

A desnaturação de proteínas miofibrilares sofre a influência de alguns fatores como o calor, pH, congelamento e estocagem. A elevação da temperatura causa o rompimento das ligações de hidrogênio, gerando um desenrolamento da molécula de proteína. A desnaturação térmica da miosina e actimiosina ocasiona alterações em algumas de suas propriedades como viscosidade, birrefringência, solubilidade, sedimentação, turbidez, além de provocar a coagulação. Acima de 100 °C as proteínas miofibrilares sofrem grandes mudanças estruturais, levando a uma carne com qualidade inferior; exemplos disso são a preparação de salsicha de peixe aquecida a 120 °C por 4 minutos e a preparação de enlatados em salmoura de salmão e truta a 150 °C por 80 minutos (SHENOUDA, 1980)

Quando muda o pH de uma solução de proteína altera-se o estado de dissociação dos grupos iônicos das cadeias laterais de alguns aminoácidos na cadeia polipeptídica ocasionando alterações na poliestrutura e na cadeia hidrofílica da proteína, podendo ocorrer desnaturação. Isto se verifica principalmente no músculo de peixes de carne vermelha, que contém mais glicogênio e após a morte o pH pode baixar até 6, ocasionando a desnaturação das proteínas miofibrilares (ARAÚJO, 1995)

A temperatura de estocagem tem maior influência sobre a desnaturação das proteínas miofibrilares do que a temperatura do congelamento. O aumento da temperatura de estocagem aumenta o grau de desnaturação das proteínas miofibrilares, reduzindo também o potencial de formação de gel. A temperatura de congelamento acima do ponto eutético de uma proteína aumenta o grau de desnaturação; assim, no congelamento lento a uma temperatura acima do ponto eutético ocorre alta concentração de sais na célula, provocando desnaturação da proteína. Outras explicações para o mecanismo de desnaturação da proteína muscular pelo congelamento são a formação de cristais de gelo, a ação do resfriamento, a ação de proteases, a ação de sais neutros e o efeito da secagem (OGAWA e MAIA, 1999).

A inibição da desnaturação de proteínas miofibrilares pode ser feita através de pré-tratamento da carne de pescado com uma solução apropriada, como bicarbonato de sódio para neutralizar o pH da carne, soluções de sorbitol ou pelo uso de aditivos como a adição de sais de polifosfato e sacarose. BARRETO e BEIRÃO, (1999) relatam o uso dos aditivos sorbitol (4%) e tripolifosfato de sódio (0,5%) em relação ao peso do surimi preparado a partir de carcaças residuais da filetagem industrial de tilápias.

As proteínas sarcoplasmáticas são principalmente as enzimas da glicólise como aldolase, creatinaquinase, etc. As proteínas sarcoplasmáticas de peixes estocados a baixas temperaturas (entre 0 a  $-29^{\circ}\text{C}$ ) quase não sofrem desnaturação térmica, conforme revelado através de eletroforese (OGAWA e MAIA, 1999)..

Dentre as proteínas estromáticas encontram-se o colágeno e a elastina. Elas são proteínas fibrosas e insolúveis. A elastina possui uma poliestrutura estável e mesmo com forte aquecimento mantém sua estrutura estável e insolúvel. O colágeno possui forte estabilidade a baixas temperaturas mas acima de determinadas temperaturas de aquecimento ocorrem grandes mudanças na sua estrutura, tornando-se solúvel em água. A temperatura de contração térmica  $T_s$  para o colágeno de pescado varia de 30 a  $60^{\circ}\text{C}$ . A  $T_s$  é a temperatura na qual ocorre um brusco desdobramento das três cadeias das hélices do colágeno, tornando-se a fibra contraída na forma de uma espiral irregular (“random coil”) (OGAWA e MAIA, 1999).

O processo de desnaturação do colágeno chama-se gelatinização: com o aquecimento a altas temperaturas inicia-se um processo de destruição das pontes existentes entre as fibras das moléculas e hidrólise parcial. A fibra contraída gradualmente dispersa-se e torna-se gelatinosa, que é o colágeno desnaturado (PARDI, M.C. *et.al.*, 1995)

Durante a estocagem sob congelamento ocorre desnaturação da proteína do músculo do peixe devido a duas causas: a primeira está relacionada a concentração de sais, ocasionando o fenômeno de “salting out”; a segunda causa está relacionada a hidrólise ou oxidação de lipídios, liberando ácidos graxos que reagem com as proteínas, desnaturando-as.

A desnaturação de proteínas é um método particularmente útil na preparação de hidrolisados enzimáticos. (NEVES *et al.*, 2004) relatam a preparação de seis hidrolisados de *minced* de pescado. O *minced* liofilizado foi ressuspenso em água destilada e submetido a tratamento térmico em banho-maria fervente por trinta minutos, para a desnaturação de proteínas e inativação de enzimas endógenas ainda presentes, sendo em seguida resfriado em banho-de-gelo.

### 2.4.3 Rigor mortis

O *rigor mortis* caracteriza-se pela contração muscular que ocorre após a morte de um animal (OGAWA e MAIA, 1999). Quando o pescado morre, os compostos orgânicos do músculo se quebram pela ação das enzimas do tecido muscular. No estágio inicial, a substância que hidrolisa mais rápido é o glicogênio, provocando um acúmulo de ácido láctico no músculo e reduzindo o pH (AMLACHER, 1961). Isto, por sua vez, estimula as enzimas que hidrolisam o fosfato orgânico. A diminuição do trifosfato de adenosina (ATP) faz com que a actina e miosina, associadas na forma de complexo actomiosina, não se separem. A formação da actomiosina é acompanhada por uma mudança no estado da proteína, causando uma contração dos músculos que é o chamado *rigor mortis*. Ao mesmo tempo, começa a haver uma redução do pH do músculo pela quebra do glicogênio e nucleotídeos. Normalmente, o conteúdo de glicogênio do músculo do peixe é baixo, mesmo após uma captura sem grande esforço do animal, portanto, após a morte do peixe, é baixa a quantidade de ácido láctico formada, o que reflete em apenas um pequeno decréscimo no valor do pH do músculo: pH 5,6 a 6,0 nos peixes de carne vermelha e pH 6,0 a 6,4 na carne branca (IWAMOTO *et al.*, 1987).

O método de determinação do índice de *rigor mortis* adotado em estudos científicos por (BITO *et al.*, 1983) no que diz respeito a avaliação deste índice [é avaliado da seguinte forma, o peixe inteiro é colocado sobre uma mesa, num plano horizontal, de forma que a metade do corpo (região caudal) fique suspensa; em intervalos de tempo selecionados define-se o índice de rigor mortis de acordo com a equação:

$$IR = \frac{D_0 - D_t}{D_0} \times 100$$

Onde,

IR = Índice de Rigor

$D_0$  = Distância inicial entre a superfície da mesa e a base da nadadeira caudal

$D_t$  = Distância final entre a superfície da mesa e a base da nadadeira caudal

Antes de iniciar o rigor mortis  $D_t = D_0$ , então o índice é 0%; no início do rigor, a parte caudal levanta e, conseqüentemente, vai gradualmente reduzindo a distância  $D_t$ ; quando atinge o rigor máximo,  $D_t = 0$  e o índice é 100% (OGAWA e MAIA, 1999).

A rapidez da instalação e duração do *rigor mortis* depende de fatores como: espécie, condições em que o pescado foi içado para o barco, maneira como é morto, temperatura e condições de estocagem, entre outros. Via de regra, a atividade enzimática nos tecidos do

peixe é elevada, isto significa que o período de *rigor mortis* do peixe é curto e que a autólise se processa rapidamente. A autólise é a decomposição do músculo promovida por via enzimática; dependendo do grau, tem o efeito de acentuar o sabor do pescado (SUZUKI, 1987).

Existe grande variação no tempo transcorrido desde a morte até o peixe atingir o rigor máximo entre espécies uma vez que apresentam composições químicas diferentes: “Whiting”, uma espécie de bacalhau, entra em *rigor mortis* rapidamente, atingindo o máximo em 1 hora após a morte; nas mesmas condições de conservação, “red-fish” leva 22 horas para iniciar o rigor, enquanto “Cod” capturado por arrasto e conservado em gelo, geralmente gasta de 2 a 8 horas (OGAWA e MAIA, 1999). BATISTA *et al.*, (2004) relataram que o índice de rigor determinado nos espécimes de matrinxãs, procedentes da piscicultura, sacrificados por hipotermia e conservados em gelo, mostrou que o *rigor mortis* ocorreu aos 75 minutos e permaneceu durante 10 dias.

Entram mais rapidamente no estado de *rigor mortis* os peixes não alimentados antes de sua captura, peixes em condições de cansaço e após a desova, peixes que sofrem por mais tempo ao serem capturados, peixes de menor porte, peixes mortos com agonia, peixes estocados em temperaturas muito diferentes daquela do ambiente onde ele vive, peixes cultivados sem indução de locomoção (OGAWA e MAIA, 1999).

Dentre os parâmetros que influenciam o *rigor mortis*, as condições de morte e a temperatura de estocagem são os mais importantes pois podem ser controlados. Em resumo, após a morte de forma instantânea, os peixes devem ser estocados entre 5 a 10<sup>0</sup>C com o objetivo de prorrogar o tempo antes deles atingirem o rigor, ou seja, prolongando o tempo de permanência em estado de excelente frescor. Ao entrar no rigor completo é importante baixar a temperatura de estocagem para 0 °C com o objetivo de aumentar o tempo de duração do rigor, retardando o início da flacidez do músculo (CONTRERAS-GUZMAN 1994) .

#### **2.4.4 Composição microbiológica do pescado**

A microflora do pescado pode sofrer alterações antes da captura, pela contaminação da água do viveiro por excretas de animais, plantas ou solo, ou pós captura, onde através do manuseio o peixe entra em contato com outros ambientes, como gelo ou superfícies e equipamentos contaminados, permitindo que bactérias patogênicas sejam acrescentadas à sua flora. Admite-se que bactérias patogênicas são raras no músculo do peixe, mas quando

submetido à contaminação, essas bactérias encontram condições para sobreviver e proliferar (LEITÃO, 1977).

No pescado vivo, o músculo abaixo da superfície da carne é considerado bacteriologicamente estéril. A maior concentração de microrganismos encontra-se no intestino, guelras e limo superficial.

Cerca de 90% do ambiente marinho apresenta temperatura abaixo de 5 °C e, conseqüentemente, a maioria das bactérias pertence ao grupo das psicrófilas, que podem se desenvolver a 0 °C e apresentam uma faixa de temperatura ótima entre 20 °C a 35 °C. Nos mares tropical e subtropical também existe este tipo de bactérias, mas a maioria é composta por mesófilas, que não podem se desenvolver a 0 °C e 55 °C e apresentam faixa de temperatura ótima entre 25 °C a 45 °C. Como na composição da água do mar o sal está presente, conseqüentemente, as bactérias halofílicas se desenvolvem (OGAWA e MAIA, 1999).

A flora natural dos peixes está constituída por bactérias psicrófilas ou psicrotolerantes; alguns autores citam que os gêneros predominantes nos peixes e moluscos provenientes de águas temperadas são: *Acinetobacter*, *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Shewanella* e *Vibrio*, enquanto espécies de *Bacillus* e *Micrococcus* freqüentemente estão presentes no pescado capturado nas águas subtropical e tropicais (VIEIRA, 2004).

A microbiota marinha sofre influência de bactérias terrestres por serem transportadas pelos rios, sendo essa contaminação maior, pois as águas costeiras são mais contaminadas que aquelas de alto-mar ou as profundas. Por contaminação de águas costeiras, o pescado pode conter *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus ssp.*, *Citrobacter freundii*, entre outras (VIEIRA, 2004).

Os moluscos (ostras, mariscos, lulas) são, tradicionalmente, consumidos crus e levemente cozidos. Desta forma, são vistos como alimento de alto risco e estão largamente associados a envenenamento alimentar, provavelmente, como conseqüência do aumento da poluição ambiental. Moluscos são os maiores veículos do vírus da hepatite A. *Salmonella typhi* também é considerada um dos mais significantes contaminantes, enquanto que *Vibrio cholerae* e *Vibrio parahaemolyticus* estão envolvidos em menor intensidade, seguidos por *Vibrio vulnificans*, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter jejuni*. As ostras e outros mariscos, pelos quais passam grandes quantidades de água durante o processo de filtração, recolhem desta maneira os microrganismos que têm origem no solo e na água, incluindo os patógenos presentes. Neste tipo de produto, encontram-se espécies dos gêneros

*Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Acinetobacter* e algumas bactérias gram-positivas (LEITÃO; TEIXEIRA FILHO; BALDINI, 1985).

Os moluscos apresentam em sua carne alto teor de carboidratos, quando comparados aos pescados e crustáceos, e menor teor de nitrogênio total. Os carboidratos encontra-se, principalmente, na forma de glicogênio. Conseqüentemente, a deterioração apresenta um padrão diferente. Os crustáceos apresentam maior porcentagem de carboidratos do que os pescados. Entre os crustáceos, os mais consumidos são os camarões, lagostas e caranguejos. A microbiota de crustáceos recém-capturados reflete a qualidade da água em que estavam e da água de lavagem, as condições higiênicas de manipulação, etc. Os microrganismos presentes na microbiota são os mesmos encontrados em peixes com *Pseudomonas spp*, *Acinetobacter*, *Moraxella* e leveduras, sendo predominantes na deterioração desses alimentos (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

A deterioração de crustáceos parece ser bastante similar à do peixe, começando nas partes externas devido à anatomia desses organismos. A presença de altas quantidades de aminoácidos livres torna-os extremamente suscetíveis ao rápido ataque da microbiota deteriorante. Como nos pescados, a deterioração é acompanhada pela produção de grandes quantidades de bases nitrogenadas voláteis. Algumas dessas bases originam-se da redução do óxido de trimetilamina presente nos crustáceos (FRAZIER e WESTHOFF, 1978).

Os tipos citados de deterioração ocorrem, em geral, em pescado preservado por congelamento. Já os peixes salgados são deteriorados por gêneros *Serratia*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Schromobacter* e *Pseudomonas* (bactérias halofílicas) e, geralmente, provocam colorações, sendo a vermelha a mais comum. Os fungos são os principais deterioradores de peixes defumados (VIEIRA, 2004).

As principais características dos microrganismos do pescado segundo OGAWA e MAIA (1999), são:

*Pseudomonas* – bactérias originárias do pescado. São gram-negativas, não formam esporos, aeróbicas, locomovem-se com auxílio de flagelos e quase não há espécies que produzam pigmentos carotenóides. A maioria das *Pseudomonas* desenvolvem-se bem numa temperatura em torno de 0°C. Sua velocidade de crescimento é rápida. A maioria hidrolisa proteínas e lipídeos e participam ativamente na deterioração do pescado conservado sob baixas temperaturas, em condições aeróbicas. Apresentam baixa resistência a um meio ácido, com desenvolvimento inibido em pH em torno de 5. As bactérias morrem facilmente por pasteurização. Podem ser separadas nos grupos I, II e III/IV. Os grupos I e II produzem ácidos, metabolizando aerobicamente a glicose. Este grupo contém bactérias de origem terrestre, não-halofílicas, e diferencia-se pela produção de

pigmentos que emitem luz. Há também bactérias que produzem forte odor de deterioração, de forma que a maioria produz odor de frutas e de ácidos, sendo resistentes ao congelamento. O grupo III/IV inclui halofílicas e não-halofílicas, sendo o primeiro de origem terrestre e o segundo marinha. As bactérias não-halofílicas deste grupo formam um forte odor desagradável, característico de deterioração. Os compostos produzidos são: metilmercaptanas, dimetil dissulfito, dimetil trissulfito, 4-metil-1-butanol, trimetilamina, etil éster de acetato, butirato e hexanoato. O grupo é sensível ao congelamento.

*Alcaligenes* – as bactérias isoladas do pescado assemelham-se às *Pseudomonas* do grupo III/IV não-halofílicas. São poucas detectadas em pescado e participam eventualmente no processo de deterioração.

*Vibrio* – as bactérias deste gênero decompõem a glicose por fermentação. A maioria não produz gás na decomposição da glicose. Bactérias *V. psicrófilas* são detectadas em pescado em qualquer época do ano e, no verão, encontram-se mais as *Vibrio* mesofílicas. Algumas espécies dão forte odor de putrefação. Em geral, na ausência de sal no meio de cultura, não se desenvolvem por serem halofílicas. Quanto à resistência ao calor, são muito sensíveis morrendo quando expostas a 50°C por 15 minutos. Apresentam forte resistência ao meio ácido, chegando algumas a desenvolverem-se em pH 4,5. São sensíveis ao congelamento. A *Vibrio parahaemolyticus* pode ser isolada em vários produtos marinhos e no ambiente marinho. No Japão, tem sido responsável por até 60% dos incidentes de envenenamento alimentar, onde grande quantidade de produtos marinhos é consumida cru. Quanto às *Vibrio cholerae*, existe alguma indicação de que este organismo possa fazer parte da microbiota marinha normal. Deve-se ter atenção quanto à sensibilidade do *V. cholerae* ao calor. A *V. vulnificus* é uma bactéria marinha, halofílica, lactose positiva, que tem sido isolada de numerosos ambientes marinhos. A fonte original destas infecções parece ser o consumo de ostras cruas. Isolamentos de amostras marinhas são mais altos quando as temperatura excedem 20°C e a salinidade da água está entre 5% e 20%.

*Aeromonas* – essa bactérias produzem gás na decomposição da glicose. A incidência de *Aeromonas* é bem mais baixa que de *Vibrio*, e sua participação na deterioração do pescado é muito pouca. As principais fontes da bactéria *Aeromonas hydrophila* são os ambientes aquáticos. Também têm sido implicadas em doenças de origem alimentar devido ao consumo de ostras cruas.

*Enterobacteriaceae* – na família *Enterobacteriaceae*, incluem-se os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Proteus*, etc. São mesófilas, mas algumas espécies podem desenvolver-se em temperaturas de aproximadamente 5°C. Apresentam forte capacidade de deterioração, mas ocorrem relativamente pouco em pescado marinho.

*Photobacterium* – isoladas de pescado marinho são, na maioria, *P. phosphoreum*, que emitem luz e descarboxilam histidina formando e acumulando histamina.

*Moraxella* – são, em sua maioria, psicrófilas, com velocidade de desenvolvimento lenta. Apresentam pouca resistência ao calor, a maioria morrendo quando submetida a 45°C por 15 minutos. Entretanto, são resistentes ao congelamento. Suas atividades de deterioração são baixas, tendo pouca capacidade de decompor proteínas e formar compostos com odor de putrefação.

*Acinetobacter* – sua atividade de deterioração também é baixa e semelhante à *Moraxella*.

*Flavobacterium* – bactérias pertencentes a estes gêneros são aeróbicas, bacilos, produzem pigmentos carotenóides – amarelo, laranja, etc. Não possuem flagelos e, por isso, não devem se locomover. Algumas dessas bactérias podem desenvolver-se a 4°C e mostram intensa atividade de putrefação e fraca resistência ao calor. Quanto à condição de congelamento, este grupo de bactérias é bastante resistente, chegando a maioria a sobreviver mesmo a -20°C durante 20 dias.

*Cytophaga* – bactérias desse grupo fazem movimentos específicos de deslizamento (slide motile), mas mesmo assim é difícil distinguir-se o gênero. Por isso, às vezes, são identificadas como *Flavobacterium-Cytophaga*.

*Micrococcus* – são gram-positivas, não se locomovem, cocos. Não decompõem o açúcar por fermentação. São originárias do pescado. Algumas desenvolvem-se em temperaturas baixas, mas com velocidade lenta. No entanto, são muito resistentes a temperaturas de congelamento, sobrevivendo a maioria por 20 dias a -20°C. A atividade de putrefação é, em geral, fraca.

*Staphylococcus* – assim como os *Micrococcus*, são gram-positivas, não se locomovem, cocos. Decompõem o açúcar por fermentação. Apresentam as demais características dos *Micrococcus* e a espécie mais importante desse grupo é o *Staphylococcus aureus*, que embora seja raramente encontrado em alimentos marinhos recém-capturados, pode ser encontrado em produtos que envolvam extensiva manipulação humana, como carne de caranguejo desfiada e o desconchamento de bivalves.

*Corynebacterium e Arthrobacter* – ambos são gram-positivos, não formam esporos, bacilos. As células podem assumir diferentes formas. Muitas vezes é difícil distinguir os dois gêneros e, por isso, pode-se usar a denominação *Corynebacterium-Arthrobacter*. O papel destas bactérias sobre a putrefação não está ainda bem esclarecido.

*Bacillus* – formam esporos, são gram-positivos, bacilos. O gênero é aeróbico, estão incluídas importantes bactérias que podem deteriorar alimentos em conservas, etc.

*Clostridium* – formam esporos, são gram-positivos, bacilos. O gênero é anaeróbico. As bactérias desse gênero estão relacionadas com a putrefação, em condições anaeróbicas e nutrição suficiente, desenvolvem-se rapidamente produzindo compostos com odor desagradável. O *Clostridium perfringens* é, normalmente, encontrado no trato intestinal do homem e no solo e, geralmente, não está associado a produtos marinhos recém-capturados. Embora possa contribuir para a produção de histamina no pescado mantido à alta temperatura (>30°C), não é um problema em produtos marinhos adequadamente preparados e armazenados. *Clostridium botulinum* tipo E é isolado quase que exclusivamente de ambientes marinhos, é de especial interesse porque é mais psicotrófico do que outros tipos dentro da espécie; é capaz de produzir toxina durante a refrigeração. A presença deste microrganismo tem sido de interesse em produtos marinhos defumados, uma vez que a destruição da microbiota deterioradora pela defumação facilitará a ação e produção de toxina por este microrganismo.

A microbiota do pescado em baixas temperaturas tem sido estudada e as evidências permitem algumas generalizações: organismos gram-negativos são mais sensíveis a choque térmico pela redução da temperatura (*cold shock*) que os gram-positivos e, os mesófilos, mais do que os psicrófilos. Este tratamento apresenta mais efeito para uma mesma espécie quando a diferença de temperatura é maior e o tempo de resfriamento é menor (DOYLE; BEUCHAT e MONTVILLE, 1997).

Quando uma suspensão de microrganismos é submetida a congelamento e descongelamento, uma parte das células sofre dano. Com o congelamento, deve haver um certo número de bactérias injuriadas que, após descongelamento, dependendo das condições ambientais, recupera-se ou morre, acarretando uma redução da vida útil do produto, podendo ser registrada a presença de bactérias patogênicas.

A composição da microbiota do peixe resfriado é formada por microrganismos adequados às condições ambientais de temperatura, quantidade de O<sub>2</sub>, pressão osmótica, pH, etc. A temperatura de estocagem é o fator principal. Quando peixes são conservados de 0°C a 5°C, a microbiota é alterada gradualmente, pois a maioria das bactérias *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Moraxella* desenvolvem-se nesta faixa de temperatura, enquanto que a maioria dos gêneros *Acnetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e outras não são capazes de se desenvolver ou sua velocidade de desenvolvimento é muito lenta (OGAWA e MAIA, 1999).

Quando a conservação ocorre na ausência de oxigênio, há predominância de bactérias anaeróbicas-facultativas e bactérias anaeróbicas. A resistência ao congelamento depende da bactéria. O congelamento parcial é um método de conservação em que o

pescado fica submetido a uma temperatura de  $-3^{\circ}\text{C}$  a  $-4^{\circ}\text{C}$ . Nesta faixa de temperatura, uma parte das bactérias morre, mas certas psicrófilas desenvolvem-se gradualmente e, com o tempo, deterioram o pescado (FRAZIER e WESTHOFF, 1978).

## 2.5 Utilização de pescados em produtos industrializados

A indústria de pescados produz atualmente uma quantidade grande de subprodutos, isto é, espécie de peixes ou frações dos peixes (pele, ossos, cabeças, caudas) que são consideradas normalmente sem utilidade para o consumo humano. De acordo com as estimativas das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura a quantidade de pescados capturados no ano de 2000 totalizaram 131 milhões de toneladas, apenas 97 milhões de toneladas foram destinados ao consumo humano. Isto revela que quase 34 milhões de toneladas não foram utilizadas para alimentação humana por serem partes que apresentam baixo valor comercial (NOMURA, 2002). Os pesquisadores na indústria de pescados estão procurando métodos de aumentar o valor destes subprodutos encontrando aplicações novas e mercados para eles.

Com baixos índices de consumo protéico de pescado "per capita" e infra-estrutura pesqueira de armazenagem e processamento precários, o Brasil necessita da viabilização de diversas formas acessíveis e eficientes no que diz respeito ao processamento e conservação do pescado (SZENTTAMÁSY *et al.*, 1993).

A elaboração de produtos industrializados derivados de pescados no Brasil é uma exigência premente, pois estes representam para a população uma alternativa de consumo de produtos com elevado valor nutricional e preço acessível. Aliado a isto as populações terão acesso a produtos diferenciados. Produtos estes que podem apresentar-se na forma de empanados, defumados, salgados, enlatados, fishburguers, presuntos e almôndegas dentre outros.

O valor nutricional apresentados por estes produtos derivados de pescados preenchem as necessidades diárias recomendadas para a boa nutrição humana, como pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3 - Nuggets (pedaços) de peixe frito (Conteúdo por 100g)

Energia STD (kcal)	198	Fósforo (mg)	220
Energia STD (KJ)	827	Potássio (mg)	230
Água (g)	63	Cálcio (mg)	45
Proteínas (g)	13,5	Ferro (mg)	0,7
Carboidratos disp. (g)	10,2	Retinol (µg)	Tr
Carboidratos disp. (g mono)	11,2	Equivalente β-caroteno (µg)	Tr
- Açúcares (g)	Tr	Vitamina D (µg)	Tr
- Amido (g)	10,2	Vitamina E (mg)	0,3
- Fibras (g)	0,5	Vitamina C (mg)	Tr
- Lipídeos (g)	11,3	Tiamina (mg)	0,09
- AG saturada (g)	2,6	Riboflavina (mg)	0,1
- AG monoinsaturados (g)	3,8	Niacina (mg)	0,1
- AG polinsaturados (g)	3,3	Ácido Pantotênico (mg)	0,3
- Colesterol (mg)	40	Vitamina B <sub>6</sub> (µg)	0,14
- Sódio (mg)	400	Vitamina B <sub>12</sub> (µg)	1
- Magnésio (mg)	22	Folatos (µg)	13

FONTE: FRANCO, (1997)

## 2.6 Produção dos empanados

A Instrução Normativa nº 6 de 15 de fevereiro de 2001 – anexo III do Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento (BRASIL, 2005c) define empanado como: o produto cárneo industrializado, obtido a partir de carnes de diferentes espécies de animais de açougue, acrescido de ingredientes, moldado ou não, e revestido de cobertura apropriada que o caracterize.

### 2.6.1 Emulsões cárneas

A teoria do aprisionamento físico defende a hipótese de que as partículas gordurosas não se separam devido ao desenvolvimento das forças iônicas presentes na matriz protéica. As proteínas gelificam-se durante o cozimento (GORDON e BARBUT, 1992). As emulsões cárneas são termodinamicamente sistemas instáveis por causa do contato desfavorável entre o óleo e as fases da água, se desestruturam e quebram sempre que o tempo de elaboração destas for excedente (DICKINSON, 1992; McCLEMENTS, 2005). Convencionalmente, as emulsões (O/W) de óleo em água são criados homogenizando-se uma fase do óleo e uma fase da água juntamente com a presença de um ou mais emulsificantes, aumentam a estabilidade cinética ao longo do tempo nos sistemas de emulsão na produção dos alimentos (McCLEMENTS, 2005; FRIBERG, *et al.*, 1990).

Os emulsificantes são ingredientes sulfato ativos que absorvem as interfaces e facilitam a produção de pequenas gotas baixando a tensão interfacial durante o homogeneização (STANG, *et al.*, 1994).

Os emulsificadores melhoram também a estabilidade da emulsão e a agregação das gotas gerando forças repulsivas entre as gotas e/ou dando forma a membrana interfacial em torno das gotas que são resistentes à ruptura (McCLEMENTS, 2005; WALSTRA, 2003; STANG, *et al.*, 1994)

No entanto, estes emulsificadores têm habilidades consideravelmente diferentes de dar forma e estabilizar a emulsão. Ou seja, cada tipo de emulsificador varia em sua eficácia em produzir gotas pequenas do óleo durante o homogeneização da emulsão e em sua habilidade de impedir a agregação da gota sob vários stresses ambientais tais como: pH, força iônica, aquecimento, congelamento, e secagem (STANG, *et al.*, 1994).

As emulsões são definidas como a mistura de duas substâncias imiscíveis, uma dispersa na outra, formando um sistema difásico, onde o tamanho das partículas varia de 0,1 a 5,0 µm de diâmetro. A emulsão cárnea também se constitui em um sistema composto por duas fases, uma contínua formada pela água e pelos agentes emulsificantes, e outra dispersa formada pelos glóbulos de gordura. Suas partículas são de diâmetro superior a 5,0 µm, por isso, são chamadas de emulsões não verdadeiras.

Os agentes emulsificantes são substâncias que ao serem absorvidas na interface óleo-água, devido às suas propriedades hidrofílicas e hidrofóbica, reduzem a tensão superficial e facilitam a formação de gotículas menores da fase dispersa (FRIBERGS, *et al.*, 1990).

Dois principais modelos são propostos para explicar a estabilização da gordura e água em massas cárneas: teoria da emulsão e teoria do aprisionamento físico (GORDON e BARBUT, 1992; BARBUT e MITTAL, 1991).

A primeira teoria defende a formação de um Filme Protéico Interfacial que circunda a gotícula de gordura com sua parte hidrofóbica. A fase hidrofílica, orienta externamente à gotícula, segura água, como ocorre nas emulsões verdadeiras.

A incorporação da gordura à massa é influenciada por vários fatores, como a temperatura durante o processo da emulsificação, tempo de emulsificação, formação da matriz, tipo e tamanho das partículas de gordura, pH, quantidade e tipo de proteínas solúveis e viscosidade da massa (SCHUT, 1976; JONES, 1982; BARBUT e MITTAL, 1991).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Matérias Primas**

Foram utilizados filés de tilápia Nilótica (*Oreochromis niloticus*) e de carpa comum (*Cyprinus carpio*), CMS (carne mecanicamente separada) de tilápia Nilótica e de carpa comum, provenientes da Cardume Indústria e Comércio de Peixes Ltda. Os ingredientes utilizados foram gordura hidrogenada de soja (COAMO), proteína texturizada de soja em pó (DUPLOGEL MF MARSUL) e proteína concentrada de soja em flocos (PROTIMARTI GV AP MARSUL), carragena (GENU IBRACK), sal, condimentos (COMPACTO 2172; IBRACK), água, leite em pó integral, liga espessante para empanados (C – B 420; BREMIL).

#### **3.2 Descrição do Processo de produção de empanados.**

##### **3.2.1 Retirada da matéria-prima da câmara**

Os filés e a carne mecanicamente separada eram armazenados durante 60 dias a  $-14^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1$ ). Os mesmos eram retirados da câmara de congelamento e em seguida levados à câmara de resfriamento a temperatura de  $6^{\circ}\text{C}$ , permanecendo nessa temperatura até atingiram as temperaturas estipuladas no planejamento experimental (Tabela 5).

##### **3.2.2 Pesagem das matérias-primas, aditivos**

Os filés, as carnes mecanicamente separadas, os aditivos e os ingredientes foram pesados conforme formulação pré-estabelecida pela indústria.

##### **3.2.3 Moagem das matérias-primas cárnicas**

As matérias-primas foram moídas em moedor industrial em disco 3 mm de diâmetro por duas vezes.

### 3.2.4 Moagem da proteína de soja concentrada em forma de flocos

A proteína de soja texturizada em forma de flocos foi pré-hidratada durante 12 horas em água filtrada a temperatura de 8,5°C na proporção 1,3 : 4, e moída em disco 3 mm de diâmetro por duas vezes.

### 3.2.5 Mistura das matérias-primas, aditivos e ingredientes

As matérias-primas, nos experimentos foram misturados seguindo uma ordem pré-estabelecida para a elaboração dos empanados, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4. Sequência da adição das matérias primas, no processo de elaboração dos empanados.

<b>Matérias Primas, aditivos e Ingredientes</b>	<b>Tempo de Mistura (minutos)</b>
Filé e CMS	1
Sal	1
Água	1
Aditivos e ingredientes	1
1/3 da gordura	2
Proteína de soja em flocos	3
Proteína de soja em pó	2
2/3 da gordura	3
Leite em pó	2

Após a realização de alguns ensaios preliminares decidiu-se avaliar o efeito de algumas variáveis de processo através da metodologia de planejamento de experimentos, conforme apresentado na Tabela 5. O Planejamento experimental realizado foi um 2<sup>4</sup> completo com triplicata no ponto central para avaliação do erro experimental, totalizando 19 experimentos.

Tabela 5. Variáveis e níveis do planejamento experimental completo 2<sup>4</sup>

<b>Variáveis Independes</b>	<b>Níveis</b>		
	-1	0	+1
Temperatura do filé e da carne mecanicamente separada (°C)	-6	-4	-2
Temperatura da Gordura (°C)	10	12	14
Temperatura da água (°C)	6	8	10
Relação tempo de extração de proteína/tempo de emulsão	4/12	6/13	8/14

\* Ponto central

### **3.3 Caracterização do Produto**

#### **3.3.1 Coleta das amostras**

As amostras foram coletadas após a etapa de mistura das matérias-primas, sendo utilizadas, para a caracterização, a massa do produto. O número de amostras coletadas foi de duas, e estas tinham 1,5 Kg cada. Os transportes das amostras até a Universidade foram efetuados em caixa de isopor com gelo, na temperatura de  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **3.3.2 Análises Físico-químicos**

##### **3.3.2.1 Determinação de Proteína**

Foi determinada pelo método de KJEDHAL descrito pelo BRASIL (2005), utilizando-se o sistema digestor-destilador Kjeldhal da (VELP Científica, modelo VDK126A).

##### **3.3.2.2 Determinação de Lipídeos**

Determinada pelo método de extração SOXHLET descrito pelo BRASIL (2005), utilizando-se o equipamento da marca Quimis Aparelhos Científicos LTDA, modelo Q-308-26.

##### **3.3.2.3 Determinação de Cinzas**

Determinou-se o resíduo mineral fixo (cinzas) pelo método descrito pelo BRASIL (2005), utilizando-se forno mufla a  $550\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Brasimet, modelo série K,  $1.300^{\circ}\text{C}$ ).

##### **3.3.2.4 Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH)**

Foi determinado pelo método potenciométricamente, em aparelho digital da marca Analyser, modelo pH300, de acordo com metodologia descrita pelo BRASIL (2005).

### 3.3.2.5 Determinação de Atividade de Água ( $A_w$ )

Foi determinada seguindo o procedimento do aparelho Aqualab CX-2 Water Activity – System, efetuando-se a calibração do aparelho com água deionizada e solução de NaCl a 18,5 % até sua estabilização, e em seguida feita à leitura da  $A_w/T^{\circ}\text{C}$  da amostra.

### 3.3.2.6 Determinação de umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método dessecação em estufa com circulação de ar a 105 °C modelo (FANEM) 320-SE. Conforme metodologia descrito, pelo IAL (1985).

### 3.3.2.7 Índices de Cor

Foi determinada seguindo o procedimento do colorímetro sistema CIE LAB (Minolta CHROMA METER CR-400). Os índices de cor:  $L^*$  (brilho e/ou luminosidade),  $+a^*$  (predominância da cor vermelha),  $+b^*$  (predominância da cor amarela) foram determinadas

## 3.3.3 Análises Microbiológicas

### 3.3.3.1 Preparação das amostras

Retirou-se assepticamente fragmentos do produto até completar 25 g, pesados diretamente em embalagem plástica estéril. A seguir adicionou-se 225 mL de caldo lactosado, para o pré-enriquecimento da pesquisa de *Salmonella* spp, e homogeneizou-se por 60 segundos. Para os demais ensaios, utilizou-se água peptonada, e procedeu-se a homogeneização no “Stomacher” por 60 segundos para obtenção da diluição  $10^{-1}$ . A seguir realizaram-se as diluições decimais consecutivas utilizando-se 9mL de água peptonada e 1mL da diluição anterior.

### 3.3.3.2 Pesquisa de *Salmonella* spp

Após o período de incubação de 24 horas a 35 °C, transferiu-se 1 mL do cultivo para 10 mL de caldo Selenito Cistina (SC) e para 10 mL de Caldo Tetrionato e, 0,1 mL para 10 mL de Caldo Rappaport Vassiliadis (RV), após incubado a 41° C em banho-maria. Depois de

24 horas realizou-se as sementeiras em placas de Petri, contendo Àgar Ramback, com o objetivo de isolamento de colônias suspeitas, submetendo-as a testes bioquímicos e sorológicos (SILVA *et al.*, 1997).

### 3.3.3.3 Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Pipetou-se assepticamente 0,1 mL das diluições preparadas anteriormente e semeou-se sobre a superfície do Àgar Baird-Parker (BP) com o auxílio de uma alça de “Drigalski”. Para a diluição  $10^{-1}$  utilizou-se 3 placas com Àgar Baird-Parker e semeando-se 0,3 mL e 0,4 mL. Após o período de incubação de 48 horas a 35 °C realizou-se a contagem das colônias típicas e atípicas. Após selecionadas 3 colônias típicas e 3 atípicas, transferiu-se para tubos contendo caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) . Após a incubação a 35 °C durante 24 horas, realizou-se a prova de coagulase.

### 3.3.3.4 Contagem de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes

Inoculou-se 1 mL de cada diluição selecionada em placas de Petri esterilizadas. Adicionou-se a cada placa cerca de 15 mL de Àgar Cristal Violeta Vermelho Neutro Bile (VRBL) previamente fundido e mantido a 45 °C  $\pm$  2 °C em banho-maria. Misturou-se o inóculo com o meio de cultura movimentando suavemente as placas, numa superfície plana, em movimentos na forma de oito ou em movimentos circulares. Foi mantido em repouso até o meio solidificar, após foi adicionado a cada placa cerca de 10 mL de ágar VRBL previamente fundido e mantido a 45 °C  $\pm$  2 °C em banho-maria, formando uma segunda camada de meio. As placas, foram incubadas em posição invertida, após completa solidificação do meio, em estufa regulada a 36 °C  $\pm$  1 °C durante 18/24 horas. Foram selecionadas as placas que continham entre 15 a 150 colônias, observando-se as colônias que apresentavam morfologia típica de coliformes, ou seja, colônias róseas, com 0,5 mm a 2 mm de diâmetro, rodeadas por um halo rosado de precipitação de sais biliares e procedeu-se as provas confirmativas para coliformes totais e coliformes termotolerantes sobre 3 a 5 colônias. As colônias atípicas, foram contadas separadamente, procedendo-se também as provas confirmativas sobre 3 a 5 colônias. Para as provas confirmativas foi inoculado, com o auxílio de alça de platina esterilizada, cada uma das colônias típicas e atípicas selecionadas para tubos contendo Caldo Verde Brilhante bile 2 % (VB), incubando os tubos em estufa regulada a 36 °C  $\pm$  1 °C durante 24/48 horas, e após realizou-se a leitura. A presença de coliformes totais era confirmada pela presença de gás nos tubos de Durham. Para a

confirmação de coliformes termotolerantes, foi inoculado, com o auxílio de alça de platina esterilizada, cada uma das colônias típicas e atípicas selecionadas para tubos contendo caldo E. coli (EC), que foram incubados em banho-maria a  $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24/48horas.

#### **3.3.3.5 Análises estatísticas**

Os dados obtidos foram tratados segundo metodologia de planejamento de experimentos ou análise de variância seguido de teste de Tukey no software Statistica 5.0.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos nas análises físico-químicas e microbiológicas referentes aos ensaios do Planejamento de Experimentos realizado na etapa de mistura da produção de empanados de peixe.

### 4.1 Planejamento de Experimentos

A Tabela 6 apresenta a matriz do Planejamento de Experimentos realizado, com as variáveis independentes estudadas e seus respectivos níveis codificados e reais. Os níveis das variáveis estudadas foram definidos após a realização de ensaios preliminares.

Tabela 6. Matriz do Planejamento de Experimentos realizado com os níveis codificados e reais de cada variável estudada.

Ensaio	Temperatura do Filé e da Polpa (°C) $x_1$	Temperatura da Gordura (°C) $x_2$	Temperatura da Água (°C) $x_3$	Relação Tempo de Extração de Proteína/Tempo de Emulsão $x_4$
1	-1 (-6)	-1 (10)	-1 (6)	-1 (4/12)
2	1 (-2)	-1 (10)	-1 (6)	-1 (4/12)
3	-1 (-6)	1 (14)	-1 (6)	-1 (4/12)
4	1 (-2)	1 (14)	-1 (6)	-1 (4/12)
5	-1 (-6)	-1 (10)	1 (10)	-1 (4/12)
6	1 (-2)	-1 (10)	1 (10)	-1 (4/12)
7	-1 (-6)	1 (14)	1 (10)	-1 (4/12)
8	1 (-2)	1 (14)	1 (10)	-1 (4/12)
9	-1 (-6)	-1 (10)	-1 (6)	1 (8/14)
10	1 (-2)	-1 (10)	-1 (6)	1 (8/14)
11	-1 (-6)	1 (14)	-1 (6)	1 (8/14)
12	1 (-2)	1 (14)	-1 (6)	1 (8/14)
13	-1 (-6)	-1 (10)	1 (10)	1 (8/14)
14	1 (-2)	-1 (10)	1 (10)	1 (8/14)
15	-1 (-6)	1 (14)	1 (10)	1 (8/14)
16	1 (-2)	1 (14)	1 (10)	1 (8/14)
17	0 (-4)	0 (12)	0 (8)	0 (6/13)
18	0 (-4)	0 (12)	0 (8)	0 (6/13)
19	0 (-4)	0 (12)	0 (8)	0 (6/13)

## 4.2 Análises Físico-Químicas

A Tabela 7 apresenta os resultados obtidos nas análises físico-químicas realizadas.

Tabela 7. Respostas de análises físico-químicas obtidas no Planejamento de Experimentos realizado

Ensaio	Gordura	Proteína	Cinzas	PH	$a_w$	Umidade	L*	a*	b*
1	6,1	18,7	2,2	6,1	0,99	71,3	69,7	7,5	15,8
2	7,1	16,0	3,2	6,5	0,99	67,1	69,0	7,1	16,3
3	6,9	18,3	3,0	6,1	0,99	64,3	63,6	8,4	17,9
4	4,0	17,3	3,2	6,4	0,98	63,9	68,5	8,4	15,4
5	9,8	17,2	1,9	6,9	0,99	65,6	62,6	8,3	13,0
6	10,1	14,7	3,1	6,9	0,99	65,6	64,8	5,8	12,9
7	10,2	15,8	2,1	6,6	1,00	66,5	61,0	7,0	13,3
8	8,9	15,4	3,7	6,8	0,99	63,2	63,9	6,8	13,0
9	13,1	16,0	3,1	6,4	0,99	65,1	67,5	8,9	17,3
10	7,9	15,3	3,2	6,4	0,99	63,8	68,2	8,1	16,8
11	8,1	17,5	2,6	6,6	0,99	65,9	59,9	6,1	12,9
12	9,5	16,6	2,3	6,8	0,99	66,3	62,3	6,1	11,8
13	12,3	18,1	2,6	6,6	1,00	65,5	62,9	5,8	13,1
14	9,2	16,9	2,1	6,3	0,99	66,1	52,6	7,4	13,0
15	12,0	17,0	3,0	6,3	0,99	65,3	68,5	7,5	16,5
16	12,7	17,7	3,1	6,3	0,99	66,3	67,7	7,1	17,7
17	6,4	19,9	2,9	6,2	0,98	70,7	30,9	5,0	17,5
18	5,4	17,1	2,6	6,2	0,98	67,9	68,2	5,6	17,9
19	9,5	17,5	1,9	6,4	0,99	66,9	51,8	8,7	12,4

**NOTA:** L\*: brilho ou luminosidade; +a\*: vermelho; +b\*: amarelo.

Cada resposta obtida nas análises é discutida individualmente a seguir.

### 4.2.1 Gordura

A Tabela 8 apresenta as respostas obtidas para a análise de gordura nos experimentos correspondentes ao planejamento de experimentos.

Tabela 8. Médias e Desvio Padrão para a resposta Gordura

Experimento	Gordura (g/100g)	Desvio Padrão
1	6,1	1,81
2	7,1	0,80
3	6,9	0,82
4	14,0	0,57
5	9,8	1,50
6	10,1	0,08
7	10,2	0,47
8	8,9	0,15
9	13,7	2,72
10	7,9	1,51
11	8,1	0,05
12	9,5	0,78
13	12,3	0,50
14	9,2	1,59
15	12,0	0,74
16	12,7	0,63
17	6,4	0,74
18	5,4	0,40
19	9,5	0,44

\* Média de 3 repetições

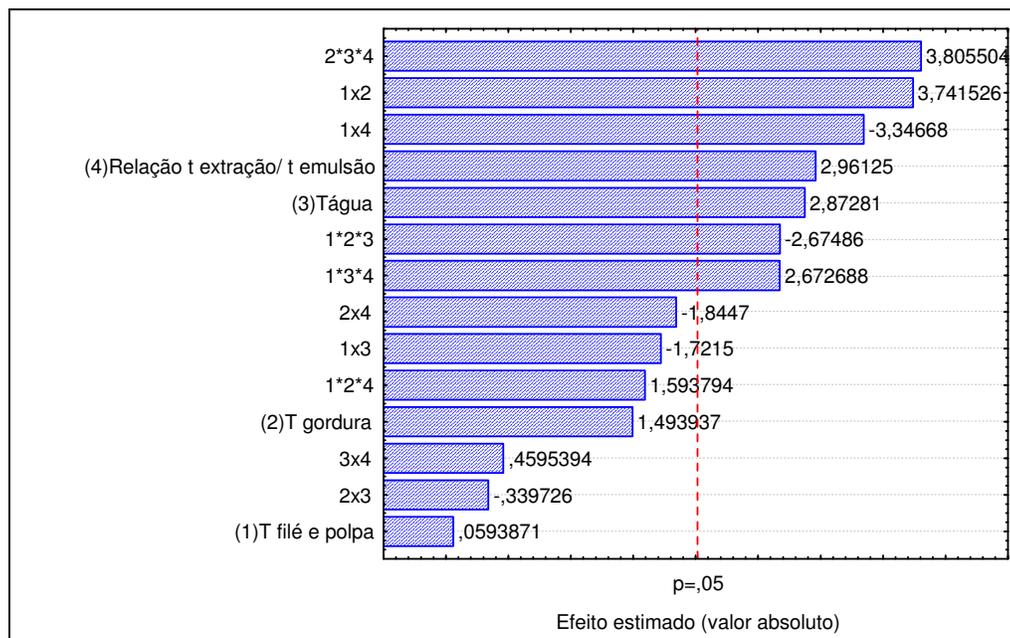


Figura 3. Gráfico de Pareto com efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento experimental completo  $2^4$  para o teor de gordura.

O gráfico de Pareto (Figura 3) destaca que a temperatura da água e o tempo de extração/ tempo de emulsão, influenciam na quantidade de gordura presente na massa do empanado quando de sua elaboração. O efeito destas variáveis são significativos positivos ( $p < 0,05$ ), indicando que um aumento em ambas irá gerar um aumento na resposta gordura na massa.

A análise feita para a resposta gordura no planejamento de experimentos realizado gerou o modelo não linear de primeira ordem apresentado na Equação 1. A equação apresenta como se comporta a variável gordura em função das variáveis independentes estudadas. Observa-se a presença de interações entre as variáveis indicando que o conteúdo de gordura presente nas amostras é afetado não apenas por variáveis isoladas, mas também por efeitos antagônicos e sinérgicos entre elas.

$$Gordura = 9,48 + 0,74.x_3 + 0,77.x_4 + 0,97.x_1.x_2 - 0,87.x_1.x_4 - 0,69.x_1.x_3.x_4 + 0,98.x_2.x_3.x_4$$

Equação 1

Onde:

$x_1$  = Temperatura do filé e polpa

$x_2$  = Temperatura da gordura

$x_3$  = Temperatura da água

$x_4$  = Relação Tempo de extração/Tempo de Emulsão

O modelo apresentado na Equação 1 foi validado pela Análise de Variância apresentada na Tabela 9. O F calculado foi maior do que o F tabelado em torno de 4 vezes, e o coeficiente de correlação de 0,82 validaram o modelo e permitiram a construção da superfície de resposta apresentada na Figura 4.

Tabela 9. Análise de variância para a resposta gordura

Fontes de variação	Soma dos Quadrados	Graus de liberdade	Soma dos quadrados médios	F <sub>calculado</sub>
Regressão	228,45	7	32,63	9,29
Resíduo	172,03	49	3,51	
Erro	172,03	49		
Total	400,49	56		

F<sub>tab</sub>; 0,95; 7;49 = 2,20; Coeficiente de correlação R= 0,82

Na Figura 4 observa-se a influencia da variável tempo de extração/ tempo de emulsão e a temperatura da água na quantidade de gordura presente na massa do empanado.

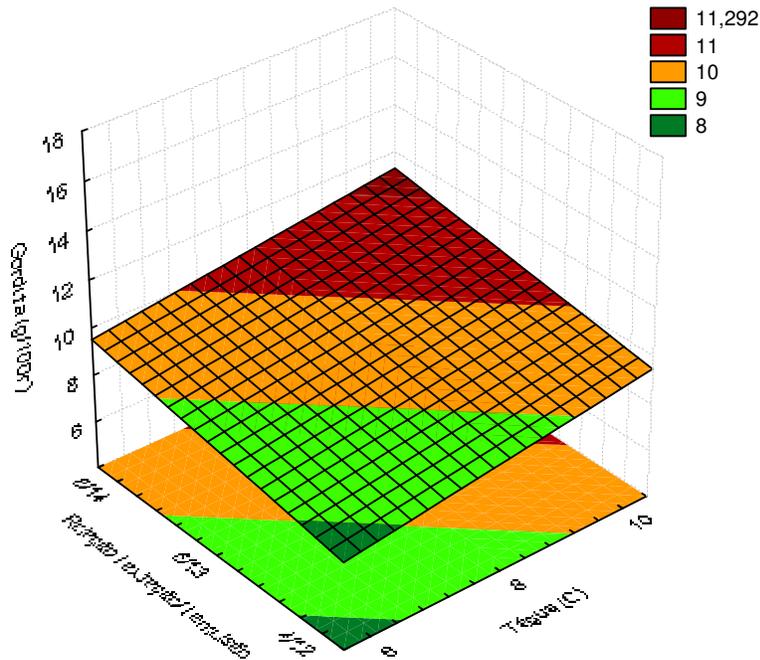


Figura 4. Superfície de Resposta para o teor de Gordura (g/100) em função da relação tempo de extração/ tempo de emulsão e temperatura da água.

Conforme aumenta o tempo de extração e emulsão, ocorre aumento na quantidade de gordura na massa de empanado, uma vez que simultaneamente acontece maior divisão no tamanho das partículas de gordura transformando-a em pequenas partículas, e isso é essencial, pois favorece o recobrimento da mesma pelo agente emulsificante (proteínas). Aumentando a temperatura da água essa favorece a permanência da gordura hidrogenada na forma pastosa, logo favorece a formação de partículas muito pequenas de gordura as quais serão totalmente recobertas pelas proteínas tendo-se uma massa homogênea (Figura 4).

O menor e o maior valor referente ao teor de gordura na massa do empanado foram 6,1% e 14,0% que ocorreram nos experimentos 1 e 4, sendo que os outros valores ficaram dentro dessa faixa (Tabela 8).

O menor valor encontrado referente a gordura foi no experimento 1, isto foi devido ao fato de que nesse experimento se encontrava , conforme planejamento (Tabela 6), o

menor tempo de extração de proteína/ tempo de emulsão e também o menor valor da temperatura da água (6°C). Esses dois fatores associados dificultaram a extração das proteínas miofibrilares, logo não ocorreu boa formação de emulsão na massa, conforme pode ser visto na figura 5, onde aparece gordura não misturada com a massa.



Figura 5. Aspecto Visual da massa no experimento 1.

O experimento 4 foi o que apresentou o maior teor de gordura na massa do empanado (14,0%). Este valor estaria associado aos valores estabelecidos no planejamento (Tabela 6), onde os valores das temperaturas para as matérias-primas (filé, polpa) e da gordura foram as maiores. A gordura estando na forma pastosa favorece a formação de partículas menores, que por sua vez necessitam de um tempo para serem reduzidas a partículas muito pequenas. Isso ocorreu e estas foram bem envolvidas pelas proteínas miofibrilares, conforme pode ser observado na Figura 6, onde a massa apresentou-se bem homogênea.



Figura 6. Aspecto Visual da massa no experimento 4.

No experimento 9 obteve-se um teor de gordura de 13,7%, sendo que a concentração gordura foi adicionada a 10°C, sendo esta considerada uma alta temperatura, uma vez que em testes preliminares a gordura foi adicionada a 4°C e a esta temperatura não ocorreu mistura desta com a massa e conseqüentemente a formação de emulsão. O tempo de extração de proteína/ tempo de emulsão nesse experimento 9 foi o maior estipulado no planejamento dos experimentos (tabela 6), juntamente com o menor temperatura das matérias-primas (filé e polpa). Devido a isso foi obtida uma melhor extração das proteínas miofibrilares as quais foram capazes de reter a gordura, como conseqüência obteve-se uma maior retenção de gordura na massa e uma maior homogeneidade dessa conforme pode ser observado na Figura 7.



Figura 7. Aspecto Visual da massa no experimento 9

No experimento 16, se trabalhou com os maiores valores de temperaturas nos filé e polpa, na gordura, na água e com os maiores tempos de extração de proteína/tempo de emulsão (tabela 6), o teor de gordura foi de 12,7%. Demonstrando assim que ocorreu boa extração das proteínas cárnicas bem como boa retenção da gordura na massa do empanado, conforme aspecto apresentado pela massa na Figura 8.



Figura 8. Aspecto da massa no experimento 16

No experimento 13 o que apresentou teor de gordura de 12,31%, se verificou que neste foi utilizado a maior temperatura da água (10°C) e o maior tempo de extração de proteína/tempo de emulsão, do planejamento (tabela 6), sendo assim ocorreu uma melhor emulsão, tendo-se como consequência melhor homogeneidade da massa do empanado, conforme mostra a Figura 9.



Figura 9. Aspecto Visual da massa no experimento 13

Em estudo realizado por PEIXOTO, *et al.*, (2002) a composição centesimal em salsichas de peixe no que tange aos lipídeos apresentou valor de 1,7%, já no empanado estes valores variaram entre 6,1% a 14,0%. Nos dezenove experimentos realizados apenas o experimento 18 apresentou valor menor (5,4%), do que a faixa de valores encontrados pelos referidos autores).

FLORES *et al.*, (2002) realizaram estudos em filés de atum temperados cozidos a 68°C e armazenados a temperatura de 5 °C. No referido estudo foi avaliada a composição físico-química do produto sendo que o valor encontrado quanto ao teor de lipídeos foi de 6,1% sendo que ao observar os teores nos experimentos 1, 3, 5 e 6 (Tabela 8) apresentaram valores próximos ao citado anteriormente.

Estudo realizado por SIMÕES *et al.* (1998) em hambúrgueres formulados a base de peixes, o valor obtido no que tange a quantidade de lipídios foi de 4,7% valor esse inferior ao obtido no empanado, no qual o menor valor foi de 5,4% e o maior de 14,0%.

ECHARTE *et al.* (2003), estudaram a avaliação nutricional de patês de peixes. Estes relataram que os valores de lipídios em patês de salmão, anchova e bacalhau foram de, 26,4%, 16,1% e 13,7%, respectivamente. AQUERRETA *et al.*, (2002), encontraram em patês de atum, salmão e anchova, 10,0%, 28,9% e 26,2% de lipídios, respectivamente.

Estas diferenças seriam devido às proporções diferentes das matérias-primas (peixe e polpa) empregadas na formulação, os conteúdos de lipídeos de diferentes espécies e a variação quantitativa dos demais componentes como óleo vegetal e gordura hidrogenada adicionada na formulação. Como o maior teor de lipídio nesse estudo foi de 14,01%, esse foi maior do que o encontrado nos patês de bacalhau e atum.

#### 4.2.2 Proteína

A presença das proteínas solubilizadas durante a preparação da massa, principalmente após a adição do sal, é de importância para que o filme protéico interfacial se forme na superfície da gotícula de gordura, e estabilize a emulsão (KINSELLA,1976).

A Tabela 10 apresenta as respostas obtidas nas análises de Proteína em cada um dos experimentos correspondentes ao Planejamento de Experimentos.

Tabela 10. Médias e Desvio Padrão para a resposta Proteína

Experimento	Proteína (g/100g)	Desvio Padrão
1	18,7	0,36
2	16,0	0,16
3	18,3	0,78
4	17,3	2,00
5	17,2	0,92
6	14,7	0,59
7	15,8	0,32
8	15,4	0,40
9	16,0	0,87
10	15,3	0,11
11	17,5	1,56
12	16,6	1,98
13	18,1	1,68
14	16,9	1,33
15	17,0	1,88
16	17,7	1,95
17	19,9	1,78
18	17,1	0,82
19	17,5	0,87

\* Média de 3 repetições.

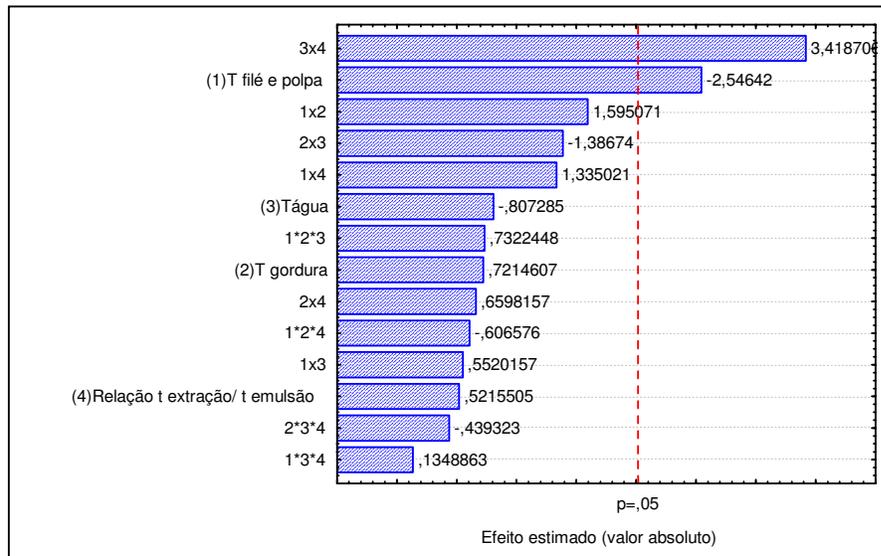


Figura 10. Gráfico de Pareto com efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento experimental completo  $2^4$  para o teor de proteína.

As respostas de proteína obtidas em relação as variáveis independentes estudadas foram tratadas estatisticamente e verificou-se que não foi possível o ajuste de um modelo empírico que descrevesse o comportamento do conteúdo de proteína em relação aos parâmetros de processo avaliados. Os efeitos principais e de interação das variáveis estudadas foram então descritos em um gráfico de Pareto apresentado na Figura 10.

Observa-se na Figura 10 que a temperatura do filé e da polpa exercem efeito negativo na quantidade de proteína, isso vem de acordo com SAEKI e INOUE (1997) que observaram diminuição na solubilidade das proteínas do peixe “*Carpa*” conforme aumentava a temperatura na operação. Essa diminuição seria decorrente da desnaturação que sofrem essas proteínas, pois os agentes de desnaturação podem ser classificados em físicos (calor, irradiação, ultravioleta, ultrassom) e químicos (cloreto de guanidina, uréia, brometo de lítio, solventes orgânicos, detergentes e extremos de pH) (SGARBIERI, 1996).

As proteínas miofibrilares obtidas do peixe “*Carpa*” são termicamente e quimicamente muito instáveis quando comparadas com proteínas obtidas de outros animais vertebrados, e suas propriedades são modificadas rapidamente em decorrência da desnaturação que ocorre. A desnaturação caracteriza-se por alterações estruturais, ou seja, alteração no tamanho e na forma das moléculas, quase sempre irreversíveis que causam perdas da atividade fisiológica e propriedades físico-químicas das proteínas, (OGAWA e MAIA, 1999).

Nos dezenove experimentos os valores referentes à proteína variaram seus valores entre 14,7% e 19,9% sendo que o menor valor ocorreu no experimento 6 e o maior no experimento 17. Os experimentos 17, 1, 3, e 13 apresentaram os maiores teores de proteína

no empanado, variando entre 19,9% e 18,1%. Observa-se na Tabela 6 que nestes experimentos a temperatura das matérias-primas filé e polpa era a menor estipulada no planejamento, confirmando o resultado obtido no gráfico de Pareto (Figura 10), e possibilitando concluir que quanto menor a temperatura destas maior é a quantidade de proteína no empanado. Enquanto que os experimentos 6, 8, e 10 apresentaram baixos teores de proteína que variaram entre 15,4% e 14,7%. Estes baixos teores ocorreram em função da desnaturação protéica ocorrida durante o tempo de extração de proteína/ tempo de emulsão, que foi favorecida pela alta temperatura das matérias-primas filé e polpa durante a execução dos experimentos (Tabela 6). Esses resultados estão em concordância com o gráfico de Pareto apresentado na Figura 10, o qual mostra que o fator temperatura das matérias-primas filé e polpa, têm efeito negativo no teor de proteínas do empanado.

Em FRANCO, (1997) a quantidade de proteínas encontrada em mouse de peixe foi de 13,0%, valor este inferior ao encontrado nos 19 experimentos do empanado de “*Carpa*” que apresentou como menor valor 14,7% no experimento 6 e o maior 19,9% no experimento 17.

Salsichas elaboradas com a pescada “*Go*” (*Macrodon ancylodon*), apresentaram teor de proteínas de 11,0% (PEIXOTO, *et al.*, 2002). O menor valor de proteína encontrado no empanado de “*Carpa*” foi de 14,7% (6º experimento), sendo este superior ao encontrado na salsicha.

O camarão (*Panulirus brasiliensis*), Caranguejo (*Ucides cordatus*), Lagosta (*Panulirus argus*), Ostra (*Crassostrea rhizophorae*), e Mexilhão (*Anomalocardia brasiliensis*), apresentaram valores de proteínas entre 10,6% a 21,4%, sendo a lagosta e o marisco que maiores valores apresentou pois ficou entre 21,4% a 19,0% (PEDROSA e CAZZOLINA, 2001). Os valores de proteínas no empanado de “*Carpa*” variaram entre 19,9% e 14,7%, ficando esses valores semelhantes aos encontrados na maioria dos mariscos e próximo ao encontrado na lagosta.

Conforme BRASIL (2000) o teor de proteína em produtos “in natura” como hambúrguer é de 15,0%, ao observar-se os valores obtidos nos dezenove experimentos, todos encontram-se de acordo com a legislação em vigor.

### 4.2.3 Cinzas

Os teores de cinzas nos empanados de “*Carpa*” encontrados nos dezenove experimentos realizados encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11. Médias, Desvio Padrão para a resposta Cinzas

Experimento	Minerais (g/100g)	Desvio Padrão
1	2,2	0,01
2	3,2	0,00
3	3,0	0,00
4	3,2	0,00
5	1,9	0,00
6	3,1	0,01
7	2,1	0,00
8	3,7	0,03
9	3,1	0,00
10	3,2	0,00
11	2,6	0,00
12	2,3	0,00
13	2,6	0,00
14	2,1	0,01
15	3,0	0,00
16	3,1	0,00
17	2,9	0,00
18	2,6	0,00
19	1,9	0,00

\* Média de 3 repetições

Ocorreu pequena variação nos teores de cinzas nos dezenove experimentos realizados, uma vez que o menor valor foi de 2,1% e o maior valor de 3,7% (Tabela 11). Esses valores encontrados são decorrentes da adição dos sais cura, sal e outros aditivos, que fazem parte da composição do empanado, uma vez que o peixe “*Carpa*” e várias espécies de peixes brancos (*Coregonus spp.*), apresentam teores de cinzas de 1,5% e 1,1% respectivamente (UNIFESP, 2006).

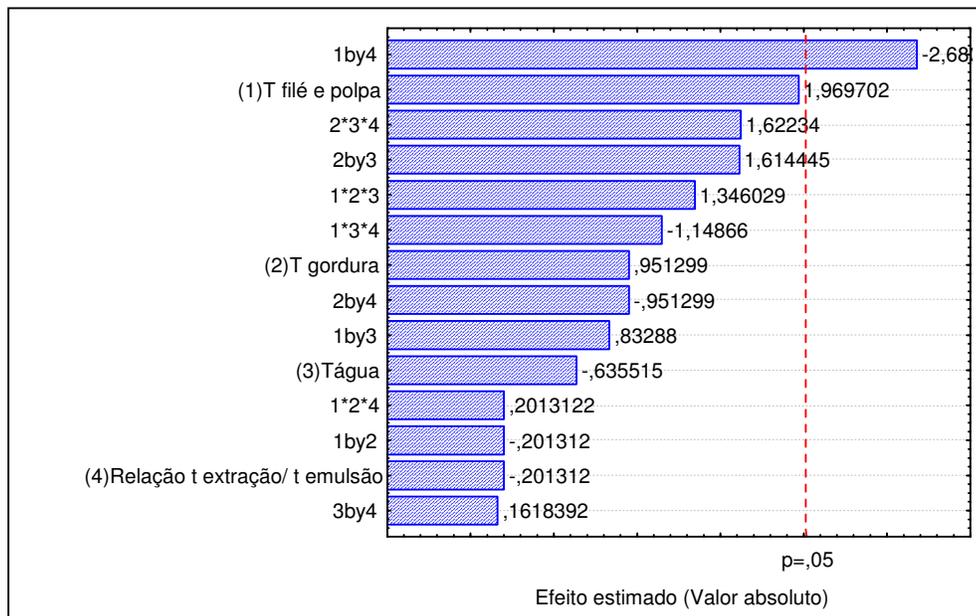


Figura 11. Gráfico de Pareto com efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testados no planejamento experimental completo  $2^4$  para o teor de cinzas.

Os experimentos 17, 1, 3, e 13 que apresentaram os maiores teores de proteína no empanado (Tabela 10), apresentaram os menores valores de cinzas, assim como os experimentos 6, 8, e 10, que apresentaram baixos teores de proteína, apresentaram os maiores valores de cinzas (Tabela 10). Estes altos valores de cinzas (Tabela 11) ocorreram nesses experimentos (6, 8 e 10), em decorrência da pouca quantidade de proteína presente, e também por que os íons constituintes desses sais apresentam afinidade pelas proteínas, logo não foram bem distribuídos na massa do empanado. Esses resultados estão em concordância com o gráfico de Pareto apresentado na Figura 11, o qual mostra que a interação entre os fatores temperatura das matérias-primas filé e polpa, e a relação do tempo de extração/ e emulsão têm efeito negativo no teor de cinzas do empanado.

#### 4.2.4 pH

Os valores de pH nos empanados de “Carpa” encontrados nos dezenove experimentos realizados encontram-se na Tabela 12.

Nos dezenove experimentos a faixa de variação do pH foi de 6,99 a 6,12. Os experimentos 5, 6, 8 e 12 apresentaram os maiores valores de pH, enquanto que os experimentos 1, 3, 18 e 17 os menores valores (Tabela 12).

Valor de pH 6,65 foi encontrado em músculo de Carpa capim (*C. idella*), após abate e período normal de descanso (SCHERER *et al.*, 2004). Os experimentos 5, 6, 8 e 12 apresentaram valores de pH superiores a 6,65 (Tabela 12).

A legislação brasileira limita para peixe “in natura” pH 6,8 (BRASIL, 1974). Os experimentos 5 e 6 apresentaram valores de pH superiores ao limite estipulado pela legislação, e os experimentos 8 e 12 bem próximos (Tabela 12).

Peixes capturados e sacrificados apresentam baixa quantidade de ácido láctico formada, refletindo em pequeno decréscimo no valor do pH do músculo; assim peixes de carne branca apresentam valores de pH 6.0 a 6,4 (OGAWA e MAIA, 1999). Os experimentos 1, 3, 14, 15, 16, 17, 18 e 19 apresentaram valores de pH dentro da faixa para peixes de carne branca (Tabela12).

Tabela 12. Médias, Desvio Padrão para a resposta pH

<b>Experimento</b>	<b>pH*</b>	<b>Desvio Padrão</b>
1	6,1	0,03
2	6,5	0,01
3	6,1	0,03
4	6,4	0,01
5	6,9	0,51
6	6,9	0,03
7	6,6	0,01
8	6,8	0,04
9	6,4	0,01
10	6,4	0,01
11	6,6	0,04
12	6,8	0,07
13	6,6	0,04
14	6,3	0,02
15	6,3	0,01
16	6,3	0,01
17	6,2	0,03
18	6,2	0,01
19	6,4	0,00

\* Média de 3 repetições

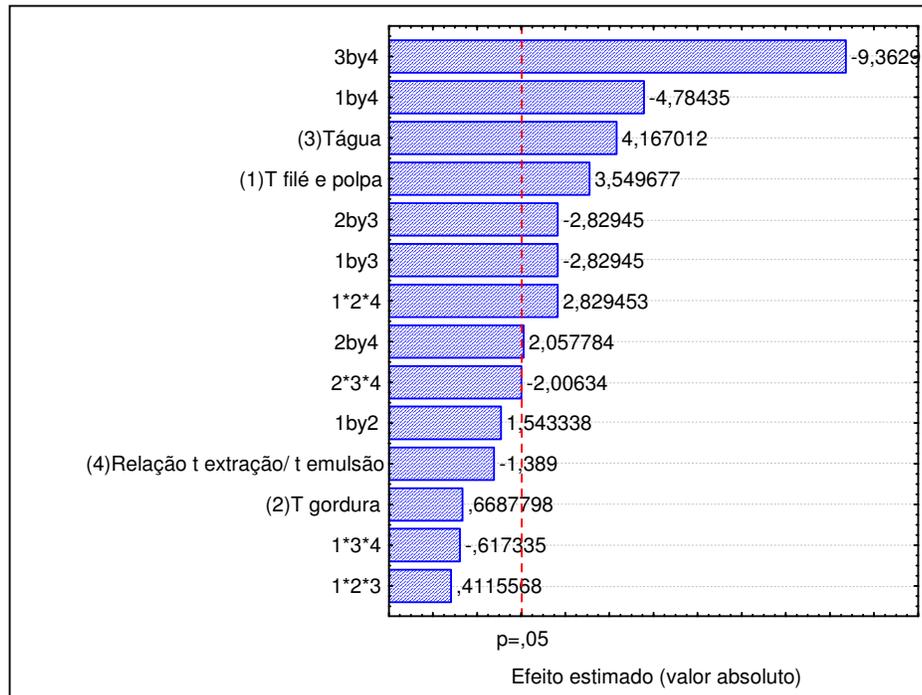


Figura 12. Gráfico de Pareto com efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testados no planejamento experimental completo  $2^4$  para o valor pH.

A análise feita para a resposta pH no planejamento de experimentos realizado gerou o modelo não linear de primeira ordem apresentado na Equação 2. A equação apresenta como se comporta a variável pH em função das variáveis independentes estudadas.

$$pH = 6,46 + 0,06 \cdot x_1 + 0,06 \cdot x_3 - 0,04 \cdot x_1 \cdot x_3 - 0,08 \cdot x_1 \cdot x_4 - 0,04 \cdot x_2 \cdot x_3 + 0,03 \cdot x_2 \cdot x_4 - 0,15 \cdot x_3 \cdot x_4 + 0,04 \cdot x_1 \cdot x_2 \cdot x_4 - 0,01 \cdot x_1 \cdot x_3 \cdot x_4$$

Equação 2

Onde:

- x1 = Temperatura do filé e polpa
- x2 = Temperatura da gordura
- x3 = Temperatura da água
- x4 = Relação Tempo de extração/Tempo de Emulsão

O modelo apresentado na Equação 1 foi validado pela Análise de Variância apresentada na Tabela 13.

Tabela 13: Análise de variância para a resposta pH

Fontes de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Soma dos quadrados médios	F <sub>calculado</sub>
Regressão	2,130467	9	0,236719	17,3364
Resíduo	0,641758	47	0,013654	
Erro	0,641758	47		
Total	2,772225	56		

F<sub>tab; 0,95; 7,49</sub> = 1,58; coeficiente de correlação R= 0,91

O F calculado em torno de 10 vezes maior que o F tabelado e o coeficiente de correlação de 0,91 validaram o modelo e permitiram a construção da superfície de resposta apresentada na Figura 13.

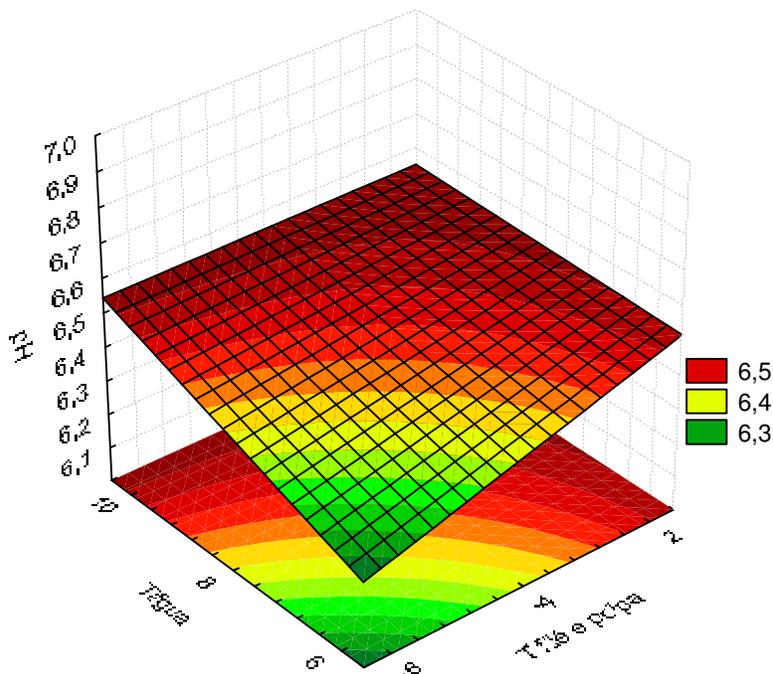


Figura 13. Superfície de resposta para o pH em função da temperatura da água e temperatura filé e polpa

Quanto maior a temperatura da água, das matérias-primas filé e polpa maior é o valor de pH do empanado (Figura 13). Isso vem de acordo com que SCHERER *et al.*, (2004) relataram em relação ao *post mortem*, o qual caracteriza-se pela ação das enzimas endógenas e de microrganismos que promovem alterações nos compostos nitrogenados na

carne de peixe, elevando o pH sendo favorecido em altas temperaturas, por essa razão recomenda-se que a temperatura na conservação dos peixes e seus produtos sejam  $5^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}$ ) (OGAWA e MAIA, 1999).

#### 4.2.5 Atividade de Água

Os valores de atividade de água ( $a_w$ ) dos empanados de peixe nos dezenove experimentos encontram-se na Tabela 14.

Tabela 14. Médias, Desvio Padrão para a resposta  $a_w$ .

<b>Experimento</b>	$a_w^*$	<b>Desvio Padrão</b>
1	0,989	0,002
2	0,989	0,002
3	0,989	0,003
4	0,981	0,001
5	0,993	0,002
6	0,989	0,003
7	0,996	0,001
8	0,988	0,001
9	0,993	0,004
10	0,994	0,003
11	0,987	0,001
12	0,993	0,002
13	0,999	0,002
14	0,990	0,002
15	0,990	0,003
16	0,988	0,004
17	0,975	0,002
18	0,983	0,002
19	0,993	0,004

\* Média de 3 repetições

Os valores de  $a_w$  nos dezenove experimentos variaram de 0,999 a 0,975 sendo que o experimento 13 apresentou o maior valor, e o experimento 17 o menor.

Patê cremoso com filé de Tilápia do Nilo (*O. niloticus*) apresentaram valores de  $a_w$  entre 0,989 a 0,995 (MINOZZO, 2005). Os experimentos 1, 2, 3, 5, 6, 9, 10, 12, 14, 15 e 19 apresentaram valores dentro da faixa de valores de  $a_w$  apresentada pelo patê cremoso.

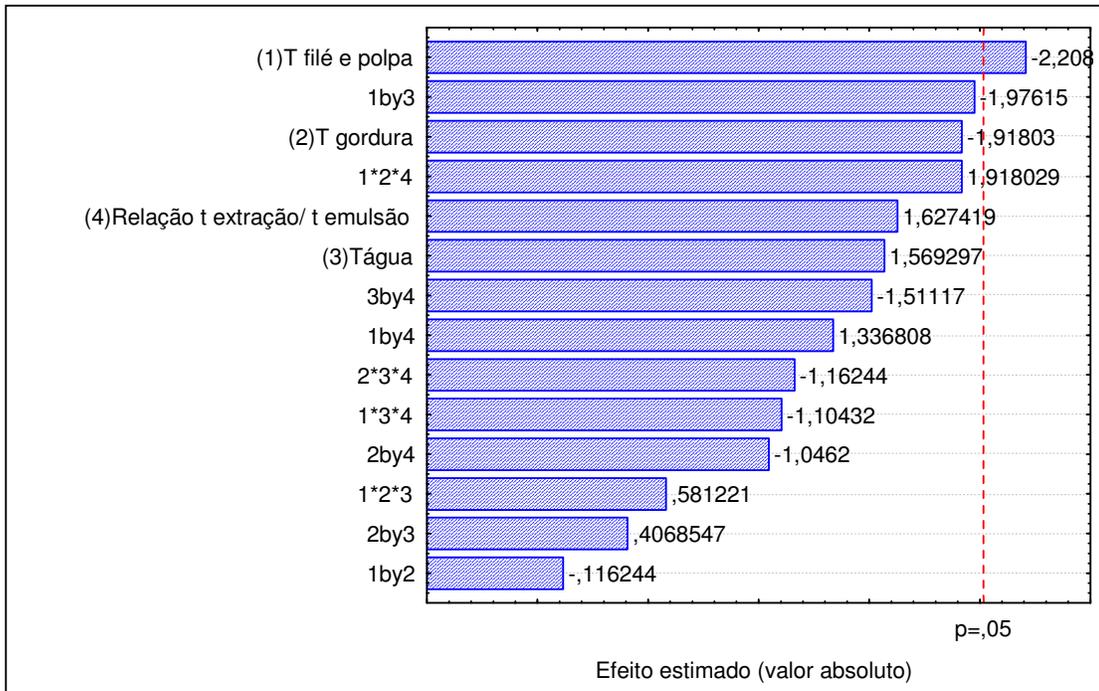


Figura 14. Gráfico de Pareto com efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento experimental completo  $2^4$  para o valor  $a_w$ .

Os valores de  $a_w$  estão relacionados com as interações que os compostos constituintes da carne de peixe (proteínas, minerais), fazem com a água (CHEFTEL e CHEFTEL, 1992). O constituinte no empanado que faz maior interação é a proteína, que pode perder essa característica se sofrer desnaturação, em decorrência do aumento de temperatura (LINDEN e LORIENT, 1996). Observa-se na Figura 14 que o fator temperatura das matérias-primas filé e polpa tem efeito negativo sobre o valor de  $a_w$ , vindo de acordo com o mencionado por CHEFTEL e CHEFTEL (1992); LINDEN e LORIENT (1996). Isto é quanto maior a temperatura das matérias-primas filé e polpa menor será o valor de  $a_w$ .

#### 4.2.6 Umidade

Os valores de umidade obtidos nos dezenove experimentos encontram-se na Tabela 15.

Tabela 15. Valores de umidade nos empanados oriundos dos dezenove experimentos realizados.

<b>Experimento</b>	<b>Umidade* (g/100g)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
1	71,3	4,22
2	67,1	0,25
3	64,3	0,51
4	63,9	0,42
5	65,6	0,07
6	65,6	0,07
7	66,5	0,14
8	63,2	1,20
9	65,1	4,07
10	63,8	2,07
11	65,9	1,75
12	66,3	0,38
13	65,5	0,91
14	66,1	0,10
15	65,3	0,97
16	66,3	0,99
17	70,7	2,43
18	67,9	4,23
19	66,9	0,24

\* Média de 3 repetições

Os experimentos 1 e 17 que apresentaram os dois maiores teores de proteína no empanado (Tabela 10), apresentaram também os dois maiores valores de umidade (Tabela 15), assim como os experimentos 8 e 10, que apresentaram os dois menores teores de proteína, apresentaram os menores valores de umidade (Tabela 15). Estes altos valores de umidade (Tabela 15) ocorreram nesses experimentos (1, 17), em decorrência da grande quantidade de proteína presente, que é a maior responsável pela retenção de água no empanado. Esses resultados estão em concordância com o gráfico de Pareto apresentado na Figura 15, o qual mostra que a interação entre os fatores tempo de extração de proteína/tempo de emulsão, e a temperatura da gordura que tem efeito positivo sobre a quantidade umidade no empanado.

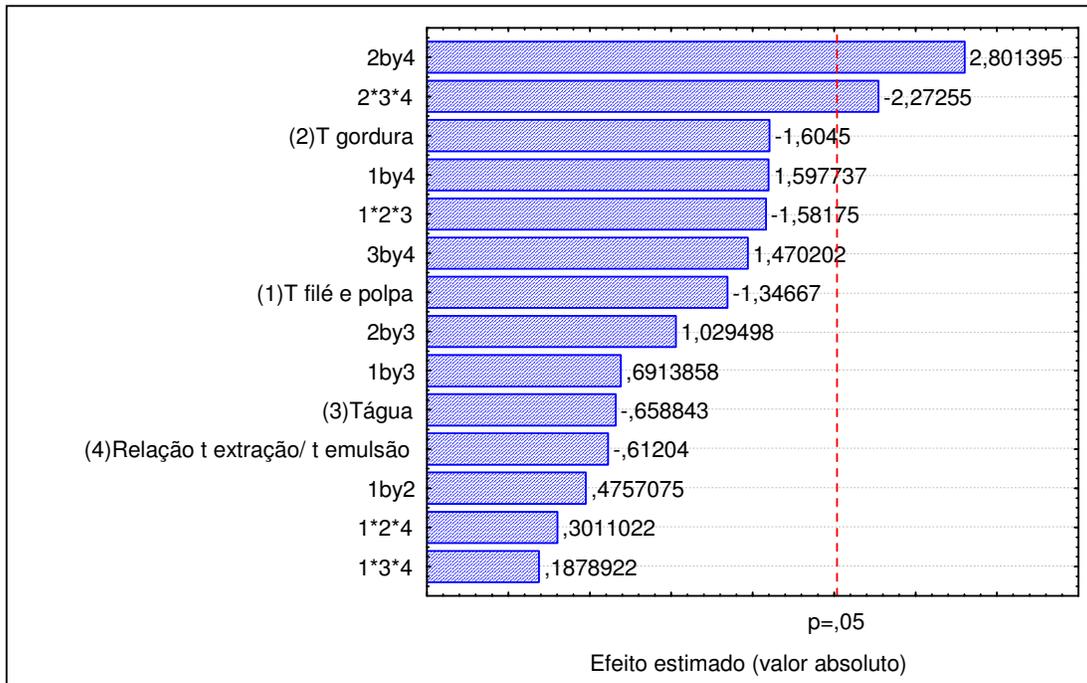


Figura 15. Gráfico de Pareto com efeito estimado (valor absoluto) das variáveis testadas no planejamento experimental completo  $2^4$  para o teor de umidade.

Os autores citados abaixo afirmam que a gordura em estado pastoso, favorece a formação de pequenas partículas de gordura que serão facilmente envolvidas por uma camada fina de proteínas, que por sua vez serão mais extraídas e misturadas com as partículas muito pequenas de gordura e água, favorecido esse acontecimento em tempo que permita maior extração de proteínas e formação de emulsão (LINDEN e LORIENT, 1996; SAEKI e INOUE, 1997; SATO *et al.*, 2003).

#### 4.2.7 Índices de cor - Brilho/ Luminosidade ( $L^*$ ), cor vermelha ( $+a^*$ ), cor amarela ( $+b^*$ )

Os valores de brilho/ou luminosidade ( $L^*$ ), cor vermelha ( $a^*$ ), cor amarela ( $b^*$ ) nos dezenove experimentos encontram-se na Tabela 16.

Tabela 16. Valores de brilho/ ou luminosidade, cor vermelha (a\*), cor amarela (b\*) nos empanados oriundos dos dezoito experimentos realizados.

Experimentos	Média (L*)	Média Cor +a*	Média Cor +b*
1	69,7	7,5	15,8
2	69,0	7,1	16,3
3	63,6	8,4	17,9
4	68,5	8,4	15,4
5	62,6	8,3	13,0
6	64,8	5,8	12,9
7	61,0	7,0	13,3
8	63,9	6,8	13,0
9	67,5	8,9	17,3
10	68,2	8,1	16,8
11	59,9	6,1	12,9
12	62,3	6,1	11,8
13	62,9	5,8	13,1
14	52,6	7,4	13,0
15	68,5	7,5	16,5
16	67,7	7,1	17,7
17	30,9	5,0	17,5
18	68,2	5,6	17,9
19	51,8	8,7	12,4

Conforme se observa (Tabela 16) os valores de brilho/ luminosidade (L\*) dezoito experimentos variaram de 51,8 a 70,0 sendo que o experimento 19 apresentou o maior valor e o experimento 14 o menor valor.

Os experimentos 1 e 17 apresentam os dois maiores valores referentes a brilho/luminosidade (L\*) (Tabela 16) sendo estes respectivamente 69,7 e 70,0, observando os resultados obtidos (Tabela 10), quanto ao teor de proteínas estes experimentos obtiveram os dois maiores valores, isto significa que o teor de proteínas influencia no resultado brilho/luminosidade (L\*).

Os valores referentes a cor a\* (vermelho) variaram entre 8,9 e 5,8 respectivamente nos experimentos 9 e 17, (Tabela 16) respectivamente.

O maior valor de cor a\* (vermelho) corresponde ao experimento 9 onde o tempo de extração de proteína/ tempo de emulsão foi o maior estipulado no planejamento dos experimentos juntamente com a menor temperatura das matérias primas (filé e polpa).

Conforme é observado na (Tabela 10) o experimento 3 apresenta um alto teor de proteína 18,3 e um alto índice de cor +a\*(vermelha), conclui-se que o maior teor de proteínas na massa do empanado influencia diretamente no índice da cor vermelha na massa do empanado. Já o experimento 6 apresenta um baixo teor de proteína 14,7 e um

baixo índice de cor +a\*(vermelho), conclui-se que quanto menor o teor de proteínas na massa do empanado menor o índice de cor +a\* (vermelha)

### 4.3 Análises Microbiológicas

Neste item serão apresentados os resultados das análises microbiológicas realizadas a partir do planejamento de experimentos.

#### 4.3.1 Coliformes Totais

A Tabela 17 e Figura 16 apresentam os resultados obtidos de Coliformes Totais, com suas respectivas médias e desvios padrão.

Tabela 17. Contagens de Coliformes Totais obtidos nos dezenove experimentos realizados.

Experimento	Coliformes totais* ( $\log_{10}$ )	Desvio Padrão
1	2,88 <sup>a,b,c</sup>	0,60
2	3,41 <sup>b</sup>	0,20
3	2,77 <sup>a,b,c</sup>	0,59
4	3,29 <sup>a,d</sup>	0,45
5	2,36 <sup>c</sup>	0,21
6	2,48 <sup>c,d</sup>	0,02
7	2,24 <sup>c</sup>	0,07
8	3,62 <sup>a</sup>	0,41
9	2,30 <sup>c</sup>	0,15
10	3,30 <sup>a,b,d</sup>	0,51
11	3,06 <sup>a,b,c</sup>	0,13
12	2,89 <sup>a,b,c</sup>	0,09
13	3,13 <sup>a,b,c</sup>	0,11
14	3,27 <sup>a</sup>	0,22
15	3,48 <sup>a</sup>	0,00
16	2,99 <sup>a,c,d</sup>	0,78
17	3,51 <sup>a</sup>	0,02
18	3,09 <sup>a,c,d</sup>	0,16
19	3,23 <sup>a,d</sup>	0,32

\*( $\log_{10}$ ) UFC, média de 3 repetições letras iguais não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste Tukey)

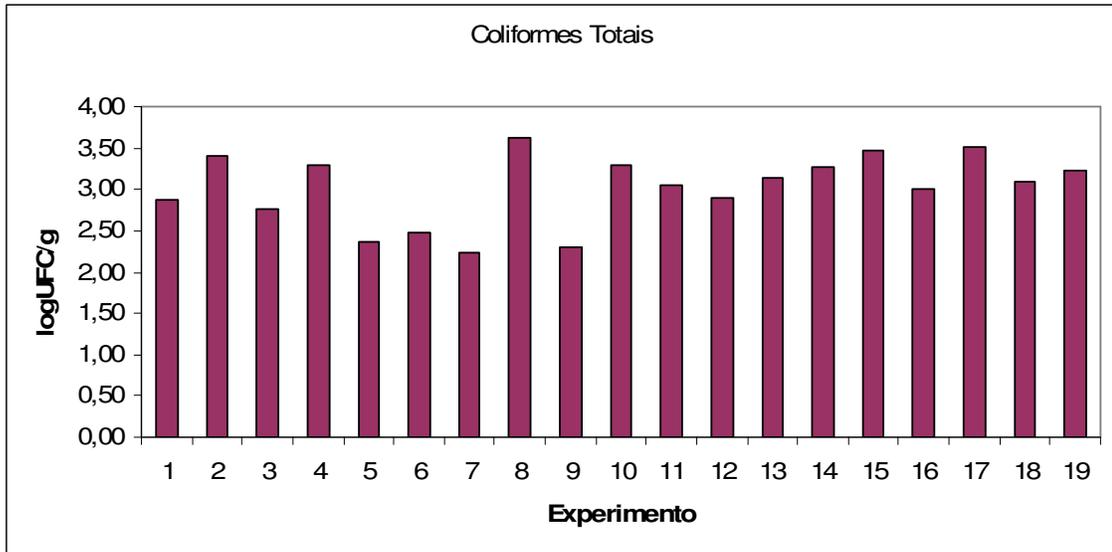


Figura 16. Contagens de Coliformes Totais obtidos nos dezenove experimentos realizados.

Nos dezenove experimentos as contagens dos coliformes totais variaram de log<sub>10</sub> 2,24 UFC/g a log<sub>10</sub> 3,62 UFC/g. Sendo que o menor valor ocorreu no experimento 7 e o maior no experimento 8. Esses resultados estão de acordo com o obtido no gráfico de Pareto que se encontra na Figura 17, onde mostra que os fatores temperatura do filé e da polpa, temperatura da água tem efeito positivo no desenvolvimento dos coliformes totais.

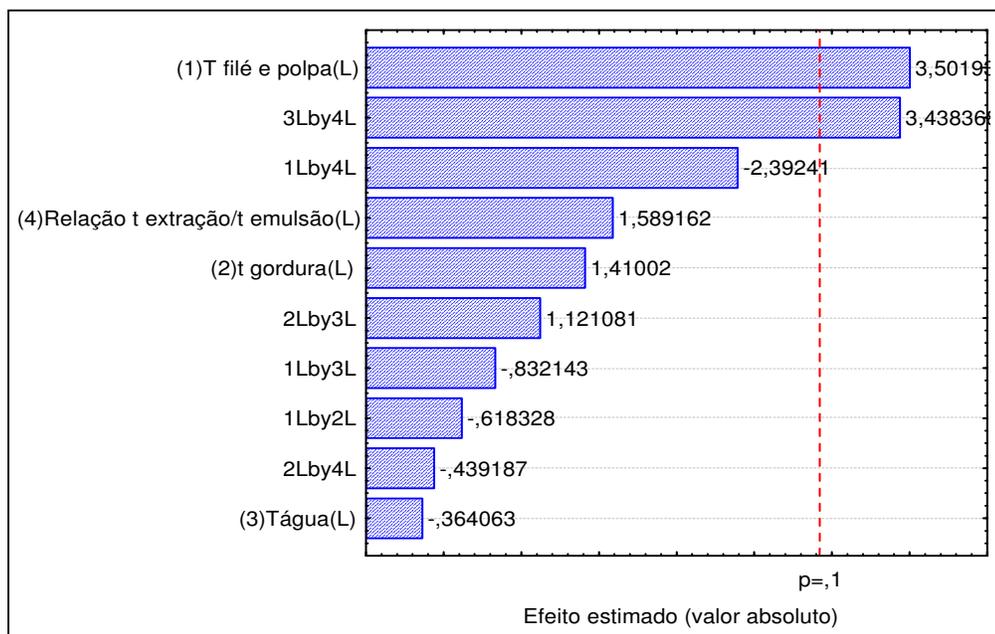


Figura 17. Gráfico de Pareto para a resposta Coliformes Totais em função das variáveis estudadas

Os experimentos 10 ( $\log_{10}$  3,30 UFC/g) e 2 ( $\log_{10}$  3,41 UFC/g) também se destacaram por apresentarem contagens altas, isto se deve pela maior temperatura apresentada pelas matérias-primas (polpa e filé) quando de sua elaboração.

Outros experimentos que merecem destaque por apresentarem contagens consideradas altas são o 13 e o 14. A contagem no experimento 13 foi de  $\log_{10}$  3,13 UFC/g, sendo esta decorrente da alta temperatura da água e do maior tempo de extração e emulsão, que conforme o gráfico de Pareto (Figura 17) quando associados apresentaram efeito positivo. No experimento 14 que apresentou  $\log_{10}$  3,27 UFC/g, a causa se deve a alta temperatura das matérias-primas (filé e polpa), e da água, somado ao maior tempo de extração e formação da emulsão. Portanto estes experimentos (2, 10, 13 e 14) que se destacaram por apresentarem contagens mais elevadas que os demais se encontram fora dos parâmetros da legislação francesa, que segundo DANTAS *et al.* (1982) o limite é de  $\log_{10}$  3,00 UFC/g e que no Brasil não há limite para coliformes totais para produtos de peixes (BRASIL, 2005).

VIEIRA *et al.*, (2004) mencionam que a temperatura da água influencia na quantidade e na qualidade dos microrganismos presentes nos pescados, influenciando assim em sua vida útil. Os experimentos 5, 6, 7, 8, 13, 14, 15 e 16 a temperatura da água utilizada na elaboração dos empanados foi a maior empregada no planejamento, mas somente nos experimentos 8,13,14 e 15 apresentaram contagens consideradas altas, influenciando assim na vida útil do produto. Isso pode ter ocorrido pois a matéria-prima pode ter vindo com carga microbiana mais elevada, ou os equipamentos e manipuladores COM higienização inadequada.

Em “minced fish” elaborado com espécies de peixes da Amazônia Aracú-comum, Braquinha, Curimatá, Jaraquí, Mapará, Pacu, Pirapitinga, não foi verificado o crescimento de coliformes totais e fecais (JESUS, LESSI *et al.*, 2001). Em todos os experimentos realizados na elaboração do empanado ocorreu desenvolvimento de coliformes totais e fecais (Tabela 17 e Tabela 18).

Para verificar a qualidade microbiológica de “catfish” produzidos nos Estados Unidos, foram analisados os coliformes totais cujas contagens variaram de  $\log_{10}$  1,30 UFC/g a  $\log_{10}$  3,20 UFC/g (FERNANDES *et al.*, 1997). As contagens de coliformes totais nos empanados variam de  $\log_{10}$  2,24 UFC/g a  $\log_{10}$  3,62UFC/g, sendo o valor mínimo e máximo superior aos encontrados em “catfish” (Tabela 17).

Em estudo realizado por PILARSKI *et al.* (2004) para avaliarem a qualidade microbiológica de filés de Carpa (*C. carpio*), a contagem maior para coliformes totais foi de  $1,5 \times 10^2$  NMP/g ( $\log_{10}$  2,17). Os empanados produzidos com filé e polpa de Carpa (*C.*

*carpio*) nos dezenove experimentos realizados apresentaram contagens para coliformes totais superiores a contagem maior encontrada por PILARSKI *et al.*, (2004).

#### 4.3.2 Coliformes Fecais

A Tabela 18 e a Figura 17 apresentam as contagens obtidas para Coliformes Fecais (termo tolerantes) nos dezenove experimentos realizados.

Tabela 18. Contagens de Coliformes a 45 °C obtidos nos dezenove experimentos realizados.

<b>Experimento</b>	<b>Coliformes fecais (log<sub>10</sub>UFC/g)</b>	<b>Desvio Padrão</b>
1	1,00 <sup>a</sup>	0,00
2	1,59 <sup>a,c</sup>	0,13
3	1,00 <sup>a</sup>	0,00
4	1,30 <sup>a,c</sup>	0,35
5	1,00 <sup>a</sup>	0,00
6	1,00 <sup>a</sup>	0,00
7	1,00 <sup>a</sup>	0,00
8	2,39 <sup>b</sup>	0,32
9	1,00 <sup>a</sup>	0,00
10	2,49 <sup>b</sup>	0,34
11	1,00 <sup>a</sup>	0,00
12	1,00 <sup>a</sup>	0,00
13	1,88 <sup>b,c</sup>	0,46
14	1,94 <sup>b,c</sup>	0,64
15	1,59 <sup>a,b</sup>	0,13
16	1,18 <sup>a</sup>	0,35
17	2,54 <sup>b</sup>	0,28
18	1,00 <sup>a</sup>	0,00
19	2,77 <sup>b</sup>	0,27

\* (log<sub>10</sub>) UFC, média de 3 repetições letras iguais não diferem estatisticamente à nível de 5% (Teste Tukey)

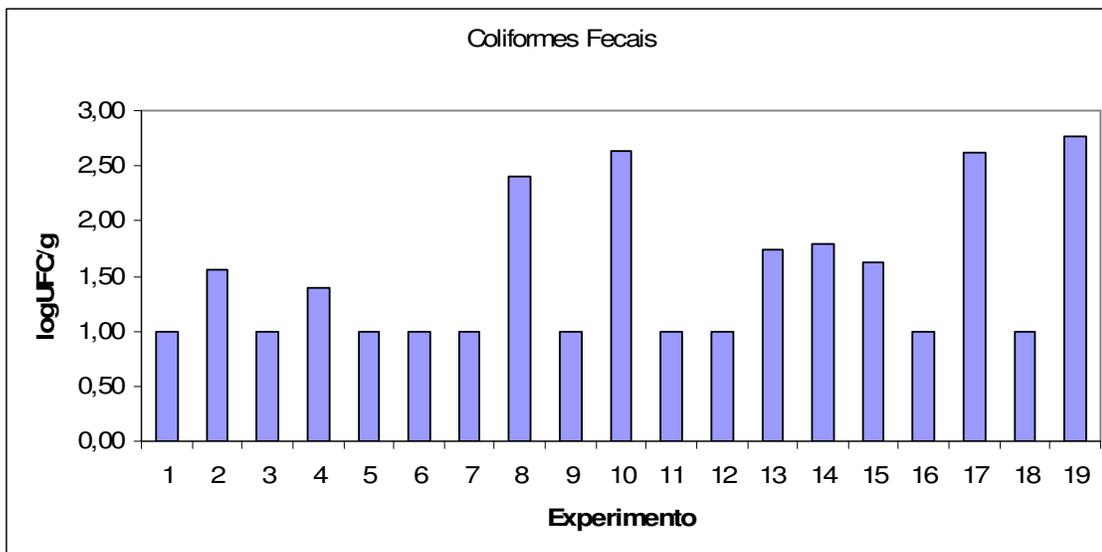


Figura 17. Contagens de Coliformes a 45 °C obtidos nos dezenove experimentos realizados

Na legislação vigente no Brasil o limite para coliformes a 45 °C é de log<sub>10</sub> 3,00 UFC/g (BRASIL, 2005).

As contagens dos coliformes fecais variaram entre log<sub>10</sub> 1,00 UFC/g a log<sub>10</sub> 2,77 UFC/g nos dezenove experimentos realizados. Sendo que o menor valor ocorreu no experimento 18 e o maior valor no experimento 19. Essas variações nas contagens são decorrentes da principal fonte de contaminação que é a mão do manipulador, no ato do processamento, uma vez que as matérias-primas utilizadas no processamento do empanado, ou seja, os filés e as polpa são provindas de peixes criados em açudes, estando os mesmos longe de esgotos ( VIEIRA *et al.*, 2003).

Na legislação brasileira vigente o limite para coliformes a 45 °C é de log<sub>10</sub> 3,00 UFC/g (BRASIL, 2005). Nos dezenove experimentos as contagens foram inferiores ao limite da legislação brasileira.

Em estudo realizado por PEIXOTO, *et al.*, (2002) em salsichas de peixe, foram encontradas pequenas quantidades de coliformes a 45 °C, isso mostra que a manipulação possibilita a contaminação, tornando-se necessária maior atenção durante a fase de depelagem, para que a presença desses microrganismos não seja elevada.

As contagens de coliformes a 45 °C encontradas na matéria-prima, e no produto durante suas caracterizações encontram-se na Tabela 19.

Tabela 19. Coliformes a 45 °C encontrados na matéria-prima e no produto quando de suas caracterizações.

<b>Produto</b>	<b>Coliformes Fecais log<sub>10</sub></b>
Matéria- prima Filé	2,21
Matéria- prima Polpa	2,10
Empanado	2,26

A contagem considera limite para coliformes fecais para produtos empanados situa-se em log<sub>10</sub> 3,00 UFC/g nos pescados (VIEIRA *et al.*,2003). A maior contagem de coliformes fecais que ocorreu no experimento 19 (log<sub>10</sub> 2,77 UFC/g), ficou abaixo da contagem considerada limite para pescados.

Ao analisar a Tabela 18 observa-se as contagens para coliformes fecais nas matérias-primas: filé e polpa, e no empanado variaram entre log<sub>10</sub> 2,00 UFC/g a log<sub>10</sub> 2,77 UFC/g, contagens estas superiores aos encontradas nos dezenove experimentos realizados, salvo o valor de log<sub>10</sub> 2,77 UFC/g que ocorreu tanto no empanado como no experimento 19.

Após a análise estatística dos resultados foi observado que nenhuma variável apresentou efeito significativo em relação ao desenvolvimento dos coliformes termotolerantes (45°C), isto reforça que a presença dos mesmos está relacionada diretamente com o processamento (VIEIRA *et al.*, 2003). Porém, nos dezenove experimentos realizados envolvendo o empanado, os valores encontrados quanto aos coliformes termotolerantes atenderam a legislação vigente, sendo que, os melhores resultados foram obtidos nos experimentos 1, 3, 5, 7, 9, e 15 os quais correspondem a temperaturas menores nas matérias-primas filé e polpa. Também se pode observar que os melhores resultados foram obtidos quando a temperatura da água apresentava valores baixos, caso dos experimentos 1, 3, 9.

A *E. coli* é a principal bactéria representante do grupo dos coliformes termotolerantes, sendo considerada a indicadora mais específica de contaminação fecal recente e da eventual presença de organismos patogênicos (VIEIRA *et al.*,2004).

FLORES *et al.* (2002) realizaram estudos em filés de atum temperados e cozidos a 68°C, armazenados a temperatura de 5°C. O objetivo do estudo foi avaliar diversos fatores, dentre eles, a qualidade microbiológica do produto após processamento. Sendo que durante a avaliação dos indicadores higiênico-sanitário, não foi detectada a presença de *E. coli*. Cabe salientar que o atum é um produto enlatado esterilizado, portanto espera-se ausência deste microrganismo. Já o empanado é um produto “in natura” congelado, então se compararmos a qualidade microbiológica de ambos, pode-se dizer que o empanado apresentou resultados aceitáveis, já que as contagens obtidas nos experimentos 5, 6, 7 e 9

são consideradas baixas e estão diretamente relacionados às baixas temperaturas das matérias-primas polpa e filé e da temperatura da água durante o processamento do empanado.

Em estudo realizado por GONZALES-RODRIGUES *et al.*, (2002) para avaliarem a qualidade microbiológica ao nível de varejo de salmões empacotados à vácuo, não foi detectada a presença de *E. coli*, demonstrando assim a boa manipulação e conservação dos mesmos. No empanado foram encontrados coliformes termotolerantes em todos os experimentos. Possivelmente associados as matérias-primas (Filé e Polpa) que apresentavam inicialmente determinada contagem (2,10 a 2,21), porém valores estes ficaram dentro dos limites permitidos pela legislação.

### 4.3.3 Salmonella

A Tabela 20 apresenta os resultados obtidos para a *Salmonella*, nos dezenove experimentos realizados.

Tabela 20. Resultados obtidos para a *Salmonella* sp nos dezenove experimentos realizados

Experimento	Resultado
1	Negativo
2	Negativo
3	Negativo
4	Positivo
5	Positivo
6	Positivo
7	Negativo
8	Negativo
9	Negativo
10	Negativo
11	Negativo
12	Negativo
13	Negativo
14	Negativo
15	Negativo
16	Positivo
17	Negativo
18	Negativo
19	Negativo

Observa-se na Tabela 20 que os experimentos 4, 5, 6 e 16 apresentaram resultado positivo. Quando da caracterização do produto empanado e das matérias-primas utilizadas antes da montagem do planejamento (Tabela 6), verificou-se que 75% das amostras de filé apresentavam *Salmonella* e que 10% da matéria-prima polpa apresentavam *Salmonella*.

Nos dezenove experimentos realizados, verificou-se a presença de *Salmonella ssp.* em 21,05% da massa empanado.

Em 60 amostras de tilápias recém coletadas de uma fazenda de criação, e que passaram pelo processo de resfriamento, observaram a presença de *Salmonella ssp.* em 8,3% das amostras (VIEIRA *et al.*,2004).

Na Índia foram analisadas 730 espécies de peixes e 276 de crustáceos, e a presença de *Salmonella sp* ocorreu de 14,25% nos peixes e de 17,39% nas nos crustáceos (VIEIRA *et al.*, 2004). Essa incidência de 21,05% de *Salmonella sp.* nos dezenove experimentos, pode ser considerada altíssima se comparada com o número de espécies de peixes analisadas na Índia.

FLORES *et al.* (2002) realizaram estudos em filés de atúm temperados, cozidos a 68°C e armazenados a temperatura de 5°C onde não foi encontrada a presença de *Salmonella sp.* Os empanados não foram cozidos e apresentaram *Salmonella sp.* mostrando que a temperatura influencia em desenvolvimento.

Foi verificada a incidência de *Salmonella sp.* em amostras de peixe Pacu cultivado em rio e comercializado no município de Cuiabá – MT. Verificaram que das 20 amostras analisadas, 7 evidenciaram a presença de *Salmonella sp.* (35%). Os autores concluíram que as condições de higiene do local e do pessoal influenciam na presença de *Salmonella sp.* (LIMA e REIS, 2002). Com isso suspeita-se que a presença de *Salmonella sp.* nos experimentos (4, 5, 6 e 16) poderia ser proveniente dos manipuladores envolvidos no processo de obtenção do empanado, bem como do local de elaboração.

Amostras de peixes coletados de dois açudes e ao longo do processo de filetagem em pontos de venda na Paraíba, acusaram em todos os locais a presença de *Salmonella sp.* (VIEIRA *et al.*, 2000). Observando os resultados obtidos na Tabela 22, tem-se que nos experimentos 4, 5, 6 e 16 foi detectada a presença de *Salmonella*, e ao levar em consideração o exposto acima pelos autores citados, pode-se dizer que os resultados apresentados sugerem ser em função das matérias-primas filé e polpa utilizados para elaboração do empanado. A contaminação dessas matérias-primas seria decorrente do contato direto, dessas com os equipamentos e os utensílios, ou da falta de higiene dos manipuladores. Uma vez que segundo PILARSKI, (2004) a presença de *Salmonella sp.* em peixes esta relacionada com o meio onde vive, o qual pode contamina-lo.

Sendo assim cabe salientar que o trinômio tempo X higiene X temperatura, se não forem devidamente vigiados, comprometerão a boa qualidade dos pescados conforme mencionado por VIEIRA *et al.*,( 2004).

#### 4.3.4 *Staphylococcus* coagulase positiva.

A Tabela 21 apresenta as contagens para *Staphylococcus coagulase positiva* nos dezenove experimentos realizados.

Tabela 21. Contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva nos dezenove experimentos realizados.

Experimento	<i>Staphylococcus</i> coagulase (log <sub>10</sub> UFC/g)	Desvio Padrão
1	1,00	0,00
2	1,00	0,00
3	1,00	0,00
4	1,00	0,00
5	1,00	0,00
6	1,45	0,17
7	1,50	0,58
8	1,35	0,40
9	1,00	0,00
10	1,39	0,10
11	1,60	0,35
12	1,00	0,00
13	1,39	0,10
14	1,00	0,00
15	1,30	0,00
16	1,00	0,00
17	1,00	0,00
18	1,30	0,00
19	1,45	0,17

O gênero *Staphylococcus* é composto por 31 espécies e 17 sub-espécies, divididos em duas categorias coagulase positiva e coagulase negativa. Sendo que algumas estão freqüentemente associadas a uma ampla variedade de infecções de caráter oportunista, em seres humanos e animais. As espécies que se destacam como patógenos são *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. schleiferi* todas coagulase positivas (VIEIRA *et al.*,2004).

As contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva variam de log<sub>10</sub> 1,00 UFC/g a log<sub>10</sub> 1,60 UFC/g nos dezenove experimentos. Sendo que as contagens baixas ocorreram nos experimentos 1, 2, 3, 4, 5, 9, 14, 16, 17, 18 e as contagens maiores nos experimentos 6, 7, 8, 10, 11 e 19 (Tabela 21).

Os experimentos 7 (log<sub>10</sub> 1,50 UFC/g) e 11 (log<sub>10</sub> 1,60 UFC/g) se destacaram por apresentarem os maiores valores das contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, esse desenvolvimento foi favorecido pelas temperaturas da água e da gordura empregadas na elaboração dos empanados (Tabela 6).

O crescimento do *S. aureus* em peixes representa um risco potencial a saúde, devido a enterotoxina produzida nesse alimento, que é responsável pelo quadro de intoxicação alimentar. A presença de *S. aureus* em alimentos processados está associado aos manipuladores, que conduzem o mesmo através das mãos, fossa nasais, garganta, e afecções cutâneas (VIEIRA *et al.*, 2004).

O valor mínimo de  $a_w$  tolerável pelo *S. aureus* é 0,83, em condições ideais é de 0,86. O pH ótimo para seu desenvolvimento e produção de toxina situa-se entre 6,0 e 7,0, e a produção de enterotoxina é detectável a partir de  $\log_{10}$  4,00 UFC/g (VIEIRA *et al.*, 2004). Os valores de  $a_w$  e pH nos dezenove experimentos variaram de 0,981 a 0,996 (Tabela 14), e de 6,12 a 6,99 (Tabela 12) respectivamente, demonstrando que os empanados apresentaram condições ideais para o desenvolvimento de *Staphylococcus* coagulase positiva, mas a maior contagem obtida foi de  $\log_{10}$  1,60 UFC/g (Tabela 21), estando esta bem abaixo do número para produção de enterotoxina.

Segundo a legislação brasileira o limite de *Staphylococcus* coagulase positiva para produtos derivados de peixes é de  $\log_{10}$  3,00 UFC/g (BRASIL, 2005). Nos dezenove experimentos realizados, nenhum apresentou valor perto do limite estabelecido para legislação.

Em filés de Tilápia e Surimi e em patês com filés de Tilápia foram encontradas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva menor do que  $\log_{10}$  2,00 UFC/g (VAZ, 2005; MINOZZO, 2005). As contagens obtidas em todos os experimentos foram semelhantes às encontradas nos filés e nos patês (Tabela 21).

## 5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

### 5.1 CONCLUSÕES

1. Quanto maior o tempo de extração de proteína/tempo de emulsão, e a temperatura da água, maior será o teor de gordura na massa.
2. Quanto menor a temperatura das matérias-primas filé e polpa maior é o teor de proteínas na massa do empanado em função disso aconselhasse trabalhar com estas temperaturas mais baixas pois assim será produzido um produto com alto teor de proteínas.
3. Quanto maior a temperatura das matérias-primas filé e polpa maior será o teor de cinzas, valor do pH e índice da cor  $a^*$  (vermelho).
4. Quanto maior o teor de proteína no empanado maior será o valor da umidade na massa do empanado.
5. Quanto menor a temperatura das matérias-primas filé e polpa maior será a atividade de água no empanado.
6. Quanto maior a temperatura das matérias-primas filé e polpa, da água e tempo de extração de proteína/tempo de emulsão maior será a contagem de coliformes totais.
7. As altas contagens encontradas de coliformes totais e a presença de *Salmonella sp.* foram decorrentes da contaminação presente nas mãos dos manipuladores e também dos equipamentos envolvidos no processo.
8. Quanto maior a temperatura da água de elaboração do empanado bem como da gordura hidrogenada haverá aumento nas contagens de *Staphylococcus sp.*

### 5.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudo de diferentes formulações do produto, como por exemplo, redução do teor de gordura hidrogenada e substituição na formulação das matérias-primas como filé de peixe

por polpa de peixe já que esta possui um custo menor por Kg, o qual pode resultar num menor valor de produção para o Kg do empanado.

- Realizar estudos de viscosidade da massa e qualidade de emulsão.
- Estudo da vida de prateleira do produto empanado.

## 6. REFERÊNCIAS

AMLACHER, E. Rigor mortis in fish. In: BORGSTROM, G. (Ed.) Fish as Food. New York: Academic Press, 1961. Cap. 12, p. 385-409.U

AQUERRETA, Y.; ASTIASARÁM, I.; MOHINO, A.; BELLO, J. Composition of pâtés elaborated with mackerel flesh (*Scomber scombrus*) and tuna liver (*Thunnus thynnus*):comparison with commercial fish pâtés. In: Food Chemistry, v. 77, p. 147-153, 2002.

ARAÚJO, M. A. Química de alimentos: teoria e prática. Viçosa : Imprensa Universitária, 1995. 335p

BARBUT, S.; MITTAL, G. S. Effect of heat processing delay on the stability of poultry meat emulsions containing 1,5 and 2,5% salt. Poultry Science Champaign, v. 70, p. 2538 - 2543, 1991.

BATISTA, G.M.; LESSI, E.; KODAIRA, M.; FALCÃO, P. Alterações bioquímicas post-mortem de matrinxã *Brycon Cephalus* procedente da piscicultura, mantido em gelo. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, 24(4): 573-581, out./dez. 2004.

BITO, M.; YAMADA, K.; MIKUMO, Y.; AMANO, K. Studies on rigor mortis of fish – I. Difference in the mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified Cutting's method. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.,n. 109, p. 89-96, 1983.

BORGUETTI, J.R.; OSTRENSKY, A. A cadeia produtiva da Aqüicultura brasileira. In: POLI, C.R.; PEREIRA, J. A.; BORGUETTI, J.R. Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq, p.73-106, 2000.

BRASIL<sup>a</sup>. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC nº12, de 2 de janeiro de 2001: regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em 27/03/05

BRASIL<sup>b</sup>. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000: regulamento técnico de identidade e qualidade de hambúrguer. [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br), Acesso em 22/02/05.

BRASIL<sup>c</sup>. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 6, de 15 de fevereiro de 2001: regulamento técnico de identidade e qualidade de empanados. [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br), Acesso em 22/02/05.

BRASIL; Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos*. 4ª edição. Brasília. Ministério da Saúde, 2005.

CASACA, J.M. e TOMAZELLI, O Jr. Avaliação dos efluentes da piscicultura durante a despesca. *Revista Agropecuária Catarinense*, v. 11, n. 13, set. 1998.

CASACA J.M. e TOMAZELLI, O Jr. Planejamento da Piscicultura no Município de Chapecó. Chapecó: EPAGRI, 1999. 70 p. (Documento apresentado no curso de piscicultura para técnicos de 24 a 28 de maio de 1999 em Chapecó/SC). Não publicado.

CASTILLO CAMPO, L. F. Situación del comercio de tilapia em el año 2000. *Panorama Acuicola*, v.6, n.3, p.24-27, 2001.

CASTRO, A. I.; TIRAPEGUI, J.; SILVA, R.S.S.F.; CUTRIM, A. J. S. F. Sensory evaluation of a milk formulation supplemented with n 3 polyunsaturated fatty acids and soluble fibres. In: *Food Chemistry*. v.85, p.503-512, 2004.

CEPENE. Estatística da Pesca 1999 Brasil: grandes regiões e unidades da federação. Tamandaré, 2000. 102p.

CHEFTEL, H.; CHEFTEL, J.C. *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*, v.1, Editoria Acribia, Zaragoza, Espanha, 2 ed., 333p., 1992.

CHEFTEL, J.C., CUQ, J.L., LORIENT, D. *Proteínas alimentarias*. Zaragoza : Acribia, 1986. 346p.

CONTRERAS, E. S. G. *Bioquímica de Pescados e Derivados*, Editora FUNEP. Jaboticabal, 1994.

DAL-BÓ, A. Utilização de surimi de carne de cação-marelo (*Sphyrna zygaena*) para a produção de patês. 1999, 1001 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

DANTAS, R. A., SILVA, M. C. C. Microbiological analysis of meals prepared in Canteens. Lisboa, Portugal, p.1 – 11, 1982.

DICKINSON, E. An Introduction to food colloids. Oxford Science Publishers: Oxford, U. K., 1992.

DOYLE, M. P., BEUCHAT, L. R., MONTVILLE, T. J. Microbiología de los alimentos, fundamentos y fronteras. Zaragoza, Espana Acribia, 1997.

ECHARTE, M.; CONCHILLO, A.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I. Evaluation of the nutritional aspects and cholesterol oxidation products of pork liver and fish patés. Food Chemistry, 2003.

EPAGRI. Atualização de dados da Piscicultura de água doce em Santa Catarina - Produção anual de 2003/2004, 3p.

FAO. The state of world fisheries and aquaculture (SOFIA). Disponível em [www.fao.org/fi/default.asp](http://www.fao.org/fi/default.asp). Acesso em 11 de mar. 2002 a.

FAVIER, J. C. Repertório geral dos alimentos: tabela de composição. 2 ed. Ver. São Paulo: Roca, 1999. 895p.

FENNEMA, O.R. Química de los alimentos. Zaragoza : Acribia, 1993. 1095p

FERNANDES, C. F.; FLICK JUNIOR, G.; SILVA, J. L.; McCASKEY, T. A. Influence of Processing schemes on Indicative Bacteria and Quality of Fresh Aquaculture Cattfish Fillets. Journal of Food Protection, v.60, n.1, p. 54 - 58, 1997.

FERNANDES, C. F. Processing of the tilapias. In: COSTA-PIERCE, B. A., RAKOCY, J. E. Tilapia Aquaculture in the Americas. V.2. Louisiana: The world Aquaculture Society, 2000, p. 100-118.

FERRETTI, R.; DUARTE, R.A.; TERRA, N.L.; MORIGUCHI, Y. Aterosclerose e ácidos graxos “mega-3. Acta Méd., Porto Alegre, 15:557-74, 1994.

FLORES, E. R.; NODARSE, M. de L.; RODRIGUES P. Serrano y G. Tecnologia de processamento de filetes de ahumados de atún. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.12, n.1, p. 23-26, 2002.

FRANCO, B. D. G. de M.; LANDGRAF, M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu, 2003.

FRANCO, G. Tabela da composição química dos alimentos. 9 ed. São Paulo: Ateneu, 1997 – 2001. 307p.

FRANCO, G. Nutrição. 6. ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1982.

FRAZIER, W. C. e WESTHOFF, D. C. Contaminación, conservación y alteraciones del pescado y otros productos marinos. In: \_\_\_\_ Microbiologia de los alimentos. 3 ed. Zaragoza, Es., Acribia, 1978.

FRIBERGS, S. E.; GOURBAN, R. F.; KYALI, H. H. Emulsion Stability, food emulsion. New York: M. Dekker, 510 p, 1990.

GONZÁLEZ-RODRIGUES, M<sup>a</sup>. N.; SANZ, J. J.; SANTOS, J. A.; OTERO, A.; GARCIA-LOPEZ, M<sup>a</sup>. I. Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked freshwater fish at the retail level. International Journal of Food Microbiology, 77, p. 161-168, 2002.

GORDON, A., BARBUT, S. Mechanims of meat batter stabilization – a review. CRC Food Science Nutricion, Cleveland, v.32, n.4, p.299 - 332, 1992.

GUHA, B. C., The Role of Fish in Human Nutrition.; Fish in Nutrition. Edited by E. Heen and R. Kreuzer; FAO, Rome – Italy; pp 39 – 42; 1962.

HALL, G. M. Fish Processing Technology. New York, VCH Publishers, 1992.

HILSDORF, A.; PEREIRA, J.L. Perfil de consumo de pescado em restaurantes industriais da região do Vale do Paraíba. *Panorama da Aqüicultura*, v.9, n.53, p.31-35, 1999.

IWAMOTO, M.; YAMANAKA, H.; ABE, H.; USHIO, H.; WATABE, S.; HASHIMOTO, K. ATP and creatine phosphate breakdown in spiked plaice muscle during storage, and activities of some enzymes involved. *J. Food Science.*, v. 53, n. 6, p. 1662-1665, 1988.

JAY, J.M. *Microbiologia moderna de los alimentos*. 2 ed. Zaragoza, Espanha: Ed. Acríbia, 1978.

JESUS, R. S.; LESSI, E.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade Química e Microbiológica de "Minced Fish" de peixes Amazônicos durante o Congelamento. *Ciência Higiene e Tecnologia de Alimentos*, Campinas v. 21, n.2 p. 144 – 148, mai/ago., 2001.

JONES, K. W. Effects of chopping temperature on the microstructure of meat proteins. *Journal Food Science*, Chicago, v.47. n.12, p.1930 - 1935, 1982.

JORY, D.E.; ALCESTE, C.; CABRERA, T.R. Mercado y comercialización de tilapia en los Estados Unidos de Norteamérica. *Panorama Acuícola*, v.5, n.5, p.50-53, 2000.

JUDGE, M.; ABERLE, E.; FORREST, J. *Principles of meat science*. Iowa : Kendal Hunt Publication, 1989. 507p.

KESTEMOND, P. Different systems of carp production and their impacts on the environment. *Aquaculture*, v.129, p. 347-372, 1995.

KINSELLA, J. E. *Funcional properties of proteins in foods: a survey*. CRC Food Science Nutrition, Cleveland, v.7, n.3, p. 219 –280, 1976.

KRAUSE, M. *Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. 1. ed. São Paulo: Roca Ltda, 1985.

KUBITZA, F.; KUBITZA, L.M.M. Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional e alimentar e sanidade. *Panorama da Aqüicultura*, v.10, n.59, p.44-53, 2000.

LANARA. Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e Seus Ingredientes: Métodos Microbiológicos. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981.

LEITÃO, M. F. F. Microbiologia do pescado e controle sanitário no processamento. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, v.5,1-35 p, 1977.

LEITÃO, M. F. F.; TEIXEIRA FILHO, A. R.; BALDINI, V. L. S. Microbiota bacteriana em espécies de peixes fluviais e lacustres no estado de São Paulo. Coletânea do Itai, São Paulo, v.15, p.91-111. 1985.

LIMA, G. M., REIS R. B. Incidência de Salmonella spp. Comparação entre metodologias de detecção em amostras de Pacu (*Piaractus Mesopotamicus*) de rio e cultivado comercializadas no município de Cuiabá – MT. Revista Higiene Alimentar, v.16, n.101, out. 2002.

LINDEN, G.; LORIENT, D. Bioquímica Agroindustrial. Editorial Acribia, Zaragoza, Espanha, 1996, 428p.

MACHADO, Z. L. Composição química do pescado. In:\_\_\_\_\_ Tecnologia de recursos pesqueiros, parâmetros, processos, produtos. Recife: DAS/DA, 1984.

McCLEMENTS, D. *et. al.* Influence of environmental stresses on stability of O/W emuls]ion containing cationic droplets stabilized by SDS-Fish gelatin membranes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53 n.10, 4236-4244p., 2005.

MATOS, A. C. Efeito da aeração e da taxa de renovação de água em policultivo de peixes. Dissertação apresentada no Curso de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura, 118p. 1996.

MINOZZO, M. G., Elaboração de patê cremoso a partir de filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e sua caracterização físico-química, microbiológica e sensorial. Dissertação apresentada no Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos do programa

de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos do setor de Tecnologia, Universidade Federal de Paraná (UFPR), 127p., 2005.

NEVES, R.A.M.; MIRA, N.V.M. de; MARQUEZ, U.M.L. Caracterização de hidrolisados enzimáticos de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v. 24 n.1, jan/mar. 2004.

NOVATO, P. F. C. Comparação entre os sistemas de alimentação de demanda, manual e automático sobre o desempenho da tilápia vermelha (*Oreochromis sp*). CAUNESP, Jaboticabal.SP. 87p. 2000 (Tese de mestrado).

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

OSSA, P. Enfermedad coronaria y dieta de pescado. *Bol. hosp. San Juan de Dios*, 32(5):34-4, 1995.

OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J.R.; PEDINI, M. Situação atual da Aqüicultura brasileira e mundial. In: VALENTIN W. C.; POLI, C.R.; BORGUETTI, J.R. *Aqüicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília: CNPq, 2000. p. 353-381.

PARDI, M.C.; SANTOS, I.F.; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. Ciência, higiene e tecnologia da carne. Goiânia : CECRAF-UFG , 1995. 586p

PEDROSA, L. F. C., COZZOLINO, S. M.F. Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos da cidade de Natal/RN. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 21, n.2, mai/ago, 2001.

PEIXOTO, M.R.S., SOUSA, C.L.; MOTA, E. S. Utilização de pescada (*Macrodon ancylodon*) de baixo valor comercial, para obtenção de surimi empregado na elaboração de salsicha com sabor camarão. *Revista Higiene Alimentar*, v. 16, n.99, p. 95 - 101, ago., 2002.

PILARSKI, F. Incidência de Patógenos em carpa comum (*Cyprinus carpio*) procedentes de cultivo integrado à suinocultura. Chapecó, 1998. Monografia para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas – UNOESC – Chapecó.

PILARSKI, F. Consórcio Suíno-Peixe: Aspectos Ambientais e Qualidade do Pescado. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 33, n. 2, p. 267 - 276, 2004.

PROENÇA, C. E.; BITTENCOURT, P. R. L. Manual de piscicultura tropical. Brasília: IBAMA, 1994. 195p.

RANKEN, M. D. Manual de Industrias de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. 2. ed. España, 1993.

REDMAYNE, P. Como el camarón y el salmon de cultivo la tilapia se está convirtiendo rápidamente em un proveedor de filetes frescos y congelados de alta calidad. Virtualmente todos los filetes de tilapia vendidos em los Estados Unidos son importados. Panorama Aquícola, v.5, n.3, p.8-9, 2000.

SAEKI, H., INOUE, K. Improved solubility of carp myofibrillar proteins in low ionic strength médium by glycosylation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, p. 3419 – 3422, 1997.

SALINAS, R. D. Alimentos e Nutrição: introdução à bromatologia. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SATO, R., KATAYAMA, S., SAWABE, T., SAEKI, H. Stability and emulsion-forming ability of water-soluble fish myofibrillar protein prepared by conjugation with alginate oligosaccharide. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, p. 4376 – 4381, 2003.

SCHERER, R.; DANIEL, A. P.; AUGUSTI, P. R.; LAZZARI, R.; LIMA, R. L.; FRIES, L. L.; Radunz Neto, J.; Emanuelli, T. Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*ctenopharyngodon idella*). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.24, n 4, p. 680 – 684, 2004.

SCHOEDER, G.L. Autotrophic na heterotrofhic production of microorganisms in intensely manured fish ponds and related fish yields. Aquaculture, v.14, 1978.

SCHUT, J. Meat emulsions. In: FRIBERG, S., ed. Food emulsion. New York: Marcel Dekker, 1976. P. 385 – 459, 1976.

SHENOUDA, S.Y.K. Theories of protein denaturation during frozen storage of fish flesh. *Advances Food Research*, New York, v.26, n.1, p.275-311, 1980.

SIKORSKI, Z. E.; KOLAKOWSKA, A.; PAN, B. S. Composicion nutritive de los principales grupos de animales marinos utilizados como alimento. In: SIKORSKI, Z. E. *Tecnologia de los productos del mar: recursos, composición nutritiva y conservación*. Zaragoza: Acribia, 1994. p. 52-59.

SIMOES, D.R.S.; PEDROSO, M.A.; AUGUSTO R. W.; Hambúrgueres formulados com base protéica de pescado. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.18, n. 4, out./dez. p.410-413, 1998.

SPERANDIO, L. M. A IMPORTÂNCIA DO PEIXE NA ALIMENTAÇÃO HUMANA. GO. Disponível em <<http://www.setorpesqueiro.com.br/portal.asp>> Acesso 17 jul 2003.

SU, K.; HUANG, S.; CHIU, C.; SHEN, W. W.. O mega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *European Neuropsychopharmacology*. v. 13, p. 267–271, Jan. 2003.

STANG, M.; KARBSTEIN, H.; SCHUBERT, H. Absortion kinetics of emulsifiers at oil-water interfaces and their effect on mechanical emulsification. *Chemistry Engineering Processing*, v.33, p 307, 1994.

SUZUKI, T. *Tecnología de las Proteínas de Pescado y Krill*. Editorial Acribia S.A. España, 1987.

SZENTTAMÁSY, E. R.; BARBOSA, S. M. V. B.; DETERRER, M.; MORENO, I. A. Tecnologia do pescado de água doce: aproveitamento do pacú (*Piaractus mesopotamicus*). *Scientia Agrícola*, v.50, n.2, p.303-310, 1993.

TAIGANIDES, P. E. Principles and techniques of animal waste management and utilization. *FAU Soils Bulletin*, 1978, v.36, p. 341-362.

TOMAZELLI, I. B.; BONASSI, M. Desenvolvimento do plano de Análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) para os produtos da empresa “cardume”- indústria e comércio

de peixe Chapecó Ltda. Monografia apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Especialista em Tecnologia de Processamento de Alimentos à Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, 2000.

TOMAZELLI JR. O.; CASACA, J.M. Policultivo de peixes em Santa Catarina. Panorama da Aquicultura, v.11, n. 63, p. 26-31, 2001.

UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Base de Dados de Nutrientes do USDA. Disponível em:< <http://www.unifesp.br/dis/servicos> > Acesso em: 06 de julho de 2006

VAZ, S. K., MINOZZO, M. G., MARTINS, C. V. B. Aspectos sanitários de pescados comercializados em pesque-pagues de Toledo – (PR). Revista Higiene Alimentar, v.16, n.98, jul. 2002.

VAZ, K. S. Elaboração e caracterização de lingüiça fresca “tipo toscana” de Tilápia (*Oreochromis Niloticus*). Dissertação de Mestrado do Curso Tecnologia de Alimentos, UFPR, 113p., Curitiba – PR , 2005.

VIEIRA K. V. M.; MAIA, D. C. C.; JANEIRO, D. I.; VIEIRA, R. H. S. F. e CEBALLOS, B. S. O. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*O. Niloticus*) em filés congelados. Revista Higiene Alimentar, v.14, n 74, 2000.

VIEIRA, R. H. S. dos F. (Org.). Microbiologia higiene e qualidade do pescado – teoria e prática. São Paulo: Livraria Varela, 2004.

VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M.; SOUZA. N. E.; CATHARINO, R. R.; FRANCO, M. R. B. Composição química e de ácidos graxos em tilápias (*Oreochromis niloticus*) submetidas à dieta prolongada. Revista Nacional da Carne, n. 313, Mar. 2003.

ZANIBONI FILHO, E. Preservação dos peixes migratórios no rio Uruguai. Florianópolis: 78p, 1999.

ZIMERMANN, S.; NEW, M. B.. Grow-out systems polycuand integrated culture. In: NEW, M. B.; VALENTINI, W.C. Freshwater prawn farming. The farming of *Macrobrachium rosenbergii*. Oxford: Osney Mead, p. 187-202, 2000.

KUBTIZA, L. M. M 2000. Qualidade da água, sistemas de cultivo, planejamento da produção, manejo nutricional, alimentar e sanidade. Panorama da Aquicultura, v 10, n. 59: 53

WALSTRA, P. Principles of emulsion formation. Chemistry Engineering Science, v. 48, p. 333 – 350, 1993.

WALSTRA, P. Physical Chemistry of foods. New York, 2003.

WIEFELS, R. C. Trade Status of Productos developed Aquaculture Species in Asian and Latin American Regions. Infopesca Jun. 1999. Disponível em [www. Infopesca.org/](http://www.infopesca.org/). Acesso em 11 de set. 1999<sup>8</sup>