

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE
PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS**

BARBARA ARRUDA NOGUEIRA

**CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE ESPÉCIES DE PESCADO
COM POTENCIAL DE CRIAÇÃO NA REGIÃO SUDOESTE DO
PARANÁ**

DISSERTAÇÃO

**Pato Branco
2016**

BARBARA ARRUDA NOGUEIRA

**CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE ESPÉCIES DE PESCADO
COM POTENCIAL DE CRIAÇÃO NA REGIÃO SUDOESTE DO
PARANÁ**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Área de concentração: Química de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Marina Leite Mitterer Daltoé
Co-orientadora: Profa. Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

Pato Branco
2016

N778c Nogueira, Barbara Arruda.
Características tecnológicas de espécies de pescado com potencial de criação na região sudoeste do Paraná / Barbara Arruda Nogueira. -- 2016.
95 f. : il. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Marina Leite Mitterer Daltoé
Coorientadora: Profa. Dra. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Pato Branco, PR, 2016.
Bibliografia: f. 76 – 94.

1. Biometria. 2. Peixe como alimento. 3. Físico-química. 4. Estatística – Análise. I. Daltoé, Marina Leite Mitterer, orient. I I. Oldoni, Tatiane Luiza Cadorin, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. IV. Título.

CDD (22. ed.) 660.281

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



TERMO DE APROVAÇÃO Nº 35

Título da Dissertação
“CARACTERÍSTICAS TECNOLÓGICAS DE ESPÉCIES DE PESCADO COM POTENCIAL DE CRIAÇÃO NA REGIÃO SUDOESTE DO PARANÁ”

Autora

BARBARA ARRUDA NOGUEIRA

Esta dissertação foi apresentada às 08 horas do dia 21 de março de 2016, como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIA DE PROCESSOS QUÍMICOS E BIOQUÍMICOS – Linha de pesquisa em Alimentos – no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. A autora foi arguida pela Banca Examinadora abaixo assinada, a qual, após deliberação, considerou o trabalho aprovado.

Profa. Dra. Marina Leite Mitterer Daltoé
UTFPR/PB
Presidente

Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de Lima
UTFPR/PB
Examinador

Profa. Dra. Marlice Salete Bonacina
IFRS – Erechim
Examinadora

Visto da Coordenação

Cristiane Regina Budziak Parabocz
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em
Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos - PPGTP

O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do PPGTP

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus que possibilitou a minha existência e deu força, foco e coragem para a realização desse trabalho.

À minha amada mãe, Maria Eliana Soares Arruda, pelo seu amor, carinho, incentivo, compreensão, dedicação e paciência. Obrigada por fazer meus dias mais felizes, obrigada pelo seu amor, obrigada por tudo, sem ela eu não teria chegado até aqui.

Ao meu querido tio, Alberico de Arruda, à minha amada vó, Izaura Soares de Arruda, e em memória à minha querida tia, Iolanda Arruda Alves, que de certa forma contribuíram com ajuda financeira para que eu pudesse permanecer estudando e dedicando aos estudos.

A toda minha família, pelo amor, zelo e confiança que depositaram em mim e rezaram por mim, para que Deus iluminasse meu caminho e não deixasse desistir.

Ao meu namorado, Augusto Cesar Miranda, pelo seu amor, carinho, compreensão e cumplicidade nos momentos difíceis, por sempre estar ao meu lado e não deixar desaminar. Fico muito grata por ter você em minha vida.

À minha querida orientadora, Professora Doutora Marina Leite Mitterer Daltoé, pela oportunidade em realizar o mestrado sob sua orientação. Obrigada por sua paciência, dedicação, ensinamento, críticas, atenção e confiança durante todo esse tempo de orientação.

À minha co-orientadora, Professora Doutora Tatiane Luiza Cadorin Oldoni, pela sua dedicação, ensinamentos e atenção. Por sua contribuição e auxílio na parte do CG-EM.

Ao Professor Doutor Davi Costa da Silva, por sua dedicação e ajuda para que o CG-EM estivesse funcionando corretamente para poder realizar meu trabalho.

As minhas amadas amigas, Cristiane de Moura, pelos anos de amizade incondicional, ajuda, companheirismo e apoio nos momentos difíceis e a Patrícia de Lima Moraes da Silva, por mais que não esteve presente fisicamente, sempre esteve presente mentalmente, obrigada por seu apoio, amizade e ajuda. Agradeço incondicionalmente a amizade e amor de vocês, obrigada por fazerem parte da minha história.

Ao grupo de pesquisa do N008 (Anne Caroline Belusso, Caroline Marques, Carla Cristina Lise, Deyse Pegorini Rodrigues, Jean Lunkes e Leandra Schuastz Breda) em especial as amigas Anne Caroline Belusso, Caroline Marques e Leandra Schuastz Breda por toda ajuda nas análises e pelo conhecimento compartilhado.

Aos técnicos e estagiários de laboratório (Central de Análise, LAQUA, Laboratório de Química, Laboratório de Bioquímica), por disponibilizar tempo e espaço para a realização das análises, e por todo conhecimento compartilhado.

Aos piscicultores da Região Sudoeste do Paraná, por disponibilizarem os peixes para que eu pudesse realizar meu trabalho.

Ao CNPq pelo financiamento, projeto número 456102/2014-0.

À UTFPR e ao PPGTP Câmpus Pato Branco, por serem responsáveis pela minha formação na graduação e mestrado.

A Capes pelo apoio e ajuda financeira.

A todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho, meus singelos agradecimentos.

Não importa o quão ruim a vida possa ser, há sempre alguma coisa que você pode fazer e ter sucesso. Enquanto há vida, há esperança. (Stephen Hawking).

RESUMO

NOGUEIRA, Barbara, A. **Características tecnológicas de espécies de pescado com potencial de criação na Região Sudoeste do Paraná**. 2016. 95 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR, 2016.

A carne de pescado possui composição química particular que lhe confere elevado valor nutricional. Entretanto, esse alimento é identificado pela alta perecibilidade, aspecto esse muitas vezes apontado como barreira ao consumo de pescado. A região Sudoeste do Paraná, paralela à realidade do país, é caracterizada pelo baixo consumo de pescado; e uma das estratégias apontadas para o aumento do consumo dessa importante fonte proteica é o incentivo à produção de outras espécies além da tilápia. Dentro desse contexto, faz-se necessário o conhecimento a respeito das características da carne de pescado. Nesse sentido, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial tecnológico das espécies pacu, carpa capim e *catfish*. Em um primeiro momento realizou-se a avaliação química, frescor e biométrica, sob dois métodos estatísticos descritivos distintos, das três espécies; e avaliou-se a capacidade discriminante das variáveis em estudo. Em um segundo momento buscou-se avaliar os efeitos de dois processos distintos de lavagem (ácida e alcalina) no que diz respeito à remoção de nitrogenados e pigmentos e na capacidade emulsificante das proteínas da base proteica obtida. A terceira fase deste trabalho objetivou-se otimizar a metodologia em CG-EM para análise de compostos geosmina e MIB (2-metilisoborneol), compostos esses responsáveis pelo sabor/odor a terra e mofo em pescados de água doce. Os resultados revelaram altos teores de proteína e baixos teores de lipídios para as três espécies. A comparação entre médias e medianas revelaram simetria apenas para os valores de proteínas e medidas biométricas. Os lipídios quando avaliados apenas pelas médias superestimaram os teores para todas as espécies. Correlações entre medidas corporais e rendimento de filé apresentaram baixa relação, independente da espécie analisada, sendo a melhor equação de predição a que relaciona peso total e peso de filé. As variáveis biométricas foram as melhores discriminantes entre as espécies. Quanto à avaliação das lavagens, verificou-se que os processos ácido e básico foram igualmente ($p \geq 0,05$) eficientes ($p \leq 0,05$) na remoção dos compostos nitrogenados nas polpas de pescado. No que diz respeito à extração de pigmentos, eficiência de remoção foram registradas apenas para a espécie pacu, quando os dados foram avaliados pelos parâmetros L^* , a^* , b^* . Quando avaliados pela diferença total de cor (ΔE) antes e após as lavagens, para ambos os processos (ácido/alcalino), os ΔE revelaram factível percepção a olho nu para todas as espécies. *Catfish* foi caracterizado como o pescado que apresenta a carne mais clara e a lavagem básica foi apontada como a mais eficiente para remoção de pigmentos para essa espécie. As bases proteicas obtidas pela lavagem alcalina apresentaram maior capacidade emulsificante ($p \leq 0,05$) quando comparadas às polpas sem lavar e lavadas em processo ácido. A metodologia aplicada para quantificação de MIB e geosmina permitiu constatar que o método de extração e purificação dos analitos apresentou baixa recuperação e que estudos futuros devem ser desenvolvidos para identificação e quantificação de MIB e geosmina em amostras de pescado.

Palavras-chaves: Biometria. *Box plot*. Composição química. Nitrogenados. *Off flavor*.

ABSTRACT

NOGUEIRA, Barbara, A. **Technological characteristics of fish species with creating potential in Paraná southwest region**. 2016. 95 p. Dissertation (Masters in Chemical and Biochemical Process Technology) – The Federal University of Technology – Paraná, Pato Branco, PR, 2016.

The fish meat has a particular chemical composition which gives its high nutritional value. However, this food is identified for being highly perishable and this aspect is often named as a barrier to fish consumption. The southwestern Paraná region, parallel to the country's reality, it is characterized by low fish consumption; and one of the strategies aimed at increasing the consumption of this important protein source is encouraging the production of other species besides tilapia. Within this context, it is necessary to know about the meat characteristics. In this sense, the objective of this study was to evaluate the technological potential of pacu, grass carp and catfish species. To do so, at first, it was discussed the chemical and biometric assessment under two distinct descriptive statistical methods, of the three species; and it was also evaluated the discriminating capacity of the study. In a second moment, an evaluation of effects done by two different processes of washing (acid and alkaline) regarding the removal of nitrogen compounds, pigments and the emulsifying ability of the proteins contained in the protein base obtained. Finally, in the third phase, it was aimed to realize the methodology optimization in GC-MS for the analysis geosmin and MIB (2-metilisoborneol) compounds that are responsible for taste/smell of soil and mold in freshwater fish. The results showed a high protein and low lipid content for the three species. The comparison between means and medians revealed symmetry only for protein values and biometric measurements. Lipids, when evaluated only by the means, overestimate the levels for all species. Correlations between body measurements and fillet yield had low correlation, regardless of the species analyzed, and the best prediction equation relates the total weight and fillet weight. The biometric variables were the best discriminating among the species. The evaluation of the washings, it was found that the acidic and basic processes were equally ($p \geq 0.05$) efficient ($p \leq 0.05$) for the removal of nitrogen compounds on the fish pulps. Regarding the extraction of pigments, a removal efficiency was recorded only for the pacu species, the data were assessed by the parameters L^* , a^* , b^* . When evaluated by the total color difference (ΔE) before and after washing for both processes (acid/alkaline) the ΔE proved feasible perceived by naked eye for all species. The catfish was characterized as the fish that presents the clearest meat with the basic washing considered the most effective in removing pigments for this species. Protein bases obtained by alkaline washes have higher emulsifying capacity ($p \leq 0.05$) when compared to unwashed and washed in acid process pulps. The methodology applied for the quantification of MIB and geosmin, allowed to establish that the method of extraction and purification of analytes had low recovery and future studies should be developed for identification and quantification of MIB and geosmin on fish samples.

Keywords: Biometrics. Box plot. Chemical composition. Nitrogen compounds. Off flavor.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura química dos compostos geosmina (A) e MIB (B).....	28
Figura 2- Representação esquemática do processo de eutrofização e do surgimento de geosmina e MIB	29
Figura 3- Instrumento típico de um CG-EM.....	30
Figura 4- Fluxograma das atividades a partir da matéria-prima	33
Figura 5- <i>Box Plot</i> da caracterização físico-química, frescor e biométrica para as três diferentes espécies. Mediana: □; 25%-75% das observações: □ ; faixa não <i>outlier</i> . I ; <i>outlier</i> (valores extremamente altos e baixos): °; extremos: *	43
Figura 6- Gráfico de média das triplicatas com erro referente à remoção de nitrogenados nas polpas de pescado para as diferentes lavagens. A= H ₃ PO ₄ (0,05%) + Água + Água; B= NaHCO ₃ (0,1%) + Água + Água + NaCl (0,3%). Letras iguais não apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey (p ≥ 0,05). Média □. N=12 .	54
Figura 7- A) Parte do diagrama de cromaticidade a* e b*; B) Cromo e luminosidade das três espécies de pescado. SL= Sem lavar; A= H ₃ PO ₄ (0,05%) + Água + Água; B= NaHCO ₃ (0,1%) + Água + Água + NaCl (0,3%)	61
Figura 8- Sobreposição dos cromatogramas obtidos a partir da injeção da curva de calibração nas concentrações 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 mg.L ⁻¹ no modo SIM	65
Figura 9- Padronização da curva padrão	66
Figura 10- Espectros de massas da curva padrão obtido no modo TIC: A) PI, B) MIB e C) Geosmina, espectros de massas obtidos na NIST: D) PI, E) MIB e F) Geosmina	67
Figura 11- Espectros de massas da curva padrão obtido no modo SIM	68
Figura 12- Cromatogramas obtidos a partir da curva padrão do ponto com concentração 1,6 mg.L ⁻¹ ;A) modo TIC e B) modo SIM.....	69
Figura 13- Sobreposição dos cromatogramas obtidos da amostra A com o cromatograma da curva padrão 1,6 mg.L ⁻¹ no modo SIM	71
Figura 14- Cromatograma obtido da amostra B	72
Figura 15- Sobreposição do cromatograma obtido da amostra C sobreposta com o cromatograma da curva padrão 1,6 mg.L ⁻¹ no modo SIM	73
Figura 16- Espectros de massas do PI da amostra C obtido no modo SIM	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valores médios e desvio padrão da caracterização química e frescor no filé das três espécies de pescado.	41
Tabela 2- Caracterização biométrica das três espécies de pescado	47
Tabela 3- Coeficiente de correlação de Pearson entre peso total, comprimento total, peso de filé e rendimento de filé de pacu, carpa capim e <i>catfish</i>	48
Tabela 4- Funções obtidas pela análise canônica.....	50
Tabela 5- Tabela de classificação para validação dos modelos.....	51
Tabela 6- Tabela de classificação para validação dos modelos com amostras externas	52
Tabela 7- Valores obtidos da análise de cor para as três espécies de pescado, antes e após as lavagens	59
Tabela 8-Valores obtidos da diferença total de cor (ΔE) para as três espécies de pescado.....	61
Tabela 9-Capacidade emulsificante das proteínas na espécie pacu.....	63
Tabela 10- Alterações realizadas na metodologia utilizada	71

LISTA ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC	Association Of Official Analytical Chemists
ANOVA	Análise de Variância
°C	Graus Celsius
CE	Capacidade Emulsificante
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas
CIE	<i>Comission Internationale de L'Eclairage</i>
cm	Centímetros
CMS	Carne Mecanicamente Separada
DMA	Dimetilamina
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Grama (peso)
Geosmina	Trans-1,10-Dimetil-Trans-9-Decalol
kg	kilograma
km	kilômetros
L	Litros
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg	Miligrama
MMA	Monometilamina
MIB	2-Metilisoborneol
min	Minutos
mL	Mililitro
MPA	Ministério da Pesca e Aquicultura
MPa	Mega Pascal
NBVT	Bases Nitrogenadas Voláteis Totais
NNP	Nitrogênio não proteico
N-NTK	Nitrogênio Total
NTK	Nitrogênio Total de Kjeldahl
ppt	Partes por trilhão
pH	potencial Hidrogeniônico
PI	Padrão Interno
PNAE	Programa Nacional de Alimentação Escolar
SIM	<i>Selected ion monitoring</i>
SPME	Micro extração em fase sólida
TCA	Ácidotricloroacético
TIC	<i>Total ion chromatogram</i>
TMA	Trimetilamina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 PRODUÇÃO E CONSUMO DE PESCADO NO BRASIL	18
3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE PESCADO	20
3.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS DO PESCADO	21
3.4 FRESCOR DO PESCADO	23
3.5 LAVAGEM PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS E PIGMENTOS	24
3.6 <i>OFF FLAVOR</i> EM PESCADOS DE ÁGUA DOCE	26
3.7 CROMATOGRAFIA GASOSA ACLOPADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 MATERIAL	32
4.1.1 AMOSTRA DE PESCADO	32
4.2 MÉTODOS	32
4.2.1 Caracterização físico-química da matéria-prima	33
4.2.1.1 Composição centesimal da matéria-prima	33
4.2.1.2 Avaliação do frescor do pescado	34
4.2.1.3 Lavagem para extração de compostos nitrogenados	34
4.2.1.4 Análise de cor na polpa dos pescados	35
4.2.1.5 Capacidade emulsificante das proteínas	36
4.2.2 Determinação de MIB e geosmina em pescado	36
4.2.2.1 Destilação á vácuo	36
4.2.2.2 Extração líquido-líquido	37
4.2.2.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)	37
4.2.2.4 Limite de detecção, limite de quantificação e recuperação	38
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, FRESCOR E BIOMÉTRICA DAS TRÊS ESPÉCIES DE PESCADO	40
5.1.1 Variáveis discriminantes para diferenciação entre as espécies	49
5.2 AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS	52
5.2.1 Avaliação da extração de pigmentos na polpa dos pescados	56
5.3 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE EMULSIFICANTE DAS PROTEÍNAS ANTES E APÓS AS LAVAGENS	62
5.4 APLICAÇÃO DA TÉCNICA CG-EM PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MIB E GEOSMINA EM PESCADO	64
6 CONCLUSÕES	75
REFERÊNCIAS.....	76

1 INTRODUÇÃO

A carne de pescado é importante fonte de proteína animal consumida em diversas partes do mundo (BURGER et al., 2014; FERNÁNDEZ-SEGOVIA et al., 2012; MPA, 2013). Segundo a Food and Agriculture Organization (FAO), levantamento realizado em 2012, em média, cada habitante do planeta consome 19,2 kg de pescado por ano (FAO, 2014). Atualmente os brasileiros consomem em média 14,5 kg de pescado por ano (MPA, 2014). Número esse com potencial de aumento considerando a extensão da costa pesqueira e a disponibilidade dos recursos hídricos, para aplicação da aquicultura.

Uma maneira de incentivar o consumo desse alimento é através do desenvolvimento de produtos à base da carne de pescado com alta qualidade, tais como, *nuggets*, hambúrgueres e empanados, considerados apropriados e adequados para atender a demanda do consumidor moderno (BOCHI et al., 2008; BONACINA; QUEIROZ, 2007; MITTERER-DALTOÉ et al., 2012; MITTERER-DALTOÉ et al., 2014; OLSEN et al., 2008). Além disso, o incentivo por parte do governo, através de programas governamentais sociais, visando a exploração e produção de pescados para elaboração de produtos à base da carne desse alimento e sua introdução na merenda escolar (MITTERER-DALTOÉ et al., 2012; MITTERER-DALTOÉ et al., 2013) vêm contribuindo para a inserção do hábito de consumo de pescado na população. De forma paralela, esse aumento na demanda por pescado é resultado da busca por uma alimentação saudável, pois a carne de pescado apresenta-se como importante alimento dentro desse cenário (LLORET, 2010; MPA, 2013; WIDJAJA et al., 2009).

Estudos mostram que o consumo regular de pescado oferece vários benefícios à saúde, como a redução de doenças cardiovasculares (BURGER et al., 2014; CALDER, 2004; MOZAFFARIAN; WU, 2011), reduz o risco da gestante ter depressão durante a gravidez (GOLDING et al., 2009) e apresenta efeitos favoráveis sobre o desenvolvimento fetal (BURGER et al., 2014). Seu consumo regular também é capaz de aumentar de forma significativa as concentrações de ácidos graxos da família ômega 3 e por consequência reduzir as taxas do colesterol ruim *Low Density Lipoproteins* (LDL) e diminuir os níveis de triglicérides, inflamações e trombose (BRASIL, 2006; BURGER et al., 2014; CALDER, 2004; DAVIGLUS; SHEESHKA;

MURKIN, 2002; LLORET, 2010; MOZAFFARIAN; WU, 2011; TACON; METIAN, 2013; VÁZQUEZ et al., 2014).

O pescado além de destacar-se por sua elevada qualidade nutricional, apresenta alto potencial de sofrer processos deteriorativos (FERNÁNDEZ-SEGOVIA et al., 2012), principalmente por conter elevada atividade de água nos tecidos, pH próximo da neutralidade, acentuado teor de fosfolipídios e nutrientes, fatores esses, que intensificam a proliferação microbiana e a formação de compostos nitrogenados (BRESSAN; PEREZ, 2000; CICERO et al., 2014; SOARES; GONÇALVES, 2012). Uma maneira relatada pela literatura para minimizar e extrair compostos que aceleram a decomposição é o emprego de processos de lavagens nas polpas dos pescados com objetivo de extrair nitrogenados e conseqüentemente aumentar a vida útil e aceitabilidade por parte dos consumidores (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; SIMÕES et al., 2004).

As lavagens apresentam efeitos positivos sobre a viabilidade tecnológica da matéria-prima, uma vez que melhora as propriedades funcionais das proteínas (RAWDKUEN et al., 2009), devido à lixiviação de uma quantidade relevante de proteínas sarcoplasmáticas e gordura (ARTHARN et al., 2007; BALANGE; BENJAKUL, 2009; FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; KIRSCHNIK; MACEDO-VIEGAS, 2009; RAMÍREZ et al., 2011), o que também resulta em coloração mais clara (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; RAWDKUEN et al., 2009).

Além dos produtos de pesca apontar elevada perecibilidade em comparação a outros de origem animal, outra barreira que surge ao consumo de pescado, é a presença de sabor/odor a terra/mofo, atributos característicos de peixes de água doce. Dentre os constituintes químicos responsáveis, destacam-se a geosmina (trans-1,10-dimetil-trans-9-decalol) e o 2-metilisoborneol (MIB); compostos estes responsáveis pelo *off flavor* no filé de pescado, e agentes da rejeição pelo consumidor e pela redução do valor do produto no mercado (ROBIN et al., 2006; YARNPAKDEE et al., 2014). Apesar de presentes em nível baixo nos tecidos dos pescados, podem ocasionar sabor indesejável ao consumo (WATSON; RIDAL; BOYER, 2008).

Nesse sentido, o presente estudo, teve como objetivo avaliar as características tecnológicas de três espécies de pescado, Pacu, Carpa capim e *Catfish*, com potencial de criação na região Sudoeste do Paraná.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as características tecnológicas de três espécies de pescado, Pacu, Carpa capim e *Catfish*, com potencial de criação na região Sudoeste do Paraná.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a composição físico-química, biométrica e de frescor das três espécies de pescado de água doce.
- Avaliar a remoção de compostos nitrogenados e pigmentos nas polpas de pescado de água doce por meio de lavagem alcalina e ácida.
- Avaliar o efeito dos processos de lavagem na capacidade emulsificante das proteínas de pescado.
- Otimizar metodologia para análise de MIB e geosmina e quantificar os compostos das três espécies de pescado de água doce por meio de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM).

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PRODUÇÃO E CONSUMO DE PESCADO NO BRASIL

De acordo com a FAO (2014a) a produção mundial de pesca e aquicultura atingiu cerca de 160 milhões de toneladas em 2013. A China é o maior produtor de pescado do mundo, contribuindo com aproximadamente 63,5 milhões de toneladas seguida da Indonésia com 11,7 milhões de toneladas. A Índia vem logo em seguida com 9,3 milhões de toneladas e o Japão com cerca de 5,2 milhões de toneladas em 2011 (MPA, 2011). A produção de pescado no Brasil gira em torno de 1,5 milhões de toneladas, sendo que a meta é atingir 2 milhões até o final de 2016 (BRASIL, 2014). Segundo a FAO, a previsão é de que até 2030 o Brasil torna-se um dos maiores produtores de pescado do mundo, ano em que a produção nacional terá condições de atingir 20 milhões de toneladas (MPA, 2014).

O Brasil possui enorme potencial para a aquicultura, com 12% de água doce disponível no planeta e um litoral de 8.000 km (GONÇALVES, 2007). Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA) sua participação na produção aquícola nacional em 2011 foi de 628,7 mil toneladas representando um crescimento de 31,1% em relação a 2010. A maior parcela da produção aquícola é proveniente da aquicultura continental (86,6%) e o restante da produção é origem marinha. No continente, as espécies de pescados mais cultivados são tilápia e tambaqui representando 67% do total. No litoral, a liderança é a carcinicultura (criação de camarão) (MPA, 2011). Esse aumento na aquicultura brasileira pode colaborar para geração de empregos, a renda e o fornecimento alimentar, tornando-se uma atividade com grandes perspectivas de progresso (MPA, 2013).

O consumo nacional per capita em 2010 foi 9,7 kg de pescado por habitante/ano (MPA, 2012), de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda-se o consumo mínimo de pescado de 12 kg por habitante/ano. Os brasileiros têm aderido ao hábito de consumir pescado e ultrapassaram o consumo mínimo, alcançando uma média de 14,5 kg de pescado por habitante/ano de acordo com o levantamento feito em 2013 (MPA, 2014; MPA, 2014a). Comparado aos

países da Ásia, os brasileiros ficam em baixa, sendo que a China é um dos maiores consumidores per capita, com 21,6 kg por habitante/ano (FAO, 2014).

Este fenômeno de aumento acentuado pela procura de pescado deve-se ao fato que o consumidor brasileiro tem procurado alimentos mais saudáveis, com baixas taxas de gordura saturada e alto teor de proteína, sendo a carne de pescado uma excelente opção (LLORET, 2010; MPA, 2013; WIDJAJA et al., 2009). A oferta de produtos de pescado com alta qualidade e maior facilidade para o preparo tem estimulado o consumo de pescado. Derivados como *nuggets*, hambúrgueres e empanhados, são considerados produtos mais práticos e convenientes para atender as novas mudanças nos hábitos alimentares do consumidor moderno (BOCHI et al., 2008; BONACINA; QUEIROZ, 2007; MITTERER-DALTOÉ et al., 2014; OLSEN et al., 2008).

O Governo Federal brasileiro também têm contribuído para o aumento do consumo de pescado no país, pois novas campanhas de apoio têm sido realizadas, como a Semana do Peixe que é promovida pelo MPA e que tem como objetivo estimular o trabalho de pescadores e aquicultores, ajudando na geração de empregos (MPA, 2014a). Outro exemplo é o Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) que busca inserir o pescado no cardápio das escolas públicas de todo o país para que crianças e jovens adquiram o hábito de alimentação saudável (FNDE, 2013).

O papel de hábitos adquiridos na infância tem efeito positivo sobre o consumo de pescados na idade adulta. Uma criança que adquire o hábito regularmente de consumir peixe terá maior familiaridade com este produto, assim o consumo frequente de pescado durante a infância pode ser útil para o mesmo comportamento na idade adulta. Dessa forma a inserção de alimentos preparados à base de pescado na merenda escolar será fator determinante para auxiliar no desenvolvimento de adultos sadios que consumam alimentos saudáveis (GONÇALVES; PASSOS; BIEDRZYCKI, 2008; MITTERER-DALTOÉ et al., 2012; OLSEN, 2003; TRONDSEN et al., 2004).

O pescado é fonte natural em ácidos graxos poli-insaturados. Segundo as pesquisas científicas esse lipídio é primordial para o desenvolvimento do sistema nervoso das crianças, ajudando no processo de aprendizagem e atividade mental. Deste modo, a carne de pescado é um alimento importante na merenda escolar,

pois desempenha efeitos positivos para melhorar a qualidade da alimentação e contribuir no desenvolvimento físico e mental infantil (MPA, 2014b).

3.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE PESCADO

Os peixes são ricos em proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais, além de serem fonte rica de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (ômega 3 e ômega 6) (BRASIL, 2006; BURGER et al., 2014; CALDER, 2004; DAVIGLUS; SHEESHKA; MURKIN, 2002; JABEEN; CHAUDHRY, 2011; MPA, 2014b; MOZAFFARIAN; WU, 2011; SARTORI; AMANCIO, 2012; SCHMIDT et al., 2015). Essa carne de origem animal destaca-se por apresentar uma composição química peculiar que lhe confere alto valor biológico, proteína de alta digestibilidade, rico em aminoácidos essenciais, possuem proteínas com valor nutritivo ligeiramente superior das carnes vermelhas, sendo um alimento mais saudável do ponto de vista nutritivo (OGAWA; MAIA, 1999; SOARES; GONÇALVES, 2012).

Os principais componentes químicos da carne de pescado são água (50 a 85%), proteína (12 a 24%) e lipídios (0,1 a 22%), os 2% restantes são constituídos por minerais (0,8 a 2%), glicídios (0,1 a 3%) e vitaminas (BRITTO et al., 2014; OGAWA; MAIA, 1999). As diferenças na composição em músculo de pescado dependem das espécies, tamanho, sexo e o estado nutricional dos pescados (CORRÊIA et al., 2012; ORDÓÑEZ; 2005; YARNPAKDEE et al., 2014).

Simões et al. (2004) estudaram as características químicas do *Macrodon ancylodon* e obtiveram valores de proteínas, lipídios, cinzas e umidade na faixa de 15,88; 0,64; 1,00 e 82,48 g.100g⁻¹, respectivamente. Essa espécie de pescado é classificada como magra característica essa considerada vantajosa, uma vez que proporciona aumento do tempo de vida útil do produto. De acordo com Britto et al. (2014), os peixes podem ser classificados em gordos (>8,0% de gordura), semigordos (3,0-8,0%) e magros (2,0-3,0%).

Yarnpakdee et al. (2014) avaliaram a composição química de duas espécies de pescado, tilápia do Nilo e bagre de cabeça chata e obtiveram os seguintes resultados: 16,6 g.100 g⁻¹ de proteína e 0,2 g.100 g⁻¹ de lipídio para tilápia do Nilo e 17,5 g.100g⁻¹ de proteína e 11,4 g.100g⁻¹ de lipídio para o bagre de cabeça chata.

Dessa forma pelo elevado teor de proteína e baixo teor de lipídios no músculo, a tilápia do Nilo foi classificada como peixe magro, por outro lado, o bagre de cabeça chata foi caracterizado como peixe gordo, por seu elevado teor de lipídios.

O teor lipídico do pescado sofre variações muito significativas, dependendo da época do ano, da dieta, da temperatura da água, da salinidade, da espécie, do sexo e da parte do corpo analisado. A variação de lipídios de uma mesma espécie é um fato comum de ocorrer (CORRÊA et al., 2013; ORDÓÑEZ; 2005). Corrêa et al. (2013) analisaram a composição centesimal do robalo-peva de rio e de mar e os valores de lipídios foram de $2,51 \pm 0,50\%$ e $0,20 \pm 0,14\%$, respectivamente, mostrando que o ambiente realmente pode influenciar de maneira significativa em relação as concentrações de lipídios de uma mesma espécie.

O teor lipídico não se distribui por igual em todo o corpo do pescado, a composição pode variar bastante, dependendo do tecido ou órgão analisado. Yarnpakdee et al. (2014) determinaram a composição centesimal do bagre de cabeça chata na porção dorsal e ventral e obtiveram $11,4$ e $12,5 \text{ g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de lipídios, respectivamente, dessa forma podemos verificar que o teor de lipídios não é homogêneo mesmo quando é avaliado no mesmo indivíduo ou na mesma espécie. Deste modo, composições químicas podem variar dependendo da espécie e porções musculares analisadas.

3.3 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS PROTEÍNAS DO PESCADO

As proteínas são componentes funcionais em alimentos processados e auxiliam para a textura e características sensoriais além das propriedades nutricionais, sendo responsáveis pelas propriedades de emulsificação, gelatinização e retenção de água e gordura em produtos cárneos processados (RAMACHANDRAN; MOHAN; SANKAR, 2007; SMITH, 1988).

A proteína de músculo de peixe é normalmente dividida em três grupos distintos: as proteínas sarcoplasmáticas, as proteínas miofibrilares e o tecido conjuntivo. As proteínas sarcoplasmáticas são solúveis em água e baixas concentrações salinas e integram principalmente, de enzimas que estão envolvidas no metabolismo da célula. O tecido conjuntivo consiste principalmente colágeno,

responsável pela integridade dos músculos. As proteínas miofibrilares contribuem entre 50-60% do total de proteínas, responsáveis pelo sistema contrátil. As propriedades funcionais são afetadas em razão das alterações pós-captura no músculo do pescado, prejudicando a qualidade da proteína (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; MOHAN; RAMACHANDRAN; SANKAR, 2006; SOARES; GONÇALVES, 2012).

Em especial, a proteína miofibrilar, por possuir uma porção hidrofóbica (apolar) e outra hidrofílica (polar) atua na interface entre a gordura e a água, permitindo a formação da emulsão (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010; PEARSON; GILLET, 1996). A capacidade em formar emulsão permite a aplicação no desenvolvimento de produtos de pescado como salsichas e patês (MOHAN; RAMACHANDRAN; SANKAR, 2006).

As propriedades funcionais do músculo do pescado estão diretamente relacionadas com a integridade das proteínas, a desnaturação e a degradação como também a aplicação de forças externas, como, trituração, centrifugação, compressão e aquecimento podem contribuir para a perda dessas propriedades (BENJAKUL; VISESSANGUAN; TUEKSUBAN, 2003; ROMAN; SGARBIERI, 2005).

A capacidade de formar emulsão está relacionada às gotículas de gordura dispersas em meio aquoso contendo proteínas solúveis. Essas gotículas de gordura estão recobertas por uma fina camada de proteína solúvel, funcionando como um agente emulsificante liberada no meio aquoso a partir de fibras musculares. A instabilidade na capacidade no tecido animal em emulsificar e reter gordura na emulsão se dão em função da quantidade de proteína solúvel em sal (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). A capacidade emulsificante (CE) é definida como a capacidade total dos componentes cárneos em estabilizar a gordura (GARCIA-TORCHELSEN, JACOB-LOPES; QUEIROZ, 2011).

Aplicação de lavagem na polpa de pescado é comumente relatada na literatura para obtenção de surimi, pois a aplicação da lavagem auxilia na extração de proteínas sarcoplasmáticas e concentração de proteínas miofibrilares, melhorando a capacidade funcional das proteínas (BALANGE; BENJAKUL, 2009; CHAIJAN et al., 2004; RAWDKUEN et al., 2009).

3.4 FRESCOR DO PESCADO

Os pescados sofrem rápida deterioração após a morte devido aos mecanismos de decomposição microbiana, gerando perda de ácidos graxos, vitaminas lipossolúveis, funcionalidade das proteínas e o desenvolvimento de odores indesejáveis (CICERO et al., 2014; SOARES; GONÇALVES, 2012). Essa perda da qualidade também está associada ao estado da espécie *in natura* e as condições de manuseio e estocagem que este recebe antes da morte (RODRÍGUEZ et al., 2006).

O frescor do pescado é um dos principais parâmetros de qualidade para o peixe fresco, processado e comercializado (HUANG; XIN; ZHAO, 2011). Depende das suas condições fisiológicas, espécies bacterianas presentes e temperatura de estocagem. A qualidade do pescado pode ser determinada através de métodos sensoriais, microbiológicos ou físico-químicos (HUANG; XIN; ZHAO, 2011; ÖZYURT et al., 2009; RAATIKAINEN et al., 2005; SOARES; GONÇALVES, 2012).

Os métodos químicos para acompanhamento do frescor baseiam-se na determinação de diversas substâncias geradas pelas mudanças dos compostos musculares originais, causados por enzimas endógenas ou exógenas, sendo estas produzidas pela proliferação dos microrganismos (FERNÁNDEZ-SEGOVIA et al., 2012; FUENTES et al., 2011; KYKKIDOU et al., 2009; ÖZYURT et al., 2009). O método químico usado com mais frequência é a determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (NBVT) (BRIONES-LABARCA et al., 2012; CICERO et al., 2014; FERNÁNDEZ-SEGOVIA et al., 2012; FUENTES et al., 2011; FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; GALVÃO; OETTERER, 2014; ÖZOGUL; POLAT; ÖZOGUL, 2004; RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001).

A quantificação de NBVT deve ser determinada por um método em que as bases nitrogenadas são volatilizadas, recuperadas e quantitativamente determinadas. O procedimento da análise de NBVT determina o teor total das bases nitrogenadas, que contêm amônia, trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA), monometilamina (MMA), essas bases voláteis geralmente estão presentes na carne do pescado quando esse se encontra em processo de deterioração (CICERO et al., 2014; FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; GALVÃO; OETTERER, 2014; HOWGATE, 2010).

A análise de NBVT é usada como um índice para avaliar a qualidade de pescado, geralmente o aumento da concentração de NBVT indica a proliferação de microrganismos e a formação de compostos voláteis que causam a deterioração desse alimento (CICERO et al., 2014; FERNÁNDEZ-SEGOVIA et al., 2012; HOWGATE, 2010; SIRIPATRAWAN; SANGUANDEEKUL; NARAKAEW, 2009). De acordo com Büyükcın; Bozoglu; Alpas (2009), Turan; Erkoyuncu (2004) e Varlik et al. (2000) para peixes em excelente estado de frescor, os teores de NBVT foram definidos como: NBVT até 25 mg.100g⁻¹: muito bom, b) NBVT até 30 mg.100g⁻¹: bom, c) NBVT até 35 mg.100g⁻¹: comerciável e d) NBVT acima 35 mg.100g⁻¹: estragado.

No Brasil, a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento estabelece o valor de 30 mg.100g⁻¹ como limite máximo de NBVT para pescado fresco (BRASIL, 1997).

Outro fator importante para avaliar a qualidade da carne do pescado é o valor do pH. A determinação da acidez do produto alimentício pode fornecer um dado valioso do seu estado de conservação. O processo de decomposição normalmente afeta a concentração de íons de hidrogênio do alimento (VARLIK et al., 2000). As alterações de pH são provocadas por decomposição do pescado. Com a deterioração do pescado, seu pH aumenta devido á decomposição de aminoácidos formando um meio ótimo para bactérias atuarem na degradação da carne (OGAWA; MAIA, 1999), por esse motivo é sempre indicado a análise paralela com NBVT.

O pH da carne do pescado, logo após a morte, diminui de 7,0 para cerca de 6,5, subindo para 6,7. Essa queda do pH está relacionada as condições de pesca, com maior ou menor estresse do peixe. A formação de ácido lático durante o *rigor mortis* diminui o pH, após o *rigor mortis* ocorre a formação de produtos de natureza básica que aceleram a deterioração do pescado (GALVÃO; OETTERER, 2014; PEREIRA; ATHAYDE; PINTO, 2001). Para o pH da carne de pescado, os níveis externos aceitáveis são os inferiores a 6,8 e internos a 6,5 (BRASIL, 1980).

3.5 LAVAGEM PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS E PIGMENTOS

Uma forma relatada pela literatura para extração de compostos nitrogenados em pescados é efetuar lavagem (alcalina ou ácida) nas polpas, com objetivo de remover esses compostos e conseqüentemente aumentar a vida útil e aceitabilidade pelos consumidores (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; SIMÕES et al., 2004).

A etapa de lavagem extrai as proteínas hidrossolúveis ou sarcoplasmáticas, lipídios e outros componentes indesejáveis, tais como, sangue, substâncias de baixo peso molecular e pigmentos. Essa etapa consiste na lavagem dos componentes naturais da carne do pescado, esses componentes naturais podem acelerar a deterioração (oxidação lipídica e microrganismos) durante a estocagem a baixa temperatura (BALANGE; BENJAKUL, 2009; CHAIJAN et al., 2004; FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; ORDÓÑEZ; 2005; RAMÍREZ et al., 2011; RAMÍREZ; MARTÍN-POLO; BANDMAN, 2000; RAWDKUEN et al., 2009; SIMÕES et al., 2004).

Furlan, Silva e Queiroz (2009) realizaram lavagens na polpa da anchoíta para verificar a remoção dos compostos nitrogenados. O ciclo de lavagem da polpa utilizando NaHCO_3 (0,1%)+Água+ Água +NaCl (0,3%) demonstrou maior eficiência na extração de nitrogenados e proteínas sarcoplasmáticas. A água fria é usada para remover sangue e gordura e a baixa temperatura para não propagação de microrganismos. O NaCl empregado no último ciclo de lavagem tem sido utilizado para facilitar a remoção da água e, deste modo, obter umidade semelhante ao músculo do pescado (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; ORDÓÑEZ; 2005).

Garcia-Torchelsen, Jacob-Lopes e Queiroz (2011) e Simões et al. (2004) utilizaram a formulação H_3PO_4 (0,05%)+ Água+ Água para verificarem a remoção dos compostos nitrogenados na polpa de *Engraulis anchoita* e *Macrodon ancylodon*. Em ambos os trabalhos o uso do ácido fosfórico como solvente na lavagem mostrou-se eficiente na extração dos compostos nitrogenados, pois ao utilizar reagente ácido, este contribuiu para a desidratação do produto, garantindo maior rendimento quanto ao nitrogênio proteico e quanto à desodorização de proteína de pescado.

A aplicação da etapa de lavagem na polpa de pescado auxilia na extração de pigmentos naturais e mioglobina, que é a principal proteína responsável pela coloração escura da carne (MANCINI; HUNT, 2005; OGAWA; MAIA, 1999). A mioglobina é solúvel em água, dessa forma, a utilização da lavagem também tem o proposito de remover essa proteína que apresenta alta solubilidade (MANCINI; HUNT, 2005).

Os pigmentos naturais da carne são instáveis e participam de diferentes reações, a alteração de cor de um alimento é um indicativo das alterações químicas e bioquímicas possíveis de ocorrer durante o processamento e estocagem (RIBEIRO et al., 2007; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Em se tratando de pescado, onde estas alterações acontecem mais rápido por se tratar de um alimento que apresenta facilidade em deteriorar-se, o emprego de lavagem diminuirá essas reações químicas e contribuirá no aumento no teor de proteína miofibrilar com uma diminuição no teor de lipídios, resultando em uma cor mais clara (RAWDKUEN et al., 2009).

Karayannakidis et al. (2007) estudaram o efeito da eficiência da lavagem ácida na produção de kamaboko, tipo de surimi curtido, elaborado a partir da carne de sardinha e obtiveram um efeito positivo, tanto o parâmetro L* (luminosidade) quando o parâmetro a* (vermelhidão) apresentaram coloração mais clara.

Fogaça et al. (2015) avaliaram o efeito do ciclo de lavagem na fabricação de surimi elaborado a partir da carne de tilápia, os autores relataram aumento significativo do parâmetro L* e a diminuição do parâmetro a*, devido a eliminação dos pigmentos presente no músculo, especialmente a mioglobina (coloração escura).

3.6 OFF FLAVOR EM PESCADOS DE ÁGUA DOCE

Peixes de água doce, muitas vezes têm sabor de terra/mofo e essa característica é usualmente descrita como sendo uma particularidade destes peixes. A presença deste sabor em pescados de água doce é considerado um problema para os piscicultores que têm de estabelecer medidas para monitorar a presença desses *off flavor* em peixes e lidar com produtos afetados. Uma estratégia usualmente utilizada para o controle de qualidade é a transferência de peixes contaminados para um tanque de depuração com fluxo contínuo de água limpa (GALVÃO; OETTERER, 2014; HOWGATE, 2004; ROBERTSON et al., 2006; TUCKER, 2000).

Em conjunto com manejos insatisfatórios no cultivo, o *off flavor* aparece como um problema que causa prejuízos milionários em países como Estados Unidos

e França, conhecidos por sua alta tecnologia em aquicultura. A presença do *off flavor* pode causar decréscimo no consumo do pescado cultivado (BURR et al., 2012; GALVÃO; OETTERER, 2014; MA et al., 2013; ROBIN et al., 2006; RUAN et al., 2013).

Off flavor são sabores/odores indesejáveis adquiridos pelo peixe através do cultivo, sendo adquirido através da absorção de substâncias dissolvidas na água (via guelras) ou ingeridas acidentalmente durante a alimentação (absorção pelo trato digestivo) (HOWGATE, 2004; ROBERTSON et al., 2006; TUCKER, 2000; YARNPAKDEE et al., 2014). Estes compostos odoríferos geralmente são acumulados no tecido adiposo dos peixes (HOWGATE, 2004; PERCIVAL; DRABSCH; GLENCROSS, 2008; ROBERTSON et al., 2006; SCHRADER; DAVIDSON; SUMMERFELT, 2013; SMITH; BOYER; ZIMBA, 2008; TUCKER, 2000).

Diversas substâncias foram identificadas como geradores de *off flavor* na carne do pescado. Dentre elas a geosmina (trans-1,10-dimetil-trans-9-decalol) e 2-metilisoborneol (MIB) são as mais frequentemente envolvidas no *off flavor*. Esses compostos são produzidos pelo desenvolvimento de cianobactérias, actinomicetos e certos fungos (AUFFRET et al., 2011; BURR et al., 2012; GALVÃO; OETTERER, 2014; GUTTMAN; VAN RIJN, 2008; ; MA et al., 2013; SCHRADER; SUMMERFELT, 2010; SCHRADER; DAVIDSON; SUMMERFELT, 2013; SMITH; BOYER; ZIMBA, 2008; SUURNAKKI et al., 2015; WATSON; RIDAL; BOYER, 2008; WILKES et al., 2000), sendo então absorvidas por difusão pelo tecido dos peixes.

Geosmina é um álcool terciário bicíclico que apresenta odor/sabor de terra mesmo em baixas soluções aquosas (na ordem de 10 ng.L^{-1}) (Figura 1). O MIB também pertence ao mesmo grupo químico da geosmina (Figura 1). Ambos são compostos terpenóides semivoláteis, lipofílicos sendo altamente odoríferos na água ou nos peixes (GUTTMAN; VAN RIJN 2008; ROBERTSON et al., 2006; SMITH; BOYER; ZIMBA, 2008; SUURNAKKI et al., 2015). Esses compostos liberam cheiro e sabor de terra e mofo na água/peixes sendo liberados normalmente no final da primavera e começo do verão (período de floração das cianobactérias) (DENG et al., 2011; MA et al., 2013; ROBIN et al., 2006). A fórmula química da geosmina é $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}$ e do MIB, $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{O}$ (LALEZARY; PIRBAZARI; MCGUIRE 1986).

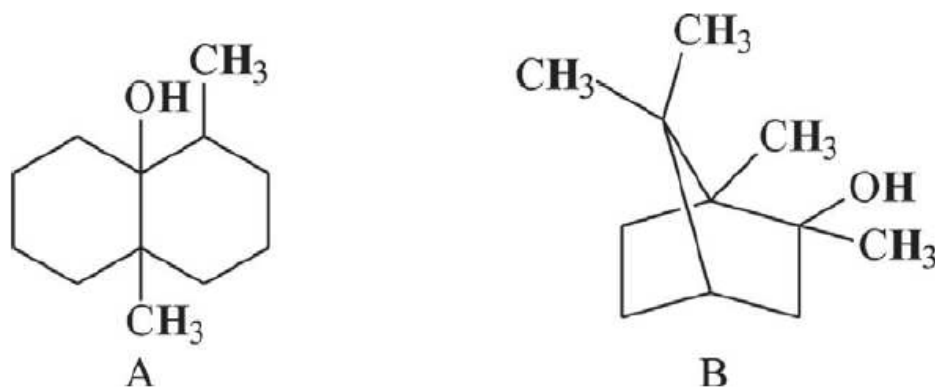


Figura 1- Estrutura química dos compostos geosmina (A) e MIB (B).
Fonte: Srinivasan e Sorial (2011)

A geosmina é uma substância produzida por algas cianofíceas do gênero *Anabaena lyngbya* e *Microcystis* e por bactérias da ordem dos actinomicetos, esta substância é responsável pelo sabor/odor de terra no filé do peixe. O MIB também é produzido por algas cianofíceas, mais especificamente as do gênero *Oscillatoria*, confere ao filé sabor/odor de mofo (GALVÃO; OETTERER, 2014; RUAN et al., 2013; SUURNAKKI et al., 2015; YARNPAKDEE et al., 2014). A presença desses compostos orgânicos deve-se especialmente à proliferação de cianobactérias em mananciais com elevados e desequilibrados níveis de nutrientes, basicamente resultantes de eutrofização (Figura 2) (SUURNAKKI et al., 2015; WU; STEPHEN, 2013).

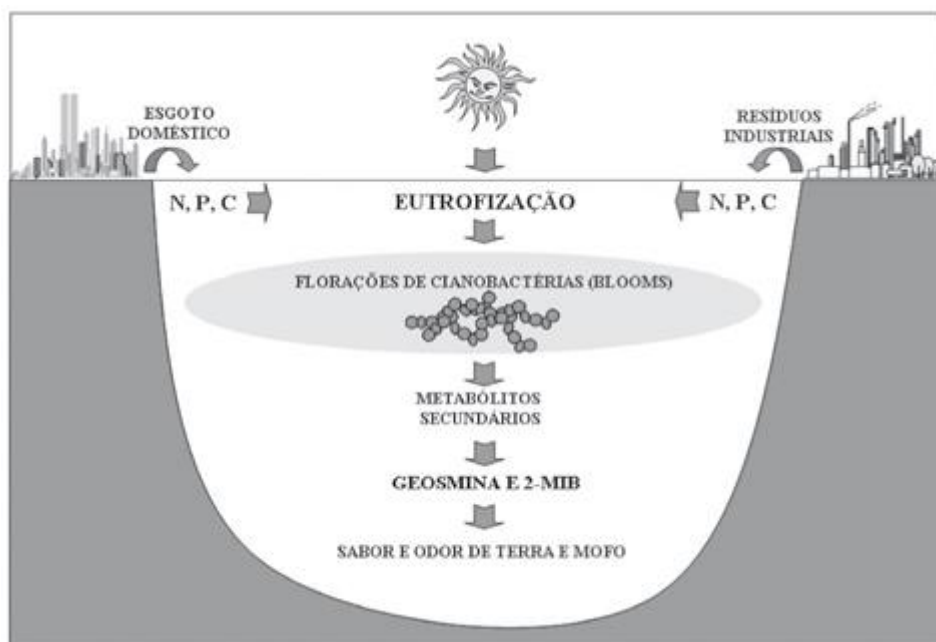


Figura 2- Representação esquemática do processo de eutrofização e do surgimento de geosmina e MIB

Fonte: Freitas; Sirtori e Peralta-Zamora (2008).

Atualmente, não existe registro de intoxicação em pessoas por geosmina ou MIB, uma vez que, a dose tóxica para humanos é muito mais elevada à dose letal em peixes (BURR et al., 2012; JOE et al., 2007). Portanto, de uma maneira geral, o aparecimento de *off flavor* na água sugere uma excessiva floração de cianobactérias, no entanto sua deficiência não significa que as microalgas não estejam presentes (GALVÃO; OETTERER, 2014; WU; STEPHEN, 2013).

Em ambientes eutrofizados esses metabólitos estarão presentes tanto na água como no peixe em concentrações muito baixas (na ordem de $\mu\text{g.L}^{-1}$) e a técnica de CG-EM vem sendo amplamente utilizada na literatura para identificação e quantificação dos compostos MIB e geosmina em água ou nos filés de pescados (AUFFRET et al., 2011; BURR et al., 2012; DENG et al., 2011; GRIMM; LLOYD; ZIMBA, 2004; ROBERTSON et al., 2005; ROBERTSON et al., 2006; ROBIN et al., 2006; RUAN et al., 2013; SCHRADER; DAVIDSON; SUMMERFELT, 2013; SUURNAKKI et al., 2015; ZAT; BENETTI, 2011; WU; STEPHEN, 2013; YARNPAKDEE et al., 2014).

A CG-EM tem aptidão de analisar os compostos com uma sensibilidade de 30 ppt para o MIB e 20 ppt para a geosmina e a rapidez no processamento das amostras, que pode ocorrer em 15 minutos (GRIMM; LLOYD; ZIMBA, 2004).

3.7 CROMATOGRAFIA GASOSA ACLOPADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

A CG-EM é aplicável a compostos voláteis e semivoláteis, termicamente estáveis nas temperaturas aplicadas durante o processo de injeção e separação cromatográfica (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Seu uso está amplamente difundido nos laboratórios de pesquisas de diversas áreas, como ambiental, farmacêutica, alimentícia, fragrâncias e petroquímica (PEDROSO, 2011).

Esta técnica do tipo hifenada (CG-EM), consiste no acoplamento de duas técnicas analíticas, de um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas, sistema de detecção este, altamente peculiar e universal (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006) (Figura 3).

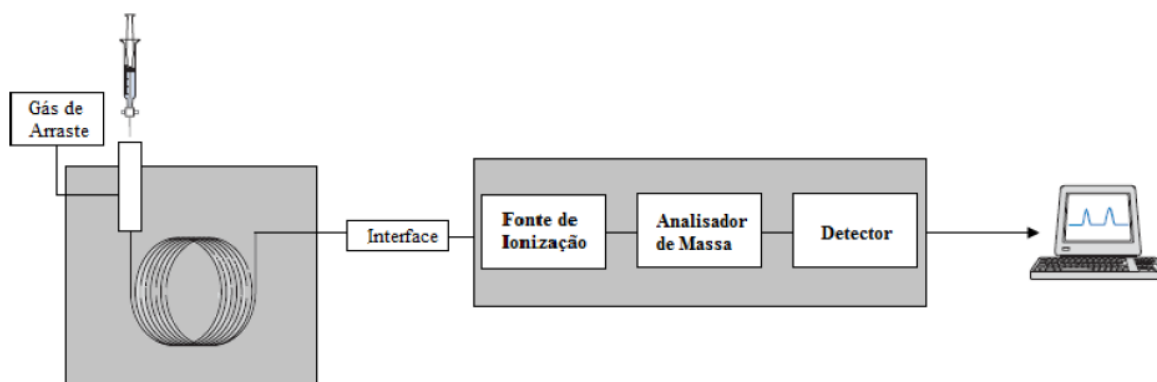


Figura 3- Instrumento típico de um CG-EM
Fonte: Ferreira, (2011).

A cromatografia gasosa é a técnica que utiliza menores concentrações de analitos. Desta forma, a espectrometria de massas que permite identificar quantidades de amostras muito reduzidas tornou-se um detector ideal para a técnica cromatográfica. No CG-EM a amostra é injetada no capilar do cromatógrafo a gás. Os seus componentes são separados na coluna e entram no espectrômetro de massas através da interface. Estes são ionizados e fragmentados na fonte de ionização e em seguida analisados e detectados. O analito é vaporizado e transportado para a fonte de ionização. Existem diversas fontes de ionização, tais como, ionização química, ionização por bombardeamento com átomos rápidos, ionização por impacto electrónico, entre outros (SKOOG; HOLLER; WEST, 2007).

Na técnica de ionização por impacto de elétrons, mais utilizada em espectrometria de massas, um feixe de elétrons de alta energia bombardeia moléculas na fase vapor e registra o resultado do impacto dos elétrons como um espectro de íons separados na base da razão massa/carga (m/z). A maioria dos íons formados tem carga unitária. O fato mais simples que pode ocorrer em fase gasosa é a remoção de um único elétron pelo feixe, com formação do íon molecular (M^+). Assim, forma-se um certo número de fragmentos iônicos que podem ser posteriormente decompostos em fragmentos menores (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

De uma maneira geral o CG-EM é composto de duas partes principais: o cromatógrafo a gás e o espectrômetro de massas. A espectrometria de massas pode ser utilizada como sistema de detecção enquanto os analitos são separados e eluídos de um cromatógrafo a gás. A separação ocorre em uma coluna capilar ou empacotada. A amostra é vaporizada e introduzida em uma corrente de gás inerte denominado de fase móvel. Este fluxo de gás com amostra vaporizada passa pela coluna (fase estacionária) onde ocorre a separação da mistura. As moléculas saem do cromatógrafo em tempos distintos (tempo de retenção) devido à programação de temperatura e interações do analito com a fase estacionária. O espectrômetro de massas permite que as substâncias presentes na amostra, depois de ionizadas e detectadas separadamente gerem um sinal para um sistema de registro e tratamento de dados. Estes dois componentes quando utilizados em conjunto permitem um grau de identificação de substâncias muito maior que se usados individualmente (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Existem duas maneiras de operar o espectrômetro de massas: cromatograma de íons totais (*total ion chromatogram* TIC), contendo todos os íons produzidos pelo espectrômetro de massas e monitoramento dos íons selecionados (*selected ion monitoring* SIM), constituído apenas pelos íons de interesse, ou seja, apenas os íons de razão m/z de interesse ou selecionados a partir de um banco de dados (AQUINO NETO; NUNES, 2003).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Amostra de pescado

Três espécies de peixe Carpa capim, *Catfish* e Pacu foram capturadas por piscicultores da Linha Fazenda da Barra- Estrada Municipal Pioneiro Sadi Padre Viganó, Pato Branco - PR (26°16'43"S) e (52°39'57"W) no mês de Novembro de 2014, com 24 meses de idade. O abate foi realizado por atordoamento percussivo. Todas espécies foram alimentadas com ração BioBase Linha Bioacqua, sendo que a carpa capim além da ração Biobase recebeu como alimentação o pasto capim elefante (*Pennisetum purpureum*). Para obtenção das medidas biométricas, após captura, os peixes foram medidos da extremidade da cabeça até a nadadeira caudal (comprimento total), pesados, eviscerados e filetados. Em caixa térmica, com gelo os filés foram transportados ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) para a realização das análises.

4.2 MÉTODOS

Na Figura 4, está esquematizado o fluxograma do estudo desde a aquisição das amostras até as análises realizadas.

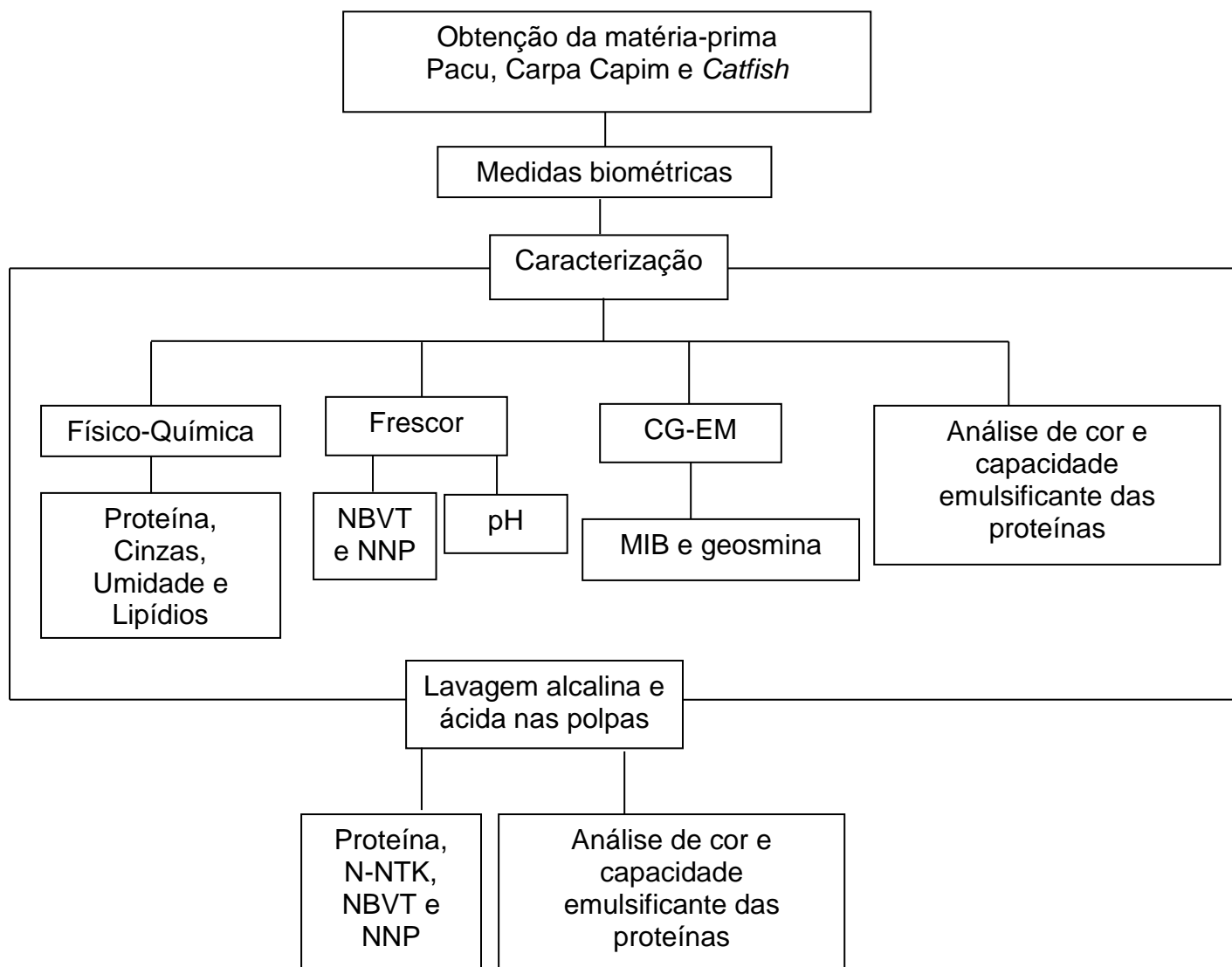


Figura 4- Fluxograma das atividades a partir da matéria-prima

4.2.1 Caracterização físico-química da matéria-prima

4.2.1.1 Composição centesimal da matéria-prima

Os filés obtidos das três espécies de pescado foram descongelados sob refrigeração 24 horas antes da realização das análises e caracterizados quanto à composição química de proteínas, umidade e cinzas seguindo a metodologia descrita pela Association Of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000). Para

determinação do teor de umidade, as amostras foram pesadas em cápsula e colocadas na estufa a 105°C, até peso constante, sendo então obtido por diferença de peso o valor da umidade. O teor de Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK) foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25 para conversão em proteína. O teor de cinzas correspondente à matéria mineral foi obtido através da calcinação em mufla, utilizando-se aproximadamente dois gramas da amostra submetidas à temperatura de 550°C até peso constante. Na determinação da fração lipídica foi utilizado o método de Bligh e Dyer (1959).

4.2.1.2 Avaliação do frescor do pescado

As alterações físico-químicas que ocorreram no filé das três espécies de pescado foram avaliadas mediante medida de NBVT, pH e nitrogênio não proteico (NNP) segundo metodologia indicada por Brasil (1981). O NNP foi obtido após precipitação das proteínas, utilizando TCA 20% sendo determinado por Kjeldahl. Para determinação do pH foi pesado 25g de polpa de pescado para 5 mL de água destilada utilizando um pHmetro de bancada (TEC-5).

4.2.1.3 Lavagem para extração de compostos nitrogenados

Os filés de cada espécie de pescado foram triturados em Liquidificador Industrial de Alta Rotação (Metvisa LAR.2) visando simular a obtenção de polpa de pescado. Para avaliação da extração de compostos nitrogenados foram analisados os teores iniciais (sem lavar) e após lavagens (alcalina e ácida) de proteína, nitrogênio total (N-NTK), NBVT e NNP. O N-NTK foi determinado pelo método de Kjeldahl.

As lavagens nas polpas para remoção de compostos nitrogenados foram realizadas de acordo com as metodologias sugeridas por Furlan, Silva e Queiroz (2009) e Simões et al. (2004). Duas diferentes lavagens A e B foram aplicadas na proporção 2 de água para 1 de filé:

A = Ciclo de solução de H_3PO_4 (0,05%) + Ciclo de Água + Ciclo de Água;

B = Ciclo de solução de $NaHCO_3$ (0,1%) + + Ciclo de Água + Ciclo de Água + Ciclo de solução de $NaCl$ (0,3%).

Nessa operação cada ciclo de extração teve duração de 2 min, regime de agitação constante e temperatura das soluções entre 5 e 7 °C. A separação da polpa de pescado com as soluções foram realizadas por meio de centrifugação.

4.2.1.4 Análise de cor na polpa dos pescados

A determinação de cor foi realizada na polpa das três espécies de pescado, antes e após o ciclo da lavagem (alcalina e ácida). Para as análises utilizou-se colorímetro Konica Minolta, modelo CR-400, previamente calibrado conforme as especificações do fabricante. Os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* e a diferença total de cor ΔE , foram utilizados para comparar o processo de lavagem aplicado nos exemplares em estudo.

Para o cálculo do ΔE a equação utilizada foi a seguinte:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)} \quad (1)$$

Onde:

ΔL = variação do L^* antes e após as lavagens;

Δa = variação do a^* antes e após as lavagens;

Δb = variação do b^* antes e após as lavagens;

O valor de C^* (croma) foi calculado de acordo com a equação 2 e o valor do h^* (ângulo de tonalidade) de acordo com a equação 3:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

$$h^* = \tan^{-1} \frac{(a^*)}{(b^*)} \quad (3)$$

4.2.1.5 Capacidade emulsificante das proteínas

Para a CE misturou-se 6 g de amostra com 30 mL de solução aquosa (10°C) de NaCl (1 mol.L⁻¹) durante 2 minutos sob agitação (570 rpm), ajustado para pH 7,0, seguido de descanso (1 minuto). Em seguida, o óleo (soja) foi incorporado à mistura com auxílio de bomba peristáltica, com fluxo (constante) de 10 mL.min⁻¹ sob agitação até atingir o ponto de inversão (quebra) da emulsão, determinada visualmente por mudança brusca na consistência da emulsão. A CE foi expressa em mL de óleo adicionado (até a quebra da emulsão) por g de proteína, conforme método de Kanterewicz et al. (1987). A análise foi realizada antes e após a operação da lavagem (alcalina e ácida), apenas para a espécie pacu.

4.2.2 Determinação de MIB e geosmina em pescado

4.2.2.1 Destilação á vácuo

Para a determinação dos compostos MIB e geosmina, foi utilizada metodologia descrita por Yarnpakdee et al. (2014) com algumas modificações.

Primeiramente foi realizada uma destilação a vácuo. Foram pesados 50g de polpa de pescado e misturados com 47,5 mL de água grau ultrapura (Milli-QDirect 8/16), 2,5 mL de metanol grau cromatográfico contendo 100 µg.L⁻¹ de acetato de isobornilo (padrão interno, PI). A mistura foi homogeneizada durante 15 min em um agitador mecânico. O balão foi então conectado ao aparelho de destilação com vácuo (Evaporador rotativo TE-210) e a passagem de água foi refrigerada utilizando um Thermomix BM. O frasco contendo a amostra foi aquecido em um banho de água aumentando a temperatura de 50 a 90 °C com uma taxa de aquecimento de 2 °C.min⁻¹. A destilação foi conduzida sob pressão de 0,073 Mpa, durante 45 minutos.

O destilado obtido (40 mL) foi então submetido ao processo *salting-out*, utilizando 9g de NaCl até a saturação do meio e posteriormente submetido a extração líquido-líquido.

4.2.2.2 Extração líquido-líquido

Do destilado (40 mL) extraiu-se 6 mL de hexano em uma ampola de decantação. O processo de extração foi repetido por três vezes. A fração hexânica foi transferida para um erlenmeyer de 25 mL contendo 3g de sulfato de sódio anidro (para absorção de água) e a mistura agitada. A mistura foi em seguida, filtrada utilizando um filtro de papel Whatman número 11 para remover o sulfato de sódio e o solvente evaporado. O concentrado foi rediluído em 200 μ L de hexano grau cromatográfico para a injeção em CG-EM.

4.2.2.3 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM)

A análise foi realizada em um cromatógrafo a gás (Varian 431-GC) acoplado a um espectrômetro de massas com analisador do tipo *ion-trap* (Varian 210-MS). Para a separação foi empregada uma coluna capilar *trace TR-wax ms* (30 m x 0,32 mm diâmetro, com espessura do filme de 0,25 μ m) . O espectro de massa foi executado no modo SIM. Os íons m/z 95, 135 e 168 foram monitorados para o MIB, enquanto que os íons m/z 112, 126 e 182 foram monitorados para geosmina e os íons m/z 93, 95, 121 e 136 foram utilizados para monitorizar o acetato de isobornilo.

O programa de temperatura do forno do cromatógrafo a gás foi: 50°C durante 3 min, seguido por um aumento de 3 °C.min⁻¹ a 70 °C, em seguida, um aumento de 10 °C.min⁻¹ a 200 °C, e, finalmente, um aumento de 15 °C.min⁻¹ até uma temperatura final de 250 °C e permanecendo nesta temperatura durante 10 min. O gás hélio foi utilizado como fase móvel, com um fluxo constante de 1,5 mL.min⁻¹. O injetor foi operado no modo de *splitless* em temperatura de 270 °C. A temperatura da

linha de transferência ficou mantida a 260 °C, as injeções realizadas manualmente por um único analista.

Para quantificação dos analitos de interesse a curva de calibração foi preparada utilizando uma solução mista de padrão MIB e geosmina (100 mg.L⁻¹ em metanol) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) e uma solução de acetato de isobornilo adquirido da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) com 95% de pureza. A curva padrão foi preparada nas concentrações de 100 a 3200 µg.L⁻¹. A curva de calibração foi calculada relacionando-se a área integral sob o pico e a concentração do composto. A identificação do PI, MIB e geosmina foi realizada com base no tempo de retenção e nos fragmentos gerados no espectro de massas (m/z) para cada composto selecionado.

4.2.2.4 Limite de detecção, limite de quantificação e recuperação

O limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram determinados pelo método sinal/ruído. Para determinar a relação sinal/ruído, o procedimento adotado foi aceitar como LD a concentração ou massa do analito que gera um sinal três vezes maior do que o ruído do sistema, ou seja, LD= 3N. Para o LQ, que corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão, foi aceito um coeficiente de variação de até 10% e uma exatidão de ± 10% (LANÇAS, 2004).

A recuperação é uma medida de eficiência do processo de isolamento da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (THOMPSON et al., 1999).

A recuperação foi efetuada da seguinte forma: Foi adicionada uma concentração conhecida do PI na matriz isenta do analito, efetuaram-se as operações necessárias à determinação do analito adicionado (destilação á vácuo, extração líquido-líquido e injeção no CG-EM) a porcentagem de recuperação foi calculada utilizando a seguinte equação (4):

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{valor obtido}}{\text{valor adicionado}} \times 100 \quad (4)$$

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados referentes à composição físico-química, medidas biométricas e avaliação do frescor do pescado foram analisados pelos métodos descritivos média, desvio padrão, análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey. Os resultados globais também foram demonstrados por *Box Plot* (NAES; BROCKHOFF; TOMIC, 2010) através dos valores da mediana. A fim de melhor compreender as diferenças entre as três espécies de pescado aplicou-se técnica estatística multivariada análise discriminante canônica (GONZÁLEZ; LISTE; FELPETO, 2011). Os dados foram tratados utilizando-se o programa Statistica 12.7.

Os resultados referentes à avaliação da extração de compostos nitrogenados, avaliação de pigmentos e CE das proteínas foram avaliados por ANOVA e teste de comparação de médias de Tukey, utilizando-se o software Statistica for Windows 12.7.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, FRESCOR E BIOMÉTRICA DAS TRÊS ESPÉCIES DE PESCADO

O pescado é um alimento que se destaca nutricionalmente por apresentar em sua composição química altas taxas de proteína e baixos teores de gordura saturada, sendo indicado para dietas balanceadas e saudáveis (BURGER et al., 2014; SIOEN et al., 2008; SUN, 2008).

A caracterização da matéria-prima não fornece apenas o conhecimento do valor nutricional do pescado, como também é de total importância em processos tecnológicos, como nas etapas do processamento, qualidade sensorial e estabilidade do produto final (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; JABEEN; CHAUDHRY, 2011; ORDÓÑES, 2005). Conhecer a composição química do pescado é fundamental para o aumento de sua aceitação como alimento alternativo e assim poder competir com outras fontes proteicas, como carnes bovina, suína e de aves (BRITTO et al., 2014).

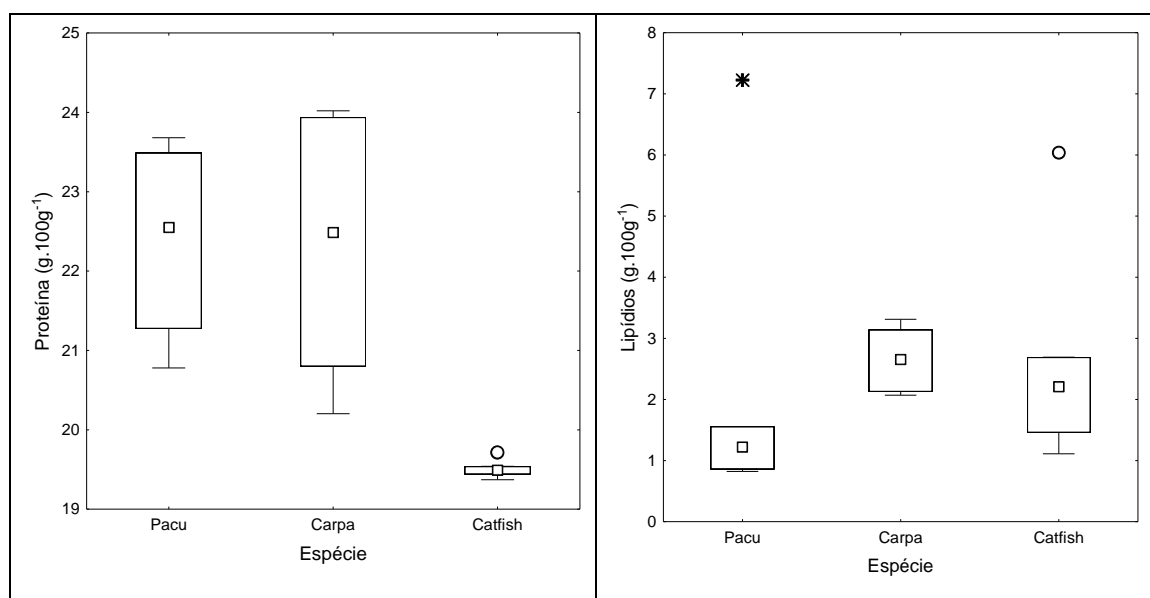
A Tabela 1 expressa os valores médios dos parâmetros de caracterização da matéria-prima quanto à composição físico-química e frescor. A Figura 5 apresenta esses mesmos parâmetros na forma de gráfico de caixas (*box plot*) com o objetivo de melhor visualização da variação dos resultados. O comprimento da caixa representa 50% dos valores centrais de y (variável resposta) e o ponto exibe a mediana. As linhas revelam a faixa não *outlier*/extremos. As medianas exercem vantagens sobre a média por serem mais robustas a *outliers* e são melhores ajustadas em situações com poucas observações, indicando dessa maneira a tendência central do conjunto de dados (LEM, et al., 2013; NAES; BROCKHOFF; TOMIC, 2010).

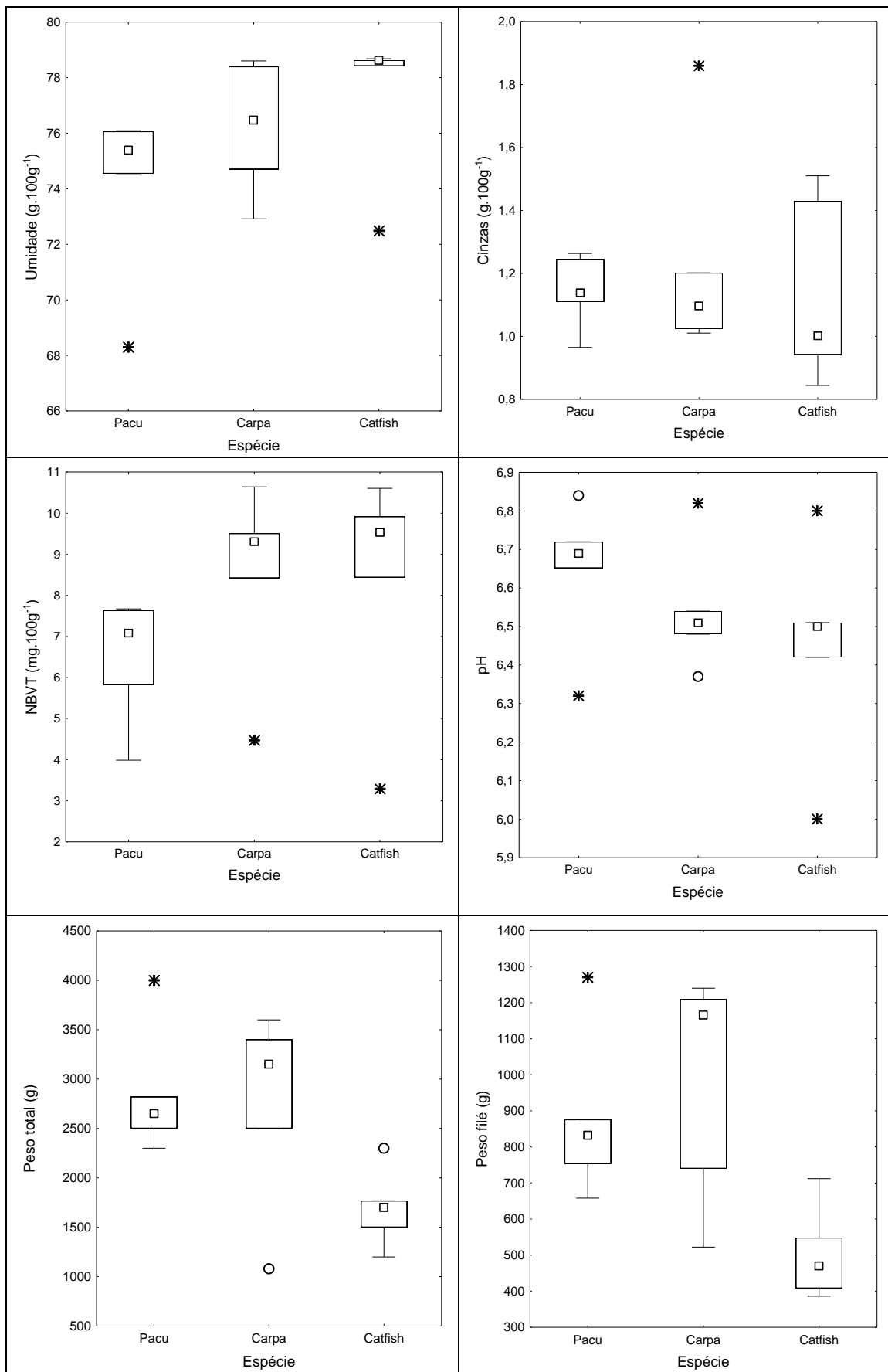
Tabela 1- Valores médios e desvio padrão da caracterização química e frescor no filé das três espécies de pescado.

Espécie	Proteína	Lipídios	Cinzas	Umidade	NBVT	pH
Pacu	22,38±1,24 ^a	2,15±2,51 ^a	1,14±0,11 ^a	74,30±3,00 ^a	6,55±1,46 ^a	6,65±0,17 ^a
Carpa capim	22,32±1,60 ^a	2,66±0,51 ^a	1,22±0,32 ^a	76,26±2,18 ^a	8,61±2,15 ^a	6,53±0,15 ^a
Catfish	19,50±0,11 ^b	2,61±1,77 ^a	1,12±0,27 ^a	77,58±2,50 ^a	8,55±2,68 ^a	6,45±0,25 ^a

Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). N=6

O músculo do pescado pode conter aproximadamente de 12 à 24% de proteína (BRITTO et al., 2014, GALVÃO; OETTERER, 2014, SARTORI; AMANCIO, 2012). Ao analisar-se os valores médios da composição proteica (Tabela 1) para as três espécies, observa-se números próximos ao limite superior marcado pelos autores, o que indica alto teor de proteína nos três exemplares. Resultados esses concordantes com os valores das medianas (*box plot*) encontradas para as três espécies, ou seja, a tendência central dos dados corresponde ao valor médios dos resultados apresentados para proteína.





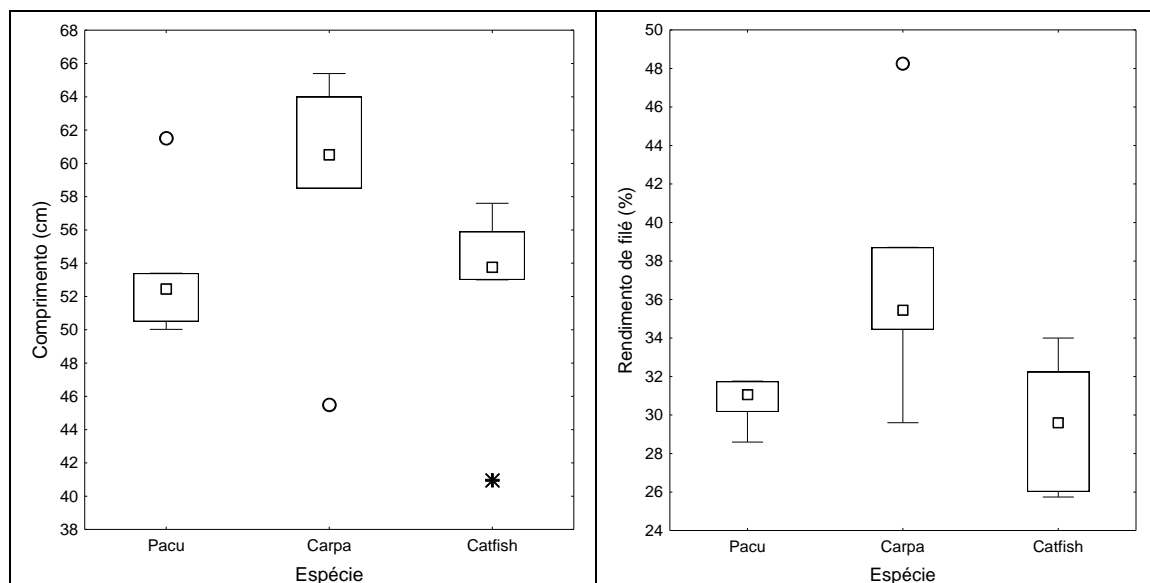


Figura 5- Box Plot da caracterização físico-química, frescor e biométrica para as três diferentes espécies. Mediana: □; 25%-75% das observações: □; faixa não outlier: I; outlier (valores extremamente altos e baixos): °; extremos: *

As variações de 0,56% à 7,16% no conteúdo proteico das três espécies, podem ser melhor visualizadas pela análise do *box plot*, a considerar a faixa não *outlier* com valores entre 20,20 e 24,02 g.100g⁻¹ para carpa capim e entre 20,78 e 23,68 g.100g⁻¹ para o pacu. Embora com presença de *outlier*, ou seja, valores fora do comportamento normal, os resultados apresentados na forma de *box plot* corroboram a densidade no teor de proteína para a espécie *catfish*, antes já verificada pelo baixo desvio padrão ($\pm 0,11$).

A variação da composição proteica em uma mesma espécie de pescado é comum, muitas vezes em função do tamanho/comprimento, do sexo e da época do ano (BRITTO et al., 2014; LIMA et al., 2012; ORDÓÑES, 2005). A análise do *box plot* referente ao comprimento total, embora revele densidade nos valores, indica a presença de valores atípicos (61,05 cm para pacu, 45,50 cm carpa capim e 40,95 cm para *catfish*). Valores esses que sugerem possível relação com os altos coeficientes de variação para o teor proteico nas espécies pacu e carpa capim.

Com valores médios e de medianas na faixa de 19,50 à 22,55 g.100g⁻¹ para o teor proteico, pode-se assumir, para esses pescados, alimentos com elevada qualidade nutricional, uma vez que se trata de proteína de origem animal (WHO, 2007), a qual é caracterizada por apresentar aminoácidos *starter* do processo digestivo. A digestibilidade em pescados é considerada a maior dentre as carnes de

origem animal (acima de 95%), devido à menor quantidade de tecido conjuntivo e ao tamanho das fibras musculares (LIMA et al., 2012; GALVÃO; OETTERER, 2014; SARTORI; AMANCIO, 2012; SOARES; GONÇALVES, 2012).

As análises de lipídios revelaram igualdade de médias ($p \geq 0,05$) entre as três espécies. Entretanto, os resultados quando analisados por *box plot* indicaram medianas diferentes, com valores de $1,20 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ para pacu, $2,66 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ para carpa capim e $2,20 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ para o *catfish*. Valores de medianas essas, que representam diferença no teor de lipídios em mais de 50%, por exemplo, entre o pacu e a carpa capim.

Sugere-se que essa assimetria entre média e mediana possa ser explicada pela presença de valores atípicos nas espécies pacu ($7,22 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$) e *catfish* ($6,04 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$); e visto que, valores atípicos também são contabilizados na média, esses acabaram por superestimar o teor lipídico para essas duas espécies de pescado.

Embora considerados valores atípicos, a presença de *outlier* e valor extremo na composição lipídica pode ser melhor compreendida pela análise do *box plot* correspondente ao teor de umidade desses exemplares, os quais também apresentaram valores extremos ($68,30 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ pacu e $72,49 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ *catfish*). A presença desses valores extremos no teor de umidade provavelmente também seja a responsável pela assimetria apresentada para a média e mediana para esse componente. Vale destacar que da mesma maneira que para os lipídios, a média não diferiu significativamente, e que no conteúdo de umidade, as medianas apresentaram-se distintas com valores de $75,38$, $76,47$ e $78,63 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ para pacu, carpa capim e *catfish*, respectivamente.

Variações no teor de umidade em tecidos cárneos são frequentemente verificadas em uma mesma espécie animal e essa relação muitas vezes é inversa à composição lipídica (ORDÓÑES et al., 2005; WHO, 2007).

Os pescados podem ser classificados como magro, semigordo ou gordo. Peixes que armazenam lipídios apenas no fígado são classificados como magros e os que armazenam lipídios nas células de gordura espalhadas em outros tecidos do corpo são categorizados como gordo (STANSBY, 1962). Vale destacar que os pescados analisados no presente trabalho quando desconsiderados os valores atípicos, podem ser considerados como espécies magras. Classificar o pescado pelo teor de gordura é importante, pois pode apresentar influência direta na aceitação pelo mercado consumidor, visto que a carne de pescado apresenta baixo teor de

gordura saturada e elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, sendo um alimento saudável do ponto de vista nutritivo (MACHADO; FORESTI, 2009; SOARES; GONÇALVES, 2012).

A determinação das cinzas em pescado fornece um indicativo da riqueza da amostra em elementos minerais, tais como, cálcio e fósforo (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; LIMA et al., 2012). Com médias de 1,14; 1,22 e 1,12 g.100g⁻¹ para pacu, carpa capim e *catfish*, respectivamente, esses não diferiram estatisticamente neste quesito. Registros na literatura verificam variações no conteúdo de cinzas de 0,90 à 3,39% em pescado (CAULA; OLIVEIRA; MAIA, 2008; CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; LIMA et al., 2012; SIMÕES et al., 2007). Variações no teor de cinzas de tecidos cárneos muitas vezes são devidas a presença de ossos ou espinhos, resultados da má filetagem ou de falhas na despulpagem (COSTA et al., 2014; GARCIA-TORCHELSEN, JACOB-LOPES; QUEIROZ, 2011). Embora a média para o conteúdo de cinzas tenha revelado homogeneidade entre as espécies, quando verificado pelo *box plot* observa-se assimetria entre os valores médios e as medianas. Verifica-se ainda baixa densidade para o teor de cinzas em *catfish*.

Os teores médios de lipídios e proteína nas três espécies de pescado analisadas permitem classificar estes exemplares na categoria A de Stansby (1962), peixes com baixo teor de gordura (menor 5%) e alto teor de proteína (15-24%). Pescados que se enquadram nessa categoria, do ponto de vista nutricional, são excelentes alimentos, uma vez que caracterizam-se pela elevada fonte de proteínas, contendo todos os aminoácidos essenciais ao ser humano. Embora caracterizados pelo baixo teor de gordura, essa destaca-se como importante fonte em ácidos graxos poli-insaturados que ajudam na circulação sanguínea, reduzindo risco de problemas cardíacos (JABEEN; CHAUDHRY, 2011; SOARES; GONÇALVES, 2012). Em contrapartida a elevada qualidade nutricional do pescado, esse alimento proteico muitas vezes é considerado um dos produtos de origem animal mais susceptível ao processo de deterioração, especialmente por conter teores de lipídios insaturados facilmente oxidáveis, elevada atividade de água nos tecidos, os inúmeros microrganismos presentes tanto na água, como a microbiota natural do pescado, localizada principalmente nos intestinos, guelras e limo superficial, e ao pH próximo da neutralidade, fatores esses que intensificam a proliferação microbiana (CICERO et al., 2014; SOARES; GONÇALVES, 2012).

A análise do frescor em pescado é um parâmetro de qualidade do alimento, sendo os métodos químicos utilizados com mais frequência nas determinações de NBVT e pH (BRIONES-LABARCA et al., 2012; CICERO et al., 2014; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, et al., 2012; FUENTES et al., 2011; GALVÃO; OETTERER, 2014; ÖZOGUL; POLAT; ÖZOGUL, 2004; RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001).

Os valores encontrados para NBVT e pH nas três espécies de pescados encontram-se dentro dos limites de tolerância exigidos pela legislação brasileira, que delimita máximo de 30 mg.100g⁻¹ para NBVT e pH de 6,8 (BRASIL, 1981). Os valores médios para NBVT e pH entre as espécies não apresentaram diferença significativas ($p \geq 0,05$). Segundo Huss (1995) concentrações de NBVT em pescado fresco encontram-se na faixa entre 5 à 20 mg.100g⁻¹. Neste estudo, os valores variaram de 3,29 à 10,64 mg.100g⁻¹ (Figura 5), o qual refletem a qualidade da matéria-prima utilizada.

Mais do que refletir o frescor da matéria-prima, esses baixos valores de NBVT e pH indicam a potencialidade tecnológica dessas espécies, uma vez que menores valores de NBVT e pH são indicativos de proteínas com propriedades funcionais preservadas além de oxidação lipídica desacelerada (SOARES; GONÇALVES, 2012).

Vale destacar que da mesma maneira que para os demais componentes, com exceção da proteína, verificou-se assimetria entre os resultados de média e da mediana para os valores de medida de qualidade de frescor. A mediana é uma medida robusta, pois não é afetada pelos valores extremos como a média aritmética. A média é influenciada por valores extremos da distribuição e só deve ser utilizada em distribuições simétricas ou levemente assimétricas (FEIJOO, 2010).

Avançando os resultados para caracterização biométrica, verifica-se novamente a importância da análise dos dados por *box plot*, uma vez que novamente a assimetria foi apurada entre médias e medianas, destacando-se a variável peso total.

A Tabela 2 apresenta os valores médios referentes à caracterização biométrica. No que diz respeito ao peso total das três espécies, verifica-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre *cattfish* (1694,66 g) e carpa capim (2813,66 g) e *cattfish* e pacu (2820,00 g). Os resultados por *box plot* revelaram comportamento diferente para variável peso total. Com medianas nos valores de 2650,00g para pacu e 3150,00g para a carpa capim, verifica-se uma diferença de até meio quilo entre as

duas espécies quando analisados pelos resultados da mediana, que pelos valores das médias diferenciam em apenas 7,00g. Diferença essa importante e significativa quando o assunto for processamento de derivados de pescado em patamar industrial (BURKERT et al., 2008; INTARAK et al., 2015).

Tabela 2- Caracterização biométrica das três espécies de pescado

Espécie	Peso total (g)	Comprimento total (cm)	Peso de filé (g)	Rendimento de filé (%)
Pacu	2820,00±611,22 ^a	53,38±4,21 ^a	870,33±211,75 ^a	30,73±1,21 ^{ab}
Carpa capim	2813,66±926,32 ^a	59,06±7,14 ^a	1007,00±301,45 ^a	36,98±6,25 ^a
<i>Catfish</i>	1694,66±361,78 ^b	52,49±5,92 ^a	499,00±118,91 ^b	29,53±3,39 ^b

Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). N=6

As variáveis comprimento total, peso de filé e rendimento de filé apresentaram simetria entre médias e medianas. Para o comprimento total, embora sem diferença significativa entre os pescados, verifica-se a presença de valores atípicos.

A espécie *catfish* não só apresentou o menor peso de filé (499,00 g) como também o menor rendimento de filé (29,53%) juntamente com o pacu (30,73%). Outros trabalhos da literatura revelam valores de rendimento de filé de 25,24 à 36,60% para diferentes espécies de pescados (LIMA et al., 2012; SOUZA, 2005). Rendimento de filé depende, além da eficiência das máquinas filetadoras e da habilidade manual do operário, da forma anatômica do corpo, do tamanho da cabeça e do peso das vísceras, nadadeiras e pele (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; INTARAK et al., 2015; LIMA et al., 2012; MACHADO; FORESTI, 2009; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2004).

Dentre as variáveis biométricas em estudo, possivelmente o rendimento de filé vem sendo a mais estudada (BRITTO et al., 2014; BOSWORTH; HOLLAND; BRAZIL, 2001; LIMA et al., 2012; NGUYEN et al., 2010; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2004; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2005; SOUZA; MARANHÃO, 2001) uma vez que essa medida e as demais medidas biométricas apresenta baixa correlação (COSTA et al., 2014; NAVARRO et al., 2009; NGUYEN et al., 2010; PIRES et al., 2011; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2004; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2005). O rendimento de filé tem comportamento relevante quando se trata

de produção e indústria de pescado, isso porque, diferente de outros animais de abate, o músculo esquelético dos peixes (filés) correspondem à maior porção comestível (INTARAK et al., 2015).

Rendimento de filé é a razão entre o peso de filé e o peso do peixe inteiro, sendo um parâmetro da proporção da parte comestível (INTARAK et al., 2015). A filetagem implica na remoção das nadadeiras, ossos, da pele e vísceras (BASSO; FERREIRA, 2011; BRITTO et al., 2014; INTARAK et al., 2015). A fim de melhor compreender a relação entre peso total, peso de filé, comprimento total e rendimento de filé submetem-se essas variáveis à regressão linear. Na Tabela 3 encontram-se os valores do coeficiente de correlação de Pearson.

Tabela 3- Coeficiente de correlação de Pearson entre peso total, comprimento total, peso de filé e rendimento de filé de pacu, carpa capim e *catfish*

Parâmetros biométricos	Pacu	Carpa capim	<i>Catfish</i>
Peso total (g) X Comprimento total (cm)	0,989	0,939	0,476
Peso total (g) X Peso de filé (g)	0,994	0,952	0,898
Peso de filé (g) X Comprimento total (cm)	0,983	0,851	0,686
Peso total (g) X Rendimento de filé (%)	0,584	-0,696	-0,140
Peso de filé (g) X Rendimento de filé (%)	0,666	-0,450	0,307
Comprimento total (cm) X Rendimento de filé (%)	0,566	-0,768	0,570

Apoiado por outros estudos (BRITTO et al., 2014; KAUSE et al., 2007; NAVARRO et al., 2009; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2004), para o presente trabalho, todas as medidas biométricas relacionadas ao rendimento de filé apresentaram fraco coeficiente de correlação, independente da espécie.

Para Britto et al. (2014), estudando a espécie de pescado *viola* (*Loricariichthys anus*), os resultados revelaram que os animais de maior peso apresentaram menor rendimento de filé e que isso possivelmente esteja relacionado ao período reprodutivo, o que reduz o rendimento de filé devido ao aumento das gônadas. Macedo-Viega et al. (2000), Rasmussen e Ostfeld (2000), Souza e Maranhão et al. (2001) mostraram que o rendimento de filé pode estar relacionado com o tamanho e espécie do pescado. Dentre as espécies em estudo, vale destacar que para a carpa capim essas correlações não só foram baixas como também foram negativas.

Basso e Ferreira (2011) obtiveram resultados semelhantes para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Os autores observaram que indivíduos maiores apresentaram rendimentos de cabeça e tronco limpo significativamente menor em comparação aos de menor peso.

Thodesen et al. (2012) relatam que rendimentos de filés podem ser influenciados de forma negativa pela idade. Os autores verificaram que os rendimentos preditos em diferentes idades (6 e 9 meses) sugerem que peixes mais jovens apresentem maior rendimento do que peixes mais velhos. Kause et al. (2007) menciona que o efeito negativo da idade no rendimento de filé pode ser correspondente ao aumento percentual de vísceras ou outras mudanças fisiológicas causadas por atividades de maturação e reprodução sexual.

Algumas razões à baixa correlação do rendimento de filé com medidas corporais foram relatadas por outros autores como a eficiência do filetagem ou da máquina fileteadora, a forma anatômica do corpo, tamanho da cabeça, peso dos resíduos (vísceras, pele e nadadeiras) e diferentes condições ambientais durante a incubação ou estágio larval (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994; LIMA et al. 2012; NGUYEN et al., 2010; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2004; RUTTEN; BOVENHUIS; KOMEN, 2005) e idade do animal (THODESEN et al., 2012).

Pires et al. (2011) e Rutten; Bovenhuis e Komen (2005) relataram que equações de predição para rendimento de filé com base em medidas do corpo não são suficientemente precisas. Os autores ainda relatam que o peso do filé pode ser previsto com precisão a partir das medidas do corpo do pescado. E da mesma maneira para esses autores, ao se avaliar os resultados correspondentes aos coeficientes de correlação entre comprimento total, peso total e peso de filé verifica-se correlação alta e positiva. E que possivelmente a melhor equação de predição seja a que relaciona peso total e peso de filé, uma vez que para as três espécies foi a que apresentou o maior coeficiente de correlação de Pearson.

5.1.1 Variáveis discriminantes para diferenciação entre as espécies

Com o objetivo de melhor compreender as diferenças físico-químicas, frescor e biométricas entre as três espécies de pescado aplicou-se a análise

discriminante canônica. Funções canônicas discriminantes são combinações lineares das variáveis originais com a finalidade de definir aquelas que fazem máxima separação entre grupos, o que equivale a minimizar a variabilidade dentro das classes. As funções obtidas permitem discriminar da melhor forma possível os elementos pertencentes às distintas classes dos grupos (GONZÁLEZ; LISTE; FELPETO, 2011; HAIR et al., 2009).

Consideradas indispensáveis para classificação de produtos alimentícios que desejam ser inseridos no mercado (ARVANITOYANIS; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, 2003; MITTERER-DALTOÉ et al., 2012), as técnicas multivariadas análise discriminante e canônica discriminante vem sendo aplicadas à dados biológicos multivariados, indicando os parâmetros que de fato são importantes na separação de grupos de interesse (ARVANITOYANIS; TSITSIKA; PANAGIOTAKI, 2005).

A Tabela 4 apresenta os coeficientes de cada variável nas funções canônicas discriminantes. Estes valores mostram a distinta influência que tem cada variável no processo de classificação.

Tabela 4- Funções obtidas pela análise canônica

Fator	Autovalor	R² Canônico	Lambda Wilks'	X²	p
1	28,50978	0,982910	0,005530	54,57533	0,000048
2	5,12837	0,914781	0,163176	19,03575	0,024891
Autovalores					
Variável	Função 1		Função 2		
Proteína	-1,1449		-0,62658		
Lipídios	3,8297		-0,71849		
Cinzas	1,2545		-1,39786		
Umidade	3,1256		0,07527		
NBVT	-0,2457		-0,85278		
pH	0,5594		-0,87393		
Peso total (g)	-19,7142		-1,23467		
Comprimento total (cm)	2,0534		-1,97026		
Rendimento de filé (%)	-5,2098		-1,27795		
Peso de filé (g)	17,7599		1,79753		

X²: quiquadrado; P: significância

Com 98% da variação total explicada pela função 1, as variáveis melhores discriminantes entre as espécies de pescado foram as biométricas, representadas

por peso total, seguido do peso de filé e rendimento de filé. Verifica-se que dentre as variáveis físico-químicas, lipídios foi a que apresentou melhor poder discriminante, seguido da umidade. NBVT e pH, foram as que apresentaram o menor efeito discriminante.

Na tentativa de explicar o poder discriminante das variáveis biométricas, buscou-se relação com os dados descritivos anteriormente discutidos e verificou-se que as variáveis que mais apresentaram simetria entre média e mediana foram as biométricas. Essa relação simétrica indica distribuição normal das amostras, uma das recomendações para aplicação da análise discriminante (GONZÁLEZ; LISTE; FELPETO, 2011). Tão importante quanto a simetria entre essas duas medidas de posição, é a presença de médias com diferenças significativas entre os pescados, verificadas pelas variáveis biométricas, o que indica variação entre espécies e, portanto, favorecimento na discriminação.

A importância de medidas biométricas na classificação de espécies pode ser verificada no trabalho de Golubtsov e Berendzen (1999), onde os autores classificaram 28 espécies de pescados por meio de 27 medidas morfológicas.

A Tabela 5 apresenta a classificação, nas filas a classe original e nas colunas a classe de predição utilizando a função discriminante. Pode-se observar que todas as amostras foram identificadas corretamente, com 100% de acerto, portanto a análise discriminante permite predizer, em função dos valores das variáveis independentes a espécie de pescado, pacu, carpa capim ou *catfish*.

Tabela 5- Tabela de classificação para validação dos modelos

Espécies	Porcentagem correta	Pacu	Carpa capim	Catfish
Pacu	100,0	6,0	0,0	0,0
Carpa capim	100,0	0,0	6,0	0,0
<i>Catfish</i>	100,0	0,0	0,0	6,0
Total	100,0	6,0	6,0	6,0

Segundo González, Liste e Felpeto (2011) problemas de sobre-ajuste podem ocorrer quando o número de variáveis é grande em relação à amostra. Muitas vezes, as funções discriminantes permitem classificar com elevado grau de acerto, no entanto ao se aplicar essas mesmas funções na classificação de elementos novos, não utilizados para a construção das funções discriminantes, o grau de acerto

diminui. Com o objetivo de validar a função anteriormente apresentada para uma população e não apenas para as amostras em estudo aplicou-se uma validação cruzada com duas amostras de cada uma dessas espécies não utilizadas para construção das funções (Tabela 6). Pode-se observar que todas as amostras foram identificadas corretamente, com 100% de acerto.

Tabela 6- Tabela de classificação para validação dos modelos com amostras externas

Espécies	Porcentagem correta	Pacu	Carpa capim	Catfish
Pacu	100,0	2,0	0,0	0,0
Carpa capim	100,0	0,0	2,0	0,0
Catfish	100,0	0,0	0,0	2,0
Total	100,0	2,0	2,0	2,0

Esse comportamento não só indica a validação dos modelos canônicos, como também a regularidade das características químicas e biométricas de cada espécie na região, uma vez que as amostras inseridas para validação foram obtidas 12 meses após as amostras utilizadas para obtenção dos modelos.

5.2 AVALIAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS NITROGENADOS

O pescado representa importante fonte nutricional, conquanto é um alimento altamente perecível (FERNÁNDEZ-SEGOVIA et al., 2012), devido sua elevada quantidade de água presente no músculo, pH próximo a neutralidade e teores de gorduras insaturadas que auxiliam na aceleração lipídica tornando a carne imprópria para o consumo (CICERO et al., 2014; OGAWA; MAIA, 1999; LIMA et al 2012).

Uma forma descrita na literatura para minimizar os efeitos do processo oxidativo/deterioração em carne de pescado é a realização de lavagem na polpa, com objetivo de extrair proteínas sarcoplasmáticas, lipídios de baixo peso molecular, pigmentos e odores indesejáveis e por consequência, aumentar a vida útil e a aceitabilidade pelos consumidores (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; GARCIA-TORCHELSEN; JACOB-LOPES; QUEIROZ, 2011; RAWDKUEN et al., 2009).

O processo de lavagem quando efetuado na polpa do pescado possibilita a remoção de compostos nitrogenados, os quais são responsáveis pelo odor de

pescado e aceleração da desnaturação proteica (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; SIMÕES et al., 2004). A etapa de lavagem é determinante para elaboração de produtos à base de pescado (BALANGE; BENJAKUL, 2009), pois além de extrair os compostos nitrogenados, substâncias de baixo peso moleculares (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; SIMÕES et al., 2004), também melhora a coloração da carne (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; RAWDKUEN et al., 2009).

Um método normalmente aplicado para avaliar a qualidade do pescado e a eficiência das lavagens é a determinação de NBVT (BRIONES-LABARCA et al., 2012; CICERO et al., 2014; FERNÁNDEZ-SEGOVIA et al., 2012; FUENTES et al., 2011; FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; GALVÃO; OETTERER, 2014; ÖZOGUL; POLAT; ÖZOGUL, 2004; RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2001).

Outro parâmetro importante para se determinar o frescor na carne de pescado é a análise de NNP. No entanto, essa análise não é padronizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). O NNP deriva dos componentes nitrogenados não proteicos, como, amônia, trimetilamina, uréia, taurina e aminoácidos livres. Essa fração pode representar de 0,5 a 10% da parte comestível do pescado (CONTRERAS-GUZMÁN, 1994).

Processos de lavagens ácidas e alcalinas foram realizados nas polpas dos pescados, a fim de remover os compostos nitrogenados. A Figura 6 apresenta os resultados obtidos para avaliação da remoção antes e após as lavagens.

Analisando-se os dados da Figura 6, verifica-se que os valores de proteína, N-NTK, NBVT e NNP encontrados após o processo de lavagens foram reduzidos ($p \leq 0,05$), independente da lavagem aplicada e que a eficiência de remoção foi igual para as duas soluções de lavagem em todos os parâmetros.

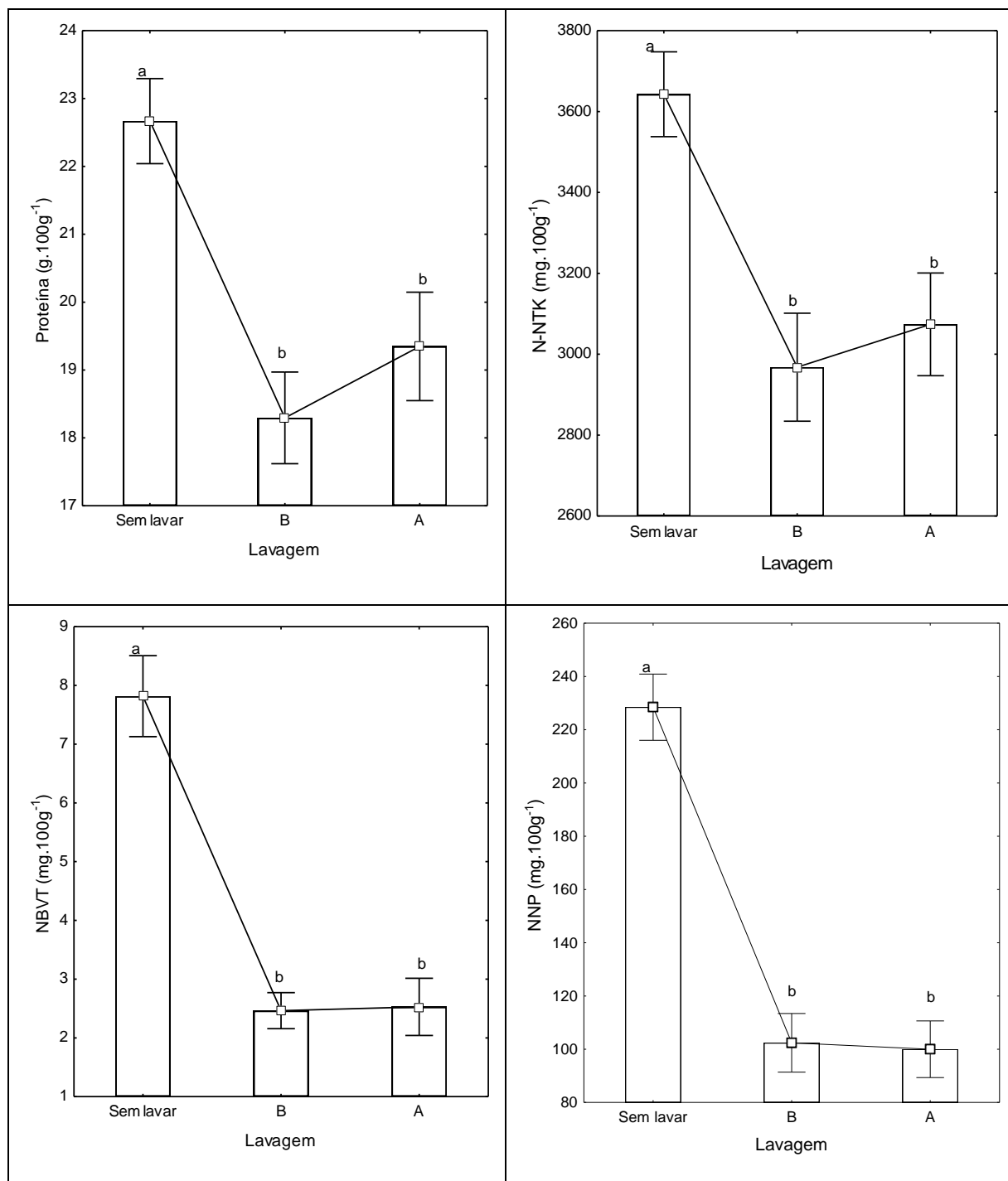


Figura 6- Gráfico de média das triplicatas com erro referente à remoção de nitrogenados nas polpas de pescado para as diferentes lavagens. A= H_3PO_4 (0,05%) + Água + Água; B= $NaHCO_3$ (0,1%) + Água + Água + $NaCl$ (0,3%). Letras iguais não apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). Média □. N=12

As proteínas sarcoplasmáticas representam de 20 a 30% do total de proteínas, são responsáveis pela coloração e pela aceleração da degradação do pescado, sendo solúveis em água e baixas concentrações salinas. São representadas principalmente por enzimas glicolíticas, mioglobina e enzimas

envolvidas no metabolismo (ORDÓÑEZ et al., 2005). Os valores dos teores de proteína foram reduzidos em até 19,27% quando realizada a lavagem alcalina e 14,64% quando realizada a lavagem ácida nas polpas dos pescados. As lavagens aplicadas ocasionaram a redução no conteúdo total de proteínas pela eliminação de proteínas solúveis sarcoplasmáticas (LEMPEK; MARTINS; PRENTICE, 2007). Soluções ácidas/alcalinas têm demonstrado potencial significativo como mecanismos de extração de proteínas musculares solúveis a altos e baixos pH (RAWDKUEN et al., 2009).

Uma redução em média de 19,27% sugere conteúdo de proteínas sarcoplasmáticas próximo ao limite inferior indicado por Ordóñez et al. (2005) para essas espécies. Resultado esse positivo tanto do ponto de vista nutricional quanto tecnológico, uma vez que as proteínas sarcoplasmáticas não conferem valor nutricional e nem possuem propriedades funcionais importantes, quando comparadas às proteínas miofibrilares (actina e miosina).

O processo de lavagem, além de clarear a polpa também elimina componentes naturais do músculo que podem antecipar a deterioração durante o armazenamento a baixa temperatura, tais como, proteínas sarcoplasmáticas, sangue, gordura e compostos nitrogenados (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; RAWDKUEN et al., 2009). Apesar de não ter sido observado diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre as lavagens no conteúdo proteico, a lavagem ácida sugeriu maior média/rendimento quanto ao N-NTK e proteína. Este comportamento também foi observado por Garcia-Torchelsen, Jacob-Lopes e Queiroz (2011), os autores indicaram que a lavagem com ácido fosfórico colabora com o efeito osmótico de desidratação da polpa, pois, reduz a dispersão do produto no líquido de lavagem e perda de polpa, assegurando maior rendimento proteico.

Os resultados indicam matérias-primas com valores de NBVT próximos à $7,82 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, estando abaixo do limite máximo exigido pela legislação vigente ($30 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e valores de NNP próximos à $228,47 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$. Segundo Contreras-Guzmán (1994), peixes de água doce geralmente apresentam valores iniciais de NNP em torno de $300\text{-}350 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, valores abaixo deste limite foram encontrados neste trabalho.

Observa-se eficiência de remoção para NBVT de até 68,54% para lavagem alcalina e 67,65% para lavagem ácida ($p \geq 0,05$). Os valores de eficiência de remoção de nitrogenados para NNP foram de até 55,18% para lavagem alcalina e

56,23% para lavagem ácida ($p \geq 0,05$). Os teores de compostos nitrogenados após as lavagens foram reduzidos, isso pode ser atribuído à lixiviação desses compostos que ocorrem durante este processo (KIRSCHNIK; MACEDO-VIEGAS, 2009).

Kirschnik e Macedo-Viegas (2009) avaliaram o efeito da lavagem sobre a carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia do Nilo, no processo de lavagem foi utilizado apenas com água gelada (dois ciclos de lavagem). Os autores obtiveram valores de NBVT e NNP da CMS sem lavagem em torno de $8,63 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e $295,2 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, respectivamente e para CMS lavada, obtiveram valores de NBVT em torno de $0,26 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e NNP em torno de $53,00 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$.

Desta forma, a lavagem é processo importante para elaboração de produtos à base de pescado (BALANGE; BENJAKUL, 2009), visando efeitos positivos para a viabilidade tecnológica, devido à lixiviação de quantidade relevante de proteínas sarcoplasmáticas e gordura (KIRSCHNIK; MACEDO-VIEGAS, 2009; ORDÓÑEZ; 2005; RAMÍREZ et al., 2011), resultando numa coloração mais clara (FURLAN; SILVA; QUEIROZ, 2009; RAWDKUEN et al., 2009).

5.2.1 Avaliação da extração de pigmentos na polpa dos pescados

A cor instrumental pode ser aplicada como parâmetro para determinar padrão de qualidade de produto *in natura* ou processado, ou atuar como fator de qualidade determinante da vida útil de um produto, sendo importante principalmente durante seu processamento e estocagem (GIMENO et al., 2000; RIBEIRO et al., 2007; RIBEIRO; SERAVALLI, 2004).

Para pescado, a coloração da carne é um dos aspectos mais importantes para a aceitabilidade do consumidor, pois estes associam a descoloração como indicativo da frescura e salubridade (FAUSTMAN et al., 2010; MANCINI; HUNT, 2005; TAPPIII; YANCEY; APPLE 2011). Ainda, Mitterer-Daltoé et al. (2013) verificaram a percepção positiva em produto de pescado por parte dos consumidores, quando a carne apresenta-se mais clara.

A medida da cor pode ser realizada através de espectrofotômetro, colorímetros triestímulos e colorímetros visuais (MANCINI; HUNT, 2005). O colorímetro triestímulo é um instrumento que proporciona medidas correlatas à

percepção do olho humano através do espectro de reflectância da amostra, pode-se obter os parâmetros colorimétricos (L, a, b). Em 1976, a *Commission Internationale de L'Eclairage* (CIE) propôs a escala de cor CIE L*a* b*.

O valor máximo de L* (100) indica a luminosidade, enquanto o menor valor é o zero e representa o preto. Os valores de a* e b* representam as coordenadas cromáticas. A coordenada a* varia do (+a*) vermelho ao (-a*) verde, enquanto que a coordenada b*, varia do (+b*) amarelo ao (-b*) azul. O centro é acromático. Medidas instrumentais de cor L* e a* são simples e podem ser facilmente aplicado no músculo. Todavia, as cores representadas por b* não são típicos ou intuitivamente relacionada com a carne (O'SULLIVAN et al., 2003). Os valores delta (ΔL^* , Δa^* e Δb^*) apontam o quanto a amostra difere do padrão para L* a* e b*, sendo bastante utilizada no controle de qualidade e para o cálculo da diferença total de cor (ΔE) (HUNTERLAB, 1996; KONICA MINOLTA, 1998; SILVA; PETTER; SCHNEIDER, 2007).

O sistema CIE-L*a*b* tem sido frequentemente empregado para avaliar a cor no músculo de pescado, como nos trabalhos de: Briones-Labarca et al. (2012), Chaijan et al. (2004), Nates et al. (2014), Rawdkuen et al. (2009), Souza et al. (2005), Yarnpakdee et al. (2014) e Yu et al. (2014).

Com o objetivo de clarear as polpas das três espécies de pescado realizou-se lavagens com solução de bicarbonato de sódio e ácido fosfórico. A Tabela 7 apresenta os valores médios para os parâmetros de cor antes e após as lavagens.

Os valores para o parâmetro L* (luminosidade), antes do processo de lavagem, apontaram a polpa da espécie pacu como a mais escura dentre as espécies, embora sem diferença significativa com relação à carpa capim. No entanto, com o emprego das lavagens verificou-se aumento da luminosidade ($p \leq 0,05$) para espécie pacu e, portanto, clareamento da polpa, possivelmente pela remoção de pigmentos, uma vez que houve diminuição significativa do parâmetro a*. A polpa obtida por lavagem básica apresentou o maior valor de L* para as três espécies de pescado.

Lavagens com soluções alcalinas vêm sendo relatadas como eficazes para redução da cor escura em pescado (FURLAN, SILVA; QUEIROZ, 2009; RAWDKUEN et al., 2009). De acordo com Ordóñez et al. (2005) quando se utiliza na primeira lavagem do ciclo na polpa de pescado um reagente alcalino, este é utilizado

para neutralizar o pH do músculo, distanciar as proteínas solúveis de seu ponto isoelétrico e portanto, aumentar sua solubilidade.

A presença do NaCl nos ciclos de lavagens do processo alcalino apresenta dupla função: remoção da cor e remoção da água final. Segundo Chaijan et al. (2004) o NaCl pode enfraquecer as ligações entre a mioglobina e o músculo, assim levando a liberação desta, como Na^+ e Cl^- estão ligados a resíduos de aminoácidos ácidos e básicos, ligações intermoleculares iônicas entre as moléculas de proteína são quebrados. Para Ordóñez et al. (2005) no último ciclo tem sido indicada a utilização de solução salina com objetivo de facilitar a remoção final de água e, assim, obter umidade similar ao músculo de pescado.

Tabela 7- Valores obtidos da análise de cor para as três espécies de pescado, antes e após as lavagens

Espécies	Sem lavar			A			B		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Pacu	46,55±4,75 ^{bB}	6,13±2,32 ^{aA}	12,49±3,31 ^{aA}	54,00±5,67 ^{aAB}	0,16±0,84 ^{bB}	7,75±1,76 ^{bB}	57,57±5,18 ^{aA}	-0,19±0,62 ^{bB}	7,28±2,27 ^{bB}
Carpa capim	49,64±4,34 ^{bA}	5,68±1,83 ^{aA}	12,87±2,08 ^{aA}	53,67±8,05 ^{aA}	2,97±1,74 ^{aA}	12,52±2,34 ^{aA}	53,54±5,73 ^{aA}	3,87±2,33 ^{aA}	12,81±1,19 ^{aA}
<i>Catfish</i>	62,63±0,25 ^{aA}	-0,21±1,18 ^{bA}	9,67±0,85 ^{aA}	60,13±0,61 ^{aA}	-0,55±0,89 ^{bA}	8,83±0,86 ^{abA}	63,50±4,89 ^{aA}	-0,22±1,03 ^{bA}	10,17±0,35 ^{abA}

Valores das médias das triplicatas ± desvio padrão. Médias seguidas de letras minúsculas iguais na vertical não apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). Médias seguidas de letras maiúsculas iguais na horizontal não apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). A= H₃PO₄ (0,05%) + Água + Água; B= NaHCO₃ (0,1%) + Água + Água + NaCl (0,3%). L*= luminosidade; a*= intensidade ao vermelho; b*= intensidade ao amarelo. *Catfish* n=3, Pacu n=5 e Carpa capim n=5.

No que diz respeito ao parâmetro a*, correspondente às coordenadas que variam desde (+a*) vermelho ao (-a*) verde, verifica-se que a espécie *catfish* foi a que apresentou o menor valor ($p \leq 0,05$) e o maior valor de L* ($p \leq 0,05$), entre as espécies, antes do processo de lavagem. Resultados esses que indicam a carne da espécie *catfish* como a mais clara. Apresentar menores valores do parâmetro a* sugere menores quantidades de mioglobina na carne, proteína essa, responsável pela pigmentação dos filés (CHAIJAN et al., 2004; ORDÓÑEZ et al., 2005).

Após os processos de lavagens, redução do parâmetro a* foi verificado apenas para a espécie pacu ($p \leq 0,05$), comportamento semelhante ao ocorrido para o parâmetro L*. Dentre os tipos de lavagens aplicadas, não foi verificado diferença significativa.

O fato das espécies carpa capim e *catfish* não apresentarem diferenças significativas nos parâmetros a* após as lavagens não é o resultado esperado, entretanto, efeito semelhante foi registrado no trabalho de Chaijan et al. (2004), onde os autores verificaram que os índices vermelhos foram superiores para a carne da sardinha após as lavagens.

Para estes pesquisadores, a possível causa do ocorrido, possivelmente provocada durante o processo de trituração ou pela presença de ácidos graxos livres, uma vez, que os valores registrados para o conteúdo de mioglobina eram superiores antes das lavagens.

Outros trabalhos ainda relatam que certas proteínas sarcoplasmáticas, embora solúveis em solvente, não podem ser removidas a partir de tecido muscular. Estas proteínas podem ligar-se a estruturas subcelulares musculares ou podem estar localizadas em compartimentos celulares, os quais não podem ser atingidos pelo solvente, por exemplo a matriz mitocondrial (CHAIJAN et al., 2004). Chaijan et al., (2006) destaca que a extração da mioglobina depende da espécie, tipo de músculo, tempo de armazenamento e do processo de lavagem realizado.

Chaijan et al. (2006) realizou estudo com lavagem convencional (água) e alcalina no gel de surimi da sardinha e Rawdkuen et al. (2009) realizou estudo no músculo triturado da tilápia empregando lavagem convencional, ácida e alcalina, para remoção de pigmentos (mioglobina e hemoglobina), em ambos os trabalhos foi relatado que a lavagem alcalina tem melhor poder de extração de pigmentos (coloração clara).

Com o mesmo comportamento que os demais parâmetros, para a coordenada b^* a espécie pacu foi à única que apresentou diferenças significativas antes e após as lavagens.

Embora, as análises dos parâmetros L^* , a^* , b^* de forma individual apontem resultados, o valor da diferença total de cor (ΔE), oportuniza melhor análise dos efeitos de remoção de cor antes e após as lavagens. O valor de ΔE permite aferir diferenças globais e indicar se podem ser detectadas pelo ser humano. De acordo com Stokes; Fairchild e Berns (1992), valores de $\Delta E > 2,15$ indicam diferença de cor percebida pelo olho nu. Para o presente trabalho os valores de ΔE foram calculados a partir da variação de cada coordenada L^* , a^* e b^* antes e após o processo de lavagem alcalina e ácida (Tabela 8). Os resultados revelaram que para as três espécies de pescado a diferença total de cor seria perceptíveis ao ser humano.

Tabela 8-Valores obtidos da diferença total de cor (ΔE) para as três espécies de peixe

Espécies	ΔE A	ΔE B	p
Pacu	10,86 \pm 5,19	14,77 \pm 3,98	0,22
Carpa capim	8,63 \pm 2,67	6,58 \pm 2,11	0,22
Catfish	2,68 \pm 0,83	5,17 \pm 0,90	0,02

Valores das médias das triplicatas \pm desvio padrão. A= H_3PO_4 (0,05%) + Água + Água; B= $NaHCO_3$ (0,1%) + Água + Água + $NaCl$ (0,3%). Teste-t de Student ($p \leq 0,05$).

Os resultados ainda apontam que para a espécie *catfish* lavagens alcalinas seriam mais eficientes ($p \leq 0,05$) para conferir diferença total de cor e, portanto, melhor detecção a olho nu. Para as demais espécies ambas as lavagens, alcalinas ou ácidas, obtiveram o mesmo efeito ($p = 0,22$).

Os valores de c^* (croma) e h^* (ângulo de tonalidade) para as três espécies de peixe antes e após o ciclo das lavagens foram plotados na Figura 7 com objetivo de melhor visualizar a localização da cromaticidade de cada espécie. Para valorizar a imagem, a Figura 7A foi ampliada na região de interesse. Quanto maior o valor de c^* significa ser mais pura e intensa a cor (RODRIGUES; CUNHA; HUBINGER, 2003). O c^* é usado para indicar a saturação da cor (TAPPIII; YANCEY; APPLE, 2011).

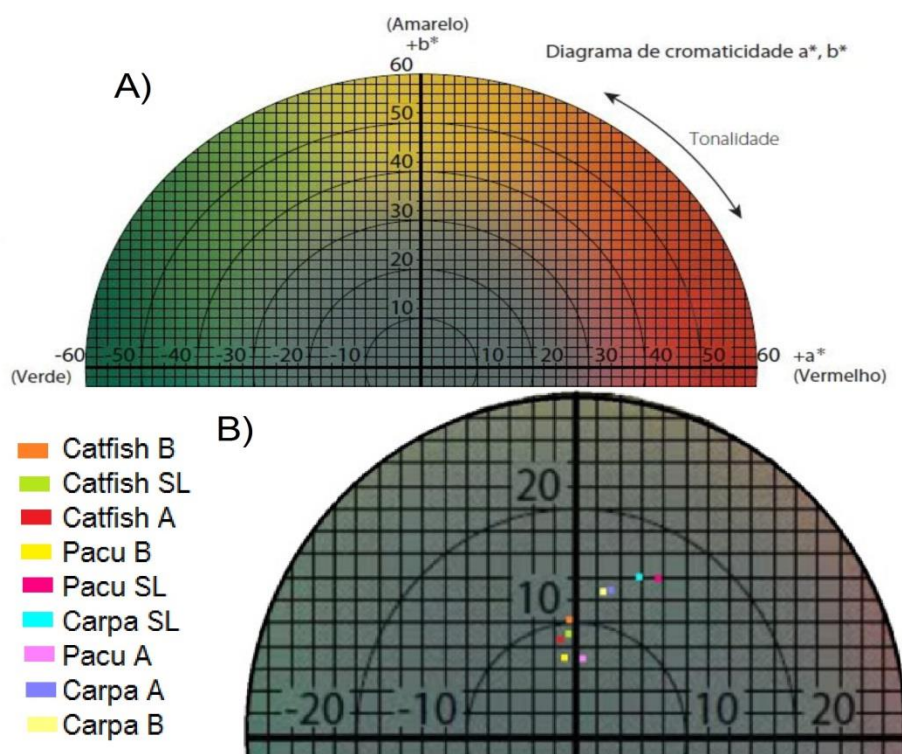


Figura 7- A) Parte do diagrama de cromaticidade a^* e b^* ; B) Cromo e luminosidade das três espécies de peixe. SL= Sem lavar; A= H_3PO_4 (0,05%) + Água + Água; B= $NaHCO_3$ (0,1%) + Água + Água + $NaCl$ (0,3%)

Os valores de c^* encontrados para as polpas de pescado revelam cores mais para “suja” ou menos saturadas, uma vez que estão localizadas mais ao centro da roda de cores.

Destaca-se que o processo de lavagem realizado nas polpas das três espécies de pescado resultou em coloração menos saturada. Na Figura 7B observa-se que o grupo formado no centro é representado pelas amostras lavadas. Vale destacar que o *catfish* mesmo sem lavar está inserido no mesmo grupo, o que de fato o certifica como uma carne mais clara; e que a carpa capim mesmo após as lavagens permaneceu distante do grupo do centro, afirmando a pouca eficiência na extração dos pigmentos.

5.3 AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE EMULSIFICANTE DAS PROTEÍNAS ANTES E APÓS AS LAVAGENS

As proteínas no pescado podem ser divididas em três grupos, baseado em suas solubilidades. As sarcoplasmáticas correspondem 30% do total de proteínas do pescado, sendo solúveis em água e baixas concentrações salinas. Aproximadamente 55 a 65% são proteínas estruturais nomeadas miofibrilares, solúveis em soluções salinas concentradas e formadoras das miofibrilas responsáveis pela atividade muscular, compostas principalmente pela actina e miosina. Algumas proteínas estruturais (cerca de 2 a 3%) são insolúveis em soluções salinas e constituem o tecido conectivo, sendo composta basicamente pelo colágeno.

As proteínas miofibrilares são responsáveis pela capacidade de retenção de água, CE no músculo de pescado e também pela cor da carne, incluindo quantidades importantes de aminoácidos essenciais (KUHN; SOARES, 2002; ORDÓÑEZ, 2005).

A CE é uma relação utilizada para medir a capacidade de emulsões formadas por proteínas, sendo caracterizada como o volume de óleo que pode ser emulsionado pela proteína antes que a inversão de fase de emulsão ocorra (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Com o objetivo de verificar a influência

das lavagens (ácida e alcalina) na CE das proteínas de pescado, avaliou-se essa propriedade funcional antes e após os processos de lavagens. As análises foram conduzidas apenas para a espécie pacu.

De acordo com a Tabela 9, o valor referente à CE da amostra submetida à lavagem alcalina foi superior ($p \leq 0,05$) ao valor encontrado para as amostras sem lavar e lavadas com solução ácida, as quais não diferiram entre si ($p \geq 0,05$). O fato da CE das polpas sem lavar e lavadas com ácido fosfórico não diferirem pode estar relacionado à baixa solubilidade proporcionada pela lavagem ácida. O decaimento do pH do meio provoca o equilíbrio entre o número de cargas positivas e negativas, levando a solução próxima à neutralidade, ou seja, próxima ao ponto isoelétrico. No ponto isoelétrico, as interações das moléculas de proteína são fracas e a solubilidade da proteína alcança o valor mínimo. Dessa forma, as proteínas formam aglomerados cada vez maiores e tendem a precipitar (GEHRING et al., 2011; RAWDKUEN et al., 2009), o que enfraquece as interações das proteínas miofibrilares com o óleo ou com o solvente de solubilização.

Tabela 9-Capacidade emulsificante das proteínas na espécie pacu

Espécie	CE (mL de óleo/g de proteína)		
	Sem lavar	A	B
Pacu	120,19±6,59 ^b	123,07±8,76 ^b	135,03±4,04 ^a

Valores das médias das triplicatas \pm desvio padrão. Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa, pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$). A= H₃PO₄ (0,05%) + Água + Água; B= NaHCO₃ (0,1%) + Água + Água + NaCl (0,3%). N=3.

Resultados semelhantes foram reportados por Rawdkuen et al. (2009), os autores buscaram avaliar a solubilidade das proteínas de tilápia após três diferentes processos de lavagens, convencional (soluções de água), ácidas e básicas. Os resultados apontaram a lavagem básica significativamente melhor para obter um isolado proteico com alta capacidade de solubilização. Os autores relatam que a baixa solubilização no processo ácido, provavelmente seja causada pela desnaturação das proteínas musculares induzidas à queda do pH.

As proteínas das carnes de pescado sem lavar apresentaram baixa CE quando comparadas às proteínas obtidas por lavagem básica, isso porque as lavagens apresentam função importante como mecanismo de extração que além de

extrair e solubilizar as proteínas miofibrilares, apresentam a função de remover as proteínas solúveis indesejáveis além de outras sujidades como escamas, ossos, pele e gorduras (RAWDKUEN et al., 2009), que acabam por comprometer a efetividade da emulsificação.

As bases proteicas obtidas por lavagens alcalinas apresentaram-se eficazes para formação de emulsão e, portanto, elaboração de derivados de pescado emulsionados. Quanto mais dissolvida à proteína estiver no sistema da emulsão, mais eficaz poderá ser a interface entre a fase óleo e a fase contínua durante a emulsificação (ROMAN; SGARBIERI, 2005). A lavagem alcalina possibilitou um aumento do pH, liberando os espaços entre os filamentos para expansão via repulsões eletrostáticas para que mais água possa ser imobilizada de forma que produziu efeito positivo para a dispersão de proteína na solução, o que facilitou a formação da emulsão.

A literatura relata que para as proteínas apresentarem uma boa CE, essas devem estar solubilizadas no meio colaborando na interface entre a gordura e a água, permitindo a formação da emulsão (PEARSON; GILLET, 1996).

5.4 APLICAÇÃO DA TÉCNICA CG-EM PARA IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE MIB E GEOSMINA EM PESCADO

Para a identificação e quantificação de MIB e geosmina em pescado foi utilizada a metodologia de Yarnpakdee et al. (2014) com modificações. Como primeira etapa na determinação dos compostos de interesse, foi otimizado o método de separação dos três analitos (MIB, geosmina e acetato de isobornilo). A condição utilizada no cromatógrafo a gás (item 4.2.2.3) permitiu a completa separação dos compostos, garantindo segurança na interpretação dos cromatogramas.

Na sequência a curva de calibração foi construída a partir da injeção da mistura dos padrões. A curva padrão refere-se ao modelo matemático que estabelece relação entre a resposta instrumental (área/altura da banda cromatográfica) e a concentração do analito. É fundamental elaborar uma curva de calibração para cada analito que se pretende determinar e para cada corrida analítica (ANVISA, 2003). Para determinar a curva de calibração é necessário, no

mínimo, 6 a 8 concentrações conhecidas do analito (padrões de calibração) para qual o método foi desenvolvido e será aplicado. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação (R^2) igual a 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90 (RIBANI et al., 2004).

Para o presente trabalho utilizou-se a padronização externa e o preparo da curva de calibração foi realizado por um único analista e constituída por seis pontos nas concentrações de (0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 mg.L⁻¹) dos compostos MIB, geosmina e acetato de isobornilo. Inicialmente foi preparada uma solução estoque de cada padrão na concentração de 100 mg.L⁻¹ em metanol, a partir desta solução foi preparada a mistura estoque com os padrões e na sequência a curva de calibração nas concentrações definidas. A curva de calibração foi injetada em quadruplicata e os cromatogramas registrados para cada concentração obtidos no modo SIM foram sobrepostos (Figura 8).

O acetato de isobornilo foi utilizado como padrão interno (PI). O PI é um composto geralmente com características estruturais semelhantes ao analito, adicionado aos padrões de calibração e amostras em concentrações conhecidas para facilitar a determinação do analito e permitir o cálculo de recuperação (ANVISA, 2003).

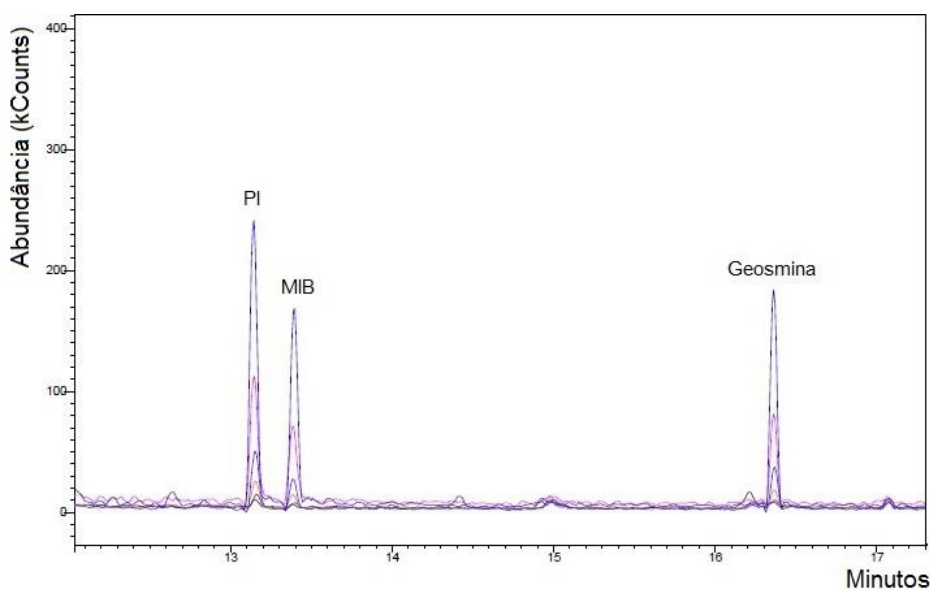


Figura 8- Sobreposição dos cromatogramas obtidos a partir da injeção da curva de calibração nas concentrações 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 mg.L⁻¹ no modo SIM

Foi possível observar boa correlação entre a concentração das misturas padrão injetada e as áreas integradas sob o pico, mesmo em baixas concentrações. Isso pode ser confirmado observando-se o coeficiente de determinação (R^2) na Figura 9, na qual é possível verificar que para os três analitos os coeficientes calculados ficaram acima de 0,99.

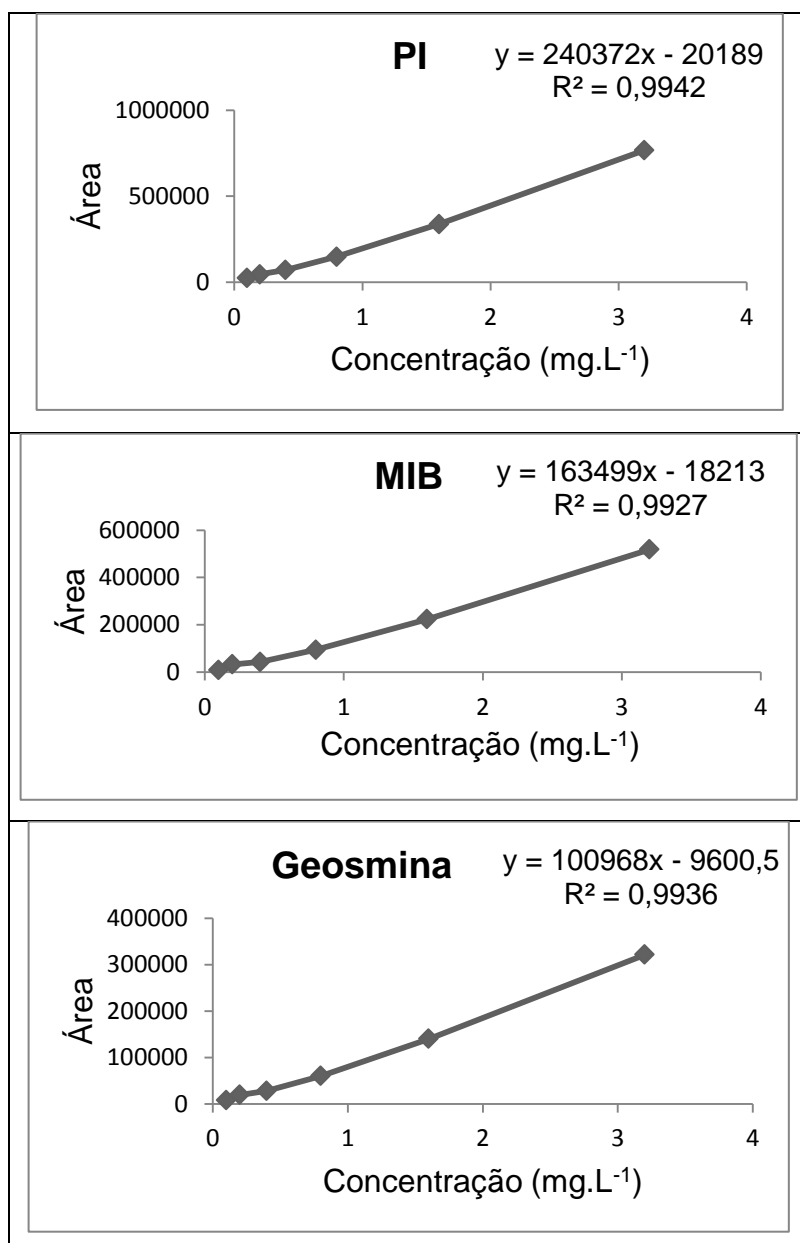


Figura 9- Padronização da curva padrão

O coeficiente de determinação possibilita uma estimativa da qualidade da curva padrão, pois quanto mais próximo de 1,0 menor a dispersão do conjunto de

pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Os valores calculados estão de acordo com a literatura (ANVISA, 2003; INMETRO 2003). Os limites de detecção e quantificação determinados pela análise foram de 0,025 e 0,05 mg.L⁻¹ da solução mista padrão MIB e geosmina e PI, respectivamente.

O modo TIC foi utilizado para análise qualitativa e o modo SIM para análise quantitativa. Os espectros de massas obtidos no modo TIC (Figura 10) foram comparados com o perfil da biblioteca do equipamento (NIST) (Figura 11).

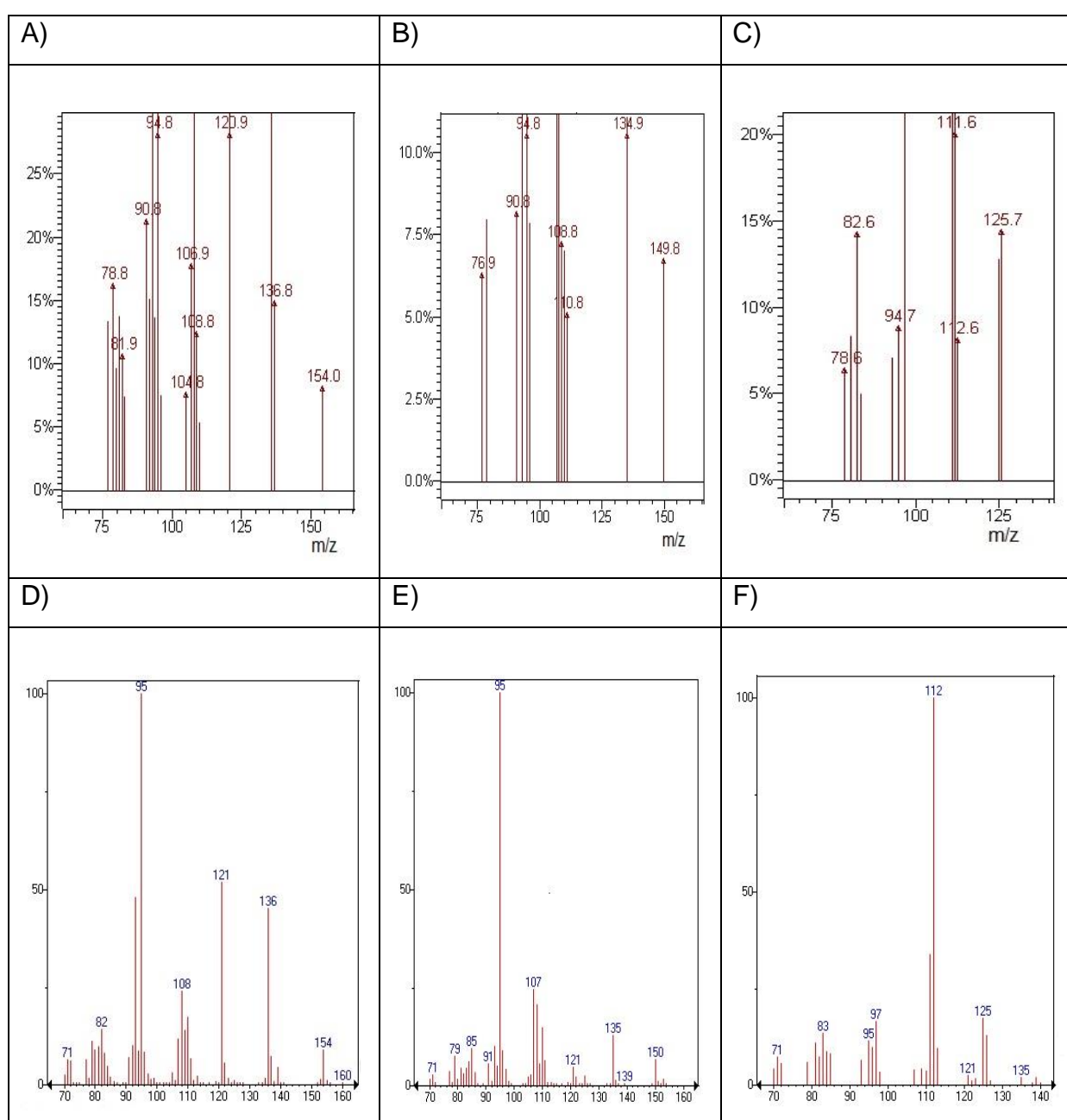


Figura 10- Espectros de massas da curva padrão obtido no modo TIC: A) PI, B) MIB e C) Geosmina, espectros de massas obtidos na NIST: D) PI, E) MIB e F) Geosmina

Observa-se pela Figura 10 que os fragmentos gerados referentes a cada composto da curva de calibração coincidiram com os fragmentos obtidos na biblioteca do equipamento.

A identificação dos três compostos, PI, MIB e geosmina foi realizada pelo padrão de fragmentação observado no espectro de massas (BURR et al., 2012; CHEN et al., 2013; CORTADA; VIDAL; CANALS, 2011; DENG et al., 2011; RUAN et al., 2013; YARNPAKDEE et al., 2014) (Figura 11) obtido no modo SIM e pelo tempo de retenção de cada composto, 13,14 min para o PI, 13,39 min o MIB e a geosmina 16,37 min.

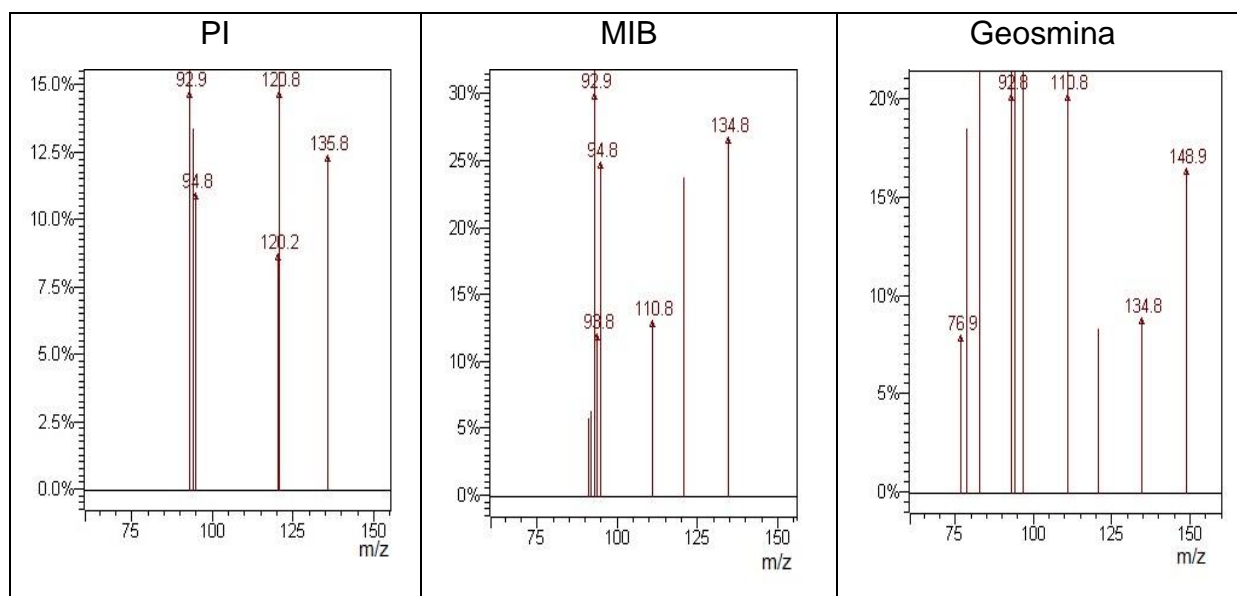


Figura 11- Espectros de massas da curva padrão obtido no modo SIM

Os fragmentos de maiores intensidades encontrados nesse trabalho para o PI foram 93, 95, 121 e 136, para o MIB foram 93, 95, 111, 121 e 135 e para geosmina foram 93, 111, 135 e 149. Os fragmentos majoritários coincidem com da literatura (BURR et al., 2012; CHEN et al., 2013; CORTADA; VIDAL; CANALS, 2011; DENG et al., 2011; GRIMM et al., 2000; GRIMM; LLOYD; ZIMBA, 2004; MA et al., 2013; RUAN et al., 2013; SAITO; OKAMURA; KATAOKA, 2008; YARNPAKDEE et al., 2014), corroborando que os fragmentos encontrados são específicos de cada composto.

O ponto da curva padrão $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ foi injetado em dois modos: TIC, gerado a partir de todos os fragmentos observados no espectrômetro de massa pelas substâncias eluídas, e no modo SIM, em que o cromatograma é gerado apenas pelos íons de interesse (Figura 12). Analisando a Figura 12 foi possível observar que no modo SIM a intensidade do sinal aumentou e tem-se a eliminação de compostos que não são de interesse para análise. No modo SIM os cromatogramas são gerados a partir dos íons selecionados. A partir dessa observação, optou-se por trabalhar apenas no modo SIM para as análises quantitativas, por ser mais sensível e apresentar cromatogramas de melhor qualidade e com alta sensibilidade.

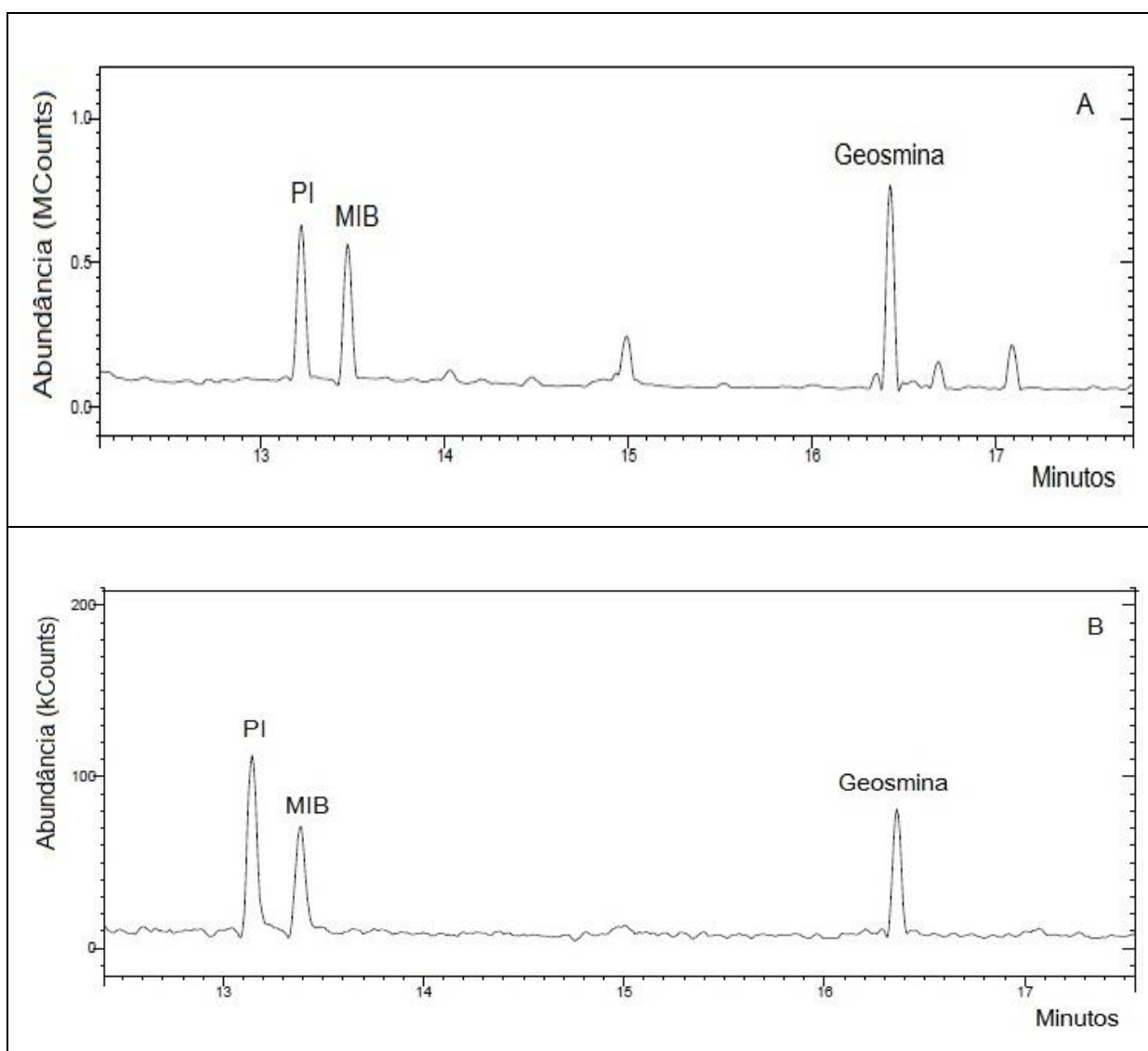


Figura 12- Cromatogramas obtidos a partir da curva padrão do ponto com concentração $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$; A) modo TIC e B) modo SIM

Após definido o método de separação, obtidas as curvas de calibração e determinados os limites de sensibilidade do método, foi iniciada a etapa de extração dos analitos de interesse das amostras de pescado.

Na literatura existem poucos trabalhos que utilizaram a técnica de destilação seguida pela extração líquido-líquido para extração de MIB e geosmina em pescado (YARNPAKDEE et al., 2014). Todavia, a utilização da técnica por microextração em fase sólida (SPME) para extração desses compostos em pescado são mais reportados (BURR et al., 2012; GRIMM et al., 2000; GRIMM; LLOYD; ZIMBA, 2004; JONES; FULLER; CARTON, 2013; ROBERTSON et al., 2005; SCHRADER; SUMMERFELT, 2010). Essa técnica requer acessórios específicos para a realização da extração e injeção, com isso pela falta de disponibilidade desses acessórios, o preparo da amostra A (carpa capim) foi realizado seguindo a metodologia de Yarnpakdeet al. (2014) que baseia-se na extração líquido-líquido.

O cromatograma do ponto de concentração $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ foi sobreposto ao cromatograma obtido da amostra A a fim de identificar os picos correspondentes aos compostos de interesse (Figura 13). Foram observados sinais no mesmo tempo de retenção dos analitos, no entanto, quando foi realizada a comparação dos espectros de massas (Figura 11) foi verificado que os fragmentos da amostra A não eram semelhantes com os fragmentos obtidos da calibração da curva padrão.

Os sinais observados apresentavam como principal fragmento $110,8 \text{ m/z}$, logo verifica-se, que o método de extração não foi favorável para a extração dos compostos de interesse a partir da amostra de pescado.

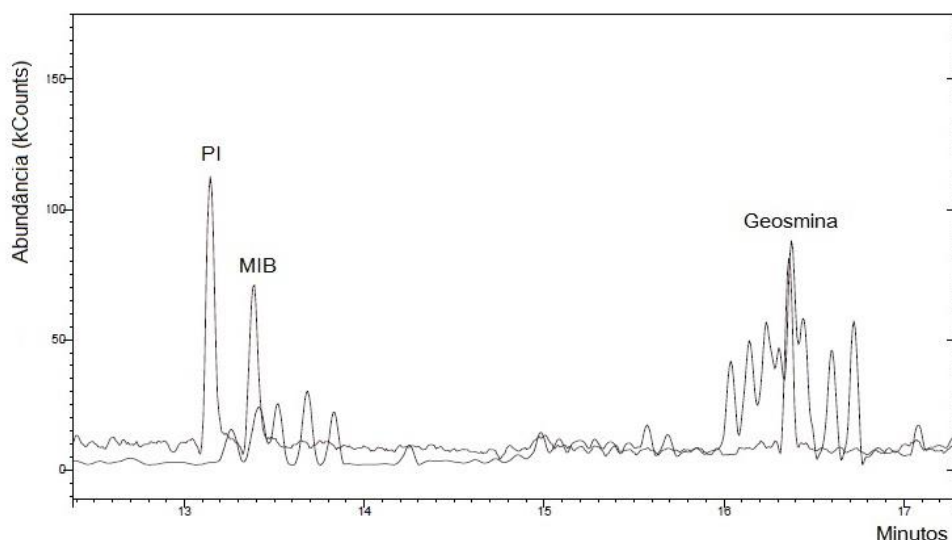


Figura 13- Sobreposição dos cromatogramas obtidos da amostra A com o cromatograma da curva padrão $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ no modo SIM

A partir deste resultado, algumas modificações foram realizadas na metodologia de Yarnpakdeet al. (2014), com o objetivo de eliminar os interferentes e concentrar os analitos de interesse (Tabela 10).

Tabela 10- Alterações realizadas na metodologia utilizada	
Metodologia artigo	Alterações na metodologia
50 g de pescado	50 g de pescado
12,5 mL de água grau HPLC + 2,5 mL de metanol grau HPLC contendo $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ PI	47,5 mL de água grau HPLC + 2,5 mL de metanol grau HPLC contendo $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ PI
-----	Homogeneização durante 15 minutos
Destilação á vácuo (temperatura 50 a 90°C , durante 45 min, pressão 0,073 Mpa)	Destilação á vácuo (temperatura 50 a 90°C , durante 45 min, pressão 0,073 Mpa)
-----	Evaporador rotativo com água refrigerada
Analito recolhido no balão com banho de água gelada	Analito recolhido no balão com banho de água gelada
-----	<i>Salting-out</i> (9g de NaCl)
20 mL do destilado e extrai 3mL de hexano	40 mL do destilado e extrai 6mL de hexano
3g de sulfato de sódio anidro na fração orgânica	3g de sulfato de sódio anidro na fração orgânica
Fração orgânica é filtrada para remoção do sulfato de sódio anidro	Fração orgânica é filtrada para remoção do sulfato de sódio anidro
Secura do solvente com gás nitrogênio	Secura do solvente na estufa 10°C
Volumes de analito 200 μL de hexano	Volumes de analito 200 μL de hexano

Com a finalidade de proporcionar maior contato da amostra com o solvente extrator, a amostra B (*catfish* 1), teve a concentração de água aumentada,

mantendo-se a proporção 1:1 (50 g de pescado e 50 mL de solvente), além disso, a etapa de homogeneização foi acrescentada ao procedimento. A concentração do PI passou de 50 para 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$, pois a concentração de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ estava próxima ao limite de quantificação da curva padrão. Foi utilizado um evaporador rotativo á vácuo com refrigeração de água e o balão que recolhe o analito foi revestido por um banho de água gelada. Após o processo de destilação á vácuo, foi adicionada a etapa *salting-out* utilizando 9g de NaCl até saturação da solução com o objetivo de diminuir a solubilidade dos analitos em água e aumentar a solubilidade no solvente orgânico pela variação do coeficiente de distribuição dos compostos (FARAJZADEH; FERIDUNI; MOGADDAM, 2015; FIORINI et al., 2015).

Outra etapa alterada foi a utilização de 40 mL do destilado extraídos 3 vezes com 6 mL de hexano em substituição aos 20 mL extraídos 3 vezes com 2 mL sugerido na metodologia original. Foi adicionado sulfato de sódio anidro na fração orgânica para a remoção de água e posteriormente desenvolveu-se a filtração. Do filtrado foi eliminado o solvente e rediluído com 200 μL de hexano para injeção no CG-EM (Figura 14).

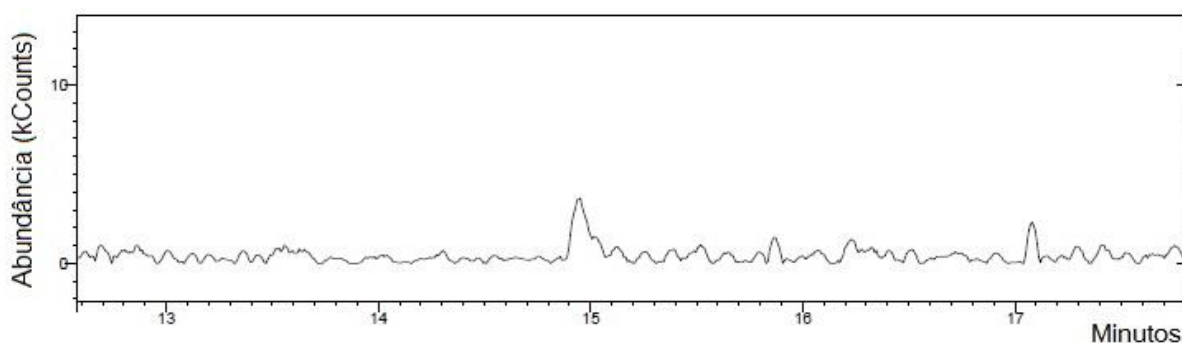


Figura 14- Cromatograma obtido da amostra B

Após realizadas todas as modificações na metodologia, o cromatograma apresentado na Figura 14 observa-se a eliminação dos interferentes, porém novamente não foram extraídos os compostos de interesse (PI, MIB e geosmina). Acredita-se que MIB e geosmina poderiam estar presentes na amostra em concentrações muito baixas, próximas ao limite de sensibilidade do equipamento, não permitindo a detecção pelo equipamento, além disso, o processo de extração e

purificação para esses compostos pode não estar completamente otimizado, já que nem o PI foi recuperado com valores considerados adequados.

Como outra alternativa de otimizar o método de extração, a amostra C (*catfish 2*), foi extraída e analisada (Figura 15) após a contaminação com 10 mg.L^{-1} de PI em substituição aos $100 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ anteriormente avaliados. Essa concentração foi escolhida com a finalidade de verificar se o método era capaz de ter uma boa recuperação em concentrações maiores, uma vez que todos os testes tinham sido realizados com níveis de concentrações muito baixas ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

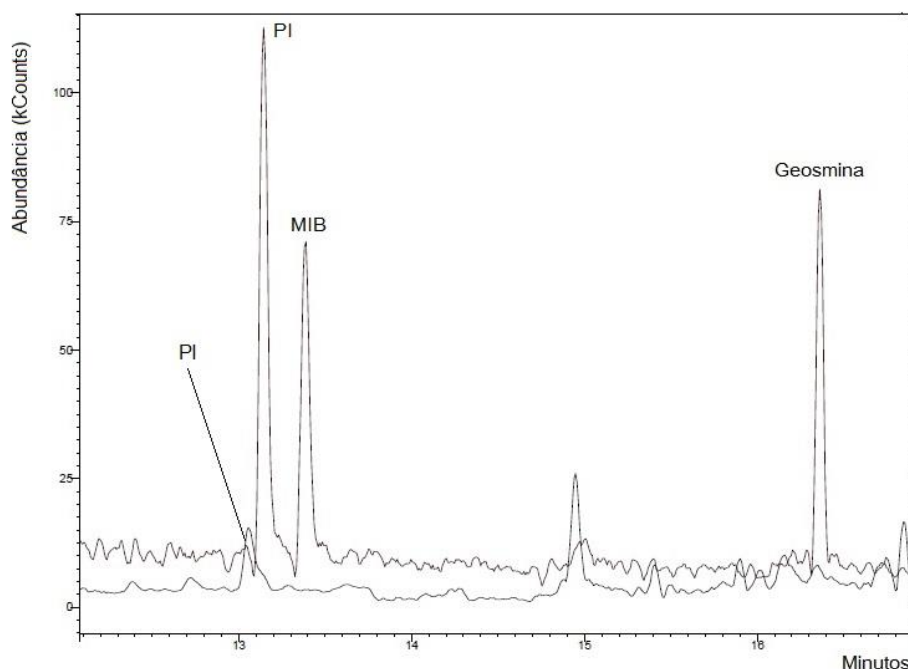


Figura 15- Sobreposição do cromatograma obtido da amostra C sobreposta com o cromatograma da curva padrão $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ no modo SIM

Na Figura 15 é possível observar a presença do PI no cromatograma da amostra C. A identificação foi realizada através do tempo de retenção do composto e os fragmentos gerados no espectro de massas (Figura 16).

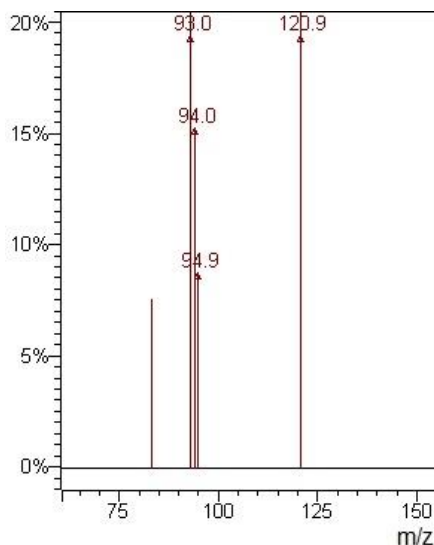


Figura 16- Espectros de massas do PI da amostra C obtido no modo SIM

A sobreposição da curva padrão $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ sobre o cromatograma da amostra C confirma a presença do PI na amostra. Obteve-se uma recuperação de 3,3%. Grimm; Lloyd e Zimba (2004) utilizando a técnica de extração por SPME obtiveram uma recuperação do PI (borneol) de 80%. Por meio desse teste foi possível constatar que o método de extração e purificação dos analitos de interesse pela metodologia testada apresentou baixa recuperação e outros estudos devem ser desenvolvidos para otimizar o processo, uma vez que esses *off flavor* presentes na carne do pescado, são considerados problemas sensoriais e conseqüentemente afetam o consumo por parte dos consumidores.

Como mencionado anteriormente a técnica SPME em comparação com a extração líquido-líquido é mais relatada na literatura para a extração de MIB e geosmina em pescado. Robertson et al. (2006) reportaram uma concentração de geosmina entre $1,0$ e $3,0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ em truta arco-íris. Forrester et al. (2002) relataram uma concentração de $4,43 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de MIB em filés de *catfish*.

6 CONCLUSÕES

As três espécies de pescado pacu, carpa capim e *catfish* apontaram potencial tecnológico, uma vez que apresentaram alto teor proteico e baixo teor lipídico; alto frescor; medidas biométricas com resultados densos e principalmente regularidade nas características físico-químicas e biométricas dos três pescados.

A aplicação do *box plot* como instrumento de avaliação da composição físico-química e biométrica dos três pescados facilitou a avaliação das variações entre espécies e na mesma espécie, e possibilitou a comparação rápida e visual de múltiplas variáveis. Ademais, a identificação de *outliers*/extremos ajudou a explicar situações especiais envolvendo as análises.

O emprego dos processos de lavagens na polpa da carne dos pescados foi eficiente, uma vez que removeu de forma significativa os nitrogenados indesejáveis, clareou as bases proteicas obtidas e aumentou a capacidade emulsificante das proteínas, fatores esses favoráveis à indústria processadora de pescados.

Trabalhos futuros visando à otimização da extração e purificação dos compostos MIB e geosmina em carne de pescado de água doce fazem-se necessários, uma vez que se sabe dos efeitos desses compostos pelo sabor/odor a terra e mofo; pela rejeição do consumidor e pela redução do valor do produto no mercado.

REFERÊNCIAS

AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S. **Cromatografia: Princípios e Técnicas Afins**, Rio de Janeiro: Interciência, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**, Resolução RE nº 899 de 29/05/2003.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 13. ed. Arlington, 2000.

ARTHARN, A.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T.; TANAKA, M. Properties of a protein-based film from round scad (*Decapterus maruadsii*) as affected by muscle types and washing. **Food Chemistry**, v. 103, p. 867–874, 2007.

AUFFRET, M.; PILOTE, A.; PROULX, E.; PROULX, D.; VANDENBERG, G.; VILLEMUR, R. Establishment of a real-time PCR method for quantification of geosmin-producing *Streptomyces spp.* in recirculating aquaculture systems. **Water Research**, v. 45, p. 6753-6762, 2011.

ARVANITOYANNIS, I. S.; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, M. V. Implementation of chemometrics for quality control and authentication of meat and meat products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 43, p. 173–218, 2003.

ARVANITOYANNIS, I. S.; TSITSIKA, E. V.; PANAGIOTAKI, P. Implementation of quality control methods (physicochemical, microbiological and sensory) in conjunction with multivariate analysis towards fish authenticity. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 40, p. 237–263, 2005.

BALANGE, A. K.; BENJAKUL, S. Effect of oxidised tannic acid on the gel properties of mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) mince and surimi prepared by different washing processes. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1693–1701, 2009.

BASSO, L.; FERREIRA, M. W. Efeito do peso ao abate nos rendimentos dos processamentos do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Agrarian**, v.4, n.12, p.134-139, 2011.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; TUEKSUBAN, J. Changes in physico-chemical properties and gel-forming ability of lizardfish (*Saurida tumbil*) during post-mortem storage in ice. **Food Chemistry**, v.80, p.535-544, 2003.

BOCHI, V. C.; WEBER, J.; RIBEIRO, C. P.; VICTÓRIO, A. M.; EMANUELLI, T. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8844–8849, 2008.

BONACINA, M.; QUEIROZ, M. I. Elaboração de empanado a partir da corvina (*Micropogonias furnieri*). **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 27, n. 3, p. 544-552, 2007.

BOSWORTH, B. G.; HOLLAND, M.; BRAZIL, B. L. Evaluation of ultrasound imagery and body shape to predict carcass and fillet yield in farm-raised catfish. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 1483–1490, 2001.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A. rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 3, p. 911 – 917, 1959.

BRESSAN, M. C.; PEREZ, J. R. O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA**. Brasília, 165p, 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Brasília, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185, de 13 de Maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 19 Maio 1997. Disponível em:<<http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=670>>. Acesso em: 11 jan. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Guia alimentar para a população brasileira**. Promovendo a alimentação saudável. Brasília, 2006.

BRASIL. 2014. **Potencial brasileiro para o setor é um dos maiores do mundo.** Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/governo/2013/03/producao-de-pescado-no-pais-cresce>>. Acesso em: 04 fev. 2015.

BRIONES-LABARCA, V.; PEREZ-WON, M.; ZAMARCA, M.; AGUILERA-RADIC, J. M.; TABILO-MUNIZAGA, G. Effects of high hydrostatic pressure on microstructure, texture, colour and biochemical changes of red abalone (*Haliotis rufecens*) during cold storage time. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 13, p. 42–50, 2012.

BRITTO, A. C. P.; ROCHA, C. B.; TAVARES, R. A.; FERNANDES, J. M.; PIEDRAS, S. T. N.; PIUEY, J. L. O. F. B. Rendimento corporal e composição química do filé da viola (*Loricariichthys anus*). **Ciência Animal Brasileira**, v.15, n.1, p. 38-44, 2014.

BURGER, J.; GOCHFELD, M.; BATANG, Z.; ALIKUNHI, N.; AL-JAHDALI, R.; AL-JEBREEN, D.; AZIZ, M. A. M.; AL-SUWAILEM, A. Fish consumption behavior and rates in native and non-native people in Saudi Arabia. **Environmental Research**, v. 133, p. 141–148, 2014.

BURKERT, D.; ANDRADE, D. R.; SIROL, R. N.; SALARO, A. L.; RASGUIDO, J. E. A.; QUIRINO, C. R. Rendimentos do processamento e composição química de filés de surubim cultivado em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.7, p.1137-1143, 2008.

BURR, G. S.; WOLTERS, W. R.; SCHRADER, K. K.; SUMMERFELT, S. T. impact of depuration of earthy-musty off-flavors on fillet quality of atlantic salmon, *salmo salar*, cultured in a recirculating aquaculture system. **Aquacultural engineering**, v. 50, p. 28-36, 2012.

BÜYÜKCAN, M.; BOZOGLU, F.; ALPAS, H. Preservation and shelf-life extension of shrimps and clams by high hydrostatic pressure. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 1495–1502, 2009.

CALDER, P. C. N-3 fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. **Clinical Science**, v. 107, p. 1–11, 2004.

CAULA, F. C. B.; OLIVEIRA, M. P.; MAIA, E. L. Teor de colesterol e composição centesimal de algumas espécies de peixes do Estado do Ceará. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 157-163, 2008.

CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; FAUSTMAN, C. Characteristics and gel properties of muscles from sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) caught in Thailand. **Food Research International**, v. 37, p. 1021–1030, 2004.

CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; FAUSTMAN, C. Physicochemical properties, gel-forming ability and myoglobin content of sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) surimi produced by conventional method and alkaline solubilisation process. **European Food Research and Technology**, v. 222, p. 58–63, 2006.

CHEN, X.; LUO, Q.; YUAN, S.; WEI, Z.; SONG, H.; WANG, D.; WANG, Z. Simultaneous determination of ten taste and odor compounds in drinking water by solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 11, p. 2313–2323, 2013.

CICERO, L. H.; FURLAN, E. F.; PRISCO, R. C. B.; NEIVA, C. R. P. Estudo das metodologias de destilação na quantificação do Nitrogênio das Bases Voláteis Totais em pescada, tilápia e camarão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 3, p. 192-197, 2014.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp. 2006.

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

CORRÊIA, V.; SILVA, L. P.; PEDRON, F. A.; LAZZARI, R.; FERREIRA, C. C.; RADÜNZ, N. Fontes energéticas vegetais para juvenis de jundiá e carpa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 693-671, 2012.

CORRÊA, C. F.; TACHIBANA, L.; LEONARDO, A. F.; BACCARIN, A. E. Rendimento de carcaça, composição do filé e análise sensorial do robalo-peva de rio e de mar. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, n. 4, p. 401 – 410, 2013.

CORTADA, C.; VIDAL, L.; CANALS, A. Determination of geosmin and 2-methylisoborneol in water and wine samples by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 17–22, 2011.

COSTA, T. V.; MACHADO, N. J. B.; BRASIL, R. J. M.; FRAGATA, N. P. Caracterização físico-química e rendimento do filé e resíduos de diferentes espécies de Jaraqui (*Semaprochilodus spp.*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 35 – 47, 2014.

DAVIGLUS, M.; SHEESHKA, J.; MURKIN, E. Health benefits from eating fish. **Comments on Toxicology**, v. 8, p. 345–374, 2002.

DENG, W.; LIANG, G.; CHEN, J.; QI, M.; XIE, P. Simultaneous determination of eight common odors in natural water body using automatic purge and trap coupled to gas chromatography with mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 3791-3798, 2011.

DEWITT, C. A. M.; KLEINHOLZ, C.; VANN, D.; BILBY, C.; THOMAS, S.; SCHRADER, K. Evaluation of acid and alkaline processing to remove muddy off-flavors in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 16, n. 2, p. 77–90, 2007.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The state of world fisheries and aquaculture 2014**. Roma. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i3720e/index.html>>. Acesso em: 04 fev. 2016.

_____. **Comércio global de peixes atinge níveis recordes 2014a**. Disponível em: <<https://www.fao.org.br/cgpanr.asp>>. Acesso em: 04 fev. 2016.

FARAJZADEH, M. A.; FERIDUNI, B.; MOGADDAM, M. R. A. Development of counter current salting-out homogenous liquid–liquid extraction for isolation and preconcentration of some pesticides from aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 885, p- 122–131, 2015.

FAUSTMAN, C.; SUN, Q.; MANCINI, R.; SUMAN, S. R. Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. **Meat Science**, v. 86, p.86–94, 2010.

FEIJOO, A. M. L. C. Medidas de tendência central. In: **A pesquisa e a estatística na psicologia e na educação**. Rio de Janeiro: Centro Edelstein de Pesquisas Sociais, 2010.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. A. **Química de alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; FUENTES, A.; ALIÑO, M.; MASOT, R.; MIGUEL ALCAÑIZ, M.; BARAT, J. M. Detection of frozen-thawed salmon (*Salmo salar*) by a rapid low-cost method. **Journal of Food Engineering**, v.113, p. 210–216, 2012.

FERREIRA, Célia. **Caracterização por GC-MS de Glicídios Derivatização Assistida por Microondas**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado em Química Forense). Universidade de Coimbra, 2011.

FIORINI, D.; PACETTI, D.; GABBIANELLIC, R.; GABRIELLI, S.; BALLINI, R. A salting out system for improving the efficiency of the headspace solid-phase microextraction of short and medium chain free fatty acids. **Journal of Chromatography A**, v. 1409, p- 282–287, 2015.

FNDE - FUNDO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO 2013. **Cooperação entre FNDE e MPA promove inclusão do pescado na alimentação escolar**. Disponível em: <<http://www.fnde.gov.br/fnde/sala-de-imprensa/noticias/noticias-2013>>. Acesso em: 13 de fev. 2016.

FOGAÇA, F. H.; SANT'ANAC, L. S.; LARA, J. A. F.; MAI, A. C. G.; CARNEIRO, D. J. Restructured products from tilapia industry byproducts: The effects of tapioca starch and washing cycles. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p.482–488, 2015.

FORRESTER, P. N.; PRINYAWIWATKUL, W.; GODBER, J. S.; PLHAK, L. C. Treatment of Catfish Fillets with Citric Acid Causes Reduction of 2-Methylisoborneol, but not Musty Flavor. **Journal of food Science**, v. 67, n. 7, p. 2615-2618, 2002.

FREITAS, A. M.; SIRTORI, C.; PERALTA-ZAMORA, P. G. Avaliação do potencial de processos oxidativos avançados para remediação de águas contaminadas com geosmina e 2-MIB. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 75-78, 2008.

FUENTES, A.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J. M.; SERRA, J. A. Influence of sodium replacement and packaging on quality and shelf life of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 917-923, 2011.

FURLAN, V. J. M.; SILVA, A. P. R.; QUEIROZ, M. I. Avaliação da eficiência de extração de compostos nitrogenados da polpa de anchoíta (*Engraulis anchoíta*). **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 29, n.4, p. 834-839, 2009.

GALVÃO, J. A.; OETTERER, M. **Qualidade e processamento de pescado**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

GARCIA-TORCHELSEN, L.; JACOB-LOPES, E.; QUEIROZ, M. I. Avaliação funcional de bases protéicas desidratadas de anchoita (*Engraulis anchoita*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 283-293, 2011.

GEHRING, C. K.; GIGLIOTTI, J. C.; MORITZ, J. S.; TOU, J. C.; JACZYNSKI, J. Functional and nutritional characteristics of proteins and lipids recovered by isoelectric processing of fish by-products and low-value fish: A review. **Food Chemistry**, v. 124, p. 422–431, 2011.

GIMENO, O.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. Characterization of Chorizo de Pamplona: Instrumental Measurements of Colour and Texture. **Food Chemistry**, v. 69, p. 195- 200, 2000.

GOLDING, J.; STEER, C.; EMMETT, P.; DAVIS, J. M.; HIBBELN, J. R. High levels of depressive symptoms in pregnancy with low omega-3 fatty acid intake from fish. **Epidemiology**, v. 20, p. 1-6, 2009.

GOLUBTSOV, A. S.; BERENDZEN, P. B. Morphological evidence for the occurrence of two electric catfish (*Malapterurus*) species in the White Nile and Omo – Turkana systems (East Africa). **Journal of fish biology**, v. 55, p. 492–505, 1999.

GONÇALVES, A. A. Situação da pesca no Brasil. Ontem e hoje. **Revista de Higiene Alimentar**, v. 21, p. 3–7, 2007.

GONÇALVES, A.; PASSOS, G. M.; BIEDRZYCKI, A. Tendência do consumo de pescado na cidade de Porto Alegre: um estudo através de análise de correspondência. **Estudos Tecnológicos**, v.4, p.21-36, 2008.

GONZÁLEZ, C. G., LISTE, A. V., FELPETO, A. B. **Tratamiento de datos con R, Statística y SPSS**, 1 ed. Ediciones Diaz de Santos, 2011.

GRIMM, C. C.; LLOYD, S. W.; BATISTA, R.; ZIMBA, P. V. Using Microwave Distillation-Solid-Phase Microextraction–Gas Chromatography–Mass Spectrometry for Analyzing Fish Tissue. **Journal of Chromatographic Science**, v. 38, 2000.

GRIMM, C. C.; LLOYD, S. W.; ZIMBA, P. V. Instrumental versus sensory detection of off-flavors in farm-raised channel catfish. **Aquaculture**, v. 236, n. 2, p. 309-319, 2004.

GUTTMAN, L.; VAN RIJN, J. Identification of conditions underlying production of geosmina and 2-methylisoborneol in a recirculating system. **Aquaculture**, v. 279, n. 3, p. 85-91, 2008.

HAIR, J. R.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E.; TATHAM, R. L. **Análise multivariada de dados**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HOWGATE, P. Tainting of farmed fish by geosmina and 2-methyl-isoborneol: a review of sensory aspects and of uptake/depuration. **Aquaculture**, v. 234, n. 2, p. 155-181, 2004.

HOWGATE, P. A critical review of total volatile bases and trimethylamine as indices of freshness of fish. Part 1. Determination. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 29-57, 2010.

HUANG, X.; XIN, J.; ZHAO, J. A novel technique for rapid evaluation of fish freshness using colorimetric sensor array. **Journal of Food Engineering**, v. 105, p. 632–637, 2011.

HUNTERLAB. **Applications note**: CIE L* a* b* color scale. Virginia, v. 8, n. 7, 1996.

HUSS, H. H. **Quality and quality changes in fresh fish**. Rome: FAO, 1995.

INMETRO- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2003.

INTARAKI,.; LHASUDTA, P.; JATHURASITHA, S.; WICKE, M.; KREUZER, M. Effects of Slaughter Weight on Carcass and Meat Characteristics of Punga Fish (*Pangasius bocourti* Sauvage). **Agriculture and Agricultural Science Procedia**, v. 5, p. 164 – 169, 2015.

JABEEN, F.; CHAUDHRY, A. S. Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. **Food Chemistry**, v. 125, p. 991–996, 2011.

JOE, W. H.; CHOI, I. C.; BAEK, Y. A.; CHOI, Y. J.; PARK, G. S.; YU, M. J. Advanced treatment for taste and odour control in drinking water: case study of a pilot scale plant in Seoul, Korea. **Water Science and Technology**, v. 55, n. 5, p. 111-116, 2007.

JONES, B.; FULLER, S.; CARTON, A. G. Earthy-muddy tainting of cultured barramundi linked to geosmin in tropical northern Australia. **Aquaculture Environment Interactions**, v. 3, p.117–124, 2013.

KANTEREWICZ, R. J.; ELIZALDE, B. E.; PILOSOFF, A. M. R.; BARTHOLOMAI, G. B. Water-oil absorption index (WOAI): a simple method for predicting the emulsifying capacity of food proteins. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 5, p. 1381-1383, 1987.

KARAYANNAKIDIS, P. D.; ZOTOS, A.; PETRIDIS, D.; TAYLOR, K. D. A. The effect of initial wash at acidic and alkaline pHs on the properties of protein concentrate (kamaboko) products from sardine (*Sardina pilchardus*) samples. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 775–783, 2007.

KAUSE, A.; PAANANEN, T.; RITOLA, O.; KOSKINEN, H. Direct and indirect selection of visceral lipid weight, fillet weight, and fillet percentage in a rainbow trout breeding program. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 3218–3227, 2007.

KIRSCHNIK, P. G.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a -18°C . **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v., 29, n. 1, p. 200-206, 2009.

KONICA MINOLTA S. **Comunicação precisa da cor**: Controle de qualidade da percepção à instrumentação. Seoul: Konica Minolta, 1998.

KUHN, C. R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 1, p. 5-11, 2002.

KYKKIDOU, S.; GIATRAKOU, V.; PAPAVERGOU, A.; KONTOMINAS, M.G.; SAVVAIDIS, I. N. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4°C . **Food Chemistry**, v. 115, 169–175, 2009.

LALEZARY, S.; PIRBAZARI, M.; MCGUIRE, M. J. Evaluating activated carbons for removing low concentrations of taste and odour producing organics. **Journal American Water Works Association**, v. 78, p. 76-82, 1986.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Paulo, v. 6, p. 62, 2004.

LEM, S.; ONGHENA, P.; VERSCHAFFEL, L.; DOOREN, W. V. The heuristic interpretation of box plots. **Learning and Instruction**, v. 26, p. 22-35, 2013.

LEMPEK, T. S.; MARTINS, V. G.; PRENTICE, C. H. Rheology of surimi-based products from fatty fish underutilized by the industry: Argentine croaker (*Umbrina canosai*). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 16, n.4, 2007.

LLORET, J. Human health benefits supplied by Mediterranean marine biodiversity. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, n. 10, p. 1640–1646, 2010.

MA, Z.; NIU, Y.; XIE, P.; CHEN, J.; TAO, M.; DENG, X. Off-flavor compounds from decaying cyanobacterial blooms of Lake Taihu. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n. 3, p. 495-501, 2013.

MACEDO-VIEGAS, E. M. SCORVO, C. M. D. F. VIDOTTI, R. M. SECCO, E. M. Efeito das classes de peso sobre a composição corporal e o rendimento de processamento de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 3, p. 725-728, 2000.

MACHADO, M. R. F.; FORESTI, F. Rendimento e composição química do filé de *Prochilodus lineatus* do rio Mogi Guaçu, Brasil. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 58, n. 224, p. 663-670, 2009.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, v. 71, p. 100–121, 2005.

MITTERER-DALTOÉ, M. L.; LATORRES, J. M.; CARBONERA, N.; PASTOUS-MADUREIRAI, L. S.; QUEIROZ, M. I. Potencial de inserção de empanados de pescado na merenda escolar mediante determinantes individuais. **Ciência Rural**, v. 42, n.11, p.2092-2098, 2012.

MITTERER-DALTOÉ, M. L.; PETRY, F. C.; WILLE, D. F.; TREPTOW, R. O.; MARTINS, V. M. V.; QUEIROZ, M. I. Chemical and sensory characteristics of meat from Nellore and Crioulo Lageano breeds. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 2092–2100, 2012a.

MITTERER-DALTOÉ, M. L.; LATORRES, J. M.; QUEIROZ, M. I.; FISZMAN, S.; VARELA, P. Reasons underlying low fish consumption where availability is not an issue. a case study in Brazil, one of the world's largest fish producers. **Journal of Sensory Studies ISSN 0887-8250**. 2013.

MITTERER-DALTOÉ, M. L.; QUEIROZ, M. I.; FISZMAN, S.; VARELA, P. Are fish products healthy? Eye tracking as a new food technology tool for a better understanding of consumer perception. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 459-465, 2014.

MOHAN, M.; RAMACHANDRAN, D.; SANKAR, T. V. Functional properties of Rohu (*Labeo rohita*) proteins during iced storage. **Food Research International**, v.39, p.847-854, 2006.

MOZAFFARIAN, D.; WU, J. H. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. **Journal Of The American College Of Cardiology**, v. 58, p. 2046-2067, 2011.

MPA - MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. 2013. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura- Brasil 2011**. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/files/docs/Boletim_MPA_2011_pub.pdf>. Acessado em 04. fev. 2016.

_____. 2012. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura-Brasil 2010**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/imprensa/noticias>>. Acessado em: 04 fev. 2016.

_____. 2013. **Consumo de pescado no Brasil aumenta 23,7% em dois anos**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/imprensa/noticias>>. Acesso em: 04 fev. 2016.

_____. 2014. **Potencial brasileiro**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/imprensa/noticias>>. Acessado em: 04 fev. 2016.

_____. 2014a. **Semana do peixe populariza consumo de pescado no país**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/imprensa/noticias>>. Acessado em: 04 fev. 2016.

_____. 2014b. **Pescado na alimentação escolar**. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/imprensa/noticias>>. Acesso em: 04 fev. 2016.

NAES, T.; BROCKHOFF, P. B.; TOMIC, O. **Statistics for sensory and consumer science**. United Kingdom: John Wiley and Sons, 2010.

NAVARRO, A.; ZAMORANO, M. J.; HILDEBRANDT, S.; GINÉS, R.; AGUILERA, C.; AFONSO, J. M. Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and carcass traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), under industrial conditions. **Aquaculture**, v. 289, p. 225–230, 2009.

NATES, V. A.; FERREIRA, M. W.; TRINDADE, C. S. P. C.; SANTOS, R. M.; SILVA, T. A. S.; VALADARES, R. S. S. Filés de tambacu submetidos a salga seca e salga úmida. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 15, n. 2, p. 450-458, 2014.

NGUYEN, N. H.; PONZONI, R. W.; ABU-BAKAR, K. R.; HAMZAH, A.; LING KHAW, H.; YIP YEE, H. Correlated response in fillet weight and yield to selection for increased harvest weight in genetically improved farmed tilapia (GIFT strain), *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 305, p. 1–5, 2010.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. Química do pescado. In: OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado**. São Paulo: Varela, v. 1, cap. 4, p. 27-71, 1999.

OLSEN, S.O. Understanding the relationship between age and seafood consumption: the mediating role of attitude, health involvement and convenience. **Food Quality and Preference**, v.14, p.199-209, 2003.

OLSEN, S. O.; HEIDE, M.; DOPICO, D. C.; TOFTEN, K. Explaining intention to consume a new fish product: A cross-generational and cross-cultural comparison. **Food Quality and Preference**, v. 19, p. 618–627, 2008.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

O’SULLIVAN, M. G.; BYRNE, D. V.; MARTENS, H.; GIDSKEHAUG, G. H.; ANDERSEN, H. J.; MARTENS, M. Evaluation of pork colour: prediction of visual sensory quality of meat from instrumental and computer vision methods of colour analysis. **Meat Science**, v. 65, p. 909–918, 2003.

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

ÖZYURT, G.; KULEY, E.; ÖZKÜTÜK, S.; ÖZOGUL, K. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. **Food Chemistry**, v. 114, 505-510, 2009.

PEARSON, A. M.; GILLETT, T. A. **Processed meats**. New York: Aspen Publishers, 1996.

PEDROSO, M. P. Detecção em cromatografia gasosa rápida e cromatografia gasosa bidimensional abrangente. **Scientia Chromatographica**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2011.

PERCIVAL, S.; DRABSCH, P.; GLENCROSS, B. Determining factors affecting muddy-flavor taint in farmed barramundi, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**, v. 28, n. 4, p. 136-143, 2008.

PEREIRA, W.; D.; ATHAYDE, A.; H.; PINTO, K.; P. Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió-AL. **Higiene Alimentar**, São Paulo v. 15, n. 84, p. 67-74, 2001.

PIRES, A. V.; PEDREIRA, M. M.; PEREIRA, I. G.; FONSECA JÚNIOR, A. M.; ARAÚJO, C. V.; SILVA, L. H. S. Predição do rendimento e do peso do filé da tilápia-do-Nilo. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 315-319, 2011.

RAATIKAINEN, O.; REINIKAINEN, V.; MINKKINEN, P.; RITVANEN, T.; MUJE, P.; PURSIAINEN, J.; HILTUNEN, T.; HYVÖNEN, P.; WRIGHT, A. V.; REINIKAINEN, S. Multivariate modeling of fish freshness index based on ion mobility spectrometry measurements. **Analytica Chimica ACTA**, v. 544, p.128-134, 2005.

RAMACHANDRAN, D.; MOHAN, M.; SANKAR, T. V. Physicochemical characteristics of muscle proteins from barracuda (*Sphyraena jello*) of different weight groups. **LWT**, v. 40, p. 1418-1426, 2007.

RAMÍREZ, J. A.; MARTÍN-POLO, M. O.; BANDMAN, E. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state. **Journal of Food Science**, v. 65, p. 556- 560, 2000.

RAMÍREZ, J. A.; URESTI, R. M.; VELAZQUEZ, G.; VÁZQUEZ, M. Food hydrocolloids as additives to improve the mechanical and functional properties of fish products: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1842-1852, 2011.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da qualidade de carnes**: fundamentos e metodologias. 22.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009.

RASMUSSEM, R. S.; OSTENFELD, T. H. Effect of growth rate on quality traits and feed utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). **Aquaculture**, v. 184, p. 327-337, 2000.

RAWDKUEN, S.; SAI-UT, S.; KHAMSORN, S.; CHAIJAN, M.; BENJAKUL, S. Biochemical and gelling properties of tilapia surimi and protein recovered using an acid-alkaline process. **Food Chemistry**, v. 112, p. 112–119, 2009.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELLO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p- 771-780, 2004.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. São Paulo: Edgard Blücler, Instituto Mauá de Tecnologia, p. 184, 2004.

RIBEIRO, S. C. A.; RIBEIRO, C. F. A.; PARK, K. J.; ARAUJO, E. A. F.; TOBINAGA, S. Alteração da cor da carne de mapará (*Hypophthalmus edentatus*) desidratada osmoticamente e seca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.9, n.2, p.125-135, 2007.

ROBERTSON, R. F.; K. JAUNCEY, K.; BEVERIDGE, M. C. M.; LAWTON, L. A. Depuration rates and the sensory threshold concentration of geosmin responsible for earthy-musty taint in rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 245, p. 89– 99, 2005.

ROBERTSON, R. F.; HAMMOND, A.; JAUNCEY, K.; BEVERIDGE, M. C. M.; LAWTON, L.; A. An investigation into the occurrence of geosmin responsible for earthy-musty taints in UK farmed rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 259, p. 153–163, 2006.

ROBIN, J.; CRAVEDI, J. P.; HILLENWECK, A.; DESHAYES, C.; VALLOD, D. Off flavor characterization and origin in French trout farming. **Aquaculture**, v. 260, n. 3, p. 128-138, 2006.

RODRIGUES, A., C. C.; CUNHA, R. L.; HUBINGER, M. D. Rheological properties and colour evaluation of papaya during osmotic dehydration processing. **Journal of Food Engineering**, n. 59, p. 129-135, 2003.

RODRÍGUEZ, O.; BARROS-VELÁZQUEZ, J.; PIÑEIRO, C.; GALLARDO, J. M.; AUBOURG, S. P. Effects of storage in slurry ice on the microbial, chemical and sensory quality and on the shelf life of “farmed turbot” (*Psetta maxima*). **Food Chemistry**, v. 95, n.2, p. 270-278, 2006.

ROMAN, J. A; SGARBIERI, V. C. Efeito da hidrólise enzimática sobre propriedades funcionais de caseína bovina coagulada pela ação da quimosina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 468-474, 2005.

RUAN, E. D.; AALHUSA, J. L.; SUMMERFELT, S. T.; DAVIDSON, J.; SWIFT, B.; JUÁREZ, M. Determination of off-flavor compounds, 2-methylisoborneol and geosmin, in salmon fillets using stir bar sorptive extraction–thermal desorption coupled with gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1321, p. 133– 136, 2013.

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Production of biogenic amines and their potential use as quality control indices for hake (*Merluccius merluccius*, L) stored in ice. **Journal of Food Science**, Madrid, v. 66, n. 7, p. 1030-1032, 2001.

RUTTEN, M. J. M.; BOVENHUIS, H.; KOMEN, H. Modeling fillet traits based on body measurements in three Nile tilapia strains (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, v. 231, n. 1-4, p. 113-122, 2004.

RUTTEN, M. J. M.; BOVENHUIS, H.; KOMEN, H. Genetic parameters for fillet traits and body measurements in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, v. 246, p. 101–113, 2005.

SAITO, K.; OKAMURA, K.; KATAOKA, H. Determination of musty odorants, 2-methylisoborneol and geosmin, in environmental water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1186, p. 434–437, 2008.

SARTORI, A. G. O.; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança alimentar e Nutricional**, v. 19, n. 2, p. 83-93, 2012.

SCHMIDT, L.; BIZZI, C. A.; DUARTE, F. A.; MULLER, E. I.; KRUPP, E.; FELDMANN, J.; FLORES, E. M. M. Evaluation of Hg species after culinary treatments of fish. **Food Control**, v. 47, p. 413-419, 2015.

SCHRADER, K. K.; SUMMERFELT, S.; T. Distribution of off-flavor compounds and isolation of geosmin-producing bacteria in a series of water recirculating systems for rainbow trout culture. **North American Journal of Aquaculture**, v. 72, p. 1–9, 2010.

SCHRADER, K.; K.; DAVIDSON, J.; W.; SUMMERFELT, S. T. Evaluation of the impact of nitrate-nitrogen levels in recirculating aquaculture systems on concentrations of the off-flavor compounds geosmin and 2-methylisoborneol in water and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquacultural Engineering**, v. 57, p. 126–130, 2013.

SILVA, R. A.; PETTER, C. O.; SCHNEIDER, I. A. H. Avaliação da perda da coloração artificial de ágatas. **Revista Escola de Minas**, Ouro Preto, v. 60, n.3, p. 477-482, 2007.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER F. X.; KIEMLE D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SIMÕES, R. S.; QUEIROZ, M. I.; VOLPATO, G.; ZEPKA, L. Q. Desodorización de la base proteica de pescado (bpp) con ácido fosfórico. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 24, n. 1, p. 23-26, 2004.

SIMÕES, M. R.; RIBEIRO, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J.; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 27, n. 3, p. 608-613, 2007.

SIOEN, I.; CAMP, J. V.; VERDONCK, F.; VERBEKE, W.; VANHONACKER, F.; WILLEMS, J.; HENAUW, S. Probabilistic intake assessment of multiple compounds as a tool to quantify the nutritional-toxicological conflict related to seafood consumption. **Chemosphere**, v. 71, p. 1056–1066, 2008.

SIRIPATRAWAN, U.; SANGUANDEEKUL, R.; NARAKAEW, V. An alternative freshness index method for modified atmosphere packaged abalone using an artificial neural network. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 343–349, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; WEST, D. M. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Thomson, 2007.

SMITH, D. M. Meat proteins: functional properties in comminuted meat products. **Food Technology**, v.45, p. 116-121, 1988.

SMITH, J. L., BOYER, G. L., ZIMBA, P. V. A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: Impacts and management alternatives in aquaculture. **Aquaculture**, v. 280, p. 5-20, 2008.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 71, n. 1, p. 1-10, 2012.

SOUZA, M. L. R.; MARANHÃO, T. C. F. Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 897-901, 2001.

SOUZA, M. L. R.; VIEGAS, E. M. M.; SOBRAL, P. J. A.; KRONKA, S. N. Efeito do peso de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre o rendimento e a qualidade de seus filés defumados com e sem pele. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 51-59, 2005.

SRINIVASAN, R.; SORIAL, G. A. Treatment of taste and odor causing compounds 2-methyl isoborneol and geosmin in drinking water: A critical review. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 1, p. 1–13, 2011.

STANSBY, M. E. Proximate composition of fish. In: HEEN, E.; KREUZER, R. **Fish in Nutrition**. Fishing News: London, 1962.

STOKES, M.; FAIRCHILD, M. D.; BERNS, R. S. Precision requirements for digital color reproduction. **ACM Transactions on Graphics**, v.11, p.406–422, 1992.

SUN, Y. C. Health concern, food choice motives, and attitudes toward healthy eating: The mediating role of food choice motives. **Appetite**, v. 51, p. 42–49, 2008.

SUURNAKKI, S.; GOMEZ-SAEZ, G. V.; RANTALA-YLINEN, A.; JOKELA, J.; FEWER, D. P.; SIVONEN, K. Identification of geosmin and 2-methylisoborneol in cyanobacteria and molecular detection methods for the producers of these compounds. **Water Research**, v. 68, p. 56-66, 2015.

TACON, A. G. J.; METIAN, M. Fish matters: importance of aquatic foods in human nutrition and global food supply. **Reviews in Fisheries Science**, v. 21, n. 1, p. 22-38, 2013.

TAPP III, W. N.; YANCEY, J. W. S.; APPLE, J. K. How is the instrumental color of meat measured? **Meat Science**, v. 89, p. 1–5, 2011.

THODESEN, J. (MA, DY).; RYE, M.; WANG, Yu-Xiang.; BENTSEN, H. B.; GJEDREM, T. Genetic improvement of tilapias in China: Genetic parameters and selection responses in fillet traits of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after six generations of multi-trait selection for growth and fillet yield. **Aquaculture**, p. 67–75, 2012.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; FAJGELJ, A.; WILLETTS, P.; WOOD, R. Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement. **Pure and Applied Chemistry**, v. 71, n. 2, p. 337-348, 1999.

TRONDSSEN, T.; BRAATEN, T.; LUND, E.; EGGEN, A. E. Consumption of seafood—the influence of overweight and health beliefs. **Food Quality and Preference**, v.15, p.361-374, 2004.

TUCKER, S. Off-flavor problems in aquaculture. **Reviews in Fisheries Science**, v. 8, n. 1, p. 45-88, 2000.

TURAN, H.; ERKOYUNCU, I. The quality changes that occur during the frozen storage of Bonito (*Sarda sarda* Bloch, 1973) prepared by different treatments. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 28, p. 1017–1024, 2004.

VARLIK, C.; BAYGAR, T.; ÖZDEN, Ö.; ERKAN, N.; METIN, S. Sensory evaluation and determination of some physical and chemical characteristics of shrimp during gold storage. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 24, p. 181–185, 2000.

VÁZQUEZ, A.; BOTELLA-CARRETERO, J. I.; CORELLA, D.; FIOL, M.; LAGE, M.; LURBE, E.; RICHART, C.; FERNÁNDEZ-REAL, J. M.; FUENTES, F.; ORDÓÑEZ, A.; et al. White fish reduces cardiovascular risk factors in patients with metabolic syndrome: The wish-care study, a multicenter randomized clinical trial. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 24, p. 328-335, 2014.

WATSON, S. B.; RIDAL, J.; BOYER, G. L. Taste and odour and cyanobacterial toxins: impairment, prediction, and management in the Great Lakes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 65, n.8, p. 1779-1796, 2008.

WHO- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition**: Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation. WHO Technical Report Series World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2007.

WIDJAJA, W. P.; ABDULAMIR, A. S.; SAARI, N. B.; BAKAR, F. B. A.; ISHAK, Z. B. Fatty acids profile of Tropical Bagridae Catfish (*Mystus nemurus*) During Storage. **American Journal of Food Technology**, v. 4, p. 90-95, 2009.

WILKES, J. G.; CONTE, E. D.; KIM, Y.; HOLCOMB, M.; SUTHERLAND, J. B.; MILLER, D. W. Sample preparation for the analysis of flavors and off-flavors in foods. **Journal of Chromatography A**, v. 880, p. 3–33, 2000.

WU, D.; STEPHEN, E. D. Quantitative analysis of earthy and musty odors in drinking water sources impacted by wastewater and algal derived contaminants. **Chemosphere**, v. 91, p. 1495–1501, 2013.

YARNPAKDEE, S.; BENJAKUL, S.; PENJAMRAS, P.; KRISTINSSON, G. H. Chemical compositions and muddy flavour/odour of protein hydrolysate from Nile tilapia and broadhead catfish mince and protein isolate. **Food Chemistry**, v. 142, p. 210–216. 2014.

YU, X.; LLAVE, Y.; FUKUOKA, M.; SAKAI, N. Estimation of color changes in fish surface at the beginning of grilling based on the degree of protein denaturation. **Journal of Food Engineering**, v. 129, p. 12–20, 2014.

ZAT, M.; BENETTI, A. D. Remoção dos compostos odoríferos geosmina e 2-metilisoborneol de águas de abastecimento através de processos de aeração em cascata, dessorção por ar e nanofiltração. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v.16, p. 353-360, 2011.