



**ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DE
CAMARÕES *Litopenaeus vannamei*, CULTIVADOS EM ÁGUA
DOCE DURANTE CONSERVAÇÃO EM GELO.**

IANNA WIVIANNE FERNANDES DE ARAÚJO

**Monografia apresentada ao Departamento de
Engenharia de Pesca do Centro de Ciências
Agrárias da Universidade Federal do Ceará,
como parte das exigências para a obtenção do
título de Engenheiro de Pesca.**

FORTALEZA - CEARÁ – BRASIL

DEZEMBRO/2004

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

A689a Araújo, Ianna Vivianne Fernandes de.

Alterações físico-químicas e sensoriais de camarões *Litopenaeus vannamei*, cultivada em água doce durante conservação em gelo / Ianna Vivianne Fernandes de Araújo. – 2004.

36 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2004.

Orientação: Prof. Dr. Masayoshi Ogawa.

1. Camarões - Criação. I. Título.

CDD 639.2

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Dr. MASAYOSHI OGAWA
Orientador/Presidente

Prof. Dr. EVERARDO LIMA MAIA
Membro

MsC. NORMA BARRETO PERDIGÃO OGAWA
Membro

Orientador Técnico: _____
Nome
Empresa ou Instituição

VISTO:

Prof. Dr. JOSÉ WILSON CALIOPE DE FREITAS
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

Prof. MsC. ARTAMIZIA MARIA N. MONTEZUMA
Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado forças para concluir este trabalho.

À minha família, pela preocupação e ajuda durante a minha formação.

Ao Prof. Dr. **Masayoshi Ogawa**, pelos ensinamentos ministrados, o apoio e a orientação durante a execução desse trabalho.

À **Norma Barreto Perdigão Ogawa**, pelo o apoio, os ensinamentos, amizade e colaboração nos momentos em que mais necessitei.

Às minhas amigas **Ana Irene, Fernanda e Tânia**, pela a amizade, o carinho e as ajudas prestadas durante minha vida acadêmica.

Aos meus amigos **Walber e Aretha**, pelos conselhos nos momentos que precisei e a amizade durante os anos de faculdade.

Aos amigos do curso **Vladir, Lituânia, Jullyermes, Jorge Luís, Sandra, José Hamilton, Katiane, Tatiana, Alexsandra, Rafael Cavalcante**, pelo companheirismo durante os anos de faculdade.

Aos amigos do LARAq **Cíntia, Evandro, Simone, Neuma, Marianna, Nino, Luciana, Filipe, André, Janaina, Túlio Luís, Glaydson, Ana Luisa e Ivanildo** pelo apoio durante o trabalho.

Ao Engenheiro de Pesca **David**, pelos camarões concedidos.

Aos Professores **Maria Lúcia Nunes e Everardo Lima Maia** pelo o apoio prestado durante a finalização deste trabalho.

Às pessoas que ajudaram direto ou indiretamente, na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	PÁGINA
RESUMO.....	v
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE ANEXOS.....	viii
1- INTRODUÇÃO.....	1
2- REVISÃO BIBLIOGRÀFICA.....	4
3-MATERIAL E MÉTODOS.....	7
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
5- CONCLUSÕES.....	18
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÀFICAS.....	19
7- ANEXOS.....	21

RESUMO

A determinação da qualidade do pescado é um tópico de grande interesse dos produtores do setor pesqueiro, tendo em vista o aumento nos mercados internacionais para produtos frescos de pescado e o crescimento da indústria baseada na aquicultura. O presente trabalho teve como objetivo observar as alterações organolépticas, estimar o grau de frescor dos camarões através do método de valor de K e acompanhar os teores de N- BVT e N- TMA e o pH dos camarões conservadas em gelo na temperatura de 0°C. Trabalhou-se com camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* provenientes de duas fazendas de carcinicultura localizadas em Paraipaba-CE, cultivados em águas oligohalinas. Foram adquiridos os camarões vivos que, depois de mortos por imersão em água gelada (1 – 3°C), foram mantidos em gelo dentro de geladeira com a temperatura a 0° C por 18 dias. Foram acompanhadas as alterações do grau de frescor nos camarões a cada 24 h através da análise do valor de K assim como determinações de N- TMA, N- BVT, análise dos caracteres organolépticos e a determinação do pH. Nos primeiros 14 dias de estocagem os valores de N-TMA apresentaram-se relativamente baixos (0,08 a 0,23 mg/100g), observando-se uma tendência de pico no 15º dia com um aumento para 0,82 mg/100g, atingindo 1,00 mg/100g no último dia de estocagem. Neste experimento, o valor de K registrado no primeiro dia de estocagem foi de 5,37%, tendo um aumento progressivo no decorrer da estocagem para 61,27 e 57,59% nos dois últimos dias de estocagem. Relacionando-se os parâmetros químicos com o odor do camarão, observou-se um odor mais alterado a partir do 15º dia, coincidindo com o aumento no conteúdo de TMA de 0,13 para 0,82 mg/100g. O N-BVT situou-se em 7,30 mg/100g e o valor de K foi de 51,72%. Nos quatro dias iniciais de conservação, o pH foi menor do que 7,0. Ao longo da estocagem verificaram-se valores de até 7,61. Nos últimos dias de estocagem os camarões apresentaram a cabeça totalmente escurecida e desligada do abdômen. Com relação ao odor, a partir do 11º dia ocorreu o início de odor diferenciado, ficando mais acentuado no 15º dia, embora não pútrido.

LISTA DE FIGURAS

	PAGINA
FIGURA 1- Procedimento de análise da trimetilamina pelo método de Dyer	9
FIGURA 2- Procedimento do Método microdifusão de Conway para análise de BVT.....	10
FIGURA 3 - Níveis de N-TMA (mg/100g) em camarões conservados em gelo.....	11
FIGURA 4 - Níveis de N-BVT (mg/100g) em camarões conservados em gelo.....	12
FIGURA 5 - Mudança do valor de K em camarões estocados em gelo...	13
FIGURA 6 - Níveis de pH durante os dias de estocagem em gelo.....	14
FIGURA 7 - Camarões com 1 dia de estocagem em gelo.....	16
FIGURA 8 - Camarões com 2 dias de estocagem em gelo.....	17
FIGURA 9 - Camarões com 3 dias de estocagem em gelo.....	17
FIGURA 10 - Camarões com 5 dias de estocagem em gelo.....	18
FIGURA 10 - Camarões com 16 dias de estocagem em gelo.....	18

ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E SENSORIAIS DE CAMARÕES *Litopenaeus vannamei*, CULTIVADOS EM ÁGUA DOCE DURANTE CONSERVAÇÃO EM GELO.

Ianna Vivianne Fernandes de Araújo

1- INTRODUÇÃO

Camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* constituem importante recurso pesqueiro exportado pelos Estados do Nordeste brasileiro, sobretudo pelo Ceará e Rio Grande do Norte.

No ano 2002, o Brasil processou em 30 unidades de beneficiamento, um total de 37.800 ton de camarão cultivado, das quais 17.733 ton (47%), representadas por camarão sem cabeça, destinaram-se aos Estados Unidos, e 20.066 ton (53%), representadas por camarões inteiros, à Europa, especialmente a França, Espanha, Itália, Bélgica e Países Baixos (ROCHA, 2004).

A determinação da qualidade do pescado é um tópico de grande interesse dos produtores do setor pesqueiro, tendo em vista o aumento nos mercados internacionais para produtos frescos de pescado e o crescimento da indústria baseada na aquicultura. Uma maior quantidade de pescado está sendo transportada para longas distâncias, e a avaliação do frescor é requerida para permitir um prognóstico de qualidade ao comprador final.

Há um grande número de trabalhos sobre as mudanças bioquímicas que ocorrem após a morte do pescado, no entanto, pouca informação encontra-se disponível no que se refere ao camarão *Litopenaeus vannamei*.

Campbell e Williams (1952) citado por Iyengar *et al.* (1960) reportaram que a estocagem de camarão em gelo mostrou-se comercialmente satisfatória podendo ser mantida por 16 dias, embora uma estocagem por menos de 12 dias pareça ser mais aconselhável uma vez que há crescimento de bactérias.

A maioria dos testes químicos para medir o frescor tais como trimetilamina (TMA), dimetilamina (DMA) e bases voláteis totais (BVT) medem essencialmente a deterioração bacteriana (Martin *et al.*, 1978 citado por WOYEWODA *et al.*, 1986).

Entretanto, quando o pescado se deteriora passa pela seguinte seqüência de etapas: rigor mortis – dissolução do rigor – autólise.

O frescor do pescado está relacionado às mudanças bioquímicas que acontecem mesmo em condições assépticas, através de enzimas naturais de degradação (EHIRA, 1976). Na degradação pós-morte os nucleotídeos, ATP, ADP e AMP se decompõem rapidamente para formar inosina e hipoxantina. Os nucleotídeos produzidos pela decomposição de ATP são considerados os indicadores mais confiáveis de grau de frescor para pescado. Uchiyama e Kobayashi (1974) descreveram o valor de K baseado na concentração de vários nucleotídeos e respectivos produtos da degradação.

O valor de K consiste em um índice avaliado em termos da razão entre a qualidade total de hipoxantina (Hx) e inosina (HxR) e o nível total de ATP e seus produtos de degradação do músculo e é usado como índice representativo do frescor da carne do pescado (OGAWA, 1999).

Saito *et al.* (1956) registraram uma alta correlação entre a percentagem de inosina e hipoxantina sobre o total de ATP e compostos relacionados e estágio inicial de frescor de peixe, e propôs um valor K para determinação do frescor como mostrado na equação abaixo, a qual é largamente usada como um indicador de frescor do pescado.

$$\text{Valor de } K = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100$$

A trimetilamina (TMA) é uma substância peculiar aos peixes e crustáceos marinhos e está distribuída principalmente nos músculos e vísceras. Após a morte do pescado, o óxido de trimetilamina é convertido a trimetilamina por ação de enzima redutase produzida por bactérias (OGAWA, 1999).

A trimetilamina é bom indicador de deterioração para peixes e crustáceos, podendo ser aplicado com restrições em pescados de água doce.

Hebard *et al.* (1982) citado por Shirai *et al.* (1998) afirmaram que peixes de água doce são conhecidos por não apresentarem óxido de trimetilamina no

músculo. Entretanto, Shirai *et al.* (1998) quantificaram o óxido de trimetilamina e a trimetilamina em pescados de água doce em diversas espécies de pescado, que pode ser utilizado como indicador de deterioração.

As bases voláteis totais (BVT) são representadas principalmente pela amônia, trimetilamina e dimetilamina e seu teor aumenta em função da deterioração do pescado (TAVARES *et al.* 1988).

No início do processo degradativo, a base volátil mais representativa é a amônia originária dos produtos da desaminação dos derivados do ATP. Posteriormente, a amônia proveniente da degradação de outros compostos nitrogenados, a exemplo de aminoácidos, juntamente com a trimetilamina, formada a partir do óxido de trimetilamina, passam a se fazer presentes (OGAWA, 1999).

O presente trabalho teve como objetivo observar as alterações organolépticas, estimar o grau de frescor dos camarões através do método de valor de K; acompanhar os teores de N- BVT e N- TMA e o pH dos camarões conservadas em gelo na temperatura de 0°C tendo, em vista fornecer subsídios para o melhoramento da qualidade dos produtos exportados pelo Estado do Ceará.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A decomposição ou deterioração do pescado está ligada a um processo de alteração que se estabelece depois da morte do animal e que progride com o passar do tempo, tornando-se, finalmente, impróprio para o consumo humano (KIETZMANN *et al.* 1974).

As mudanças bioquímicas e microbiológicas que ocorrem nos tecidos do pescado após a morte dependem significativamente dos fatores que afetam a concentração de substratos e metabólitos nos tecidos do pescado vivo, atividade das enzimas endógenas, contaminação microbiana e condições da captura (SIKORSKI *et al.* 1994).

A decomposição de adenosina trifosfato (ATP) é uma importante mudança bioquímica pós-morte no músculo de peixes e crustáceos. Durante este processo, ATP, ADP e AMP se decompõem rapidamente para formar inosina e hipoxantina. Os nucleotídeos produzidos pela decomposição de ATP são considerados os indicadores mais confiáveis de grau de frescor para pescado. Foi proposto um método mais simples e mais rápido para se estimar o frescor do pescado, que consiste na determinação do valor de K.

O valor de K consiste em um índice avaliado em termos da razão entre a concentração total de hipoxantina (Hx) e inosina (HxR) e o nível total de ATP e seus produtos de degradação do músculo e é usado como índice representativo do frescor da carne do pescado (OGAWA, 1999). Atualmente, este método é o mais apropriado para avaliação do frescor do pescado.

SAITO *et al.* (1956) registraram uma alta correlação entre a percentagem de inosina e hipoxantina sobre o total de ATP e compostos relacionados e estágio inicial de frescor de peixe, e propôs uma constante K para determinação do frescor como mostrado na equação abaixo, a qual é largamente usada como um indicador de frescor do pescado.

$$\text{Valor de } K = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100$$

A estimativa do frescor do pescado é muito importante na indústria de alimentos para a elaboração de produtos de alta qualidade. Entre outros métodos, os nucleotídeos produzidos pela decomposição de adenosina trifosfato (ATP) são considerados os indicadores mais confiáveis de frescor (OGAWA, 1999). Logo após a morte do pescado, a decomposição do ATP se processa de acordo com a seguinte seqüência:



onde ADP: adenosina difosfato; AMP: adenosina 5'-monofosfato; IMP: inosina 5'-monofosfato; HxR: inosina; Hx: hipoxantina ; X: xantina; e U: ácido úrico. A concentração relativa desses constituintes muda bastante após a morte do pescado.

Além da cromatografia de coluna, pode-se estimar o valor de K por HPLC e mais recentemente pelo auxílio do biossensor.

As principais aminas presentes na carne de peixe são a amônia (NH_3) e a trimetilamina (TMA). Com a redução da qualidade da carne, há formação de grandes quantidades de amônia a partir dos grupos “amino” de aminoácidos e proteínas.

A trimetilamina é o constituinte responsável pelo odor característico de peixe cru. A trimetilamina (TMA) é uma substância peculiar aos peixes e crustáceos marinhos e está distribuída principalmente nos músculos e vísceras. Após a morte do pescado, o óxido de trimetilamina é convertido a trimetilamina por ação de enzima redutase produzida por bactérias (OGAWA, 1999).

A trimetilamina é bom indicador de deterioração para peixes e crustáceos, embora de uma maneira geral não possa ser aplicado para pescados de água doce, devido à quantidade de OTMA ser mínima. Entretanto, algumas espécies como *Prochilodus nigricans*, *Pellona castelnaena*, *Cichla sp.*, e *Astronatus crassipinnis* apresentaram 38, 67, 115, e 118mg/100g de óxido de trimetilamina, respectivamente (SHIRAI et al. 1998).

Três métodos, destilação, micro-difusão de Conway e colorimétrico de Dyer, são comumente usados para determinação de N-TMA. Deve-se ter cuidado ao se

comparar valores destas substâncias, especialmente N-BVT, visto que os resultados dependem dos métodos de análise (OGAWA, 1999).

As bases voláteis totais (BVT) são representadas principalmente pela amônia, trimetilamina e dimetilamina e seu teor aumenta em função da deterioração do pescado TAVARES *et al.* (1988)

No início do processo degradativo, a base volátil mais representativa é a amônia originária dos produtos da desaminação dos derivados do ATP. Posteriormente, a amônia proveniente da degradação de outros compostos nitrogenados, a exemplo de aminoácidos, juntamente com a trimetilamina, formada a partir do óxido de trimetilamina, passam a se fazer presentes (OGAWA, 1999).

3- MATERIAL E MÉTODOS

Trabalhou-se com camarões da espécie *Litopenaeus vannamei* provenientes de duas fazendas de carcinicultura localizadas em Paraipaba-CE, cultivados em águas oligohalinas. Foram adquiridos os camarões vivos que, depois de mortos por imersão em água gelada (1 – 3°C), foram mantidos em gelo dentro de geladeira com a temperatura a 0° C por 18 dias. Foram acompanhadas as alterações do grau de frescor nos camarões a cada 24 h, através da análise do valor de K assim como determinações de N-TMA, N-BVT, análise dos caracteres organolépticos e a determinação do pH.

Nas análises organolépticas foram verificados coloração da cabeça – vermelha e preta, afrouxamento na cabeça, melanose, outros defeitos na cauda e alterações de odor.

O método de Dyer utilizado para determinação N-TMA (FIGURA 1) tem como princípio o extrato de TCA obtido do camarão, que reage com ácido pícrico originando um picrato altamente colorido. Através da medida da absorbância a 410nm, a TMA pode ser quantificada. O método do ácido pícrico é aplicável a todas as espécies marinhas contendo o precursor OTMA para a estimativa da deterioração bacteriana.

O valor de K foi analisado segundo Uchiyama e Kobayashi (1974) por cromatografia em coluna (ANEXO 2). A leitura espectrofotométrica foi feita em aparelho de marca SHIMADZU modelo UV 1601, no comprimento de onda de 250nm e calculado através da fórmula abaixo.

$$\text{Valor de } K = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100$$

Para as determinações de N-BVT, seguiu-se o método de microdifusão de Conway (FIGURA 2) descrito por Uchiyama e Kobayashi (1974). A quantidade de N-BVT foi calculada a partir da fórmula:

$$BVT-N = (X - b) \times 0,28 \times \text{a razão da diluição da amostra}$$

Onde, (X) é o volume (mL) de ácido clorídrico 1/50 N utilizado na titulação; (b) é o volume de HCl gasto no branco (mL); 0,28 é a quantidade de nitrogênio da amônia equivalente a 1 mL de ácido clorídrico 1/50 N, e a razão da diluição é a razão da quantidade (g) da amostra usada por 100g de músculo. Três determinações foram feitas para uma amostra e o valor médio calculado.

Para acompanhamento do pH, foi preparado um homogenato na proporção de 1:2 de músculo do camarão macerado e água destilada fervida, respectivamente. A determinação do pH foi realizada em pHmetro QUIMIS, acompanhada a cada 24 h.

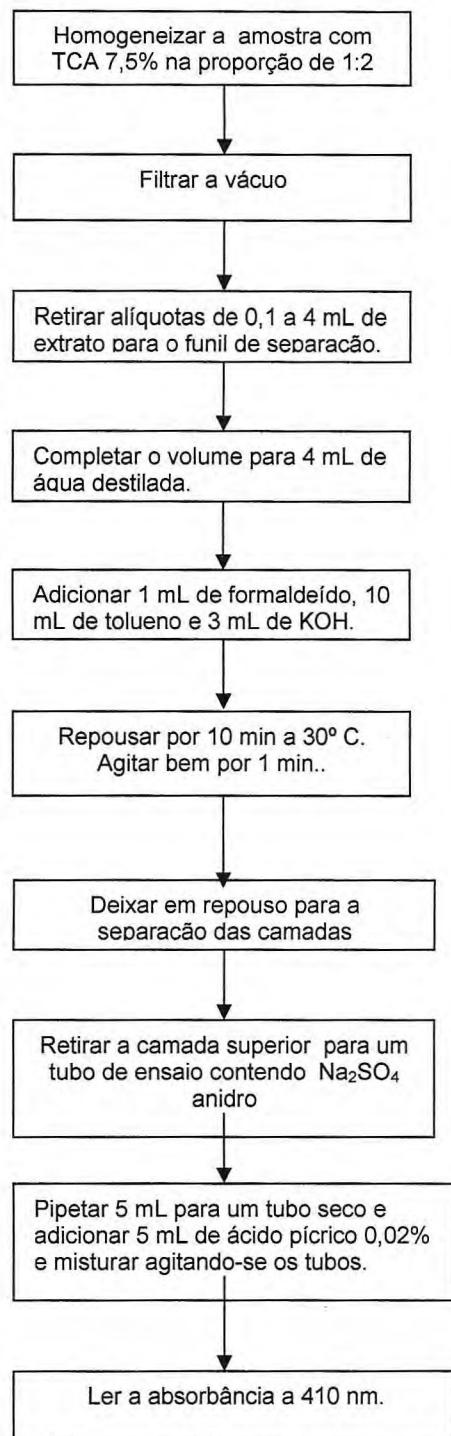


FIGURA 1- Procedimento de análise da trimetilamina pelo método de Dyer.

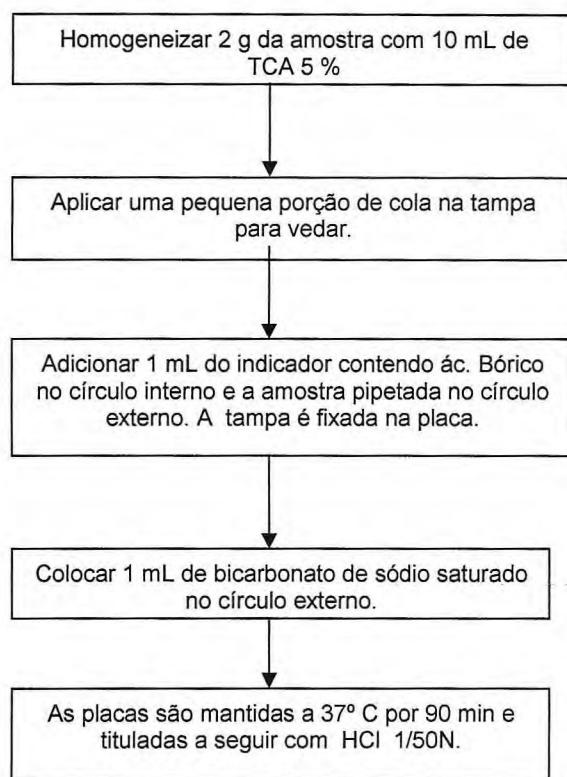


FIGURA 2- Procedimento do método microdifusão de Conway para análise de BVT.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos primeiros 14 dias de estocagem os valores de N-TMA apresentaram-se relativamente baixos (0,08 a 0,23 mg/100g), observando-se uma tendência de pico no 15º dia com um aumento para 0,82 mg/100g, atingindo 1,00 mg/100g no último dia de estocagem (FIGURA 3 e TABELA 1). Os baixos valores devem-se provavelmente aos camarões aqui analisados serem provenientes de cultivo em água doce, pois Velankar e Govindan (1960) citado por Evangelista (1997) citam que a quantidade de trimetilamina varia com a espécie e salinidade da água.

SHIRAI *et al.* (1998) encontraram para a espécie de água doce *Astronotus crassipinnis* até 118 mg/100g e 4 mg/100g de OTMA e TMA, respectivamente.

EVANGELISTA (1997) trabalhando com camarões marinhos *Penaeus schimitti*, *P. subtilis* e *Xiphopenaeus kroyeri* registrou valores de 0,34, 0,29 e 1,13 mg/100g, respectivamente.

IYENGAR *et al.* (1960) verificaram que a quantidade de TMA em camarões estocados em gelo a 0°C diminuiu consideravelmente, devido o efeito de lavagem pelo degelo durante a estocagem, uma vez que a TMA é solúvel em água.

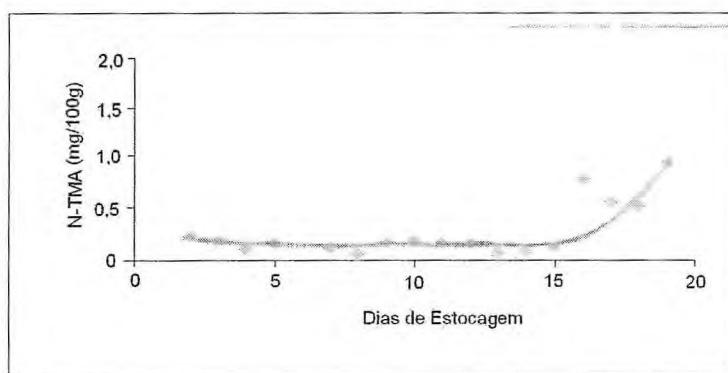


FIGURA 3 - Níveis de N-TMA (mg/100g) em camarões conservados em gelo.

A partir de 4,0mg a 6,0 mg/100g está representando o limiar para a deterioração em lagostas. Tais limites podem variar um pouco dependendo da espécie de pescado (OGAWA, 1999).

A figura 4 mostra o comportamento dos valores de BVT durante estocagem dos camarões em gelo. Os dados variaram muito, embora possa se observar uma tendência crescente dos valores durante este período. A quantidade de BVT no primeiro dia de estocagem foi de 2,07 mg/100g e no 18º dia atingiu valores de 17,20 mg/100g.

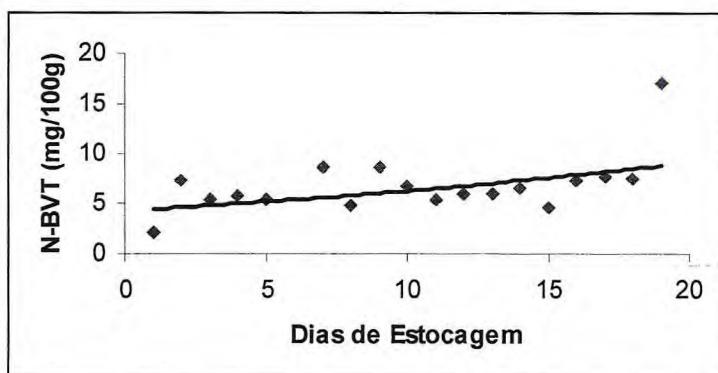


FIGURA 4 - Níveis de N-BVT (mg/100g) em camarões conservados em gelo.

IYENGAR *et al.* (1960) confirmaram que a quantidade de N-TMA e N-BVT em camarões estocados 0°C foi bem menor do que os camarões estocados em a 4º C.

Neste experimento, o valor de K registrado no primeiro dia de estocagem foi de 5,37%, tendo um aumento progressivo no decorrer da estocagem para 61,27 e 57,59% nos dois últimos dias de estocagem (FIGURA 5).

OGAWA (1999) apresentou alguns limites de valor de K para peixes e crustáceos.

- < 5%: peixes recém mortos (morte sem sofrimento);
- < 20%: pode ser ingerido como “sushi e sashimi”;

20 a 60%: deve ser aquecido para ser ingerido e pode ser usado na elaboração de "surimi" e "kamaboko";

60 a 80%: já mostra sinais de putrefação;

Portanto, considerando-se apenas o parâmetro valor de K, conforme os limites apresentados acima, camarões *P. vannamei* poderiam ser ingeridos crus até o 3º dia de estocagem caso mantidos nas condições deste experimento.

O declínio do frescor no pescado está relacionado com as alterações nos nucleotídeos, não tendo relação direta com a ação bacteriana (OGAWA, 1999).

MATSUMOTO e YAMANAKA (1990) observaram início de decomposição em camarões da espécie *Penaeus japonicus* estocados em gelo na temperatura de 0°C, a partir do 9º dia. Em estágio inicial de decomposição, o valor de K, N-TMA e N-BVT apresentaram os valores de 19%, 0,7 mg/100g e 26 mg/100g, respectivamente.

Relacionando-se os parâmetros químicos com o odor do camarão, observou-se odor mais alterado a partir do 15º dia, embora não pútrido, coincidindo com o aumento no conteúdo de TMA de 0,13 para 0,82 mg/100g (FIGURA 3). O N-BVT situou-se em 7,30 mg/100g e o valor de K foi de 51,72%.

De acordo com OGAWA (1999) o pescado apresentando valor de K de até 60% pode ser consumido cozido.

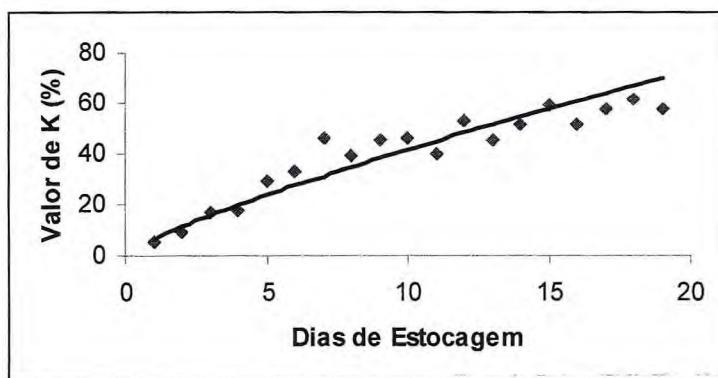


FIGURA 5 – Mudança do valor de K em camarões estocados em gelo.

YAMANAKA e SHIMADA (1996) constataram que o valor de K em lagostas da espécie *Homarus americanus* estocadas em gelo a 0°C variou de 20 a 25% no estágio inicial de decomposição.

Nos quatro dias iniciais de conservação, o pH foi menor do que 7,0. Ao longo da estocagem verificaram-se valores de até 7,61 (FIGURA 6).

Yamanaka (1989) citado por Matsumoto e Yamanaka (1990) que o ácido láctico contribui para a diminuição do pH que é um dos índices de frescor do pescado.

Estas diferenças de pH, possivelmente podem ser explicadas baseando-se na flora bacteriana que resulta em diferentes produtos da degradação de proteínas (IYENGAR *et al.* 1960).

O aumento do pH influencia a atividade de bactérias que produzem enzimas redutases que convertem o óxido de trimetilamina em trimetilamina que consequentemente irá iniciar o estágio de decomposição.

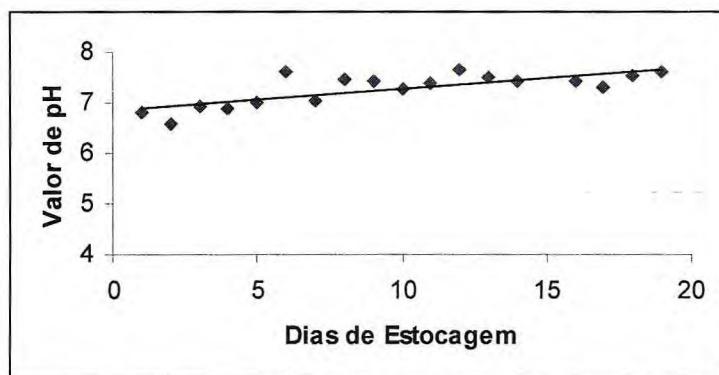


FIGURA 6 – Níveis de pH durante os dias de estocagem em gelo.

TABELA 1: Dados sobre as análises físico-químicas e organolépticas de camarões conservados em gelo durante 18 dias.

Dias de conservação	Valor de K (%)	pH	N-TMA (mg/100g)	N-BVT (mg/100g)	Desligamento da cabeça	Cabeça vermelha	Escurecimento da cabeça	Odor
0	5,37	6,82	-	2,07	0	0	0	0
1	9,23	6,56	0,23	7,30	1	0	1	0
2	16,63	6,91	0,17	5,31	2	0	2	0
3	17,51	6,87	0,09	5,68	2	3	3	0
4	29,47	7,00	0,15	5,48	3	3	3	0
5	33,18	7,60	-	-	3	3	3	0
6	46,51	7,05	0,11	8,68	3	3	3	0
7	38,93	7,46	0,06	4,79	3	3	3	0
8	45,18	7,44	0,18	8,60	3	3	3	0
9	45,88	7,27	0,19	6,65	3	3	3	0
10	39,94	7,37	0,17	5,44	3	3	3	0
11	52,73	7,67	0,17	5,96	3	3	3	1
12	45,10	7,51	0,08	5,88	3	3	3	1
13	51,45	7,43	0,10	6,53	3	3	3	2
14	59,14	-	0,13	4,54	3	3	3	2
15	51,72	7,42	0,82	7,30	3	3	3	3
16	57,86	7,31	0,59	7,71	3	3	3	3
17	61,27	7,52	0,56	7,42	3	3	3	3
18	57,59	7,61	1,00	17,20	3	3	3	3

Normal -> 0 (Sem defeitos).

Início-> 1 (Escurecimento inicial da cabeça ou surgimento de odor alterado ou desligamento inicial da carapaça docefalotórax).

Moderado-> 2 (Escurecimento mais visível da cabeça ou odor moderado ou desligamento mais acentuado da carapaça docefalotórax).

Acentuado -> 3 (Escurecimento da cabeça em todos os camarões ou odor mais perceptível ou surgimento de manchas vermelhas na cabeça ou total desligamento da carapaça docefalotórax).

Durante as observações com relação aos caracteres organolépticos (TABELA 1), no primeiro dia, do total de camarões que estavam no gelo, apenas 9% apresentaram início de desligamento e de escurecimento da cabeça (FIGURA 7). No segundo dia, 20% apresentaram desligamento da cabeça, moderado escurecimento da cabeça e surgimento de cabeça vermelha. Neste dia pode-se observar com maior nitidez as alterações das características organolépticas (FIGURA 8). A partir do terceiro dia todos apresentaram defeitos acentuados, o escurecimento da cabeça tornou-se bastante visível (FIGURA 9). Com relação ao odor, a partir do 11º dia ocorreu o início de odor diferenciado, ficando mais acentuado no 15º dia. No entanto, até o último dia de estocagem, que ocorreu no 18º dia, não foi sentido odor de putrefação nos camarões. Nos últimos dias de estocagem os camarões apresentaram a cabeça totalmente escurecida e desligada do abdômen (FIGURA 10).

Segundo HODGSON *et al.* (2004), alguns compradores europeus de camarão inteiro fazem uma simulação das condições nos seus mercados de frutos do mar, retirando um bloco de camarão congelado da sua embalagem e deixando-o numa temperatura ambiente por quatro horas. Se a cabeça ficar preta ou afrouxar, o produto é rejeitado.



FIGURA 7 – Camarões com 1 dia de estocagem em gelo.



FIGURA 8 - Camarões com 2 dias de estocagem em gelo.



FIGURA 9 - Camarões com 3 dias de estocagem em gelo.



FIGURA 10 - Camarões com 5 dias de estocagem em gelo.



FIGURA 11 - Camarões com 7 dias de estocagem em gelo.



FIGURA 12 - Camarões com 16 dias de estocagem em gelo.

5- CONCLUSÕES

- Até o 14º dia de estocagem, os valores de N-TMA apresentaram-se relativamente baixos, 0,08 a 0,23 mg/100g, observando-se uma tendência de pico no 15º dia com um aumento para 0,82 mg/100g, atingindo 1,00 mg/100g no 18º dia de estocagem.

- A quantidade de BVT no primeiro dia de estocagem foi de 2,07 mg/100g e no 18º dia atingiu valores de 17,20 mg/100g.

- O valor de K registrado logo após a morte do camarão foi de 5,37%, tendo um aumento progressivo no decorrer da conservação em gelo para 61,27 e 57,59% nos dois últimos dias de estocagem.

- O pH ficou abaixo de 7,0 nos primeiros 4 dias de conservação e ao longo da estocagem atingiu valores de 7,61 no último dia.

- Após o primeiro dia de estocagem observou-se início de desligamento da carapaça docefalotórax que progrediu desligando-se totalmente no final do experimento, com 18 dias de conservação em gelo.

- No segundo dia de estocagem notou-se escurecimento nas laterais docefalotórax tornando-se mais escura e aumentando de proporções com o decorrer da estocagem.

- No terceiro dia de estocagem observou-se uma mancha vermelha (cabeça vermelha) no meio docefalotórax em todos os camarões, permanecendo até o final do experimento.

- Com relação ao odor, a partir do 11º dia ocorreu o início de odor diferenciado, ficando mais acentuado no 15º dia, embora não pútrido.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EHIRA, S. A biochemical study on the freshness of fish. Bull Tokai Reg. Fish. Res. La., Tokyo, v.88, p.1-32, 1976.
- EVANGELISTA, N. P. Determinação de Óxido de Trimetilamina (OTMA) e Trimetilamina (TMA) em Pescados. Dissertação de Mestrado. Fortaleza, Departamento de Engenharia de Pesca, UFC, 87 p., 1997.
- HODGSON, L., GREGG, K., McINTOSH, R. A Despesca Mecânica do Camarão. www.mcraquacultura.com.br/publicacoes/index.html 16/03/2004.
- IYENGAR J.R., VISWESWARIAH K., MOORJANI M., N, BHATIA D. S. Assessment of the Progressive Spoilage of Ice-stored Shrimp. J. Fish. Res. Bd. Canada, V.17 N. (4), p. 475-485, 1960.
- KIETZMANN, U., PRIEBE, K., RAKOW, D., REICHSTEIN, K. Inspección Veterinaria de Pescados. Editora Acribia, España, p. 326, 1974.
- MATSUMOTO, M., YAMANAKA, H. Post-mortem Biochemical Changes in the Muscle of Kuruma Prawn Storage and Evaluation of the Freshness. Nippon Suisan Gakkaishi. V. 56 N. (7), 1145-1149, 1990.
- OGAWA, N. B. P. Avaliação e Controle de Qualidade do Pescado. In: Manual de Pesca (Eds. OGAWA, M., MAIA, E.L.) Editora Livraria Varela, São Paulo, V.1, p.430, 1999.
- ROCHA, I. P - ABCC – Associação Brasileira de Criadores de Camarão www.abccam.com.br 05/03/2004.
- SAITO, T., ARAI, K., MATSUYOSHI, M. A new method for estimating the freshness of fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. V. 24, p. 749-750, 1956.
- SHIRAI, T., ONODERA, M., SAITO, S., OGAWA, M., CARVALHO, N., L., A., SUZUKI, T., HIRANO, T. Free Amino Acids, Creatina, ATP Related Compounds, Trimethylamine Oxide, and Inorganic Ions of the Muscle Extract of Fishes Caught in the Amazon River. Fisheries Science. V. 64 N. (4). Japan, p. 569-573, 1998.
- SIKORSKI, Z, E. Tecnología de los Productos del Mar: Recursos, Composición Nutritiva y Conservación. Editota Acribia, España, p. 330, 1994.
- TAVARES, M., AUED, S., BACETTI, L. B., ZAMBONI, C. Q. Métodos Sensoriais, Físicos e Químicos para Análise de Pescado. In. Controle de Qualidade de Pescado (Ed. ITAL, SBCTA, UniSantos) Editora Leopoldianum, Santos, SP, p.303, 1988.
- UCHIYAMA, H.; KOBAYASHI, H. – II – Suisan Shokuhingaku jikkensho. 3 – Gyoruisseisendo no column chromatography ni yoru Kanihantei, p.269-274. In: SAITO, T.; UCHIYAMA, H.; UMEMOTO, S.; KAWABATA, T. Suisan Seibutsukagaku Shokuhin Jikkensho. Koseisha – Koseikaku, Tokyo, p. 509, 1974.
- WOYEWODA, A. D.; SHAW, S. J. KE, P. J. ; BURNS, B. G. Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality. Canadian Technical Report of Fishenes and Aquatic Sciences N° 1448. Canada, p.143, 1986.

7- ANEXOS:**ANEXO 1- Método de Dyer -TMA**

Fonte: Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality
A.D. Woyeoda, S.J. Shaw, P.J. Ke & B.G. Burns.

Aplicação: O método do ácido pícrico é aplicável a todas as espécies marinhas contendo o percursor OTMA para estimação da deterioração bacteriana. Entretanto, a correlação da TMA com a qualidade organoléptica irá variar com espécie, estação do ano e estoque. Quando a amostra for estocada congelada por períodos extensos, o procedimento simultâneo TMA/ DMA deverá ser aplicado para excluir a interferência da DMA.

Princípio: O extrato de TCA obtido do peixe reage com ácido pícrico para produzir um picrato altamente colorido. Formaldeído é adicionado nas análises para fixar a amônia e monometilaminas presentes e somente a TMA ser extraída com tolueno. Adição de um álcali (KOH 25%) facilita a extração da amina para a fase de tolueno com subsequente formação de picrato. Através da medida da absorbância a 410nm, a TMA pode ser quantificada.

Precauções:

1. Uma adequada agitação/rotação é importante: Desvio no procedimento pode alterar a curva padrão;
2. A temperatura durante a mistura e agitação das soluções do extrato de TCA, formaldeído, álcali, e tolueno deverá ser mantida a 30° C para proporcionar reproduzibilidade. Um banho-maria nessa temperatura deverá estar disponível;
3. Secar somente uma pequena quantidade de ácido pícrico por uso. O ácido pícrico poderá explodir se sujeito a choque ou calor quando no estado seco;

4. Secar tolueno com Na_2SO_4 ;
5. O reagente ácido pícrico deverá ser adicionado em tubos de ensaio limpos e secos uma vez que o método é sensível a água e outros contaminantes;
6. Se a amostra tiver sido estocada por períodos longos ou temperatura aceleradora da produção de DMA, o procedimento simultâneo DMA/TMA deverá ser aplicado para compensar a interferência da DMA;
7. Manter as amostras resfriadas para minimizar posterior produção de TMA;
8. Extratos de TCA são estáveis em estocagem congelada;
9. Se ácido perclórico (6%) é usado para extração, os extratos devem ser cuidadosamente neutralizados para pH 6,8 exatamente na hora de usar. Tomar cuidado no uso de ácido perclórico.

Reagentes:

- a) Formalina 10%- preparar 500ml e neutralizar com MgCO_3 . Filtrar em papel filtro. PH final: 7,0-8,0;
- b) Tolueno- desidratar com Na_2SO_4 ;
- c) KOH 25%-500ml;
- d) Ácido pícrico 0,02% em tolueno desidratado. Prepara-se uma solução estoque de ácido picrino 2% em tolueno desidratado e deixa em geladeira. Diluir para 0,02% na hora da análise.
- e) Cloridrato de trimetilamina (TMA-HCl).

Preparação do extrato:

- 1) Homogeneizar 50 g de amostra com 100ml de TCA 7,5% (extração 1:2);
- 2) Centrifugar a 4°C por 15 minutos a 2000G (4000rpm) ou deixar decantar e filtrar através de papel de filtro Whatman # 4.

Solução padrão de TMA

- 1) Recrystalizar TMA_HCl 2 vezes com álcool etílico e dessecar a vácuo.
- 2) Pesar 0,682g;
- 3) Adicionar 1ml de HCl concentrado;
- 4) Completar o volume para 100ml de água destilada;
- 5) 1ml desta solução (4) contém 1mg de N-TMA;
- 6) Retirar 1ml de (5), adicionar 1ml de HCl concentrado. Completar o volume para 100ml com água destilada.

1ml desta solução = 10y N-TMA

Curva padrão de TMA

Procedimento

- 1)Retirar alíquotas de 0,1 a 4 ml de extrato para um funil de separação;
- 2)Completar o volume para 4ml de água destilada;
- 3)Adicionar 1ml de formaldeído, 10ml de tolueno desidratado e 3ml de KOH a 25% e misturar;
- 4)Repousar por 10 minutos a 30°C;
- 5)Agitar bem por 1 minuto;
- 6)Deixar em repouso para separação das camadas (mais ou menos 5 minutos ao ambiente);
- 7)Retirar a camada superior (tolueno) para um tubo de ensaio contendo Na₂SO₄ anidro e agitar bem;
- 8)Pipetar 5ml de (9) para um tubo de ensaio seco e adicionar 5ml de ácido pícrico 0,02% e misturar agitando-se os tubos;
- 9)Ler a absorbância a 410nm.

Branco: Usar 4ml de TCA 4% em substituição à amostra.

Determinação de N-TMA pelo método de Dyer (do livro Marine Products – Japão)

O método de Dyer foi modificado por Shewan *et al.* (1969) e está descrito abaixo.

Formaldeído é adicionado ao extrato do músculo em TCA para fixar alguma amônia presente, e o TMA na solução amostra é extraído com tolueno. Uma cor amarela é desenvolvida pela reação da TMA com o ácido pícrico e o TMA sendo determinado colorimetricamente. Dyer *et al.* empregaram bicarbonato de potássio como agente alcalino que foi usado para liberar TMA do extrato. Shewan *et al.*, entretanto, indicam o uso de hidróxido de potássio 45% como agente alcalino. O objetivo dessa modificação foi de eliminar o efeito da DMA que ocorre no músculo de peixe. De acordo com eles, hidróxido de potássio deu melhor concordância com o método de Conway de acordo também com Hashimoto *et al.* (1957). O uso de hidróxido de potássio a 45% apresentou resultados superiores àqueles obtidos por Hashimoto *et al.* (1957) que usaram hidróxido de potássio 25%.

Reagentes

Os seguintes reagentes são usados: formaldeído 10%, tolueno, hidróxido de potássio 45%, solução de ácido pícrico em tolueno 0,02% e sulfato de sódio anidro.

Procedimento

Pipetar 5 mL do extrato do músculo em TCA em um funil de separação e 1 mL de formaldeído 10%, 10 mL de tolueno, e 3 mL de hidróxido de potássio a 45% são adicionados ao extrato nessa ordem. A mistura é vigorosamente agitada manualmente 60 vezes. Deixar um tempo em repouso para permitir a completa separação das fases de tolueno e aquosa. Tomar aproximadamente 7 mL da fase de tolueno, camada superior, para um tubo de ensaio e adicionar um pouco (~1g) de sulfato de sódio anidro, e agitar. Um volume de 5 mL da fase de tolueno assim tratada é transferido para outro tubo de ensaio e adicionado 5 mL da solução de ácido pícrico e a subsequente cor desenvolvida é estimada colorimetricamente. A

densidade ótica é medida a 410 nm relativa ao branco ao qual TCA 5% foi adicionado ao invés do extrato. Antes da análise das amostras, uma curva padrão de calibração deve ser construída. O conteúdo de TMA na amostra é calculado usando-se a seguinte fórmula:

$$\text{TMA} = (X - b) \cdot K (\text{mg}\%)$$

Onde X é a densidade ótica da solução amostra a 410 nm; K, uma constante, a quantidade de TMA por unidade de densidade ótica que foi obtida da curva padrão.

ANEXO 2 – Valor de K

Reagentes:

- 1- PCA 10%- 500ml
 - 2- PCA 5%- 500ml
- Obs.: 1 e 2 em vidro âmbar e mantidos a 5°C
- 3- KOH 10N – 1L
 - 4- PCA 6 % neutro – 1L
 - 5- Ajustar o pH para 6,5 com KOH 10 N (mais ou menos 20 gotas) até pH 3 e continuar com KOH 1N até pH 6,5 - 6,8 (mais ou menos 10 gotas).

Preparação da Resina

1. 50g de resina Dowex 1 x 4 Cl⁻
2. Lavar (1) com 300ml de acetona. Repousar por 25 minutos;
3. Filtrar para retirar a acetona usando um funil de Büchner;
4. Lavar a resina com 300ml de água bidestilada;
5. Passar a resina para um Becker de 1000ml;
6. Adicionar 600ml de NaOH 1N, mexer e deixar repousar por 40 minutos;
7. Filtrar com funil de Büchner;
8. Lavar a resina com 300ml de água bidestilada
9. Passar a resina para um Becker de 1000ml;
10. Adicionar 600ml de água bidestilada a mexer e mexer e repousar por 6 minutos.
Filtrar e desprezar o sobrenadante;
11. Repetir até ficar neutro;
12. Adicionar 600ml HCl 1N. Repousar por 40 minutos;
13. Filtrar com funil de Büchner;
14. Lavar com água bidestilada até água que passe fique com pH neutro;
15. Manter a resina com água bidestilada em geladeira.

Preparo de soluções eluentes:

- Solução A: HCl 0,001N (HCl a 37%, d = 1,19, retirar 0,083ml e completar para 1L com água bidestilada)
- Solução B: NaCl 0,6 M contendo HCl 0,01N (pesar 35,06g de NaCl e medir 0,83ml de HCl, dissolver e completar para 1L com água bidestilada)
- Amônia líquida 0,5 M para ajustar o pH do extrato neutralizado para pH 9,4

Solução A- para extração de Hx e HxR

Solução B- para extração ATP, ADP, AMP e IMP

Preparação do extração:

Obs.: Todo material usado deve ser resfriado.

1. 1g de músculo, homogeneizado em temperatura fria, em um tubo de centrifuga de 10ml com 2ml de PCA a 10%;
2. Centrifugar a 3000 rpm durante 3 minutos;
3. Decantar o sobrenadante em um Becker de 30ml e o resíduo é lavado com 2ml de PCA a 5% e recentrifugar. Esta operação é repetida 2 vezes. Os sobrenadantes são juntados em um Becker de 30ml;
4. Neutralizar o extrato com KOH 10N usando 20 a 23 gotas até pH 3. Continuar com KOH 1N com 8 – 10 gotas até pH 6,5 – 6,8
5. Centrifugar o extrato neutro. Passar o sobrenadante para um balão volumétrico de 10ml. O precipitado de perclorato de potássio é lavado com 2ml de PCA 5% neutro. Esta operação é repetida mais uma vez usando somente 1,5ml de PCA neutro. Os extratos devem ser mantidos a 5°C.

Preparação da coluna

1. A resina lavada é colocada na coluna até uma altura de 5cm. É derramada lentamente pelas paredes da coluna para evitar bolhas de ar entre as partículas de resina;

2. Se a coluna não for usada logo, é conveniente estocá-la em um refrigerador a 5°C após seu topo e extremidade serem vedadas com parafina ou bolhas de borracha.

Processo de separação de HxR e Hx

1. Colocar 2ml do extrato neutralizado em um Becker de 20ml e ajustar o pH para 9,8 com algumas gotas de amônia líquida 0,5M;
2. Colocar na coluna já preparada. Lavar o Becker com mais ou menos 2ml de água deionizada ajustada para pH 9,4. Lavar também a coluna;
3. Conectar o funil de separação na coluna quando o menisco da solução amostra estiver chegando no topo da resina. Despejar 20ml de água deionizada;
4. Colocar 45ml de solução A no funil de separação, gotejando continuamente para a coluna (1ml/min). Recolher em um balão de 50ml;
5. Quando o menisco da solução A estiver no topo da resina, colocar 45ml da solução B no funil de separação;
6. Operar do mesmo modo que a anterior, usando outro balão de 50ml;
7. Os eluídos A e B recolhidos são completados para 50ml com as respectivas soluções A e B.

*Recuperação da resina:

1. lavar a resina com 200 a 300ml de solução B;
2. Lavar com água destilada até ficar com o mesmo pH da água.

Cálculos:

O valor de K pode ser calculado pela seguinte fórmula:

$$K = (E_{250\text{nm}} \text{ A} / E_{250\text{nm}} \text{ A} + E_{250\text{nm}} \text{ B}) \times 100 (\%)$$

onde, $E_{250\text{nm}}$ A e $E_{250\text{nm}}$ B são as densidades óticas a 250 nm das frações da solução A e B, respectivamente.

ANEXO 3 - N-BVT Método de microdifusão de Conway

Medição de BVT-N

Bases voláteis incluem compostos como amônia, produtos da decomposição de aminoácidos em músculo de peixes, e N-TMA. A medição de N-BVT é um dos métodos que tem sido mais utilizado ultimamente para a estimativa do frescor bacteriano em pescado e pode ser classificado em dois métodos: destilação e o método de micro difusão. O método de micro-difusão está descrito abaixo.

Preparação do extrato

Homogeneizar em gral, 2 g de músculo de peixe com 10 mL de TCA 5 %. Deixar em repouso por 30 min na temperatura ambiente. Se a temperatura ambiente for mais alta do que 30°C, deve-se usar um gral resfriado com gelo, pois em temperaturas mais altas, as ligações amida no músculo do peixe são decompostas pelo TCA usado, e as bases convertidas irão interferir. O homogenato é filtrado com papel de filtro, e o filtrado é estocado a – 20°C para posteriores análises.

Material

Placas de Conway de vidro são usadas no procedimento. A placa de 75 mm de diâmetro, 15- 20mm de profundidade com 10 mm de altura são comercialmente disponíveis. A placa consiste do disco e sua tampa, e uma braçadeira de aço que é usada para prender a tampa no disco e evitar troca de ar.

Cola

Três gramas de goma “tragacanth” são dissolvidas em 30 mL de água desionizada e misturadas com 15 mL de glicerina e 15 mL de bicarbonato de potássio saturado a 50%. A mistura é agitada.

Reagentes:

Indicador – Dissolver 0,1 g de verde de bromocresol e 0,2 g de vermelho de etila em álcool etílico e completar o volume para 100mL com álcool etílico.

Indicador contendo ácido bórico

10 g de ácido bórico, 200 mL de álcool etílico e 10 mL do indicador descrito antes são misturados, e o volume final é completado para 1 L com água desionizada.

Bicarbonato de potássio – preparar uma solução saturada de bicarbonato de K

Procedimento:

Uma pequena porção de cola é aplicada uniformemente na tampa para vedar a placa. 1 mL do indicador contendo ácido bórico é pipetado dentro do círculo interno (A) e a amostra pipetada no círculo externo (B). A tampa é fixada na placa.

Levantar um pouco a tampa e adicionar 1 mL de bicarbonato de sódio saturado no círculo externo (B) e tampar imediatamente. O disco é fixado com uma braçadeira de aço descrito anteriormente. Sendo voláteis sob condições alcalinas, as base na solução amostra são absorvidas no ácido bórico no círculo interno. Deve-se tomar cuidado ao colocar a solução alcalina no anel externo para evitar contaminar a solução de ácido bórico. A amostra e o bicarbonato de potássio no anel externo são misturados por rotação da placa. No branco, a amostra é substituída por TCA. As placas são mantidas a 37°C for 90 min e tituladas como a seguir:

A microbureta horizontal da 11 é usada para titulação. O ácido bórico no anel interno é titulado com ácido clorídrico 1/50 N misturando-se com um bastão de vidro até a cor verde do indicador desaparecer.

Cálculos:

A quantidade de N-BVT é calculada a partir da fórmula:

$$\text{BVT-N} = (X - b) \times 0,28 \times \text{a razão da diluição da amostra},$$

onde (X) é a quantidade (mL) de ácido clorídrico utilizado na titulação; (b) é o volume de HCl gasto no branco (mL); 0,28 é a quantidade de nitrogênio da amônia equivalente a 1 mL de ácido clorídrico 1/50 N, e a razão da diluição é a razão da quantidade (g) da amostra usada por 100g de músculo. Duas determinações são feitas para uma amostra. Após confirmar que os dois valores obtidos são similares, o valor médio é calculado.