

**AÇÃO SANIFICANTE DO  
DICLOROISOCIANURATO DE SÓDIO,  
OZÔNIO E ULTRA-SOM EM FILÉS DE  
TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)**

**NELMA DE MELLO SILVA OLIVEIRA**

**2005**

**NELMA DE MELLO SILVA OLIVEIRA**

**AÇÃO SANIFICANTE DO  
DICLOROISOCIANURATO DE SÓDIO,  
OZÔNIO E ULTRA-SOM EM FILÉS DE  
TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Doutor”.

**Orientadora**  
**Profa. Dra. Maria Cristina Bressan**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS - BRASIL**  
**2005**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Oliveira, Nelma de Mello Silva

Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) / Nelma de Mello Silva Oliveira. -- Lavras : UFLA, 2005.

156p. : il.

Orientadora: Maria Cristina Bressan.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Tilápia. 2. *Oreochromis niloticus*. 3. Ozônio. 4. Ultra-som. 5. Sanificante. 6. Dicloroisocianurato de sódio. 7. Microbiota de pescado. 8. Propriedade físico-química de pescado. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-639.3758



## DEDICATÓRIA

A minha querida avó Zilda que sempre, com toda paciência, amor e orações, esteve presente em minha vida.

Aos meus pais, Nelmo (*in memoria*) e Marilene, por todo apoio incondicional, ajuda e incentivos constantes que me foram dados durante esta caminhada.

Ao meu esposo, Wilson, pelo apoio, estímulo e compreensão nos momentos mais difíceis da caminhada.

Aos meus filhos muito amados, Clara, Lucas e Júlia, que foram privados de muitos momentos de atenção, carinho e amor de minha parte, para que eu conseguisse concluir esta etapa.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado o dom da vida e todas as maravilhas que me proporcionou.

À minha orientadora, Professora Dra. Maria Cristina Bressan, que me ajudou na formação pós-acadêmica e na conclusão deste trabalho.

Ao Professor Dr. João Evangelista Fiorini, meu co-orientador e amigo, por sua dedicação, amizade, paciência, ajuda no desenvolvimento deste trabalho e por todas as palavras carinhosas a mim dirigidas nesse tempo todo de nossa convivência. O meu sincero agradecimento.

Ao grande amigo Luiz Carlos, que esteve presente em todos os momentos dessa caminhada, pela sua bondade e ajuda incondicional em todas as etapas de produção técnica e gráfica deste trabalho.

Aos meus queridos amigos, Daniel, Maria e Fátima, que me acompanharam e ajudaram no desenvolvimento desse trabalho e, sem os quais, eu não teria conseguido.

Aos amigos sinceros Josye, Xisto, Peter, Sibebe e Érika, que fiz na UFLA, que também contribuíram para o bom andamento deste trabalho.

Aos professores Dra. Roberta H. P. do Valle e Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima, pela ajuda e apoio a mim dedicados.

À minha cunhada Dacha, por tantas revisões gramaticais feitas no trabalho.

À minha amiga Marta Conde, por sua ajuda inestimável nas traduções inglês/português/inglês e por todo apoio que me foi dado.

Às professoras, Dra. Sandra M. O. M. Veiga e Dra. Priscila Vieira Rosa Logato, pela atenção a mim dispensada nos momentos solicitados.

Aos meus compadres, Karin, Thales, Selma e Washington, que acreditaram e rezaram por mim.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade do desenvolvimento deste programa.

À Universidade José do Rosário Velloso (UNIFENAS), por disponibilizar suas dependências e equipamentos essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

À White Martins Gases Industriais S.A. e seus funcionários, pelo apoio técnico, equipamentos e insumos fornecidos para o desenvolvimento deste projeto.

À CAPES, pelo apoio financeiro que ajudou a viabilizar o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para o meu crescimento pessoal e científico.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	ii
ABSTRACT .....	iii
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 Tilápia.....	5
2.2 Aspectos gerais da sanificação.....	6
2.3 Sanificantes.....	10
2.3.1 Cloro.....	10
2.3.2 Ozônio.....	12
2.3.3 Ultra-som.....	14
2.4 Alterações microbiológicas.....	15
2.5 Alterações físicas e químicas da carne.....	17
2.6 Propriedades sensoriais.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO 2.....	31
1 RESUMO.....	32
2 ABSTRACT .....	33
3 INTRODUÇÃO.....	34
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 Material experimental.....	37
4.2 Tratamentos.....	37
4.2.1 Sistema de cloração.....	38
4.2.2 Sistema de ozonização.....	39
4.3 Composição centesimal.....	40
4.4 Perfil de ácidos graxos (AG).....	40
4.5 Colesterol.....	41
4.6 Índice de peróxido.....	42
4.7 Análise estatística.....	43
5 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	44

5.1 Composição centesimal .....	44
5.2 Umidade.....	44
5.3 Proteína .....	46
5.4 Lipídios .....	47
5.5 Cinzas .....	47
5.6 Perfil de ácidos graxos (AG).....	48
5.7 Teor de colesterol e índice de peróxido .....	54
5.7.1 Teor de colesterol.....	54
5.7.2 Índices de peróxidos .....	55
6 CONCLUSÕES .....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
CAPÍTULO 3.....	67
1 RESUMO.....	68
2 ABSTRACT .....	69
3 INTRODUÇÃO .....	70
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	74
4.1 Material experimental .....	74
4.2 Tratamentos .....	74
4.2.1 Sistema de cloração .....	75
4.2.2 Sistema de ozonização .....	76
4.3 Avaliações físico-químicas .....	77
4.3.1 Medida de pH.....	77
4.3.2 Perda de peso por cozimento (PPC).....	77
4.3.3 Cor (Sistema CIELAB).....	78
4.4 Avaliação sensorial .....	78
4.5 Análise estatística .....	79
5 RESULTADO E DISCUSSÃO .....	80
5.1 Parâmetros físico-químicos.....	80
5.1.1 pH .....	80
5.1.2 Perda de peso por cozimento (PPC).....	81
5.1.3 Cor .....	83
5.2 Análise sensorial.....	86
5.2.1 Carne crua .....	86
5.2.2 Filé cozido.....	87
6 CONCLUSÕES .....	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	90
CAPÍTULO 4.....	97

1 RESUMO.....	98
2 ABSTRACT .....	99
3 INTRODUÇÃO.....	100
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	104
4.1 Material experimental.....	104
4.2 Tratamentos .....	104
4.3 Condições de elaboração experimental.....	105
4.3.1 Sistema de cloro.....	105
4.3.2 Sistema de ozonização .....	106
4.3.3 Pontos de controle dos tratamentos.....	107
4.3.4 Manutenção das amostras ao término dos tratamentos.....	107
4.4 Análises microbiológicas.....	107
4.4.1 Preparo de amostras para a análise pela técnica da “lavagem superficial”.....	108
4.4.2 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas, <i>Staphylococcus</i> sp, de fungos e leveduras.....	108
4.4.3 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> .....	110
4.4.4 Pesquisa de <i>Salmonella</i> spp.....	110
4.4.5 Pesquisa de <i>Pseudomonas</i> spp.....	111
4.4.6 Isolamento de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	112
5 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	113
5.1 Contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios .....	113
5.2 Contagem de microrganismos psicrotróficos.....	117
5.3 Contagem de fungos filamentosos e leveduras.....	120
5.4 Contagem de coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> .....	122
5.5 Estafilococos coagulase positiva.....	126
5.6 <i>Salmonella</i> sp.....	128
5.7 <i>Pseudomonas</i> sp.....	131
5.8 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	133
5.9 Vida de prateleira.....	133
6 CONCLUSÕES .....	136
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	137
ANEXOS .....	144

## RESUMO

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. **Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*).** 2005. 156p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

A alimentação saudável é uma preocupação para a população consciente. Nesse aspecto, a carne de peixe tornou-se uma opção satisfatória, por ser constituída de proteína de alto valor biológico e de gorduras polinsaturadas. Entretanto, esse alimento é facilmente deteriorável por sua constituição química, atividade de água e pH próximo da neutralidade. Tal alteração ocorre devido à contaminação microbiana, autólise e oxidação das gorduras que levam à diminuição da vida de prateleira. Pela necessidade de uma segurança na cadeia produtiva de alimentos, tornou-se imprescindível a redução dos níveis de agentes bacterianos indesejáveis e a eliminação de patógenos. As técnicas de intervenções múltiplas podem prover uma maior barreira à sobrevivência e proliferação microbiana. A presente pesquisa foi realizada na Universidade Federal de Lavras em conjunto com a Universidade de Alfenas, Mg, Brasil. Os efeitos da desinfecção microbiológica e possíveis conseqüências nos parâmetros físico-químicos e sensoriais foram estudados em filés de tilápia após aplicação dos tratamentos: de água clorada (dicloroisocianurato de sódio – 3,0 a 3,5 mg/L) (T1); água clorada associada ao ultra-som (T2); água ozonizada (3,0 a 3,5 mg/L) (T3); e água ozonizada associada ao ultra-som (T4) controle (T5). Os filés foram tratados por imersão nas soluções por 20 minutos. Observou-se, no 14º dia, que T4 (5,34 log<sub>10</sub> UFC/g) foi o mais eficiente na redução da microbiota presente nos filés quando comparado ao controle (6,40 log<sub>10</sub>UFC/g) favorecendo o aumento da vida de prateleira. Os tratamentos afetaram (P<0,05) a composição centesimal. Nos filés do T4, ocorreu uma perda de água (1,83%) e aumento da concentração de proteínas (19,73%) mais acentuada do que nos outros tratamentos. Os ácidos graxos (P<0,05) apresentaram diferença entre os tratamentos, no T4 (C18:3 $\omega$ 3 $\alpha$  de 2,40%; C20:5 $\omega$ 3 de 0,30%; C22:5 $\omega$ 3 de 1,10% e C22:6 $\omega$ 3 de 2,50%) quando comparados ao T5 (C18:3 $\omega$ 3 $\alpha$  de 0,90%; C20:5 $\omega$ 3 de 0,10%; C22:5 $\omega$ 3 de 0,40% e C22:6 $\omega$ 3 de 0,80%). As médias de pH 28 h *post mortem* variaram de 6,25 a 6,31, sem influência dos sanficantes. Os percentuais de perda de peso por cozimento apresentaram uma variação média de 21% a 29%. Na análise da cor, houve diferença no componente L\*(luminosidade), tendo em T4 apresentado valor médio (45,03) diferente do T5 (41,94). O componente a\* (cor vermelha) não apresentou diferença mediante os tratamentos com os valores de 1,67; 2,23; 1,96; 1,87 e 2,37, para T1, T2, T3, T4

e T5, respectivamente. O teor amarelo ( $b^*$ ) variou ( $p < 0,05\%$ ), sendo T2 (-1,88) diferente de T4 (-0,95) e ambos semelhantes ao controle T5 (-1,64). No T5 obteve-se o maior valor médio para teor amarelo. As aplicações dos sanificantes alteraram o brilho superficial e o teor de amarelo dos filés de tilápia tratados. Nas condições experimentais utilizadas, a água ozonizada associada ao ultrassom mostrou-se mais eficaz em reduzir os microrganismos patogênicos e deteriorantes; os filés submetidos a esse ensaio foram considerados deteriorados após o 14º dia de estocagem refrigerada ( $1,5^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ ). Os tratamentos utilizados interferiram na composição centesimal e no perfil de ácidos graxos.

Termos para indexação: tilápia, filés de tilápia, proliferação microbiana, sanificantes, propriedades físico-químicas, análise sensorial.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. **Effect of sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultrasound in Nile tilapia filets (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. 156p. Thesis (Doctorate in Food Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

The healthy feeding is a concern for the conscious population. In this aspect, the fish meat became a satisfactory option due its natural constitution by high biological values of protein and polyunsaturated fatty. However, that food is easily deteriorated due its chemical constitution, activity of water and pH almost on the neutrality. Such alteration happens due to the microbial contamination, autolysis and oxidation of the fats taking this food to a decreasing shelf life. For the need of a safety in the productive chain of foods, it is indispensable the reduction of the undesirable bacterial agents' levels and the pathogens elimination. The techniques of multiple interventions can provide a larger barrier to the survival and microbial proliferation. This present research was realized in Universidade Federal de Lavras, Lavras and Universidade de Alfenas, Alfenas, MG, Brazil, to evaluate the effects in reduction of microbial load and possible consequences in the physiochemical and sensorial parameters were studied in tilapias' filets after application of the treatments: chlorinated water (sodium of dichloroisocyanurate - 3,0 to 3,5 mg/L) (T1); chlorinated water associated to the ultrasound (T2); water ozonated (3,0 to 3,5 mg/L) (T3); and water ozonated associated to the ultrasound (T4) it controls (T5). The filets were treated by immersion in the solutions, pH 6,0, at 5°C, for 20 minutes. It was observed, in the 14th day, that T4 (5,34 log<sub>10</sub> UFC/g) was the most efficient in the reduction of the present microflora in the filets when compared to the control (6,40 log<sub>10</sub>UFC/g) favoring the increase of the shelf-life. The treatments affected the centesimal composition. In the filets of T4, it occurred a loss of water (1,83%) and increase of the concentration of proteins (19,73%) more accentuated than other treatments. The fatty acids composition was different among the treatments, in T4 (C18:3 $\omega$ 3a of 2,40%; C20:5 $\omega$ 3 of 0,30%; C22:5 $\omega$ 3 of 1,10% and C22:6 $\omega$ 3 2, 50%) when compared to T5 (C18:3 $\omega$ 3a of 0,90%; C20:5 $\omega$ 3 of 0,10%; C22:5 $\omega$ 3 of 0,40% and C22:6 $\omega$ 3 of 0,80%). The pH averages 28 h *post mortem*, varied from 6,25 to 6,31, without influence of sanitizers. The percentile of weight loss for cooking presented a variation from 21% to 29%. There was difference in the component L\*(luminosity), in the analysis of the color, and T4 presented medium value (45,03) different from T5 (41,94). The component the a\* (red color) does not showed difference among treatments, with values of 1,67; 2,23; 1,96; 1,87; 2,37 for T1, T2, T3, T4 and T5 respectively. The yellow tenor (b \*) varied, being T2 (-1,88) different from T4 (-

0,95) and both similar to control T5 (-1,64). In T5 was obtained the largest medium value for yellow tenor. The applications of the sanitizers altered the superficial shine and the tenor of yellow of the treated filets. In experimental conditions, the ozonated water, associated to the ultrasound was more effective in reducing the pathogenic and deteriorative microorganisms. The shelf-life of the filets of this research was 14 day on refrigerated conditions ( $1,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). The used treatments interfered in the centesimal composition and in the profile of fatty acids. In conclusions, the centesimal composition and fatty acids profile were affect by treatments used in this research.

Keywords:, tilápia's filets, microflora proliferation, sanitizers, physiochemical properties, sensorial analysis.

## **CAPÍTULO 1**

### **AÇÃO SANIFICANTE DO DICLOROISOCIANURATO DE SÓDIO, OZÔNIO E ULTRA-SOM EM FILÉS DE TILÁPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Em muitas regiões do mundo, o pescado faz parte, desde há muito, da dieta alimentar e representa, em alguns países, a principal fonte de proteínas de origem animal. Atualmente, um número cada vez maior de pessoas dá a sua preferência ao peixe como uma alternativa saudável de carne. O baixo teor em gordura de muitas espécies de peixe (peixes magros, espécies demersais) e os efeitos dos ácidos graxos polinsaturados da série  $\omega$ -3 que se encontram nas espécies gordas (pelágicas) sobre doenças das coronárias são aspectos extremamente importantes para as pessoas que se preocupam com os aspectos da saúde, em particular nos países desenvolvidos, onde a mortalidade por doença cardiovascular é elevada. Contudo, o consumo de peixe pode também causar doenças devido a infecções ou intoxicações alimentares. Algumas dessas doenças têm sido especificamente associadas ao consumo de pescado.

A tilápia vem se mostrando uma ótima alternativa para a piscicultura de água doce. A expansão do cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), deve-se ao ótimo desempenho, alta rusticidade, facilidade de obtenção de alevinos, adaptabilidade aos diversos sistemas de criação, grande aceitação no mercado de lazer (pesque-pague) e alimentício (frigoríficos), pelas qualidades nutritivas e organolépticas do seu filé (Boari, 2004; Meurer et al., 2003).

A carne de peixe é a mais susceptível à deterioração, em virtude de sua composição química, teor de gorduras insaturadas, atividade de água e pH próximo da neutralidade (6,0 – 6,5). Tal alteração ocorre devido à multiplicação de microrganismos, autólise e oxidação das gorduras que levam à diminuição da vida de prateleira do alimento. Além disso, a contaminação pode ser a responsável por perdas econômicas, quando associada aos problemas ligados à saúde do consumidor, devido à ingestão de alimentos contaminados por

bactérias patogênicas ou toxinas produzidas por elas.

Os principais agentes implicados na deterioração desse alimento são dos gêneros *Pseudomonas* e *Shewanella*, responsáveis pelas alterações organolépticas, devido à formação de trimetilamina, ésteres, substâncias voláteis reductoras e outros compostos com aroma pronunciado. As espécies principais envolvidas no processo são *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragil*, *Shewanella putrefaciens*. Esses gêneros são importantes, devido à sua natureza psicotrófica e à capacidade em utilizar, para o seu desenvolvimento, substâncias nitrogenadas não-protéicas.

A higiene da carcaça de animais tem sido uma preocupação para a indústria de processamento de carne. Todavia, casos fatais de doenças causadas por patógenos como *Escherichia coli* têm sido menos freqüentes e a implementação de métodos de Boas Práticas de Fabricação e as reduções de patógenos têm sido intensificadas. Conseqüentemente, procedimentos de descontaminações de carcaças que venham a minimizar os riscos de patologias causadas por bactérias em produtos de carnes cruas contaminadas estão sendo mais investigados e utilizados pela indústria de carnes em geral.

Entretanto, agentes patogênicos ao homem podem instalar-se no trato intestinal de animais de sangue quente, como *Salmonella*, que teve sua ocorrência confirmada no trato intestinal de tilápia pela contaminação da água, podendo, inclusive, estar presente no produto final. A microbiota intestinal dos peixes pode estar relacionada à água dos tanques e à ração fornecida, as quais podem conter Enterobacteriaceas, *Aeromonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Micrococcus*, entre outros agentes, que poderão estar presentes na carne de peixe (Boari, 2004; Sousa et al., 1996; Langoni et al., 2000).

A vida útil do pescado é determinada pelas reações enzimáticas, pelo número e espécies de microrganismos presentes (fatores dependentes de sua microbiota natural e do seu manuseio desde sua captura até sua estocagem) e

pela temperatura envolvida nas diversas etapas de obtenção do produto, desde a captura até o varejo. As medidas adotadas para reduzir a ação desses fatores manterão a qualidade do produto de forma a cumprir os prazos de garantia de qualidade e determinarão a efetividade dos procedimentos padrões de higiene, bem como a eficiência da sanificação da indústria e controle de qualidade. Parâmetros físico-químicos, como textura, coloração e pH, podem também indicar a qualidade do peixe. Essa carne, considerada um alimento de alto valor nutritivo, necessita de um maior período de conservação.

Formas adicionais utilizadas para reduzir a contagem inicial de microrganismos em superfícies de carne, em instalações e equipamentos de indústrias de alimentos, são: métodos químicos, pelo uso de cloro, hipoclorito de sódio, compostos quaternários de amônio, fosfato trissódico, dióxido de cloro, ácido láctico, ácido acético glacial, glutaraldeído e ozônio, entre outros e métodos físicos, como calor, radiação ultravioleta e gama, água pressurizada, vácuo, atmosfera modificada e ultra-som.

Alguns agentes de sanificação, como os ácidos orgânicos, podem eliminar microrganismos em superfícies de carnes. Os agentes contaminantes da superfície da carne durante o abate podem ser eliminados por sanificação com agentes físicos ou químicos.

Esta investigação científica teve o objetivo de avaliar a atividade dos sanificantes ozônio e dicloroisocianurato de sódio, ambos dissolvidos na água, com ou sem associação do ultra-som para uso em filés de peixe, em relação às características microbiológicas (bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas, bolores e leveduras, estafilococos coagulase positiva e a presença de *Salmonella* sp, *Pseudomonas* sp, *Listeria monocitogens* e vida de prateleira), características físico-químicas (cor, pH e perda de peso por cozimento e análise sensorial) e composição química (umidade, proteína, lipídios e cinzas), perfil lipídico, colesterol e índice de peróxido.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Tilápia

A tilápia tem boas características zootécnicas, de hábito alimentar fitoplanctófago, alimentando-se, principalmente, de algas clorofíceas (Chellappa et al., 1996), mas aceita qualquer outro tipo de alimento (onívoras), o que facilita o seu cultivo. São bastante resistentes às doenças, superpovoamentos e baixos teores de oxigênio dissolvidos na água; desovam durante todo ano nas regiões mais quentes do país. As qualidades de sua carne tornam-na aptas ao processamento industrial e muito bem aceita pelo mercado consumidor (Toyama et al., 2000). Essas características contribuem para o aumento verificado na produção mundial da espécie.

Quanto à musculatura, Ogawa (1999) afirma que os peixes podem ser divididos em dois grupos principais: músculo ordinário ou branco e músculo escuro ou sangüíneo. Os músculos brancos compreendem à maioria da musculatura do corpo; já os músculos escuros, subcutâneos, estão localizados periféricamente ao longo do eixo central do corpo do animal e sua concentração aumenta em direção à cauda do peixe.

As tilápias possuem boas características sensoriais e nutricionais (Boari, 2004), tais como carne de cor branca, textura firme, aspecto suculento, sabor apreciável, baixo teor de gordura e de calorias, ausência de espinhos intramuscular e rendimento de filé de aproximadamente 35% a 40%, em exemplares com peso médio de 450g, o que as potencializa como peixes para industrialização, (Proença & Bittencourt, 1994).

No Brasil, uma das alternativas para aumentar a ingestão de AGPI  $\omega$ -3 é a inclusão de peixes de cativeiro de água doce na alimentação. Destacam-se, principalmente, espécies exóticas, como a tilápia (*Oreochromis niloticus*), que

apresenta uma boa aceitação pelo consumidor e, comumente, têm preço relativamente baixo em relação a outros peixes de cativeiro, nativos ou marinhos. No entanto, os ácidos graxos que compõem os lipídios de pescado refletem a variabilidade de ácidos graxos presentes na dieta destas espécies (Henderson & Tocher, 1987). Em pesquisas realizadas no Brasil, foi demonstrado que peixes de cativeiro, alimentados exclusivamente com rações comerciais, apresentaram baixos níveis de AGPI  $\omega$ -3, quando comparados a espécies nativas (Moreira et al., 2001; Maia, 1992). Os baixos teores de AGPI  $\omega$ -3 encontrados nestes peixes podem estar diretamente relacionados aos baixos teores de ácidos graxos da família  $\omega$ -3 existentes nas rações fornecidas.

## **2.2 Aspectos gerais da sanificação**

A indústria de carne continua enfrentando preocupações relativas à higiene e à segurança de seus produtos. Para isso, foi mostrado, e subsequentemente revisado, que o uso de técnica de intervenção única para desinfecção é efetivo para reduzir patógenos que aparecem em carcaças (Dickson & Anderson, 1991; Cutter & Siragusa, 1995).

Os procedimentos de higienização consistem, fundamentalmente, no uso de detergentes e sanificantes. Embora os detergentes diminuam a carga bacteriana das superfícies, o objetivo do seu uso é a remoção de resíduos orgânicos e minerais. A sanificação, que é a última etapa do procedimento de higienização, visa reduzir o número microrganismos alteradores e eliminar agentes patogênicos até níveis seguros, de modo a obter um produto de boa qualidade higiênico-sanitária (Morais et al., 1997).

O cloro é, de longe, o sanificante mais utilizado, mas têm sido utilizados, em alguns casos, cloraminas, dióxido de cloro, ozônio e luz UV. O cloro é barato, encontra-se disponível na maior parte dos locais e o controle dos níveis residuais de cloro livre é simples. É desejável manter no sistema de distribuição

um nível de cloro residual livre de 0,2 a 0,5 mg/L (FAO/WHO, 1984b). As cloraminas são mais estáveis, têm menor efeito bactericida e são menos eficientes contra os parasitas e os vírus do que o cloro. O dióxido de cloro é muito mais microbicida do que o cloro, em especial, para valores de pH elevados, mas, há alguma preocupação quanto aos subprodutos. No caso do ozônio e da luz UV não há nenhum resíduo para controlar. O ozônio parece ser muito eficiente em relação a protozoários. A eficiência da desinfecção por UV diminui substancialmente se houver alguma turbidez ou matéria orgânica em suspensão (Huss, 1997).

O cloro é um agente bactericida amplamente utilizado na indústria de pescados para sanificação de superfícies, utensílios e no tratamento da matéria-prima, para a redução da carga microbiana (Kim et al., 1998). No entanto, concentrações elevadas de cloro podem afetar a qualidade sensorial do produto. A Agência Canadense de Inspeção de Alimentos estabelece o limite de até 10 ppm para soluções que entram em contato direto com o pescado (Prince, 2000). No Brasil, de acordo com o Codex Alimentarius (2000), permite-se até o limite máximo de 10 ppm de cloro residual livre; já o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, recomenda que as indústrias utilizem 5 ppm de cloro na água usada para lavagem de pescados, mas não especifica teores de cloro para o gelo usado na conservação de pescados.

Os compostos dissolvidos na água (dicloroisocianurato de sódio) produzem ácido hipocloroso, HOCl, que é o sanificante ativo que atua por oxidação e é muito instável em soluções ácidas, das quais se liberta o cloro gasoso oxidante. Além disso, as soluções são mais corrosivas a pH baixo (Huss, 1997).

Os compostos ozônio e dióxido de cloro usados como antimicrobianos potenciais causam danos irreversíveis nos ácidos graxos da membrana celular e nas proteínas celulares dos microrganismos (Stivarius et al., 2002).

A redução do número de microrganismos quando se utilizam sanificantes químicos, depende, entre outras coisas, das propriedades microbicidas do agente, da concentração, da temperatura e do pH, bem como do grau de contato entre o sanificante e os microrganismos. Consegue-se um bom contato, por exemplo, por agitação, turbulência (uso de ultra-som) e uma baixa tensão superficial. Os vários microrganismos apresentam resistência diferente aos esterilizantes químicos. A contaminação por matéria inorgânica ou orgânica pode reduzir a eficiência de sanificação consideravelmente. Uma desinfecção eficiente só pode ser obtida depois de uma limpeza adequada (Huss, 1997).

Patterson (1968), utilizando cloro na concentração de 10 a 15 ppm para lavagem de carcaças de frango, seguida de imersão em chiller com 200 a 400 ppm de residual livre de cloro por 4 horas e posteriormente estocadas a 1°C, conseguiu aumento de 20% na vida de prateleira do produto. Emswiler et al. (1976) fizeram imersão de pedaços de carne do mercado varejista em 100, 200, e 400 mg/L de cloro, que apresentaram reduções de 1,45; 1,64; e 1,83 ciclos log respectivamente, depois de 24 horas. Os pesquisadores notaram que cloro de outras fontes, tais como hipoclorito de cálcio e dióxido de cloro, eram menos eficientes. Todavia, Marshall et al. (1977) observaram que reduções em contagens de bactérias mesofílicas aeróbias em carne tratada com jatos de hipoclorito de sódio de fontes comerciais foram significativamente diferentes.

Dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) tem efeito bactericida, é efetivo em presença de matéria orgânica e conserva sua atividade em pH superior a 7,5. Thiessen et al. (1984) verificaram que o dióxido de cloro aplicado na água do pré-chiller em concentrações residuais entre 1,33 a 1,39 mg/L foi efetivo na diminuição do número de salmonelas em carcaças de frango que ficaram em imersão por 20 minutos. Concentrações mais altas (1,39 mg/L) reduziram a contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas, porém, tiveram pouco efeito na população de bactérias mesófilas aeróbias e coliformes.

Ácidos orgânicos, como láctico, acético ou cítrico, foram aplicados a superfícies de carcaças em geral, mostrando a redução de populações de bactérias. Em estudos realizados, foi mostrada a ação sanificante sem interferir nas características físicas, químicas e sensoriais (Cutter & Siragusa, 1995; Ockerman et al., 1974 e Van Netten et al., 1994 citados por Kochevar et al., 1997).

Oetterer (2004) observou, em filés de peixes de água doce tratados por imersão em ácido acético a 1% na proporção de 1,2 kg: 1L de solução por 2 minutos, uma redução do número de microrganismos. A presença de ácido acético na fase logarítmica de crescimento microbiano inibe a proliferação dos mesmos (Mujica, 2000; Boskou & Debevere, 2000).

Segundo Pohlman et al. (2002), utiliza-se a intervenção múltipla de sanificantes para promover barreiras que evitem a sobrevivência e proliferação de microrganismos, atuando com mais eficiência para manter uma boa qualidade microbiológica e sensorial nos alimentos por um período de tempo maior (Rosa, 2004). Um fator importante, quando se usa esse mecanismo múltiplo, é a ordem de aplicação dos tratamentos. Dorsa et al. (1997) relatam que a hidratação de carcaça das diferentes espécies consumidas pelo homem, antes e durante as intervenções com antimicrobianos, promove proteção à bactéria, pois a água causa ou reduz a perda da atividade dos agentes antimicrobianos, possivelmente pela remoção física ou diluição do agente sanificante.

Ellebracht et al. (1999), usando água quente e ácido láctico em aparas de carnes bovinas, alcançaram uma redução de 1,1; 1,8 e 1,5 log UFC/g de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e contagem de bactérias mesófilas aeróbias, respectivamente. No entanto, não é totalmente conhecido o efeito das associações de agentes antimicrobianos (água ozonizada, dióxido de cloro, ácido acético, irradiação), quando usados em tratamentos combinados, sobre a redução microbiana, na cor e características sensoriais da carne.

Sanificação eficiente é importante no aumento da vida de prateleira de alimentos. O aumento da vida útil de carnes frescas permite atingir locais de comercialização mais distantes e aumento do período de exposição nos pontos de venda, diminuindo assim as perdas (Xavier, 1997).

## **2.3 Sanificantes**

### **2.3.1 Cloro**

O controle microbiológico pode ser feito por meio de várias maneiras. Na indústria de alimento, o cloro é um produto muito utilizado pelo seu baixo custo e pelo alto poder bactericida.

O cloro e seus derivados atuam sobre os microrganismos indesejáveis por meio do ácido hipocloroso (HClO), o qual libera oxigênio, que se une aos componentes celulares do citoplasma e núcleo. O cloro (Cl) pode, ainda, associar-se com proteínas da membrana celular, interferindo nas funções biológicas normais das membranas, incluindo o transporte de nutrientes (Block, 1991).

Compostos clorados de origem orgânica são utilizados na sanificação e podem ser empregados na indústria de alimentos. São representantes desses compostos o dicloroisocianurato de sódio e de potássio e o ácido tricloroisocianúrico (Block, 1991).

Segundo Torres et al. (1996), o cloro é o agente desinfetante mais usado para tratamento de água, tanto para consumo direto como para indústria de alimentos.

Sir Humprey Davy descobriu o cloro em 1808 e Koch demonstrou sua atividade bactericida, sob condições laboratoriais, em 1881. Aprovado pela American Public Health Association (APHA, 1992) em 1886, para ser usado como desinfetante, passou a ser utilizado continuamente no tratamento de água, em todo o mundo, a partir do século XX (Macedo, 2000).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pela Portaria nº 150/99, aprovou o uso do dicloroisocianurato de sódio e potássio na desinfecção da água para o consumo humano (Brasil, 1999).

Testes feitos pelo Instituto de Tecnologia de Alimento (ITAL, 1997) para avaliar a capacidade do dicloroisocianurato de sódio em reduzir contagens bacterianas em frutas artificialmente inoculadas com *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* demonstraram reduções de 90% e 91,3% ,respectivamente.

O emprego de métodos alternativos para descontaminação de carcaças vem sendo estudado e o emprego de cloro orgânico (dicloroisocianúrate de sódio), ozônio e ultra-som são opções de descontaminantes (Lillard, 1993; *Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health-SCVPG*, 1998; ICGFI, 1999).

Os compostos clorados passaram, então, a ser utilizados pelas indústrias de alimentos, melhorando a qualidade da água utilizada no processamento e também na sanificação de pisos, paredes e utensílios (Macedo, 2000). No processo de desinfecção da água, tanto para o abastecimento público como no uso da indústria de alimentos com produtos clorados, há a possibilidade de formação de subprodutos considerados carcinogênicos, como os trihalometanos (Macedo, 2000).

Estes se originam da reação entre o cloro e as substâncias orgânicas. Os principais compostos oriundos dessa reação e que apresentam concentrações significativas são: triclorometano (clorofórmio), bromodiclorometano, dibromoclorometano, tribromometano, sendo o clorofórmio o derivado clorado mais comumente detectado (Santos, 1987; Macedo, 1997).

Foi relatado que o dicloroisocianurato de sódio é menos reativo com substâncias húmicas, resultando em baixos níveis de produção de triclorometanos (TCM) (Macedo, 2000; Block, 1991).

### 2.3.2 Ozônio

O primeiro experimento utilizando ozônio no tratamento da água foi realizado em 1893, em Leyde, na Holanda, no tratamento da água do Rio Reno. Em 1906, em Nice, na França, realizou-se o primeiro tratamento de vegetais com água ozonizada em escala industrial. Muitos trabalhos vêm sendo desenvolvidos na última década, principalmente na França, Suíça e Canadá, comprovando-se a eficiência do ozônio na produção de água potável e de alta qualidade em termos microbiológicos (Chang & Sheldon, 1989).

O ozônio é um gás instável solúvel em água, de odor característico e um potente oxidante. É formado pela excitação do oxigênio molecular, transformando-se em oxigênio atômico em um ambiente energizado, que permite a recombinação com outras moléculas de oxigênio (Rice, 1996).

A atuação do ozônio está relacionada com a rápida oxidação de compostos insaturados, aminoácidos e proteínas, contendo o grupo SH. Essa substância oxida grupos sulfidril e amino, coagula as proteínas e inativa as enzimas desidrogenase, catalase e peroxidase. O ponto de ação primário na célula é, possivelmente, a membrana celular podendo ser por lise nas duplas ligações dos lipídios insaturados (Gurley, 1985; Kim et al., 1999).

Na tentativa de se encontrar produtos que possam atuar como diminuidores da carga contaminante nas carnes frescas, Greer & Jones (1989) utilizaram a aspersão de ozônio sobre carcaças prestes a entrar nas câmaras frias. No processo de aspersão de 0,03 ppm de ozônio, estes autores constataram redução da qualidade da carne, apesar da exterminação das bactérias mesófilas e psicrotóficas em 95% das amostras, à temperatura de conservação de 1,6°C, após 6 dias do tratamento. Ocorreu perda de peso da ordem de 43% /kg de carne devido à evaporação. Verificou-se, ainda, o ressecamento e escurecimento do tecido muscular superficial, devido à oxidação do pigmento muscular (oximioglobina). Não houve modificações no odor e aparência das carnes,

quando fatiadas. Nas carnes muito gordurosas, obteve-se aroma de rancificação.

O ozônio é uma alternativa sanificante para a indústria de alimentos porque possui amplo espectro de ação e não deixa resíduo. O efeito bactericida do ozônio tem sido estudado na utilização prática de desinfecção e purificação de água, bem como na conservação de alimentos, devido ao seu alto poder oxidante (Torres et al., 1996).

Recentemente, o ozônio tem sido reconhecido como eficiente substituto do cloro no tratamento industrial e no controle do crescimento de microrganismos que se acumulam na superfície da água (Boot, 1991). Isso se deve à sua eficiência oxidante, sem produção de compostos orgânicos, pois o ozônio, ao contrário do cloro, não deixa resíduo superficial (Boot, 1991) nos alimentos, que seja capaz de formar composto tóxico e carcinogênico (Foegeding, 1985).

Com uma grande capacidade sanificante, o ozônio tem amplo espectro de atuação, agindo sobre bactérias, vírus, fungos filamentosos e leveduras, e sobre formas esporuladas, exigindo menor concentração e menor tempo de ação que aqueles exigidos pelo cloro. Tem, ainda, uma capacidade de oxidar alguns poluentes orgânicos e inorgânicos (Torres et al., 1996).

A conservação de produtos cárneos por meio de água ozonizada no resfriamento ou radiações ionizantes, diretamente no alimento, é uma técnica já utilizada para esses alimentos. Com ação bacteriostática e bactericida, em microrganismos que freqüentemente ocasionam toxinfecções alimentares, o ozônio mostrou-se eficaz com relação à *Salmonella typhimurium*, *S. Dublin*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli* (Billon, 1978).

O ozônio atua contra glicoproteínas e glicolipídios presentes na membrana celular bacteriana, causando a morte das bactérias, que é atribuída a mudanças na permeabilidade da membrana (Moore et al., 2000). O ozônio pode

agir no grupamento sulfidrila de certas enzimas, resultando em rompimento de atividades celulares normais (Komanapalli & Lau, 1996), sendo possível que a aspersão direta da molécula de ozônio sobre carcaças de frango tenha impacto direto sobre células bacterianas com conseqüências letais, levando, conseqüentemente, à eliminação desses microrganismos e ao aumento na vida de prateleira (Al-Haddad et al., 2005).

### **2.3.3 Ultra-som**

O ultra-som inativa microrganismos por introdução de ciclos alternados de compressão e expansão em um meio líquido, obtendo-se um efeito bactericida a partir dessas ondas de alta intensidade, devido à ocorrência de pequenas bolhas, que crescem até explodir durante a fase de expansão do ultra-som (Forsythe, 2002). As ondas sonoras são muito semelhantes às vibrações ultra-sônicas, as quais possuem freqüência muito mais alta e resultam em altas de pressão e temperatura localizadas, ocasionando a destruição de estruturas celulares, segundo ICGFI (1999).

A energia elétrica é convertida em vibrações mecânicas por um transdutor, sendo este mecanismo utilizado pela máquina de ultra-som. Esta conversão é obtida por inversão do efeito piezoelétrico (Campani, 1996).

A destruição de microrganismo pelo ultra-som deve-se à combinação dos efeitos: cavitação e forças produzidas pela formação e difusão de bolhas que causam mudança física na célula, calor localizado e formação de radicais livres na água ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Porém, o efeito do ultra-som na redução de microrganismos decresce com a viscosidade do meio (Datta, 2002).

Na indústria de alimentos, a aplicação atual do ultra-som é uma tecnologia emergente, a fim de eliminar ou reduzir a carga microbiana. Esse meio físico pode ser utilizado sozinho ou associado a outros métodos. O Food and Drug Administration (FDA) indica o uso de ondas ultra-sônicas, associadas

a outros processos de sanificação (FDA, 2000; Datta, 2002).

#### **2.4 Alterações microbiológicas**

A alteração microbiana resultado da multiplicação dos microrganismos caracteriza-se por modificar as características sensoriais do alimento, depreciando-o ou impedindo o seu consumo. A deterioração pode ocorrer por autólise, oxidação, atividade bacteriana ou, ainda, pela combinação dos três processos. O processo de autólise ocorre por ação de enzimas dos tecidos. As oxidações das gorduras insaturadas durante o armazenamento provocam alterações no aroma e na coloração. O desenvolvimento microbiano, ao lado dos demais processos de deterioração, contribui para acelerar as alterações durante o armazenamento (Jay et al., 2005)

A microbiota do peixe é influenciada pelo seu hábitat, sendo a temperatura um fator de seleção, uma vez que raramente ultrapassa 25°C. Por isso, as condições ambientais favorecem mais o desenvolvimento de microrganismos psicotróficos do que microrganismos estritamente mesófilos. Os mais importantes microrganismos implicados na deterioração desse alimento são os gêneros de *Pseudomonas* e *Shewanella*, responsáveis pelas alterações sensoriais, devido à formação de trimetilamina, ésteres, substâncias voláteis reductoras e outros compostos com aroma pronunciado. As principais espécies envolvidas no processo são *P. fluorescens*, *P. fragi* e *Shewanella putrefaciens*. Esses gêneros são importantes devido não só à sua natureza psicotrófica, mas, principalmente, pela capacidade que têm de utilizar, para o seu desenvolvimento, substâncias nitrogenadas não-protéicas (Leitão, 1977; Leitão et al., 1985; Franco & Landgraf, 1996).

Segundo Franco & Landgraf (1996), no processo de multiplicação dos microrganismos deve-se levar em conta que microrganismos psicotróficos têm a capacidade de se desenvolver em temperaturas entre 0°C e 7°C. Uma vez que a

velocidade de multiplicação nem sempre é a mesma para todos os psicrotórficos, duas novas categorias de classificação foram propostas: europsicrotórficos, referentes aos que não formam colônias visíveis até o 6º ao 10º dia entre 0°C e 7°C, e o estenopsicrotórficos, referentes aos que formam colônias visíveis em 5 dias nessa faixa de temperatura. Ao primeiro grupo pertencem as espécies de *Enterobacter cloacae*, *Yersinia enterocolitica* e *Hafnia alvei*, e ao segundo, *Pseudomonas fragi* e *Aeromonas hydrophyla*. Microrganismos mesófilos têm faixa ótima de crescimento em temperatura entre 20°C e 40 °C.

Segundo Shewan & Murray (1979), no pescado, o crescimento bacteriano, após a sua captura e ao longo do armazenamento refrigerado, é o fator responsável pela deterioração. A penetração microbiana nos músculos se dá a partir das brânquias ou vísceras, ocorrendo com intensidades diferentes, dependendo das condições de temperatura e umidade, podendo levar à maior rapidez do processo, no caso de sua elevação.

O processo de deterioração de origem bacteriana em pescados pode ocorrer da seguinte forma: aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não-protéicas são utilizados por microrganismos logo após o *rigor mortis*; esses organismos utilizam os compostos anteriores, originando produtos com aroma desagradável e alterando a composição do substrato. Têm início, então os processos proteolíticos, levando ao aumento ou reposição de aminoácido no substrato. Assim, a produção de bases e compostos voláteis, bem como a de H<sub>2</sub>S e outros compostos, é aumentada, acelerando a decomposição do pescado (Liston, 1980; Shewan, 1976; Shewan & Murray, 1979).

Boari (2004), caracterizando a microbiota deteriorante e patogênica na produção de filés de tilápia, encontrou, em filés frescos, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* e enterobacteriaceas de diversas espécies e, em filés após 30 dias de congelamento, *Staphylococcus* e *Pseudomonas* de diversas espécies.

Jesus et al. (2001), estudando a estabilidade química e microbiológica de "minced fish" produzidos em condições industriais, com espécies de peixes da Amazônia, observaram uma variação no crescimento de bactérias mesófilas, num período de 120 dias de estocagem a -18°C, de 4,88 a 6,81 UFC/g e de psicrotróficas de 4,20 a 6,81 UFC/g.

## **2.5 Alterações físicas e químicas da carne**

A carne de peixes, tendo maior vulnerabilidade às alterações, principalmente as de origem microrrgânicas, que manifestam-se mais intensamente do que em outros produtos alimentícios, levando a modificações anormais de textura, cor e sabor. Essas modificações do peixe capturado começam depois do *rigor mortis*, quando, então, se instala o processo de autólise, durante o qual se inicia a putrefação (Almeida et al., 2005).

O *rigor mortis* é uma alteração física na carne, resultado de uma complexa modificação bioquímica no músculo após a morte do animal. Os compostos orgânicos do músculo se quebram pela ação das enzimas do tecido muscular. No estágio inicial, a substância que hidrolisa mais rápido é o glicogênio, provocando um acúmulo de ácido lático no músculo e reduzindo o pH. Isto, por sua vez, estimula as enzimas que hidrolisam o fosfato orgânico. A diminuição do trifosfato de adenosina (ATP) faz com que a actina e a miosina, associadas na forma de complexo actomiosina, não se separem. A rapidez da instalação e duração do *rigor mortis* depende de fatores como espécie, fatores fisiológicos, grau de exaustão, tamanho dos peixes, temperatura ambiente da água, peixes cultivados sob indução de locomoção, condições de abate e peixes nativos e cultivados. (Neiva 2000; Ogawa & Maia, 1999).

A diferença em coloração ocorre em razão do alto conteúdo de mioglobina e hemoglobina do músculo escuro. O músculo branco de peixe é muito uniforme em composição, indiferente da sua localização. O músculo

escuro, no entanto, varia sua composição em função da sua localização, contendo mais lipídeos na parte anterior do peixe e mais água e proteína na parte posterior (Ogawa & Maia, 1999).

A cor das carnes, fator que representa o índice de frescor e qualidade mais óbvio para o consumidor, é determinada pela proporção relativa das três formas da mioglobina (heme pigmentos); mioglobina reduzida (Mb) com coloração vermelho-púrpura; mioglobina oxigenada ou oximioglobina (O<sub>2</sub>Mb) com coloração vermelho-brilhante e mioglobina oxidada ou metamioglobina (Met Mb) com coloração marrom. Embora a hemoglobina constitua de 12% a 30% do total dos pigmentos nos músculos, a maioria dos estudos considera somente a mioglobina como índice de cor nas carnes frescas. Como ambas as proteínas têm propriedades espectrais similares, as medidas espectrais de cor em carnes, envolvendo a mioglobina, também registram a contribuição da hemoglobina (Marriot et al., 1967; Govindarajan, 1973; Hood, 1987; Sarantopolus & Pizzinatto, 1990; Contreras & Beraquet, 1995).

No período decorrente do abate, outras alterações de cor podem ser provocadas pelas condições da estocagem sob refrigeração, temperatura, presença de luz e oxigênio e material de embalagem. Essas condições afetam, com mais intensidade, as carnes bovinas, pelo seu alto conteúdo em mioglobina e pela instabilidade nos padrões de cor; entretanto, em frangos, o baixo conteúdo em mioglobina torna a cor da carne mais estável (Uijttenboogaart & Reimert, 1994).

Shiau & Chai (1985) analisando o cação (*Squalus acanthias*) defumado, observaram a cor expressada por  $L = 44,3$ ,  $a = 7,0$  e  $b = 11,5$ . Segundo Sousa et al. (2005), os valores médios de croma  $a^*(10,60)$  e  $b^*(41,95)$  foram superiores nos filés de tilápia defumados em relação aos in natura (croma  $a^*(-0,74)$  e  $b^*(10,17)$ ), em função da exposição à ação da fumaça, mas, não houve efeito da classe de peso e da presença ou não de pele. A luminosidade ( $L^*61,70$ ) não

diferiu entre as classes de peso, presença ou não de pele, em filés in natura comparados aos defumados.

As variações na cor da carne fresca geralmente estão associadas a diferenças na quantidade de mioglobina, morfologia e pH do músculo. Como esta é uma propriedade superficial, pode ser avaliada subjetivamente por pontuações conforme padrões de cor. As características da cor do músculo podem ser afetadas pelo estresse antes do abate, pela idade do animal, a metodologia empregada na medição da cor, a natureza do estressor e pelos tratamentos antimicrobianos (Apple et al., 1993).

## **2.6 Propriedades sensoriais**

As características sensoriais da carne, relacionadas com a sua qualidade, são aspectos que serão avaliados no momento da compra ou durante sua degustação. A satisfação sensorial é um determinante importante no consumo de alimentos (Anzaldúa-Morales, 1994; Modesta, 1994). Entre os atributos sensoriais mais marcantes na carne de peixes estão textura, suculência, aroma e sabor. Na avaliação dessas características, podem-se utilizar métodos sensoriais (júri de degustadores) (Modesta, 1994).

Segundo Disney (1969), em termos de qualidade e inspeção, a flacidez da carne é a mais útil indicação das condições de alterações presente no pescado.

Beirão et al. (2000) definem a análise sensorial como uma técnica científica utilizada para analisar e interpretar reações características dos alimentos, quando são percebidas pelos órgãos dos sentidos, sendo a avaliação mais freqüente na indústria de pescado e derivados.

As propriedades sensoriais são atributos dos alimentos detectados por meio dos sentidos; ao se levar um alimento à boca, o cérebro recebe informações que ligam os receptores do sabor na língua (papilas gustativas) e os receptores olfativos que se encontram no nariz (Courthiade, 1999). A cor e a textura são

propriedades sensoriais importantes, sendo mais fáceis de avaliar do que o sabor, pois este se constitui em um fenômeno completo e dinâmico que relaciona, principalmente, os sentidos do olfato e do gosto. O olfato constitui a fisiologia do sabor porque o aroma (ou odor) é o primeiro atributo que se percebe, antes até do gosto. Um odor inadequado pode interferir ou modificar um determinado sabor (Lozano, 1999).

Fatores que afetam a avaliação das características sensoriais, principalmente o sabor, são relacionados a cada indivíduo (avaliador) e ao meio ambiente. São fatores como idade, sexo, horário de degustação, estresse, condições de saúde, tabagismo, temperatura ambiente e do alimento (Lozano, 1999; Dasso, 1999; Beirão et al., 2000).

Um teste de degustação é concebido como um estudo planejado, no qual os consumidores são convidados a avaliar um determinado produto. Para que a descrição sensorial seja rigorosa e concreta, o teste deve constar de um questionário simples, que conduza à obtenção de respostas precisas. O número de juízes utilizado por diferentes autores varia de 4 a 30 (Cotta, 1997).

A avaliação das propriedades sensoriais da carne é um procedimento bastante delicado e de caráter eminentemente subjetivo, ainda que haja esforços no sentido do emprego de instrumentação científica para esse feito (Pardi et al., 1995).

Os atributos sensoriais de interesse na carne de peixe são textura, suculência e paladar (aroma e sabor). A suculência está relacionada com a produção de suco durante a mastigação e com a gordura intramuscular que estimula a salivação. O aroma é uma sensação complexa que envolve uma combinação de odor, sabor, textura, temperatura e, mesmo, o pH. Na ausência do aroma, predominam as sensações gustativas de amargo, doce, ácido ou salgado. Então, o paladar é conceituado como a mistura dessas sensações percebidas ao se degustar um alimento. Elas devem provocar uma satisfação

bucal, traduzindo-se em um estímulo à salivação, a qual deve provocar uma sensação agradável. (Pardi et al., 1995; Rodrigues, 1994). Por meio da avaliação sensorial, podem ser observados efeitos dos tratamentos, dispensados no processamento de alimentos, em relação às propriedades sensoriais.

Os tratamentos sanitizantes podem levar a alterações de intensidades variáveis, no sabor, cor e odor. Essas alterações vão depender da dose, da concentração, do tempo de contato e do modo de aplicação dos sanitizantes (Pohlman et al. 2002; Stivarius et al. 2002; Al-Haddad et al., 2005)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-HADDAD, K. S. H., AL-QASSEMI, R. A S., ROBINSON, R.K. The use of gaseous ozone and gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. **Journal Food Control**. 16: 405–410, 2005.

ALMEIDA, N M, BATISTA, G. M., KODAIRA, M. et al. Determination of the rigor-mortis index and its relation with rate decrease nucleotides of a cultivated amazonian fish. *Cienc. Rural*, May/June 2005, vol.35, no.3, p.698-704

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría e la plática**. Editorial Acribia, Zaragoza 1994.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18<sup>th</sup> ed. Washington, 1992.

APPLE, J.K.; UNRUH, J.A.; MINTON, J.E. e BARTLETT, J.L. Influence of Repeated Restrain and Isolation Stress and Electrodmlyte Ainistration on Caracass Quality and Muscle Electrolyte Content of Sheep. **Meat Science** v.35, p.191-203, 1993.

BEIRÃO, L. H; TEIXEIRA, E; MEINERT, E. M. Processamento e industrialização de moluscos. In: Seminários e Workshop “TECNOLOGIA PARA APROVEITAMENTO INTEGRAL DO PESCADO”. Campinas - SP, 2000. **Resumos**. Campinas: ITAL 2000, p. 38-84

BILLON, J. Action de l’ozone dans la conservation des produits carnés. **Higiene. Alimentar**. v.16, n.139, p.41-43, 1978.

BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA: Lea& Febiger, 1991. 1162p.

BOARI, C. **Isolamento, caracterização de microrganismos deteriorantes e patogênicos associados a produção de filés de tilápia (*Oreochromis nilóticus*)** 2004. 43p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BOOT, T.R. Ozone as a disinfectant in process plant. **Food Control**, v.2, n.1, p.44-9, 1991

BOSKOU, G; DEBEVERE, J. Shelf-life extension of cod fillets with an acetate buffer spray prior to packaging under modified atmospheres. **Food Addit Contam.** 2000 Jan;17(1):17-25.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria MS nº 150/99 - **Regulamento Técnico para Produtos Destinados à Desinfecção da Água para Consumo Humano e de Produtos Algicidas e Fungicidas para Piscinas.** Brasília: ANVISA, 1999 a.

CAMPANI, A. B. Uso do ultra-som na fisioterapia. **Rev. Associação Brasileira de Fisioterapia**, v.3, n.2, p.27-61, 1996

CHANG, H.Y.; SHELDON, B.W. Application of ozone with physical wastewater treatments to recondition poultry process waters. **Poultry Science**, v.68, p.1078-87, 1989.

CHELLAPPA, N. T. et al. Os hábitos alimentares e os tipos de alimento da tilápia nilótica, *Oreochromis niloticus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 9; 1996; Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: ABRAq; 1996. p.106.

**CODEX COMMITTEE ON FISH AND FISHERY PRODUCTS.** Discussion paper on the use of chlorinated water. Presented at the 24th session of the CCFPP. June, 2000, paper CX/FFP 00/13, 2000.

CONTRERAS, C. J. C.; BERAQUET, N. J. Effect of deboning and electrical stimulation on post mortem biochemical changes in chicken breast. P. major. In: International Congress Of Meat Science And Technology, 41<sup>th</sup> The Hague, Netherlands. **Proceedings ...** The Hague, 1995. v.4, S-ivb. 46.41.

COTTA, T. **Produção de Carne de Frango.** Lavras: UFLA/FAEPE, 1997.197p.

COURTHIADE, P. La importância de la valoración sensorial em la selección de um sabor. **La alimentación Latinoamericana**, v.33, n. 229, p. 40- 41, 1999.

CUTTER, C. N.; SIRAGUSA G. R.. Application of chlorine to reduce populations of *Escherichia coli* on beef. **J. Food Safety**. 15: 67-75,1995.

DASSO, I. Qué ponemos en juego al degustar un alimento? **La alimentación Latinoamericana**, v.33, n. 229, p.34-36, 1999.

DATTA, N. **Food 4002**. Emerging Food Technologies and Biotechnology Lectures Notes: Ultrasonication Disponível em:  
<<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>>  
Acesso em 16 out.2002.

DICKSON, J.S.; ANDERSON, M.E. Control of *Salmonella* on beef surfaces in a model system by pre and postvisceration washing and sanitizing, with and without spray chilling. **Journal Food Protection**, 54:514-518, 1991.

DISNEY, J. G. Quality assessment in tilapia specie. **Presented to Technical Conference on Fish Inspection and Quality Control**. Halifax, 10p. 1969.

DORSA, W. J.; CUTTER, C. N.; SIRAGUSA, G. R. Effects of acetic acid, lactic acid and trisodium phosphate on the microflora of refrigerated beef carcass surface tissue inoculated with *Escherichia coli* o 157:H7, *Listeria innocua*, and *Clostridium sporogenes*. **Journal of Food Protection**, v.60, n.6, 610-624, 1997.

ELLEBRACHT, E. A., CASTILLO, A.; LUCIA, L. M., MILLER, R. K.; ACUFF, R.G. Reduction of pathogens using hot water and lactic acid on trimmings. **Journal of Food Science**, v.64, n.6, p. 1094-1099, 1999.

EMSWILER, B. S., KOTULA, A. W., & ROUGH, D. K. Bactericidal effectiveness of three chlorine sources used in beef carcass washing. **Journal of Animal Science**, v.42, n.6, p.1445-1450, 1976.

FDA – Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies: Ultrasound**. 02 Jun, 2000. Disponível em:  
<http://vm.cfsan.fda.gov>. Acesso em 16 out.2002.

FAO/WHO. Report of a joint expert consultation: fats and oils in human nutrition. **Food and Nutrition Paper**, Rome, v. 57, n. 1, p. 49-55, 1994.

FOEGEDING, P.M. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of spore coat to resistance. **Food Microbiol.** v.2, p.123-34, 1985.

FORSYTHE, J.S. **Microbiologia de Segurança Alimentar**. Trad. Maria Carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, p.424, 2002.

FRANCO, B.D.G.M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, p.182, 1996.

GREER, G.G.; JONES, S.D.M. Effects of ozone on beef carcass shrinkage, muscle quality and bacterial spoilage. **Canadian Institute of Food Science and Technology**. v.22, n.2, p. 156-60, 1989.

GOVINDARAJAN, S. Fresh meat color, critical Review. **Food Technology**. Cleveland, v.4, n.1, p.117-40. 1973.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterilant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**, v.39, n.6, p.256 -261. 1985.

HENDERSON, R. J.; TOCHER, D. R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Prog. Lipid Res.**, v. 26, p. 281-347, 1987.

HOOD, R.L. A note of the cholesterol content of beef rib steaks. **CSIRO Food Research**, Melbourne, n. 1 v. 47, p.44, Jan./Mar.1987

HUSS, H.H. Garantia da qualidade dos produtos da pesca In: FAO Documento Técnico sobre as Pescas. No. 334. Roma, FAO. 1997. 176p.

ICGFI – International Consultative Group on Food Irradiation. **Safety of Poultry Meat: From Farm to Table**. Vienna: ICGFI/BARC, 36p. 1999.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Teste de eficiência de Aquatabs na desinfecção de verduras e frutas**. Campinas:ITAL, Laboratório de Microbiologia/ Bayer Saúde, 1997.

JAY, J. M., LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7th ed., 2005, 790 p. 87 illus., Hardcover  
ISBN: 0-387-23180-3

JESUS, R.S.; LESSI, Ed.; TENUTA-FILHO, A., Chemical And Microbiological Stability Of Amazonian Minced Fish During The Freezing. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, May/Aug. 2001, vol.21, no.2, p.144-148.

KIM, JIN-GAB; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of food: a review. **Journal of Food Protection**, v.62, n.9, p.1071-1087, 1999.

KIM, J.; DU, W.; OTWELL, W.S.; MARSHALL, M.R.; WEI, C. Nutrients in salmon and red grouper fillets as affected by chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) treatment. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 629-633, 1998.

KOCHEVAR, S. L.; SOFOS, J.N.; LEVALLEY, S.B.; SMITH, G.C. Effect of water temperature, pressure and chemical solution on removal of fecal material and bacteria from lamb adipose tissue by spray-washing. **Meat Science**, v. 45, n.3, 377-388, 1997.

KOMANAPALLI, I. R.; B. H. S. LAU. Ozone-induced damage of *Escherichia coli* K-12. **Appl. Environ. Microbiol.** 46:610-614, 1996.

LANGONI, H. ; NAPOLITANO, G. F. ; PEZATTO, L. E. ; BARROS, M. M. ; CANTELMO, O. A. . Avaliação da microbiota intestinal de peixes alimentados com duas dietas diferentes. Bol. Téc. CEPTA, Pirassununga, v. 13, p. 37-45, 2000.

LEITÃO, M.F.F. Microbiologia do Pescado e Controle Sanitário no Processamento. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas-SP:ITAL, n.50, p.1-35, 1977.

LEITÃO, M.F.F; TEIXEIRA FILHO, A.R.; BALDINI, V.L.S., Microbiota Bacteriana em Espécie de Peixes Fluviais e Lacustres no Estado de São Paulo. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas:ITAL, nº 15, p.91-111, 1985.

LILLARD, H. S. Bacterial effect of chlorine on attached *Salmonella* with and without sonication. **J. Food Protection**, v.56, p.716-717, 1993.

LISTON, J. Microbiology in fishery science. In: **CONNELL, J.J. (ed.)**, **Advance in fish Science and Technology**. Fishing News Books Ltd., Surrey, England, p.138 –157, 1980.

LOZANO, J.E. El arte de evaluar os sabores. **La alimentación Latinoamericana**, v.33, n. 229, p. 42- 43, 1999.

MACEDO, J. A. B. **Determinação de trihalometanos em águas de abastecimento público e de indústria de alimentos.** 1997. 90p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MACEDO, J. A. B. **Águas & Águas.** Juiz de Fora:Ortofarma, 505p, 2000.

MAIA, E. L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce.** Campinas. 1992. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) Universidade Estadual de Campinas - Unicamp.

MARSHALL, R.T.; ANDERSON, M E.; NAUMANN, H.D.; Stringer, W.C. Experiments in sanitizing beef with sodium hypochlorite. **Journal Food Protection.**, v.40, p.246-249, 1977.

MARRIOT, N. G; NAUMANN, H. D.STRINGER, W.C;HEDRICK, H.B. Color stability of prepackged fresh beef as influenced by pre-display environments. **Food Technology.** Cleveland, v.21, n.2, p.104-110. 1967.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W. R. Influence of diet processing form on performance and survival of Nile tilapia during sex revert phase. **R. Bras. Zootec.**, Mar./Apr. 2003, vol.32, no.2, p.262-267.

MODESTA, R. G. D. **Manual de Análise Sensorial de Alimentos e Bebidas.** Rio de Janeiro, 1994.

MOORE, G., GRIFFITH, C., PETERS, A. Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. **Journal of Food Protection.**, v.63, n.8, p.1100-1106, 2000.

MORAIS, M.S.V., ANDRADE, N.J., CHAVES, J.B.P. et al. Isolament of aerobic mesophilic and thermophilic spores in equipments of poultry slaughter and their resistance against the chemists disinfectants. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.17, n.3, p.325-329, sep./dec. 1997.

MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian brycon freshwater fishes. **J. Food Comp. Anal.**, v.14, p. 565-74, 2001.

MUJICA, P.Y.C. Vida útil do cação (*Prionace glauca*) armazenado sob refrigeração e otimização dos métodos microbiológicos e sensoriais de avaliação da qualidade. 2000. 103 p. **Tese** (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

NEIVA, C. D. P. Valor Agregado X Qualidade do Pescado, 2000. Disponível em: <http://www.pesca.sp.gov.br/textos.php>. Acesso em: 21/10/2004.

OGAWA, N. Y.; MAIA, E. L. **Manual de pesca, Ciência e Tecnologia do Pescado**. São Paulo 1999. Varela. 429p.

OETTERER, M. Tecnologias emergentes para processamento de pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São paulo: Tec Art ,p.482-500, 2004

PARDI, M. C. et al. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**, Goiânia: CEGRAF-UFG / Niterói: EDUFF, v.1, 1995. 586p.

PATTERSON, J. T. Bacterial flora of chicken carcasses treated with high concentration of chlorine. **Journal of Applied Bacteriology**, n.31, v.4, p.544-550, 1968.

POHLMAN, F. W.; STIVARIUS, M.R.; MCELYEA K. S.; JOHNSON, Z. B.; JOHNSON, M.G. The effects of ozone, chlorine dioxide, cetylpyridinium chloride and trisodium phosphate as multiple antimicrobial interventions on microbiological, instrumental color, and sensory color and odor characteristics of ground beef. **Meat Science**, v.61, p. 307-313, 2002.

PRINCE, C. Communique on use of chlorine in fish processing. **Canadian Food Inspection Agency Animal Products Directorate Fish, Seafood and Production**, February 7, 2000. Disponível <[http://www.inspection.gc.ca/english/anima/fispoi/commun/com07\\_02\\_00e.shtml](http://www.inspection.gc.ca/english/anima/fispoi/commun/com07_02_00e.shtml)> Acesso em julho de 2003.

PROENÇA, C.E.M. & BITTENCOURT, P.R.L. **Manual de Piscicultura Tropical**. Brasília, IBAMA, 1994.

RICE, R.G. Aplicatio of ozenein water and wastewater treatment. In: **Analytical aspects of ozone: treatment of water and wastewater**. Edited by R.G. Rice, et. al. Chelsea, MI, Lewis Publishers, p.7-26, 1996.

ROSA, V. P. **Efeito da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo minas frescal**.Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) ESALQ – Piracicaba, 2004.

RODRIGUES, K. F. **Avaliação do rendimento, da composição química e qualidades sensoriais de carcaças comerciais de frangos**. 1994. 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SANTOS, C. L Trihalometano: resumo atual. **Engenharia sanitária**, v. 26, p.190-194,1987.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON VETERINARY MEASURES RELATING TO PUBLIC HEALTH **Benefits and limitations of antimicrobial treatments for poultry carcasses**. 30 Oct. 1998 Disponível em: [www.http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14\\_em.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scv/out14_em.pdf)> Acesso em 18 mar .2003.

SARANTOPOLUS, C. G. L.; PIZZINATTO, A. Fatores que afetam a cor das carnes. **Coletânea do ITAL**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 1-12, 1990.

SHEWAN, J.M.; MURRAY, C.K. The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychrophiles. In: RUSSEL, A.D.;FULLER, R. (ed.), Cold Tolerant Microbes in Spoilage and the Environment. **Academic Press**, London, England, p.117-136, 1979.

SHEWAN, J.M. The biochemistry and microbiology of low temperature spoilage. **Food Technol.**, Australia, nº 28, v. 11, p.409 – 410, 1976.

SHIAU, C.Y.; CHAI, T. Smoked dogfish processing and its refrigerated storage stability. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, nº. 5, p. 1348-1350, 1985.

SOUSA, J.A.; EIRAS, J.C.; ALEXANDRINO, A.C.; ISHIKAWA, C.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; EIRAS, A.C. (1996). Preliminary bacteriological evaluation of semi-intensively farmed fish (*Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus scrofa* and *Colossoma macropomum*) In Sao Paulo State, Brazil. **Unimar**, 18(2): 299-306.

SOUZA, M. L. R, VIEGAS, E. M. M., SOBRAL, P. J. A., Kronka S. N. Effect of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) weight on yield and quality of their smoked and in natura fillets with and without skin. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Jan./Mar. 2005, vol.25, no.1, p.51-59.

STIVARIUS, M.R.; POHLMAN, F. W.; MCELVEA K. S.; APPLE, J.K. Microbial, instrumental color and sensory color and odor characteristic of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide. **Meat Science**, v.60, p.299-305, 2002.

THIESSEN, G. P.; USBORNE, W.R.; ORR, H.L. The efficacy of chlorine dioxide in controlling *Salmonella* contamination and its effect on product quality of chicken broiler carcasses. **Journal of Food Science and Technology**, India, v.20, n.4, p.160-162, 1984.

TORRES, E. A. F. S.; ROGÊ FERREIRA, A. F.; RÍMOLI, C. D.; OLIVO, R. Estudos das Propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v.10, n.42, p.18-23, 1996.

TOYAMA, G. N. et al. Suplementação de vitamina C em rações para reversão sexual de tilápia do Nilo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.221-228, 2000.

UIJTENBOOGAART, T. G. & REIMERT, H. G. M. Effects of the method of chilling, electrical stimulation and boning time on quality characteristics of chicken broiler breast meat. In: **International Conference of Meat Science Technology**. 40th the Hague, Netherlands. Proceedings... The Hague, v. 4, n.S-IVB. 41. 1994.

XAVIER, C. V. A. **Métodos físicos e químicos para prolongamento da vida de prateleira da carne de frango refrigerada**. Tese (Doutorado Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP, 1997.

## **CAPÍTULO 2**

**AÇÃO SANIFICANTE DO DICLOROISOCIANURATO DE SÓDIO,  
OZÔNIO E ULTRASOM NA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL, ÁCIDOS  
GRAXOS, COLESTEROL E ÍNDICE DE PERÓXIDO EM FILÉ DE  
TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)**

## 1 RESUMO

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultrassom na composição centesimal, ácidos graxos, colesterol e índice de peróxido em filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). In: \_\_\_\_\_. **Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. Cap.2, p.31-66. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

No presente trabalho, realizado em Lavras, MG, Brasil, foi avaliado o efeito dos agentes sanificantes dicloroisocianurato de sódio na concentração de 3,0 a 3,5mg/L (T1), dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som (T2), ozônio na concentração de 3,0 a 3,5 mg/L (T3), ozônio associado ao ultra-som (T4) e controle (T5) sobre a composição centesimal, perfil de ácidos graxos (AG), teor de colesterol e índice de peróxido de filés de tilápia. Os tratamentos afetaram ( $P < 0,05$ ) a composição centesimal. Os sanificantes causaram uma perda de água e aumentaram a concentração de proteínas no filé, tendo esse fato, sido notado mais acentuadamente no T3 (77,16% de umidade e 19,73% de proteína) quando comparado ao T5 (78,60% de umidade e 18,71% de proteína). Os AG encontrados em maior proporção (%) foram: C18:1 $\omega$ 9 (30,90); C16:0 (25,20); C18:2 $\omega$ 6 (12,80); C16:1 $\omega$ 7 (6,70); C18:0 (6,30); C14:0 (4,70); C20:1 $\omega$ 11 (1,50); C20:4 $\omega$ 6 (1,30); C18:3 $\omega$ 3 $\alpha$  (0,90); DHA C22:6 $\omega$ 3 (0,80); C22:5 $\omega$ 6 (0,60%), C18:2 $\omega$ 6t (0,40%), C18:3 $\omega$ 6 $\gamma$  (0,40%), C22:5 $\omega$ 3 (0,40%) e C20:5 $\omega$ 3 (0,10%). Foi demonstrada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na fração lipídica para AGS, AGM e AGP entre os tratamentos propostos. Os AGS apresentaram diferença entre os T3, T4 e T5, com as respectivas médias 37,00%, 33,50% e 36,30%. Os T1 e T2 (34,90% e 34,80%) não diferiram entre si, mas foram diferentes dos T3, T4 e T5 (39,30%, 36,30% e 39,10%) para AGM. O T3 foi o que mais preservou a fração AGM. Os AGP não apresentaram diferença entre os T1 e T2 (23,00% e 22,50%) e os grupos T3, T4 e T5 (18,30%, 20,40% e 17,70) diferiram entre si, tendo que o T1 apresentou as maiores médias. Obteve-se uma redução mais acentuada do nível de colesterol no grupo T2 (43,94 mg/100g) quando comparado com T5 (54,77 mg/100g). Os teores médios de peróxido encontrados nos filés submetidos aos tratamentos não revelaram diferença estatística segundo análise de variância ( $P > 0,05$ ), apesar de os valores serem bastante diferentes, apresentando uma variação de 6,07 a 39,57 meq/kg.

Termos para indexação: análise centesimal, ácidos graxos, colesterol, peróxido e tilápia (*Oreochromis niloticus*).

## 2 ABSTRACT

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. Sanitizer actions of the sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultrasound in the centesimal composition, fatty acids, cholesterol and peroxid index in tilápia's filet (*Oreochromis niloticus*). In: \_\_\_\_\_. **Effect of sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultrasound in Nile tilapia's filets (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. Chapter 2, p.31-66. Thesis (Doctorate in Food Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

The present research had as objectives to study the effects of chlorinated water (sodium dichloroisocyanurate – 3,0 to 3,5 mg/L) (T1); chlorinated water associated to ultrasound (T2); ozonated water (3,0 to 3,5 mg/L) (T3) and ozonated water associated to ultrasound and control (T5) on centesimal composition, profile of fatty acids, cholesterol tenor and peroxide in tilapia filets. The filets were treated by immersion in the solutions, pH 6,0, at 5°C, for 20 minutes. The treatments affected the centesimal composition. Sanitizers caused a loss of water and increased the concentration of proteins in the filets, more strongly in T3 (77,16% of humidity and 19,73% of protein) when compared to T5 (78,60% of humidity and 18,71% of protein). The fatty acids was founded in larger proportion (%): C18:1 9 (30,90); C16:0 (25,20); C18:2 6 (12,80); C16:1 7 (6,70); C18:0 (6,30); C14:0 (4,70); C20:1 11 (1,50); C20:4 6 (1,30); C18:3 3 (0,90); DHA C22:6 $\omega$ 3 (0,80); C22:5 $\omega$ 6 (0,60), C18:2 $\omega$ 6t (0,40), C18:3 $\omega$ 6 (0,40), C22:5 $\omega$ 3 (0,40) and C20:5 $\omega$ 3 (0,10). Significant difference was showed in saturated fatty acids (SFA), monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) among treatments. SFA presented difference among T3, T4 and T5, with the respective averages 37,00%, 33,50% and 36,30%. T1 and T2 (34,90% and 34,80%) don't differed amongst themselves, but they were different from T3, T4 and T5 (39,30%, 36,30% and 39,10%) for MUFA. T3 treatment preserved more fraction of MUFA. The PUFA was similar between T1 and T2 (23,00% and 22,50%) and the groups T3, T4 and T5 (18,30%, 20,40% and 17,70%) differed amongst themselves, and T1 presented the largest averages. It was obtained an accentuated reduction in level of cholesterol in the group T2 (43,94 mg/100g), when compared to T5 (54,77 mg/100g). There was not statistical difference in peroxide level among treatments.

Keywords: analysis centesimal, fatty acids, cholesterol, peroxide, filets, *Oreochromis niloticus*.

### 3 INTRODUÇÃO

A utilização de peixe na alimentação humana tem sido recomendada pelos profissionais de saúde, devido à composição em ácidos graxos polinsaturados (AGPI), que proporcionam efeitos benéficos à saúde, reduzem o colesterol e a LDL (Bang & Dyerberg, 1979; Watkins, 1998; Pereira, 2003). Por outro lado, diversos trabalhos evidenciaram que os ácidos graxos saturados e o colesterol da dieta podem elevar o colesterol sérico e a lipoproteína de baixa densidade (LDL), e reduzir a lipoproteína de alta densidade (HDL) (Pereira, 2003).

As dietas das populações ocidentais apresentam elevado consumo diário de lipídios, portanto, os Comitês Internacionais de Nutrição e Alimentação ligados a FAO/OMS têm proposto que esse consumo não deve exceder a 30% do calórico total (VCT) (Valenzuela et al., 1991).

Os lipídeos de pescado contêm quantidades elevadas de ácidos graxos insaturados, que são suscetíveis à oxidação (Araújo, 1995). Essas reações de oxidação se realizam por mecanismo de radicais livres e se caracterizam por um período de indução, seguido por uma absorção acelerada de oxigênio e termina com a produção de peróxidos, odor, ranço e outros produtos de polimerização (Bobbio & Bobbio, 1992). A velocidade de reação do oxigênio e dos lipídeos pode ser retardada pela adição de antioxidantes que atuam rompendo a cadeia de radicais livres ou decompondo os peróxidos. Os perigos alimentares de ingestão de lipídeos de pescado oxidados são decorrentes dos peróxidos e reações que estes possam desencadear no organismo humano. Em geral, os efeitos de óleo de pescado oxidado refletem danos secundários com a formação de radicais livres a partir da decomposição dos peróxidos (Beirão et al., 2003; Fuller & Jialal, 1994).

Os radicais livres têm capacidade de destruir as vitaminas A e E. A vitamina E (tocoferol), ao ser oxidada, transforma-se num radical livre (tocoferoxil); por outro lado, a vitamina C reduz o tocoferoxil, fazendo com que ele volte a ser a vitamina E. O LDL oxidado aumenta a atividade da acetil- CoA e a esterificação do colesterol, proporcionando a entrada de colesterol na célula. A vitamina E promove a contração desses efeitos (Pereira, 2003; Fuller & Jialal, 1994).

As tilápias, de forma geral, apresentam umidade de 65% a 80% (Contreras-Guzmán, 1994; Shearer, 1994), teor de gordura de 0,5 a 0,3 g/100 g (Shearer, 1994) e de proteína de 15% a 27% (Stansby, 1962; Shearer, 1994). Além disso, sua composição química, associada às condições extrínsecas do pescado, tais como: tecidos musculares pobres em tecido estromático que reveste os miótomos, pH *post mortem* elevado, ação rápida das enzimas proteolíticas e digestivas, e contaminação microbiana, determina redução na vida de prateleira e representa riscos à saúde pública.

Os ácidos graxos que compõem os lipídios de pescado refletem a variabilidade de ácidos graxos presentes na dieta destas espécies (Henderson & Tocher, 1987). Em pesquisas realizadas no Brasil, foi demonstrado que peixes de cativeiro, alimentados exclusivamente com rações comerciais, apresentaram baixos níveis de AGPI, quando comparados a espécies nativas (Moreira et al., 2001; Maia, 1992). Os baixos teores de AGPI encontrados nestes peixes podem estar diretamente relacionados aos baixos teores de ácidos graxos existentes nas rações fornecidas.

A utilização de agentes sanitizantes (como, por exemplo, hipoclorito de sódio e quaternário de amônio) pode promover um aumento na vida de prateleira do produto resfriado (Silva et al., 2001), pois eles atuam no controle microbiológico de alimentos. Assim, métodos químicos e físicos, tais como: cloro, ozônio e ultra-som podem ser utilizados de forma isolada ou associados

entre si ou a outros métodos (Torres et al., 1996; FDA, 2000; Datta, 2002) a fim de obter um controle de qualidade. Embora Oetterer (1991) descreva que os sanificantes não interferem nos componentes do alimento, é possível que os sanificantes possam afetar as gorduras.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito dos compostos ozônio, dicloroisocianurato de sódio e ultra-som utilizados como sanificantes sobre o perfil de ácidos graxos, teor de colesterol e índice de peróxido em filé de tilápia.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material experimental

Os peixes utilizados no presente estudo foram tilápias (*Oreochromis niloticus*) adultas e com peso vivo médio de 800 g ( $\pm$  50g), cultivados em tanques de terra da estação de piscicultura da Universidade de Alfenas (atitude 21°25'S, longitude 45°58'S e altitude de 800 m). O clima nessa região é subtropical úmido com temperatura média anual de 20,5°C (Instituto Nacional de Meteorologia).

O sistema de cultivo utilizado foi o intensivo, usando na alimentação ração com um teor de 28% de proteína bruta e energia de 3200 kcal/kg de energia metabolizável (EM), fornecida duas vezes ao dia.

Os animais foram retirados dos tanques de terra, da fase de terminação, colocados em tanques (caixas de fibra de vidro) e submetidos a um período de 24 horas de depuração. Posteriormente, as tilápias insensibilizadas em tanques com água e gelo (5 °C) foram evisceradas e fileteadas sem peles.

### 4.2 Tratamentos

O total de 15 filés de tilápa foi dividido aleatoriamente em 5 grupos (de 3 filés), que foram submetidos aos tratamentos e, posteriormente, feita a análise centesimal com 3 repetições.

A determinação do perfil de ácidos graxos, colesterol e índice de peróxido foi feita em 20 filés, os quais foram divididos em 5 grupos. Cada grupo foi submetido a um dos tratamentos e realizadas as análises com 3 repetições.

Os 5 grupos (de 3 filés) destinados à análise centesimal e mais os 5 grupos (de 4 filés) destinados às análises de perfil de ácidos graxos, colesterol e índice de peróxido, foram submetidos aos seguintes tratamentos: T1 água clorada (dicloroisocianurato de sódio) com 3,0 a 3,5 mg/L, T2 água clorada mais

o ultra-som, T3 água ozonizada com 3,0 a 3,5 mg/L, T4 água ozonizada mais o ultra-som e T5 – controle.

Os tratamentos foram aplicados por imersão dos filés em solução a temperatura de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  em cuba lavadora ultra-sônica (aço inoxidável) por 20 minutos (as concentrações foram monitoradas a intervalos de 5 minutos). Imediatamente após os tratamentos, as amostras foram congeladas a  $-70^{\circ}\text{C}$  até serem processadas as análises.

A concentração de cloro foi determinada conforme previsto na legislação (Brasil, 1999). O residual de cloro foi determinado por colorimetria por comparação visual, utilizando a solução padrão de N.N. dietil-p-fenilendiamina (DPD) e confirmado pelo método iodimétrico indireto, sendo o tiosulfato de sódio a 0,1N a solução titulante (APHA, 1992).

A concentração de ozônio foi determinada segundo Chang & Sheldon (1989), monitorada com o auxílio do monitor Residual Ozone System (ROS) modelo 26506 e sensor 31.331.15 (Orbisphere Laboratories®). Esse aparelho possui uma célula eletroquímica que determina o resíduo de ozônio por diferença de condutividade. Essa medida foi confirmada pelo método iodimétrico, que utiliza o tiosulfato de sódio a 0,1N como solução titulante (APHA, 1992).

A temperatura da solução de resfriamento foi determinada com auxílio de um termômetro acoplado a cuba lavadora, para verificar a temperatura no início, meio e fim da aplicação dos tratamentos.

Na determinação do pH, retirou-se uma amostra da água de cada tratamento e, por meio de tiras reagentes, com escala de 0 a 14 e intervalo de 0,2 unidades de pH, fez-se a medição. O pH da água dos tratamentos foi, em média, 6.

#### **4.2.1 Sistema de cloração**

No tratamento com cloro foi utilizada água da rede de abastecimento da

Unifenas, que passa por tratamento de cloração convencional, no próprio campus. Para sua utilização, instalou-se no seu ponto de chegada, no laboratório, um filtro de carvão para reter o residual de cloro. Essa água foi utilizada para o abastecimento de uma caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 250 litros, sendo a mesma conduzida por tubulação a cuba ultra-sônica.

O produto comercial utilizado foi o dicloroisocianurato de sódio (nome comercial Aquatabs<sup>®</sup>, Bayer). A solução de água clorada utilizada nos tratamentos foi preparada com 250 litros de água adicionada de uma pastilha de 2,5 g de dicloroisocianurato de sódio, que produziu um residual de cloro livre de 3,0 a 3,5 mg/L.

A refrigeração da solução foi feita com 40 kg de gelo fabricado com água potável e picado, necessário para manter a temperatura dos 250 L de água entre 3 a 5°C por, aproximadamente, 30 minutos.

#### **4.2.2 Sistema de ozonização**

A água utilizada para o tratamento com ozônio foi obtida da rede de abastecimento da Unifenas, passando por tratamento de cloração convencional, no próprio campus. Para sua utilização, instalou-se no seu ponto de chegada, no laboratório, um filtro de carvão para reter o residual de cloro. Essa água foi utilizada para o abastecimento de uma caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 500 litros.

O ozônio foi obtido no próprio laboratório de microbiologia e fisiologia de microrganismos da Unifenas, sendo produzido por um gerador que foi alimentado por um cilindro de 100 kg oxigênio. O gerador utilizado foi o modelo EAS 470 DC, que apresenta capacidade de 10 g/h a 3% de concentração em peso de ozônio gerado, quando operado com vazão de oxigênio de 4,2 L/min, à pressão de 1,0 kgf/cm<sup>2</sup>. O cilindro de oxigênio foi conectado ao gerador através do regulador de pressão e fluxômetro. O ozônio produzido pelo gerador

foi conduzido até a caixa d'água por meio de tubulação.

No período de ozonização da água, utilizou-se um sistema fechado de resfriamento em que o ozônio foi concentrado na caixa d'água, através de um conjunto venturi (bomba de recirculação). A água ozonizada passou por serpentina imersa em tanque isotérmico, contendo 40 kg de gelo seco, 20 L de água e 2,5 L de álcool, atingindo a temperatura de 3°C a 5°C e chegando a cuba ultra-sônica por meio da tubulação da serpentina.

O sistema foi operado com 5 L de oxigênio por minuto e pressão de 0,5 kgf/cm<sup>2</sup>, com produção 6,88 g/h de ozônio. Trabalhando sob as condições ajustadas, após 30 minutos de saturação, os 500 L de água adquiriram um residual de ozônio entre 3,0 a 3,5 mg/L

#### **4.3 Composição centesimal**

As amostras foram homogeneizadas em multiprocessador até a obtenção de uma massa homogênea. A proteína bruta foi quantificada pelo método de análise de nitrogênio Kjeldahl, os lipídios totais foram determinados pelo método de Soxhlet, a umidade em estufa a 105°C até a obtenção de peso constante e as cinzas em mufla a 550°C (AOAC., 1990). As análises foram realizadas em triplicata.

#### **4.4 Perfil de ácidos graxos (AG)**

A extração lipídica foi realizada segundo Folch et al. (1957); cinco gramas foram homogeneizados em 50 mL de clorofórmio/metanol (2:1). O homogeneizado foi filtrado para um funil de separação de 250 mL, permanecendo em repouso por 2 horas para separação física. A fração apolar do homogeneizado, contendo lipídeos e clorofórmio, foi recolhida e a fração polar descartada. A fração apolar foi submetida à nova separação por 12 horas; dessa outra separação, a fração apolar foi recolhida em balão volumétrico e foi

adicionado clorofórmio até completar 50 mL. Do extrato obtido, 5 mL foram retirados de seu conteúdo para determinação do perfil de ácidos graxos e 5 mL para a determinação do colesterol.

As amostras, para determinação dos diferentes ácidos graxos, foram inicialmente saponificadas com hidróxido de sódio com metanol 0,5M e metiladas com solução de cloreto de amônio, metanol e ácido sulfúrico, segundo metodologia de Hartman & Lago (1973). Após a metilação e resfriamento, adicionaram-se 2 mL de éter de petróleo, completado o volume de 50 mL com solução saturada de cloreto de sódio, agitando-se e, finalmente retirada alíquota de 1  $\mu$ L para a injeção.

As amostras foram injetadas em cromatógrafo gasoso, marca Konic, modelo HRGC 4000A, equipado com coluna CP Sil 88 Tailor Made FAME (Chrompak), coluna 50 m x 0,25 mm id; filme 0,2; gás de arraste hidrogênio com fluxo 0,5 mL/min. As condições cromatográficas foram as seguintes: temperatura inicial da coluna, 180°C; temperatura final da coluna, 225 °C; taxa de programação (Ratio)- 5°C/min; split na razão de 1:75; temperatura do injetor-270°C; e temperatura do detector de 300°C (Firestone, 1998).

#### **4.5 Colesterol**

A extração do colesterol foi feita segundo Stewart et al. (1992), em que alíquotas de 1 g das amostras foram colocadas em tubos de ensaios e adicionados 4 mL de hidróxido de potássio a 50% em água e 6 mL de etanol 95%. A fração insaponificável (colesterol) foi extraída com hexano, submetida a purificação e, finalmente retirou-se alíquota de 1  $\mu$ L para a injeção.

A determinação de colesterol foi feita em cromatógrafo gasoso, marca Pharmacia, modelo LKB com detector UV-Vis, equipado com coluna Inertsil ODS-3 (150 x 4,6 mm, 5 mm - Chrompack) - com coluna de guarda ou RP-18 (125 x 4 mm, 5 mm - Merck) - com coluna de guarda, válvula de injeção: 20

mL; com detector: UV-VIS fixado a 210 nm; tendo fase móvel: acetonitrila + isopropanol (70:30, v/v) e fluxo = 1 mL/min, segundo metodologia descrita por Bragagnolo & Rodriguez-Amaya (1997).

#### 4.6 Índice de peróxido

O índice de peróxido foi avaliado pelo método que determina todas as substâncias que oxidam iodeto de potássio (KI), em miliequivalentes de peróxido por 1000 g de amostra, segundo Firestone (1998).

Essa metodologia consistiu em pesar 5 g da amostra em erlenmeyer de 250 mL, adicionando-se 30 mL de ácido acético clorofórmio (o ácido torna o meio mais propício à reação e o clorofórmio dissolve a amostra) e agitando o frasco até a dissolução da amostra. Posteriormente, foram adicionados 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio (KI), deixando o produto de repouso por 1 minuto em local escuro, com agitação ocasional e em seguida adicionaram-se 30 mL de água destilada. Esse procedimento facilita a reação de adição do potássio aos peróxidos, o que é favorecido pela falta de luz. Transcorrido o repouso, fez-se titulação com  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  a 0,1N até que a coloração escura desaparecesse. Adicionaram-se 0,5 mL de solução de amido indicador e continuou-se a titulação até o desaparecimento da coloração azul. Os peróxidos presentes na amostra liberaram o iodo do KI na forma  $\text{I}_2$  e esse reagiu com o amido, formando uma coloração azul e a titulação com agente redutor ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) fez com que a coloração azul escuro sumisse. A quantidade de  $\text{I}_2$  liberada depende da quantidade de peróxido presente na amostra. Portanto, o índice de peróxido é calculado pela fórmula:

$$\frac{S \times N \times 1000}{\text{amostra}(g)}$$

em que: S = volume de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gasto na titulação  
N = normalidade da solução

#### 4.7 Análise estatística

O delineamento experimental utilizado para análise centesimal foi inteiramente casualizado (DIC) com 5 tratamentos (T1, T2, T3, T4 e T5). Para avaliar a composição centesimal foram utilizados 5 grupos de amostra com 3 filés de tilápia; nas análises de ácidos graxos, colesterol e índice de peróxido, foram utilizados 2 grupos para cada um dos tratamentos, cada um contendo 4 porções de filés (Vieira, 1999).

O modelo estatístico para todas as análises centesimais, perfil de ácidos graxos, colesterol e índice de peróxido foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \text{ em que:}$$

$Y_{ij}$  = valor obtido pelo tratamento  $i$ , na repetição  $j$

$\mu$  = média geral do experimento

$T_i$  = efeito do tratamento sanificante  $i$  ( $i = 1:5$ )

$e_{ij}$  = resíduo aleatório do tratamento  $i$ , na repetição  $j$  ( $j = 1:3$ ).

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (programa estatístico SPSS, versão 11.5, 2002), e quando a análise de variância determinou diferença significativa para uma resposta, os dados da mesma foram submetidos ao teste de Tukey (Vieira, 1999).

Identificada a heterogeneidade de variâncias (teste F de Hartley,  $p < 0,05$ ), os dados foram submetidos à análise não-paramétrica. Diferenças entre grupos foram avaliadas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) e comparações pareadas, conduzidas por teste de Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ).

## 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição centesimal

As médias para umidade, proteína, lipídios totais e cinzas de filés de tilápia submetidos aos tratamentos sanificantes são apresentados na Tabela 1.

### 5.2 Umidade

A análise estatística demonstrou efeito significativo ( $P < 0,05$ ) dos tratamentos sobre a umidade dos filés de tilápia, como é observado na Tabela 1. Os resultados para umidade encontrados nos tratamentos para dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som (78,00%), ozônio (77,16%), e controle (78,60%) foram estatisticamente diferentes entre si e o ozônio também foi diferente do tratamento com dicloroisocianurato de sódio. Entretanto, quando comparados os compostos dicloroisocianurato de sódio (78,24%) e ozônio associados ao ultra-som (78,14%), constatou-se que não houve diferença significativa entre as médias. Dentre os grupos analisados, os filés do grupo controle mostraram média elevada (78,60%) e os filés tratados com ozônio, média mais baixa (77,16%) do que os demais, diferindo estatisticamente de todos os tratamentos (Tabela 1).

Os compostos em questão, dicloroisocianurato de sódio e ozônio, associados ou não ao ultra-som, podem interagir com proteínas e lipídios do sarcolema (membrana da fibra muscular) (Blook, 1991; Gurley, 1985; Kim et al., 1999) com a consequente ruptura e perda de água das células que entram em contato com o sanificante.

TABELA 1 Médias de umidade, proteína, lipídios totais e cinzas (%) em filés de tilápia.

Tratamentos	Umidade	Proteína	Lipídios	Cinzas
T <sub>1</sub>	78,24 <sup>ab</sup>	19,15 <sup>ab</sup>	1,44 <sup>e</sup>	0,19 <sup>ab</sup>
T <sub>2</sub>	78,00 <sup>b</sup>	19,52 <sup>ab</sup>	1,33 <sup>d</sup>	0,18 <sup>ab</sup>
T <sub>3</sub>	77,16 <sup>c</sup>	19,73 <sup>a</sup>	1,74 <sup>c</sup>	0,20 <sup>a</sup>
T <sub>4</sub>	78,14 <sup>ab</sup>	19,05 <sup>bc</sup>	3,19 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>
T <sub>5</sub>	78,60 <sup>a</sup>	18,71 <sup>c</sup>	2,33 <sup>b</sup>	0,17 <sup>b</sup>

Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, a 5 % de significância.

T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio; T2 - Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som; T3 - Tratamento com ozônio; T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som; T5 – Controle.

Comparando-se a umidade dos filés tratados com a dos filés do grupo controle, verifica-se que ocorreu uma perda de água, que é de 0,45% para o dicloroisocianurato de sódio, 0,76% para o dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, 1,83% para o ozônio e 0,58% para o ozônio associado ao ultra-som. Essa perda de água pode estar relacionada com os mecanismos de interação dos compostos sanitizantes com a membrana celular. E como as proteínas estromáticas protegem pouco a estrutura física do conjunto de fibras, é possível que ocorra ação sanitizante sobre o meio cárneo e, conseqüentemente, uma menor retenção de água nos filés tratados em comparação aos filés do grupo controle. Essas justificativas não foram relatadas na literatura.

A variação média do teor de umidade encontrado nos filés de tilápia, quando submetidos aos tratamentos propostos, foi de 77,16 a 78,60%. Ferreira et al. (2004), avaliando filés de tilápia abatidas com 700 g, encontraram média de 79,39%. Souza et al. (2004) observaram em filés de tilápia in natura, médias de 77,91%. Essas médias assemelharam-se aos valores entre 76% a 83% ,

encontrados por Ankade (1989), Contreras-Guzmán (1994), Lima & Zappata (1998) e Soccol et al. (2002), embora Sikorski (1990) descreva que esses percentuais podem variar de 58% a 83%, quando analisados diferentes tipos de pescados.

Clement & Lovell (1994) relataram médias de umidade de 73,5% para filé de tilápia, entretanto, Ogawa & Maia (1999) relata valores médios com variações de 60% e 85% de umidade.

### **5.3 Proteína**

Os tratamentos afetaram significativamente ( $P < 0,05$ ) os valores de proteína (Tabela 1). Médias de proteína mais elevadas foram observadas nos tratamentos T3, T2 e T1 (19,73%, 19,52% e 19,15%, respectivamente) do que nos tratamentos T4 e T5 (19,05% e 18,71%, respectivamente). Isso significa que os filés de tilápia do grupo controle e do tratado com ozônio associado ao ultra-som apresentaram menos proteínas do que os tratados com dicloroisocianurato de sódio, dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som e ozônio.

As médias de proteínas variaram de 18,71% a 19,73%. Esses valores encontram-se próximos ao descrito por Clement & Lovell (1994), que foi de 20,30% para filés de tilápia, abatidas com 585gramas. Valores mais baixos de proteína (16,47%) foram relatados por Ferreira et al. (2004) em tilápia de 700 gramas e também por Soccol et al. (2002) de 15%-18%, tratando da mesma espécie. Entretanto, Souza et al. (2004) obtiveram um valor de proteína (25,65%) que foi superior.

Avaliando-se o comportamento dos dados de umidade e proteína, verifica-se que o grupo controle apresentou um maior percentual de umidade e um menor percentual de proteínas, ou seja, tratamentos sanificantes causaram uma perda de água que foi confirmada pelo aumento do percentual de proteína nas amostras de filés. Ou seja, a perda de água causou uma concentração

significativa nos índices de proteínas no presente estudo. No tratamento T3, esse efeito apareceu; entretanto, no T1, T2 e T4 foi observado, mas, com menor intensidade.

#### **5.4 Lipídios**

Os tratamentos apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) nos lipídios totais (Tabela 1). Os tratamentos com ozônio (1,74%) e ozônio associado ao ultra-som (3,19%) apresentaram os teores mais elevados de lipídios e os tratamentos com dicloroisocianurato de sódio (1,44%) e dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som (1,33%) obtiveram os menores teores. Soares et al. (1998) encontraram teores de lipídios totais em peixes inteiros e em filés de tilápia de 8,06% e 2,25% respectivamente. É possível que esses resultados sejam devido à variação de gordura entre os peixes escolhidos para compor o lote, em decorrência de regime alimentar que também incluía fitoplâncton existente nos tanques de terra. O fitoplâncton é um alimento natural de alto valor nutritivo constituído de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (Kubitza, 2000; Biato, 2005). A variação média encontrada na fração lipídica foi de 1,33% a 3,19%, estando este intervalo de acordo com os resultados de Ferreira (1987) e Mujica (1988) que foi de 2,2% a 2,4%, e Socool et al. (2002) de 2,80% a 3,62% em filé de tilápia.

#### **5.5 Cinzas**

Os teores médios de cinza dos filés de tilápia variaram entre 0,17% a 0,20% e são apresentados na Tabela 1.

A fração cinza dos filés de tilápia tratados, somente no tratamento com ozônio (0,20%), apresentou diferença significativa em relação ao ozônio associado ao ultra-som (0,17%) e ao controle (0,17%).

Segundo Souza (2004), os resultados médios observados, no peixe

inteiro e filés in natura, para o teor de substâncias minerais, foram de 3,41% e 1,04%. respectivamente, resultado muito superior aos encontrados no presente experimento. Clement & Lovell (1994) encontraram teores de 2,3% para cinzas, utilizando tilápia em seus experimentos.

Nataranjan & Sreenivasan (1961), analisando 36 peixes de água doce, de espécies diferentes, obtiverem um resultado de substâncias minerais entre 0,81% e 1,95% para filés e, nos peixes inteiros, atingindo até 5,14%, sendo ambos os tipos de amostra in natura.

Segundo Sales & Sales (1990), o conhecimento quantitativo da composição química dos músculos de peixe de interesse comercial é importante para a formulação de dietas apropriadas, como também na definição de procedimentos técnicos para as indústrias de processamento de pescado. A composição química, dependendo do tipo de processamento a ser utilizado, pode interferir no sabor, na textura e na estabilidade dos ácidos graxos, seja pelo aumento da insaturação, ou pela variação dos antioxidantes naturais presentes (Siqueira, 2001).

## **5.6 Perfil de ácidos graxos (AG)**

Os ácidos graxos predominantes na fração lipídica dos filés de tilápia não tratados foram em ordem decrescente: C18:1 $\omega$ 9 (30,90%), C16:0 (25,20%), C18:2 $\omega$ 6 (12,80%), C16:1 $\omega$ 7 (6,70%), C18:0 (6,30%), C14:0 (4,70%), C20:1 $\omega$ 11 (1,50%), C20:4 $\omega$ 6 (1,30%), C18:3 $\omega$ 3 $\alpha$  (0,90%), DHA - C22:6 $\omega$ 3 (0,80%), C22:5 $\omega$ 6 (0,60%), C18:2 $\omega$ 6t (0,40%), C18:3 $\omega$ 6 $\gamma$  (0,40%), C22:5 $\omega$ 3 (0,40%) e C20:5 $\omega$ 3 (0,10%).

Com relação aos totais de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM) e ácidos graxos polinsaturados (AGP), as médias foram de 36,20%, 39,10% e 17,70% (Tabela 2).

Os tratamentos influenciaram os AGS (C14: 0 e C16: 0); os AGM (C16:

1ω7, C18: 1 ω9 e C20: 1ω11); e, os AGP (C18: 3ω3, C18: 3ω6, C20: 4ω6, C20: 5ω3, C22: 5ω6, C22: 5ω3, C22: 6ω3). Como a ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio e do ozônio está relacionada com o poder oxidante (Macedo, 2000), é possível que o efeito significativo dos tratamentos sobre os diferentes ácidos graxos seja resultado da oxidação de alguns ácidos graxos (Chen et al., 1992; Menzel, 1984). Outro fator que também pode ter determinado diferença é a variação entre o material experimental, que apresentou peso médio de 800 g ( $\pm$  50g).

Menzel (1984) postulou que o ozônio pode gerar a formação de substâncias tóxicas em alimentos, resultado da oxidação de tecidos protéicos ou ácidos graxos insaturados do mesmo. Contudo, Chen et al. (1992), avaliando a atividade mutagênica do ozônio, tanto em gorduras quanto em extratos solúveis de camarão, detectaram que a imersão em solução de ozônio (5 mg/L durante 120 min) não induziu à formação de produtos mutagênicos nos mesmos.

A análise de variância ( $P < 0,05$ ) demonstrou diferença significativa em fração lipídica de AGS, AGM e AGP entre os tratamentos propostos, como pode ser avaliado na Tabela 2.

Os ácidos graxos saturados apresentaram diferença entre os tratamentos T3, T4 e T5, com as respectivas médias de 37,00%, 33,50% e 36,30%, observando-se que o tratamento com ozônio foi o que mais preservou a fração AGS. Os tratamentos T1 e T2 (34,90% e 34,80%) não diferiram entre si, mas foram diferentes dos tratamentos T3, T4 e T5 (39,30%, 36,30% e 39,10%) para AGM, mostrando que o tratamento com ozônio foi o que mais preservou a fração AGM. Os AGP não apresentaram diferença entre os tratamentos T1 e T2 (23,00% e 22,60%) e os grupos T3, T4 e T5 (18,30%, 20,40% e 17,70) diferiram entre si, tendo os tratamentos com dicloroisocianurato de sódio apresentado as maiores médias. As médias de AG estão representadas na Tabela 2.

TABELA 2 Média de ácidos graxos (% lipídios totais) em filés de tilápia.

AG	T1	T2	T3	T4	T5
Mirístico (C14: 0)	4,00 <sup>ab</sup>	4,30 <sup>ab</sup>	3,80 <sup>b</sup>	4,20 <sup>ab</sup>	4,70 <sup>a</sup>
Palmítico (C16: 0)	22,80 <sup>b</sup>	22,70 <sup>b</sup>	27,50 <sup>a</sup>	22,80 <sup>b</sup>	25,20 <sup>a</sup>
Esteárico C18: 0	6,40 <sup>a</sup>	6,60 <sup>a</sup>	6,60 <sup>a</sup>	6,50 <sup>a</sup>	6,30 <sup>a</sup>
<b>Total de AGS</b>	<b>32,20</b>	<b>33,60</b>	<b>37,00</b>	<b>33,50</b>	<b>36,20</b>
Palmitoléico (C16: 1 $\omega$ 7)	5,40 <sup>b</sup>	5,70 <sup>b</sup>	5,70 <sup>b</sup>	5,80 <sup>b</sup>	6,70 <sup>a</sup>
Oléico (C18: 1 $\omega$ 9)	28,20 <sup>c</sup>	27,70 <sup>c</sup>	32,00 <sup>a</sup>	29,00 <sup>bc</sup>	30,90 <sup>ab</sup>
Eicosenóico (C20: 1 $\omega$ 11)	1,30 <sup>b</sup>	1,40 <sup>b</sup>	1,60 <sup>a</sup>	1,50 <sup>ab</sup>	1,50 <sup>ab</sup>
<b>Total de AGM</b>	<b>34,90</b>	<b>34,80</b>	<b>39,30</b>	<b>36,30</b>	<b>39,10</b>
Trans linoléico (C18: 2 $\omega$ 6t)	0,40 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>
Linoléico (C18: 2 $\omega$ 6)	13,90 <sup>a</sup>	13,60 <sup>a</sup>	14,20 <sup>a</sup>	11,20 <sup>a</sup>	12,80 <sup>a</sup>
$\alpha$ -linolênico (C18: 3 $\omega$ 3 $\alpha$ )	0,90 <sup>b</sup>	0,90 <sup>b</sup>	0,90 <sup>b</sup>	2,40 <sup>a</sup>	0,90 <sup>b</sup>
$\gamma$ -linolênico (C18: 3 $\omega$ 6 $\gamma$ )	0,50 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	0,30 <sup>b</sup>	0,40 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>
Araquidônico (C20: 4 $\omega$ 6)	2,90 <sup>a</sup>	3,00 <sup>a</sup>	0,80 <sup>c</sup>	1,40 <sup>b</sup>	1,30 <sup>b</sup>
Eicosapentaenóico (C20: 5 $\omega$ 3)	0,20 <sup>b</sup>	0,10 <sup>b</sup>	0,10 <sup>b</sup>	0,30 <sup>a</sup>	0,10 <sup>b</sup>
Docosapentaenóico (C22: 5 $\omega$ 6)	1,30 <sup>a</sup>	1,20 <sup>a</sup>	0,40 <sup>c</sup>	0,80 <sup>b</sup>	0,60 <sup>bc</sup>
Docosapentaenóico (C22: 5 $\omega$ 3)	0,80 <sup>b</sup>	0,70 <sup>b</sup>	0,30 <sup>c</sup>	1,10 <sup>a</sup>	0,40 <sup>c</sup>
Docosahexaenóico (C22: 6 $\omega$ 3)	2,10 <sup>b</sup>	2,20 <sup>b</sup>	1,00 <sup>c</sup>	2,50 <sup>a</sup>	0,80 <sup>c</sup>
<b>Total de AGP</b>	<b>23,00</b>	<b>22,60</b>	<b>18,30</b>	<b>20,40</b>	<b>17,70</b>

Médias seguidas de letras diferentes, na linha, diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

T1 = dicloroisocianurato de sódio, T2 = dicloroisocianurato de sódio associado a ultra-som, T3 = ozônio, T4= ozônio associado a ultra-som e T5 = controle.

Os AG C18: 2 $\omega$ 6 e C18: 3 $\omega$ 3 são considerados essenciais, pois são os precursores para a síntese de muitos AGP, como os ácidos C20: 4 $\omega$ 6, C20: 5 $\omega$ 3 e C22: 6 $\omega$ 3 (Spector, 1999). Os AG derivados da ação de enzimas, como as cicloxigenases e lipoxigenases, formam os eicosanóides, substâncias moduladoras de muitas funções vitais, participando de processos secretórios, digestivos, reprodutivos, imunológicos e circulatórios (Mancini-Filho & Chemin, 1996).

Entre os AGP, o ácido linoléico (C18: 2 $\omega$ 6) encontrado nos filés tratados no presente estudo (Tabela 2) apresentou percentual médio superior (14,20%) no grupo T3 quando comparado aos dos outros tratamentos. Possivelmente, este fato deve-se a uma menor intensidade na reação de oxidação, levando a uma maior preservação desses AGP, sendo o ozônio altamente volátil (Garcia et al., 2003) e não permanecendo no produto tempo suficiente para que essa reação fosse intensificada. A temperatura dos tratamentos pode também ter auxiliado, retardando essa reação (Torres et al., 1996). Em estudo dos diferentes métodos de cocção de filés de tilápia, Ferreira et al. (2004) observaram percentual (14,27%) semelhante do ácido linoléico (C18: 2 $\omega$ 6) em filés de tilápia crus.

Comparado ao grupo controle, não houve diferenças significativas no perfil de ácidos graxos  $\omega$ 6 extraídos nos diferentes tratamentos ( $p > 0,05$ ). Contudo, foi identificado um aumento no teor de ácidos graxos  $\omega$ 3 obtidos quando do tratamento das carcaças com dicloroisocianurato de sódio ou ozônio, associados ao ultra-som ( $p < 0,05$ ), não verificado na ausência deste último.

O ultra-som é conhecido por propiciar um conjunto de alterações na estrutura de ácidos graxos insaturados, em curto período de tempo (15 a 30 minutos), temperatura ambiente e frequência de 20 kHz (Jie & Kalluri, 1996b), tais como deidrobrominação, formando derivados acetilênicos, com grupos funcionais adicionados (Jie & Kalluri, 1996a), epoxidação de cadeias longas na presença de ácido cloroperoxibenzóico (Jie & Lam, 1995), e clivagem oxidativa

de ligações acetilênicas de ácidos graxos (Jie e Kalluri, 1996a). Além disso, o emprego de ultra-som tem sido auxiliar na síntese de ácido santálbico e fracionamento em óleo de semente de *Santalum album* (Jie et al., 1997), síntese de ácidos graxos com derivados de anel de pirazolona (Jie & Lau, 1999), e na oxidação e abertura de anel furanóide de ácidos graxos C18 modificados.

O aumento encontrado no teor de ácidos graxos  $\omega$ 3 extraídos, quando tratados com ultra-som, pode estar relacionado ao seu efeito sobre a homogeneização e emulsificação de substratos oleofínicos em contato próximo, sob a ação de reagentes oxidantes, o que não tem sido observado na supressão do ultra-som (Jie & Kalluri, 1996b). Em paralelo, esse efeito parece estar intensificado pela condução aumentada no ambiente polar e de alta constante dielétrica da água utilizada para os tratamentos. Análises por ressonância magnética nuclear e espectroscopia de massa de alta resolução, contudo, sugerem o emprego de ultra-som na identificação de centros insaturados (dupla e tripla ligações) na cadeia alquila de ácidos graxos (Jie & Kalluri, 1996a).

Moreira et al. (2001), analisando três espécies de pescado brasileiro, matrinhã (*Brycon cephalus*), piraputunga (*Brycon microlepis*) e piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), encontraram um total de AGS de 33,63% a 41,86%; de AGM 46,97% a 57,20% e de AGP 6,54% a 17,88%, resultados estes semelhantes aos obtidos no presente estudo.

Siqueira (2001), em pesquisa com irradiação de tilápia do Nilo, obteve um total de AGS de 32,5% a 47,5% em filés não irradiados e de 33,0% a 52,0% para os irradiados; de AGM de 44,0% a 44,8% em filés não irradiados e 39,9% a 44,6% em filés irradiados; de AGP de 7,3% a 21,4% em filés não irradiados e 7,2% a 22,9% para os irradiados. Quando comparados os tratamentos por irradiação com os de dicloroisocianurato de sódio e ozônio (associados ou não ao ultra-som), foram observados intervalos superiores, nos grupos irradiados, para AGS e AGM; e os AGP apresentaram valores inferiores. Em ambas as

pesquisas, os filés não tratados obtiveram percentuais compatíveis.

Maia & Rodriguez-Amaya (1993) e Maia et al. (1994), analisando a tilápia (*Oreochromis niloticus*) e o curimatá (*Prochilodus serofa*), em relação à composição de ácidos graxos, encontraram valores de 41,7% para AGS, 49,9% para AGM e 17,4% para AGP, em tilápia. No curimatá, foram detectados os seguintes percentuais: 42% para AGS, 36% para AGM e 21% para AGP.

Ogawa & Maia (1999) analisaram três espécies de pescado de água doce, quanto ao conteúdo de ácidos graxos: tilápia (*Tilapia mossambica*), “barbus” (*Barbus carnaticus*) e cobra do mar (*Ophichthidae*) e encontraram teores de 33,7% a 49,3% para AGS, de 29,9% a 37,5% para AGM e de 18,1% a 33,2% para AGP nas três espécies, respectivamente..

Os lipídios contidos em pescados apresentam grande quantidade de ácidos graxos insaturados, suscetíveis à oxidação em presença do oxigênio. Também o período de coleta dos peixes pode exercer efeitos significativos sobre a composição de alguns ácidos graxos, como oléico e  $\alpha$ -linoleico (Oliveira et al., 2000; Beirão et al. 2003).

A oxidação é uma das principais causas de deterioração da qualidade de produtos cárneos. A susceptibilidade do tecido muscular à oxidação deve-se a sua alta concentração de catalisadores (Ferro, Hemoglobina) e a de lipídios. Os lipídios oxidados podem reagir com outros componentes do alimento, como proteínas, carboidratos e vitaminas (Cândido et al., 1998; Hultin, 1994). A ação sanificante dos tratamentos se deu pela capacidade de oxidação de ambos (Rice et al., 1996; Macedo, 2000).

Os percentuais de ácidos graxos, em todos os grupos, observados nesta pesquisa, quando comparados com valores descritos para tilápia fresca, pelos pesquisadores já citados, mantiveram-se estáveis após os tratamentos de acordo com Siqueira (2001), Maia & Rodriguez-Amaya (1993) e Maia et al. (1994).

Os teores de AGPI encontrados nestes peixes podem ser influenciados pelos teores de ácidos graxos AGPI existentes nas rações fornecidas e pelo peso dos peixes.

### **5.7 Teor de colesterol e índice de peróxido**

As médias dos teores de colesterol e dos índices de peróxidos estão apresentadas na Tabela 3.

#### **5.7.1 Teor de colesterol**

Os teores médios de colesterol encontrados em filés de tilápias submetidos aos tratamentos revelaram diferença pela análise de variância ( $P < 0,05$ ). As médias dos grupos de filés tratados com ozônio e do grupo controle foram semelhantes (54,65 mg/100 g e 54,77 mg/100 g respectivamente), mas foram diferentes dos grupos tratados com dicloroisocianurato (45,04 mg/100 g), dicloroisocianurato associado ao ultra-som (43,94 mg/100 g) e ozônio associado ao ultra-som (45,93 mg/100 g). As médias obtidas podem ser observadas na Tabela 3.

No grupo T2 (43,94 mg/100 g), obteve-se uma redução mais acentuada quando comparado com o controle (54,77 mg/100g), provavelmente por uma ação oxidante mais acentuada do dicloroisocianurato associado ao ultra-som nos ácidos graxos saturados, que podem ser transformados em ésteres de colesterol.

Os teores de colesterol encontrados em algumas espécies domésticas tradicionalmente consumidas foram de 36,3 mg/100 g para frangos, 51 mg/100 g em bovino nelore e de 62,03 – 76,9 mg/100 g para ovinos (Nogueira & Bragagnolo, 2000; Prado, 1999; Rowe et al., 1999; Sales et al., 1999).

TABELA 3 Médias do teor de colesterol em mg/100g de lipídios e do índice de peróxido (meq/kg da fração lipídica) dos filés de tilápia submetida aos tratamentos

Tratamentos	$\bar{X}$ de teor de colesterol	$\bar{X}$ do índice de peróxido
T <sub>1</sub>	45,04 <sup>b</sup>	14,78 <sup>a</sup>
T <sub>2</sub>	43,94 <sup>b</sup>	6,07 <sup>a</sup>
T <sub>3</sub>	54,65 <sup>a</sup>	15,79 <sup>a</sup>
T <sub>4</sub>	45,93 <sup>b</sup>	9,62 <sup>a</sup>
T <sub>5</sub>	54,77 <sup>a</sup>	39,57 <sup>a</sup>

Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, a 5% de significância.

T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 - Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio, T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 – Controle.

Os filés tratados com os sanificantes apresentaram valores inferiores aos encontrados para bovinos e ovinos, e superiores aos encontrados para frangos segundo Nogueira & Bragagnolo, 2000; Prado, 1999; Rowel et al., 1999; Sales et al., 1999. Foram observadas, nos tratamentos conjugados com o ultra-som (T2 43,94 mg/100 g e T4 45,93 mg/100 g) e no tratamento com dicloroisocianurato de sódio (T1 45,04 mg/100 g), médias inferiores, quando comparados ao tratamento com ozônio (54,65 mg/100 g). Todos os tratamentos apresentaram médias inferiores à do controle (54,77 mg/100 g).

### 5.7.2 Índices de peróxidos

Os teores médios de índices de peróxido encontrados em filés de tilápia submetidos aos tratamentos não revelaram diferença estatística segundo análise de variância ( $P > 0,05$ ), apesar de os valores médios terem sido bastante

diferentes, como pode ser observado na Tabela 3. Isto deve-se a um alto coeficiente de variação decorrente da variável muito instável.

É conhecido que as bactérias lácticas e os *Enterococcus* produzem vários compostos bactericidas, incluindo os ácidos orgânicos, que fazem baixar o pH, o peróxido de hidrogênio, enzimas bacteriolíticas e as bacteriocinas (Demarigny et al., 1996; Giraffa et al., 1997). Alguns desses compostos também são responsáveis pelas características organolépticas dos queijos e outros alimentos e, ao mesmo tempo, inibem parte dos microrganismos da microflora indesejável (Hérard et al., 1993; Nettles & Barefoot, 1993).

A produção de ácidos e de peróxido de hidrogênio pela flora láctica e *Enterococcus* também foi registrada por outros autores, confirmado por Guerra & Bernardo (2001), em estudo *in vitro*, com agentes microbianos com capacidade de inibição de efeitos biológicos com eventual relevância tecnológica e sanitária. Portanto, os resultados obtidos no presente estudo, em que o índice de peróxido foi maior nas amostras controles, podem ser justificados por terem sido eliminadas as bactérias (possivelmente *Enterococcus*) produtoras desse composto pelos métodos sanificantes utilizados.

A peroxidação de AGP "*in vivo*" leva à formação de malonaldeído, que pode provocar ligações cruzadas nas lipoproteínas de baixa densidade, causando acúmulo de colesterol no vaso sanguíneo. Os ácidos graxos peroxidados inibem a produção de prostaciclina, produzida pelo endotélio vascular, conhecida como potente inibidor da agregação plaquetária no vaso sanguíneo (Araújo, 1999 citado por Pereira, 2003). Portanto, é indicada a ingestão de altas taxas de AGP, desde que associadas proporcionalmente com antioxidantes, como vitamina C, E e  $\beta$ -caroteno para evitar a peroxidação lipídica (Pereira, 2003). Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se dizer que os T2 6,07 meq/kg e T4 9,62 meq/kg obtiveram menor índice de peróxido, sendo, portanto, os métodos de sanificação que não causariam danos à saúde quanto ao aspecto de produção de radicais livres.

## 6 CONCLUSÕES

Observou-se que, em todos os tratamentos, houve preservação dos componentes químicos presentes na carne de tilápia ocorrendo apenas, uma diminuição teor de umidade, sendo que o ozônio provocou a menor diminuição desse componente e levando a uma concentração nos teores de proteína, lipídios e cinzas. O controle apresentou maior percentual de umidade.

Os tratamentos com ozônio tiveram maior influencia nos resultados obtidos na composição centesimal.

Os agentes dicloroisocianurato de sódio, dicloroisocianurato de sódio e ultra-som; ozônio; ozônio e ultra-som, usados como sanificantes, alteram o perfil de ácidos graxos em tilápias.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18<sup>th</sup> ed. Washington, 1992.

ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY- A.O.A.C. **Official methods of analysis of the A.O.A.C.** 14 ed. Washington, DC, 1990.

ANKADE, G. R. Technical note: improved utilization of stunted tilapia spp. **Journal Food Science and Technology International**, v.24, p.20-26, 1989.

ARAÚJO, J. M. A. **Química dos Alimentos**. 1.ed. Viçosa: UFV, 1995, 335p.

BANG, H.O; DYERBERG, J. Haemostatic Function And Platelets Polinsaturated Fatty Acid in Eskimos. **Lancet**, p.433-435, 1979.

BEIRÃO, L. H; TEIXEIRA, E; MEINERT, E. M; ESPÍRITO SANTO, M. L. P. Curso Tecnologia Para Aproveitamento Integral Do Pescado; Instituto de Tecnologia de Alimentos. Centro de Tecnologia da Carne. **II Curso de Tecnologia para Aproveitamento Integral do Pescado**: 9-11 de junho de 2003. Campinas: ITAL/CTC, 2003. 79 p.

BIATO, D. O. **Deteção e controle do off flavor em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por meio de depuração e defumação**. (Dissertação) Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz: Piracicaba, 2005. 105p.

BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4th ed. Philadelphia, PA: Lea& Febiger, 1991. 1162p.

BOBBIO, F. O; BOBBIO, P. A. **Introdução a química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 1992. 223p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agrapécuária. **Portaria nº 210 – Inspeção Tecnologia de Higiénico-sanitária de Carnes de Aves**. Republicada DOU nº 43, seção 1. 05/03/1999c.

BRAGAGNOLO, N; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Otimização da determinação de colesterol por CLAE e teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em camarão rosa (*Penaeus brasiliensis*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, p.275-280, 1997.

CÂNDIDO L.M.B; NOGUEIRA, A. K., SGARBIERI, V. Propriedades funcionais de concentrado protéico de pescado preparado por vários métodos. Brazilian: **Journal of Food Technology**. v.1 n.1/2, p.77-89, 1998.

CHEN, H. C.; HUANG, S. H.; MOODY, M. W.; JIANG, S. T. Bactericidal e mutagenic effects of ozone on shrimp (*Penaeus- Monodon*) meat. **J. Food Science**. v. 57, p. 923-927.1992.

CHANG, H.Y.; SHELDON, B.W. Application of ozone with physical wastewater treatments to recondition poultry process waters. **Poultry Science**, v.68, p.1078-87, 1989.

CLEMENT, S.; LOVELL, R.T. Comparison of culture Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v.119, p.299-310, 1994.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal:FUNEP, 1994. 409p

DATTA, N. **Emerging Food Technologies and Biotechnology Lectures Notes**: Ultrasonication <[http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002 - 2002/ultrasonication.doc](http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc)> Acesso em 16 de out.2002

DEMARIGNY, Y., BEUVIER, E., DASEN, A. & DUBOZ, G.1996. Influence of Raw Milk Microflora on the Characteristics of Swiss-Type Cheeses. I. Evolution of Microflora During Ripening and Characterization of Facultative Heterofermentative Lacto-bacilli. **Le Lait**. 76: 371- 378.

FERREIRA, M. W; BRESSAN, M.C. VIEIRA, J.O. CHALFUN, L.T.F. SOUZA, X.R. SILVEIRA, L.S.M. Perfil de ácidos graxos de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) In: XIX CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS: ESTRATÉGIAS PARA DESENVOLVIMENTO. CD-Room Recife 2004. Anais. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004.

FERREIRA, S.O. **Aplicação de tecnologia a espécies de pescados de água doce visando atender a agroindústria rural**. Piracicaba, 1987.122p.  
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

FIRESTONE, D., Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society, **AOCS**, 5 Th, Ed., Vol I - II, Champaign, 1998 (MÉTODOS Ce 1-62; Ce 1b-89; Ce 1c-89).

FOLCH, J.; LEES, M. & STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509, 1957.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies** – ultrasound. 02 june 2000. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 16 out. 2002.

FULLER, J. C., JIALAL, I. Effects of antioxidants and fatty acids on low-density-lipoprotein oxidation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v. 60, p.1010-13, 1994

GARCIA, A.; MOUNT, J.R. DAVIDSON, P.M. Ozone and Chlorine Treatment of Minimally Processed Lettuce. **Journal of Food Science**. v.68, n.9, p.2747-2751, 2003

GIRAFFA, G., CARMINATTI, D. & NEVANI, E. Enterococci Isolated from Dairy Products: a Review of Risks and Potential Technological Use. **J. Food Protection**. 60: 732-738, 1997.

GUERRA, M. M; BERNARDO, F. M. A. Caracterização de efeitos inibidores de *Listeria monocytogenes* Scott A, produzidos pela microflora de maturação de queijos do Alentejo. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias** Universidade Técnica de Lisboa: RPCV 96 (538) 65-69, 2001.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterililant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**\_.v.39, n.6, p.256 -261. 1985.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Practice**, v.22, n.8, p.475-476, 1973.

HENDERSON, R. J.; TOCHER, D.R. Lipid composition and biochemistry of freshwater fish. **Prog. Lipid Res.**, 26, 281 -347,1987.

HÉRARD, Y., RENAULT, D., CENATIEMPO, Y., LETELLIER,

F., MAFTAH, A., JAYAT, C., et al. Les Bacteriocines Contre *Listeria*: Une Nouvelle Familla de Proteínas. **Le Lait**. 73: 207-213, 1993.

HULTIN, H.O. Oxidation of lipids in seafood. In: **Seafood Chemistry, Processing; Technology and Quality**. (Ed. by F. Shahidi & J.R. Botta), pp. 49-74. Blackie A&P, London, 1994

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - 5º DISME – BH, 2004.

KIM, JIN-GAB; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of food: a review. **Journal of Food Protection**, v.62, n.9, p.1071-1087, 1999.

KUBITZA, F. **Tilápia**: Tecnologia e planejamento na produção comercial. São Paulo: Degaspari. 2000. 289p.

LIE KEN JIE, M. S. F; LAM, C. K. Ultrasound-assisted expoxidation reaction of long-chain unsaturated fatty esters. **Ultrasonic Sonochem**. v.2, p.S11-S14 1995.

LIE KEN JIE, M. S. F.; KALLURI, P. Ultrasound-assisted oxidative cleavage of acetylenic and ethylenic bonds in unsaturated fatty esters with potassium permanganate. **Lipids**. v.31, n.12, p.1299-1301, 1996a.

LIE KEN JIE, M. S. F.; KALLURI, P. Ultrasound-assisted synthesis of santalbic acid and a study of triacylglycerol species in santalum album (Linn.) seed oil. **Lipids**. v.31, n.10, p.1083-1089, 1996.

LIE KEN JIE, M. S. F.; PASHA, M. K.; LAM, C. K Ultrasonically stimulated oxidation reactions of 2,5-disubstituted C<sub>18</sub> furanoid fatty ester. **Chemistry and Physics of Lipids**. n.85, 101-106p.,1997.

LIE KEN JIE, M. S. F.; LAU, M.M. L. Ultrasound-assisted synthesis of pyrazole fatty ester derivatives from a key C<sub>18</sub> keto-allenic ester **Chemistry and Physics of Lipids**. n.101, 237-242.,1999.

LIMA, M. F. V.; ZAPPATA, J.F.F. Efeito do ácido láctico e do lactato de sódio sobre as características físicas, químicas e sensoriais de filés frescos de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., Rio de Janeiro 1998. **Anais**. Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. p.739-742.

MACEDO, J. A. B. **Águas & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 505p, 2000.

MAIA, E. L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídios e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixes de água doce**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas - Campinas. 1992.

MAIA E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Avaliação de um método simples e econômico para metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.53, n.1/2, p.27-35, 1993.

MAIA E.L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; FRANCO, M.R.B. Fatty acids of the total, neutral, and phospholipids of the Brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.6, n.4, p.240-251, 1994

MANCINI-FILHO, J.; CHEMIN, S. Implicações nutricionais dos ácidos graxos trans. **Óleos e Grãos**, São Caetano do Sul, v. 31, n. 1, p. 41-45, 1996.

MENZEL, D. B. Ozone: an overview of its toxicity in man and animal. **J. Toxicol. Environ. Health**. n.13, p.183, 1984.

MOREIRA, A. B.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian brycon freshwater fishes. **J. Food Comp. Anal.**, v.14, p. 565-74, 2001

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

NATARAJAN, V. M; SREENIVASAN, A. Proximated and mineral composition of freshwater fishes. **Indian Journal of Fisheries**. v.2. n.8.p.422-42, 1961.

NETTLES, C. G. & BAREFOOT, S. F. 1993. Biochemical and Genetic Characteristics of Bacteriocins of Food- Associated Lactic Acid Bacteria.. **J. Food Protection**. 56: 338-356.

NOGUEIRA, G.C; BRAGAGNOLO, N. Frango caipira, coelho e pato: colestrol, lipídios totais e composição em ácidos graxos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. 17, 2000, Fortaleza, CE. **Anais...** Fortaleza: CBCTA, 2000.

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

OGAWA, M; MAIA, E.L; **Manual de pesca:** Ciência e Tecnologia de Pescado. São Paulo: Varela. 1999. v.1. 430p.

OLIVEIRA, E.R N.; MATSUHITA, M; AGOSTINHO, A. A. Ácidos em filés de *hypopythalmus edentatus* (mapará ou sardela) capturados no reservatório de Itaipu – PR In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. 17. Fortaleza, 2000. **Resumo**. Fortaleza Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2000. v.2. p. 5-23.

PEREIRA, M. C. A. **Características de fontes lipídicas comerciais e seus efeitos sobre o perfil lipídico plasmático, hepático e cerebral de ratos**. 125p. 2003. Lavras: Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - UFLA

PRADO, O.V. **Qualidade da carne de cordeiro Santa Inês e Bergamácia abatidos em diferentes pesos**. 1999. 109p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Lavras – UFLA – MG.

RICE, R.G. Application of ozone in water and wastewater treatment. In: Rice, R.G et. al. **Analytical aspects of ozone:** treatment of water and wastewater. Edited by Chelsea, MI: Lewis Publishers, p.7-26, 1996.

ROWE, A.; MACEDO, F. A. F.; VISENTAINER, J. V.; SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M. Muscle composition and fatty acid profile in lambs fattened in dry lot or pasture. **Meat Science**, Oxford, v. 51, n. 4, p. 283-388, Apr. 1999.

SALES, R. De O; SALES, A. M. Estudo da composição química e rendimento de dez espécies de pescado de água doce de interesse comercial nos açudes do nordeste brasileiro. **Ciências Agrônômicas**. v.1/2, n.21, p.27 –30, 1990.

SALES, J; NAVARRO, J. L; MARTELLA, M. B; LIZURUME, M. E; MANERO, A; BELLIS, L; GARCIA, P. T. Cholesterol content and fatty acid composition of rhea meat. **Meat Science**, Oxford, v.53, n.2, p.73-75, oct. 1999.

SHEARER, K.D. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. **Aquaculture**, v.199, p.63-88, 1994.

SILVA, J. A; SOARES, L. F; COSTA, E. L. Sanitização de carcaça de frango com solução de ácido orgânicos comerciais e suco de limão. **Revista Tec. Carnes**. Campinas, SP. v.3, n.1, p19-26. 2001.

SIKORSKI, Z.E. Composición nutritive de los principales grupos de organismos alimenticios marinos. **Tecnología de los productos del mar: recursos**. Zaragoza: Acribia, 1990.p.41-72.

SIQUEIRA, A. A. Z. C. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Piracicaba - SP, 2001. 137p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

SOARES, V.F.M, VALE, S.R, JUNQUEIRA, R.G, GLORIA, M.B.A, Histamine levels and physico-chemical and sensory quality of frozen fish fillet. **Ciênt.Tecnol. Alimentos**. Campinas. v.18, n.4, oct/dec 1998.

SOCOL, M.C.H.; BIATO, D.; OETTERER, M. Acidificação como complemento para extensão da vida útil da tilápia (*Oreochromis niloticus*) minimamente processada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18. Porto Alegre, 2002. **Anais**. Porto Alegre: SCBTA, 2002. p.224-228.

SPECTOR, A. A. Essentialy of fatty acids. **Lipids**, Champaign, v. 34, p. S1-S3, 1999.

STANSBY, M.E. Proximate composition of fish. In: HEEN, E.; KREUZER, R. (Ed.). **Fish in nutrition**. London: Fishing News Books Ltda, 1962. p.1-59.

SOUZA, M. L. R; BACCARIN A. E; VIEGAS E. M. M; KRONKA S. N. Defumação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira eviscerada e filé: aspectos referentes às características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. **Rev. Bras. Zootec.** v.33, n.1, Viçosa Jan./Fev.2004.

STEWART, G.; GOSSELIN, C.; PANDIAN, S. Selected ion monitoring of tert-butyltrimethylsilyl cholesterol ethers for determination of total cholesterol content in foods. **Food Chemistry**, v.44, p.377-380, 1992.

TORRES, E.A.F.S; ROGÊ-FERREIRA, A.F; RÍMOLI, C.D; OLIVO, R. Estudos das propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. São Paulo: **Higiene Alimentar**, v.10, n.42, p.18-23, março/ abril 1996.

VALENZUELA, A.B.; SANHUEZA, J.C.;NIETO, S.K. Es posible mejorar la calidad nutricional de los aceites comestibles?. **Revista Chilena de Nutrição**, Santiago. v.29, n.1, oct, 1991.

VIEIRA S. Estatística Experimental. 2ª ed. São Paulo: Editora Atlas, 1999. p192.

WATKINS, B. A. Trans fatty acids: a health paradox? **Food Technology**, Chicago, v.52, n.3, p.120, Mar.1998.



## **CAPÍTULO 3**

**AÇÃO SANIFICANTE DO DICLOROISOCIANURATO DE SÓDIO,  
OZÔNIO E ULTRASOM NOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E  
ANÁLISE SENSORIAL EM FILÉ DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)**

## 1 RESUMO

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultrasom nos parâmetros físico-químicos e análise sensorial em filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). In: \_\_\_\_\_. **Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. Cap.3, p.67-96. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

O presente trabalho, realizado em Lavras, MG, Brasil, teve como objetivo avaliar os efeitos dos agentes sanificantes dicloroisocianurato de sódio na concentração de 3,0 a 3,5 mg/L (T1), dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som (T2), ozônio na concentração de 3,0 a 3,5 mg/L (T3); ozônio associado ao ultra-som (T4) e grupo controle (C) sobre pH, cor, perda de peso por cozimento e análise sensorial em filé de tilápia. Um total de 20 filés, divididos em 5 grupos com 4 unidades, foram submetidos aos tratamentos. As médias de pH 28 horas *post mortem* variaram de 6,25 a 6,31, sem influência dos sanificantes. Os percentuais de perda de peso por cozimento apresentaram uma variação média de 21% a 29%. Na análise da cor, houve diferença no componente L\* com os valores de 43,33; 42,76; 43,94; 45,03 e 41,94 para T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente. O componente a\* (cor vermelha) não apresentou diferença mediante os tratamentos com os valores de 1,67; 2,23; 1,96; 1,87; 2,37 para T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente. O teor amarelo (b\*) variou entre T1, T2, T3, T4 e T5, com médias de -0,83; -1,88; -1,71; -0,95 e -1,64, respectivamente, tendo q a utilização do dicloroisocianurato de sódio obtido valor médio mais elevado para teor amarelo. As aplicações dos sanificantes alteraram o brilho superficial e o teor de amarelo dos filés de tilápia tratados.

Termos para indexação: pH, cor, perda de peso por cozimento, atributos de qualidade e tilápia (*Oreochromis niloticus*).

## 2 ABSTRACT

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. Sanitizers's action of the sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultrasound in the physiochemical parameters and sensorial analysis in tilápia filet (*Oreochromis niloticus*). In: \_\_\_\_\_. **Effects of the sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultrasound in tilápia's filets (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. Chapter 3, p.67-96. Thesis (Doctorate in Food Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

The present research had as objectives to study the effects of chlorinated water (sodium dichloroisocyanurate – 3,0 to 3,5 mg/L) (T1); chlorinated water associated to ultrasound (T2); ozonated water (3,0 to 3,5 mg/L) (T3) and ozonated water associated to ultrasound and control (T5) on pH, color, weight loss for cooking and sensorial analysis. The filets were treated by immersion in the solutions, pH 6,0, at 5°C, for 20 minutes. A total of 20 filets, divided in 5 groups with 4 units were submitted to these treatments. The pH averages 28 h *post mortem*, varied from 6,25 to 6,31, without influence of the sanitizers. The percentiles of weight loss for cooking, showed a variation from 21 to 29%. There was difference in the component L \* in color analysis and values observed were 43,33; 42,76; 43,94; 45,03; 41,94 for T1, T2, T3, T4 and T5 respectively. The component a \* (red color) was similar treatments, with values of 1,67; 2,23; 1,96; 1,87; 2,37 for T1, T2, T3, T4 and T5 respectively. The b \* (yellow tenor) varied among T1, T2, T3, T4 and T5, with averages of -0,83; -1,88; -1,71; -0,95 and -1,64 respectively. The use of the sodium dichloroisocyanurate, allowed the higher medium value in yellow tenor. Applications of the sanitizers altered the superficial shine and the tenor of yellow of filets.

Keywords: pH, color, weight loss for cooking, quality attributes and tilápia (*Oreochromis niloticus*).

### 3 INTRODUÇÃO

A utilização de agentes químicos na sanificação de carnes vem sendo estudada com o objetivo de eliminar os microrganismos deteriorantes, visando à sanidade e ao aumento da vida de prateleira de carnes (Soccol, 2002; Xavier, 1997; Silva, 1995; Pedrosa-Menabrito & Regenstein, 1990).

O cloro, agente sanificante mais usado na indústria de alimentos, atua sobre os agentes indesejáveis por meio do ácido hipocloroso, o qual libera oxigênio que, combinado aos componentes celulares do citoplasma, núcleo e proteínas da membrana celular, interferem nas funções biológicas normais das membranas, incluindo o transporte de nutrientes (Block, 1991).

O ozônio, outro sanificante, é uma alternativa para a indústria de alimentos, pois possui amplo espectro de ação sobre os microrganismos e não deixa resíduo (Cardoso et al., 2003). O efeito bactericida do ozônio está relacionado ao seu poder oxidante (Torres et al., 1996). Esse composto é considerado uma possível alternativa ao uso do cloro no tratamento industrial e no controle do crescimento de microrganismos que se acumulam na superfície da água, de equipamentos e matéria-prima utilizada na indústria alimentícia. Esse controle de microrganismos se deve à sua eficiência oxidante, sem produção de compostos orgânicos, pois o ozônio, ao contrário do cloro, não deixa resíduo superficial (Boot, 1991) nos alimentos, que possam formar compostos tóxicos e carcinogênicos (Foegeding, 1985).

O efeito antimicrobiano do ozônio pode ser aumentado quando seu uso é combinado com outros tratamentos, que podem ser químicos (peróxido de hidrogênio) ou físicos (radiação ultravioleta e ultra-som), sendo a ação mecânica necessária como meio de desalojar os microrganismos da superfície do alimento e expor a ação do sanificante (Kim et al., 2003). O Food and Drug

Administration (FDA) indica o uso de ondas ultra-sônicas, associado a outros processos de sanificação (FDA, 2000; Datta, 2002).

A técnica de sanificação alternativa do ultra-som age destruindo o microrganismo, pois combina seus efeitos: cavitação e suas forças (formação e difusão de bolhas que causam mudanças físicas na célula), calor localizado, pressão e formação de radicais livres na água ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (Datta, 2002).

As características físico-químicas e os aspectos sensoriais da carne são parâmetros importantes na determinação da qualidade e são obtidas e preservadas em função de técnicas de obtenção de carnes, dos tratamentos a que as carcaças são submetidas e da conservação adequada dos alimentos (Forrest et al., 1979; Pardi et al., 1995)

Os aspectos sensoriais, tais como brilho, coloração, textura e aroma, são considerados pelo consumidor no momento da compra. As características de qualidade da carne apresentam variações, pois os peixes sofrem constante influência do meio ambiente, da época do ano e de fisiologia, sexo, idade de abate, estresse durante o abate, manejo no pré e pós abate, podendo, ainda, sofrer interferência de agentes químicos e ou físicos dos processos de sanificação (Contreras-Guzmán, 1994).

Dentre os parâmetros físicos, a medição do pH é usada na avaliação indireta do estado de frescor e no desenvolvimento de microrganismos que decompõem a carne. Valores de pH acima de 6,2 podem indicar uma possibilidade muito grande de desenvolvimento microbiano, uma vez que bactérias, inclusive as deteriorantes, preferem essa faixa de pH para a sua multiplicação (Landgraf & Franco, 1996).

A perda de peso por cozimento é uma medida de qualidade associada ao rendimento da carne no momento do consumo (Forrest et al., 1979), influenciada pela capacidade de retenção de água nas estruturas da carne (Bouton et al., 1971), pela presença de gordura que, com a ação do calor, pode provocar perda

de gordura e alteração das estruturas de proteínas (Gokoglu et al., 2004).

No pescado fresco, a qualidade pode ser avaliada pelas características sensoriais. O peixe fresco deve apresentar-se íntegro, com odor e sabor próprios, lembrando o de plantas marinhas, olhos vivos e destacados, escamas brilhantes e bem aderentes à pele, curvatura natural do corpo nadadeiras apresentando certa resistência aos movimentos provocados, carne firme, de consistência elástica e cor própria da espécie, vísceras íntegras e perfeitamente diferenciadas e a musculatura da parede intestinal sem sinais de autólise (LANARA, 1981; Nishigawa & Aranha, 1988).

Com o processo de deterioração, os pescados vão perdendo suas propriedades sensoriais características, apresentando escamas opacas que se soltam facilmente, olhos turvos com pupilas branco-leitosas, brânquias pálidas ou escuras, carne amolecida, cinzenta, sem brilho e sem elasticidade, e cheiro desagradável de amônia, tornando-se impróprio para o consumo (Leitão, 1984; Beraquet & Lindo, 1985; Nunes, 1994). Assim sendo, a avaliação sensorial é considerada satisfatória na avaliação da qualidade de peixes e apresenta vantagens adicionais, como rapidez, baixo custo, não ser destrutiva e estar relacionada aos critérios de aceitação adotados pelo consumidor (Pedrosa-Menabrito & Regenstein, 1990). Entretanto, no pescado processado, como filés e postas de peixes congelados e conservas, essas características perdem a sua importância, dificultando a avaliação da qualidade (Fernandez-Salguero & Mackie, 1987; Veciana-Nogués et al., 1997). Embora o uso de oxidantes tenha recebido atenção por reduzir os microrganismos em superfície de músculos e tecido gorduroso, ainda é obscuro o seu efeito sobre a cor, odor e sabor dos alimentos submetidos ao tratamento (Stivarius et al., 2002).

Visando aos benefícios do tratamento de resfriamento, associado ou não a métodos químicos e ou físicos de descontaminação, foram utilizados os seguintes sanificantes: dicloroisocianurato de sódio, dicloroisocianurato de sódio

associado ao ultra-som, ozônio e ozônio associado ao ultra-som.

O objetivo, neste estudo, foi analisar o efeito dos métodos sanitizantes sobre pH, cor, perda de peso por cozimento e propriedades sensoriais em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material experimental

Os animais utilizados no presente estudo foram tilápias (*Oreochromis niloticus*) adultas, com peso vivo médio de 800 g ( $\pm$  50 g), criadas em tanques de terra da estação de piscicultura da Universidade de Alfenas (latitude 21° 25'S, longitude 45° 58'S e altitude de 800 m). O clima, nessa região, é subtropical úmido com temperatura média anual de 20,5°C (Instituto Nacional de Meteorologia, 2004).

O sistema de criação utilizado foi o intensivo, usando na alimentação uma ração com 28% de proteína bruta e 3200 kcal/kg de EM, fornecida duas vezes ao dia.

Os animais foram retirados dos tanques da fase de terminação e submetidos a um período de 24 horas de depuração. Posteriormente as tilápias insensibilizadas em tanques com água e gelo (5°C), foram encaminhadas para retirada da pele e evisceração e, finalmente, fileteadas.

### 4.2 Tratamentos

Um total de 20 filés de tilápia (obtidos de 10 peixes), divididos aleatoriamente em 5 grupos com 4 filés foram submetidos aos tratamentos: T1 água clorada (dicloroisocianurato de sódio) com 3,0 a 3,5 mg/L, T2 água clorada (dicloroisocianurato de sódio) mais o ultra-som, T3 água ozonizada com 3,0 a 3,5 mg/L, T4 água ozonizada mais o ultra-som e T5 controle. Os tratamentos foram aplicados por imersão dos filés em solução à temperatura de  $\pm$  5°C em cuba lavadora ultra-sônica (aço inoxidável) por 20 minutos (as concentrações foram monitoradas a intervalos de 5 minutos).

A concentração de dicloroisocianurato de sódio foi determinada

conforme previsto na legislação (Brasil, 1999), que estabelece o residual de cloro por colorimetria por comparação visual, utilizando a solução padrão (N.N. dietil-p-fenilendiamina -DPD) e confirmado pelo método iodimétrico indireto, sendo o tiosulfato de sódio a 0,1N a solução titulante (APHA, 1992).

A concentração de ozônio foi determinada segundo Chang & Sheldon (1989) e monitorada com auxílio do Residual Ozone System (ROS), modelo 26506 e com sensor 31.331.15 (Orbisphere Laboratories®). Esse equipamento possui uma célula eletroquímica, que determina o resíduo de ozônio por diferença de condutividade (Cardoso, 1999). Essa medição foi confirmada pelo método iodimétrico, que utiliza o tiosulfato de sódio a 0,1 N como solução titulante (APHA, 1992).

A temperatura da solução de resfriamento foi determinada com auxílio de um termômetro acoplado à cuba lavadora, para verificar a temperatura no início, meio e fim da aplicação dos tratamentos.

O pH das soluções foi determinado a partir de uma amostra de 10 mL de cada solução de tratamento por imersão das tiras reagentes, com escala de 0 a 14 e intervalos de 0,2 unidades de pH. As soluções de tratamento apresentaram medida de pH 6,0.

Imediatamente após aplicação dos tratamentos, as amostras foram acondicionadas assepticamente em embalagem plástica, estéril, própria para o armazenamento de alimentos, sendo identificadas e refrigeradas em estufa BOD a temperatura de 1,5°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ).

#### **4.2.1 Sistema de cloração**

No tratamento com cloro foi utilizada água da rede de abastecimento da Unifenas, que passa por tratamento de cloração convencional, no próprio campus. Para sua utilização, instalou-se, no seu ponto de chegada, no laboratório, um filtro de carvão para reter o residual de cloro. Essa água foi

utilizada para o abastecimento de uma caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 250 litros sendo a mesma conduzida por tubulação a cuba ultrassônica.

O produto comercial utilizado foi o dicloroisocianurato de sódio (nome comercial Aquatabs<sup>®</sup>, Bayer). A solução de água clorada utilizada nos tratamentos foi preparada com 250 litros de água adicionada de uma pastilha de 2,5 g de dicloroisocianurato de sódio, que produziu um residual de cloro livre de 3,0 a 3,5 mg/L.

A refrigeração da solução foi feita com 40 kg de gelo fabricado com água potável e picado, necessário para manter a temperatura dos 250 L de água entre 3°C a 5 °C, por aproximadamente 30 minutos.

#### **4.2.2 Sistema de ozonização**

A água utilizada para o tratamento com ozônio foi obtida da rede de abastecimento da Unifenas, passando por tratamento de cloração convencional, no próprio campus. Para sua utilização, instalou-se, no seu ponto de chegada, no laboratório, um filtro de carvão para reter o residual de cloro. Essa água foi utilizada para o abastecimento de uma caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 500 litros.

O ozônio foi obtido no próprio laboratório de microbiologia e fisiologia de microrganismos da Unifenas, sendo produzido por um gerador que foi alimentado por um cilindro de 100 kg oxigênio. O gerador utilizado foi o modelo EAS 470 DC, que apresenta capacidade de 10 g/h a 3% de concentração em peso de ozônio gerado, quando operado com vazão de oxigênio de 4,2 L/min, à pressão de 1,0 kgf/cm<sup>2</sup>. O cilindro de oxigênio foi conectado ao gerador através do regulador de pressão e fluxômetro. O ozônio produzido pelo gerador foi conduzido até a caixa d'água por meio de tubulação.

No período de ozonização da água, utilizou-se um sistema fechado de

resfriamento em que o ozônio foi concentrado na caixa d'água, através de um conjunto venturi (bomba de recirculação). A água ozonizada passou por serpentina imersa em tanque isotérmico, contendo 40 kg de gelo seco, 20 L de água e 2,5 L de álcool, atingindo a temperatura de 3°C a 5°C e chegando a cuba ultra-sônica por meio da tubulação da serpentina.

O sistema foi operado com 5 L de oxigênio por minuto e pressão de 0,5 kgf/cm<sup>2</sup>, com produção 6,88 g/h de ozônio. Trabalhando sob as condições ajustadas, após 30 minutos de saturação, os 500 L de água adquiriram um residual de ozônio entre 3,0 a 3,5 mg/L.

### **4.3 Avaliações físico-químicas**

#### **4.3.1 Medida de pH**

As médias das leituras, realizadas em 4 filés por tratamento, foram obtidas 24 horas após aplicação dos tratamentos, que coincidiram com 28 horas *póst-mortem*. Essa determinação foi realizada com auxílio de um potenciômetro digital portátil (Digimed M DM20), equipado com eletrodo de inserção, com resolução de 0,01 unidade de pH. O aparelho foi calibrado em solução tampão de pH 4,0 e pH 6,86.

#### **4.3.2 Perda de peso por cozimento (PPC)**

A perda de peso por cozimento foi determinada conforme descrição da AMSA (1978). As amostras (4 filés por tratamento) foram identificadas e pesadas em balanças semi-analíticas (Hobart-Dayton M 14239), embaladas em papel alumínio e cozidas em chapas a 150 °C até os filés atingirem a temperatura interna de 72°C ( $\pm$  2°C). Após o resfriamento, à temperatura ambiente, os filés foram pesados novamente. A temperatura no interior das amostras foi monitorada por termômetro digital. A diferença entre o peso inicial e o peso final das amostras determinou a PPC. As análises foram feitas em triplicatas.

#### **4.3.3 Cor (Sistema CIELAB)**

Os filés já separados, quatro por grupo de tratamento, tiveram suas superfícies expostas às misturas dos gases atmosféricos por 30 minutos.

A leitura da cor foi realizada em duas regiões (uma superior e outra inferior), na superfície de cada filé, com a utilização do colorímetro Minolta Chroma Meter, M CR 300b, calibrado para um padrão branco em ladrilho (Bressan, 1998).

#### **4.4 Avaliação sensorial**

O teste sensorial foi realizado por meio de um painel com 6 julgadores treinados, os quais observaram os efeitos dos tratamentos nos filés crus e cozidos, em que foram avaliados:

- a) crus - cheiro cor; e aspectos gerais;
- b) cozidos – sabor, aroma, cor e aspectos gerais.

Foram utilizadas 20 amostras, sendo 3 filés de cada tratamento e 2 do controle (no total 12 filés dos tratamentos e 6 do controle), todas armazenadas por 24 horas a 1,5°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ), após os tratamentos, tanto para análise dos aspectos da carne crua, quanto aos aspectos da carne assada.

Os filés provenientes de cada tratamento e do controle foram envolvidos, individualmente, em papel alumínio, acondicionado em bandejas de alumínio e identificado por códigos. As amostras foram cozidas em forno elétrico a 150 °C por 15 minutos (Veiga, 2003).

Os filés, após resfriados a temperatura ambiente, foram servidos em placas de Petri, em cabines individuais.

Cada julgador recebeu duas fichas de avaliações, as quais continham várias opções nos itens sabor, aroma, cor e aspectos gerais da carne assada, e os parâmetros como cor, cheiro e aparência geral a serem avaliados na carne crua (Anexo A).

#### 4.5 Análise estatística

O delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com 5 tratamentos (T1, T2, T3, T4 e T5) foi feito, utilizando-se 4 filés de tilápia cada tratamento, para as análises de pH 28 horas *post mortem*, perda de peso por cozimento, cor.

Os dados foram submetidos à análise de variância (programa estatístico SPSS versão 11.5 SPSS, 2002), sendo submetidos ao teste Tukey quando a análise apresentou diferença significativa para determinada resposta (Vieira,1999). O modelo estatístico para as análises físico-químicas foi:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}, \text{ em que:}$$

$Y_{ij}$  = valor obtido pelo tratamento dos sanificantes  $i$ , na repetição  $j$

$\mu$  = média geral do experimento

$T_i$  = efeito do tratamento dos sanificantes  $i$  ( $i = 1:5$ )

$e_{ij}$  = resíduo aleatório do tratamento dos sanificantes  $i$ , na repetição  $j$ .

## 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

### 5.1 Parâmetros físico-químicos

Na Tabela 4, são mostradas as médias de pH, PPC e Cor (L\*, a\* e b\*).

#### 5.1.1 pH

As médias de pH, em filés de tilápia submetidos aos tratamentos apresentados na Tabela 4, não sofreram influências significativas ( $P > 0,05$ ), cujos valores percentuais variaram de 6,25 a 6,31. Isso mostra que os tratamentos sanificantes não alteraram o pH dos filés. Ferreira (2004), em estudo com espécies capturadas no litoral de Santa Catarina, encontrou médias de pH, nas primeiras 24 horas *post mortem*, de 7,69 em filés de linguado (*Paralichthys* sp), 7,67 em pescada (*Cynoscion*) e 6,47 em tainhas (*Mugis brasiliensis*). Esses valores são superiores às médias encontradas neste trabalho.

TABELA 4 Valores médios encontrados para pH, PPC e cor, em filés de tilápia submetidos aos tratamentos propostos.

Tratamentos	PH	PPC (%)	Cor		
			L*	a*	b*
T1	6,28 <sup>a</sup>	27,5 <sup>ab</sup>	43,33 <sup>ab</sup>	1,67 <sup>a</sup>	-0,83 <sup>a</sup>
T2	6,25 <sup>a</sup>	25,6 <sup>ab</sup>	42,76 <sup>b</sup>	2,23 <sup>a</sup>	-1,88 <sup>b</sup>
T3	6,29 <sup>a</sup>	29,0 <sup>a</sup>	43,94 <sup>ab</sup>	1,9 <sup>a</sup>	-1,71 <sup>ab</sup>
T4	6,31 <sup>a</sup>	28,0 <sup>a</sup>	45,03 <sup>a</sup>	1,87 <sup>a</sup>	-0,95 <sup>a</sup>
T5	6,25 <sup>a</sup>	21,0 <sup>b</sup>	41,94 <sup>b</sup>	2,37 <sup>a</sup>	-1,64 <sup>ab</sup>

Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tukey, a 5 % de significância.

T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 - Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio; T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 – Controle.

Segundo Ashie et al. (1996), a decomposição de compostos nitrogenados no período *post mortem* eleva o pH. Scherer et al. (2004) observaram aumento de pH significativo nos primeiros 5 dias de armazenagem refrigerada ( $3 \pm 1$  °C) nos grupos tratados (pH *post mortem* de 6,40 para 6,65) e controles (pH *post mortem* de 6,65 para 7,15), mantendo-se, posteriormente, com poucas variações ao longo do tempo de armazenagem (20 dias). González-Rodrigues et al. (2001) avaliaram a evolução do pH em filés de truta (*Oncorhynchus mykiss*), espécie de água doce, não tendo, até o 10º dia, havido alteração significativa.

No presente estudo, os valores de pH variaram de 6,25 a 6,31 em 28 horas *post mortem*, estando abaixo do limite previsto na legislação. O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – (RIISPOA, 1952) e o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Brasil, 1997) estabelecem limite máximo de pH de 6,5 em pescado para consumo. Gram (1992) descreveu que valores de pH superiores a 6,0 propiciam o crescimento bacteriano e, conseqüentemente, a deterioração do pescado. Segundo Sikorki (1990), a estabilidade do pH se deve ao efeito tamponante do músculo de pescado, atribuído à presença de proteínas solúveis, peptídeos, aminoácidos, amônia, trimetilamina e substâncias solúveis de baixo peso molecular, que podem mascarar as mudanças de pH, fazendo com que os valores de pH do músculo do pescado aumentem de forma lenta, no início do tratamento e rapidamente, quando o pescado está no processo de deterioração.

### **5.1.2 Perda de peso por cozimento (PPC)**

Os dados de PPC submetidos à análise de variância demonstraram diferença entre os tratamentos. Esses dados informam que o controle (21%) apresentou menor percentagem de perda de peso por cozimento. Os tratamentos com ozônio (29%) e ozônio associado ao ultra-som (28%) afetaram a perda de peso por cozimento ( $P < 0,05$ ) em relação ao controle.

Em processos de sanificação por defumação, Souza et al. (2004) observaram diferenças de perdas de peso entre as formas de apresentação e entre os tempos da defumação, tendo as perdas ocorridas nos filés (31,33%), ao final do processo de defumação, sido superiores às do peixe inteiro eviscerado (27,04%), em relação ao peso in natura nas duas formas de apresentação. As perdas observadas nos filés dos T1, T2, T3 e T4 (21,0% a 29%) foram inferiores às obtidas por Souza et al. (2004) em filés, possivelmente pela desidratação que ocorre no processo de defumação.

A perda de peso, em função do pH final, foi descrita por Seemann (1986) e por Contrerás (1995). Em peitos de aves com pH elevado, Seemann (1986) observou baixas perdas no cozimento. Entretanto, Contrerás (1995) relacionou menores perdas por cozimento com valores de pH final menores. No presente estudo, foi observado que os tratamentos com menores valores de pH apresentaram menores PPC (T2 pH de 6,25 e PPC de 25,6% e T5 pH de 6,25 e PPC de 21%).

As variações de PPC nos filés de tilápia tratados e no controle foram de 21,0% a 29%. Na literatura pesquisada, não foram encontrados dados relacionando perda de peso por cozimento em peixes e agentes sanificantes.

Fatores como quantidade de gordura, temperatura de resfriamento e de cocção afetam a PPC. No ponto final de cocção, em que a temperatura atinge  $75 \pm 2^\circ\text{C}$ , pode ocorrer desnaturação das proteínas e, por conseguinte, maior perda de água (Felício, 1999; Bonagurio et al., 2003).

Ferreira (2005), avaliando PPC em diferentes tipos de cocção, verificou maior perda no método assado em microondas (45,74 %), seguida pelo tratamento frito em óleo (31,19 %), forno elétrico (27,49 %) e cozimento em água (24,69 %).

Em carne de ovino tratada com sal, que também tem ação sanificante, houve influência nos parâmetros qualitativos. As perdas de peso ao cozimento

foram menores nas carnes salgadas, com média de 17,58% e nas carnes não salgadas, a média de perda obtida foi de 37,27%, segundo Silva Sobrinho et al. (2004). O sal causa menos perdas ao cozimento quando comparado com os agentes sanificantes usados no presente estudo, possivelmente, porque o sal extrai e solubiliza proteínas miofibrilares da carne, e estes processos contribuem para a emulsificação das gorduras e para aumentar a capacidade de retenção de água, reduzindo as perdas ao cozimento (Silva, 2000).

### 5.1.3 Cor

A análise de variância demonstrou que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) no componente  $L^*$ , revelando o efeito dos tratamentos sobre o brilho superficial dos filés (Tabela 4).

Observou-se diferença entre os resultados de T2 (42,76) e T4 (45,03) e entre T4 (45,03) e controle (41,94). Nos tratamentos T2, T4 e T5, os filés obtiveram os respectivos valores de pH 6,25, 6,31 e 6,25, resultando em filés com luminosidade mais elevada que a do controle, possivelmente devido ao valor de pH, justificado por uma interferência na glicólise *post mortem*. Outro fator a se considerar é que um pH mais elevado pode levar a uma estabilidade da oximioglobina que estendeu uma coloração mais brilhante (Pohlman et al., 2002b; Stivaruis et al., 2002).

Em carne de ovino tratada com sal, não houve interferência na luminosidade da carne, com valor médio de 38,69 (Silva Sobrinho, 2004), que é inferior ao observado nesse estudo.

O componente  $a^*$  (cor vermelha) não apresentou diferença ( $p > 0,05$ ) mediante os tratamentos aplicados aos filés em relação ao grupo controle. Isso mostra que os pigmentos de cor não foram afetados pelos compostos ozônio e dicloroisocianurato de sódio e também pela ação do ultra-som. Conclui-se que não houve danos na estrutura do citocromos e das mioglobinas presentes nas

células musculares. Os valores encontrados para  $a^*$  foram de 1,67; 2,23; 1,96; 1,87 e 2,37, nos respectivos tratamentos T1, T2, T3, T4 e T5.

Quanto maior o valor de  $L^*$ , mais clara é a sua coloração e, quanto menor o valor de  $L^*$ , mais vermelha é a carne (Oda et al., 2003). De acordo com os resultados obtidos para  $a^*$ , embora não tenha havido diferença entre eles, houve a tendência de aumento de  $a^*$  conforme os valores de  $L^*$  foram menores, o que é notado nos tratamentos T2 e T5.

O componente  $b^*$  (cor amarela) variou ( $p < 0,05$ ) entre os T1, T2 e T4, tendo, mediante a utilização do T1, sido obtido o maior valor médio para a cor amarela (-0,83).

Em geral, o teor de amarelo ( $b^*$ ) avalia os pigmentos carotenóides depositados na gordura da carne (Sinclair & O'Dea, 1990). No T1, obteve-se o maior valor (-0,83) para esse índice, seguido do T4 (-0,95), possivelmente por ter tido os referidos sanificantes uma menor ação oxidante na presença de matéria orgânica (Riedel, 1992). O uso do ozônio apresentou valor menor para  $b^*$ , quando comparado com o dicloroisocianurato de sódio, indicando um poder oxidante maior do ozônio (Landgraf & Franco, 1996).

A variação no teor de  $b^*$  foi de -0,83 a -1,88, fato que pode ocorrer em virtude da diferença de quantidade ingerida de fitoplâncton existente nos tanques de terra, da capacidade individual de ingestão e conversão da ingesta em lipídios, favorecendo a diferença na quantidade de pigmentos que estão na gordura. A variação no teor de lipídios totais foi de 1,33 a 3,19, podendo ser também em função da deita ingerida. Outra alternativa para as flutuações entre os tratamentos poderia ser em decorrência de um lote não homogêneo em relação ao peso (Contreras-Guzmán, 1994).

Shiau & Chai (1985) analisaram o cação (*Squalus acanthias*) defumado, apresentando a cor expressada por  $L^* = 44,3$ ,  $a^* = 7,0$  e  $b^* = 11,5$ , preferida pelos julgadores. Segundo Sousa et al. (2005), os valores médios de croma

$a^*(10,60)$  e  $b^*(41,95)$  foram superiores nos filés tilápia defumados em relação aos *in natura* (croma  $a^*(-0,74)$  e  $b^*(10,17)$ ), em função da exposição à ação da fumaça. A luminosidade ( $L^*61,70$ ) não diferiu entre filés *in natura*, comparados aos defumados.

Silva Sobrinho (1999), ao avaliar a cor da carne em ovinos neozelandeses de diferentes genótipos, obteve valores  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  de 37,50; 7,83 e -4,30, respectivamente. Em trabalho recente, Zeola (2002), avaliando a cor das carnes de cordeiros Morada Nova submetidos a dietas com diferentes níveis de concentrado, registrou valores  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  de 40,46; 14,62 e -1,11, respectivamente. Todos os autores citados avaliaram a cor no músculo semimembranosus

Na literatura pesquisada, não foram encontrados dados para caracterização de cor para peixe e nem sobre sanificantes que possam interferir nesse aspecto.

Os impactos de intervenções de antimicrobianas múltiplas em carnes bovinas e em suas características sensoriais foram estudados. Tratou-se, então, com: água de ozonizada 1% seguida por ácido acético 5% (OA), água de ozonizada 1% seguida por cloreto de cetylpyridinium 0,5% (OC), 200 ppm dióxido de cloro seguido por fosfato de trisódio 10% (CT) e controle (C). As carnes foram processadas, tratadas, empacotadas e analisadas nos tempos 0, 1, 2, 3 e 7 dias após a exposição para características sensoriais de cor e odor. O tratamento de CT apresentou mais vermelho em cor global que C e não havia nenhuma diferença no odor e *off-flavor* de carne bovina entre os tratamentos OC, CT de C. OA apresentou menos luminosidade e um maior percentual de descoloração superficial quando comparado com o tratamento C (Pohlman et al., 2002a).

Stivarius et al. (2002), estudando o efeito da desinfecção microbiana em aparas de carne bovina com ozônio e dióxido de cloro e seus efeitos nas

características de cor e odor, utilizaram os tratamentos: água ozonizada 1% durante 7 minutos (7O) e 15 minutos (15O) e solução de 200 ppm dióxido de cloro (CLO) e compararam com o controle (C). As aparas tratadas foram empacotadas e analisadas, aos 0, 1, 2, 3 e 7 dias após os tratamentos, quanto às características sensoriais de cor e odor. Os tratamentos CLO, 7O e 15O apresentaram os seguintes valores para luminosidade ( $L^*$ ) de 49,59; 48,52 e 49,95, que foram maiores na cor da carne quando comparados com C (46,24). Porém, a cor vermelha ( $a^*$ ) no tratamento 15O (20,33) foi semelhante a C (20,66) e CLO (18,79) e 7O (19,33) foram inferiores. Nos tratamentos CLO, 7O e 15O obtiveram-se os percentuais de descoloração de 5,21%, 5,45% e 5,42%, que foram menores em relação a C (5,50%). Quanto ao pigmento amarelo ( $b^*$ ), somente no tratamento 15O (22,23) foi maior que nos outros tratamentos. A intensidade de odor e *off-flavor* foram semelhantes entre todos os tratamentos. O resultado para  $L^*$ , no tratamento com ozônio, foi semelhante ao encontrado no presente estudo, ambos apresentando um maior brilho.

## **5.2 Análise sensorial**

### **5.2.1 Carne crua**

Em testes sensoriais, não foram observadas alterações significativas nos parâmetros de: cor, cheiro, textura e aspectos gerais da carne crua diante dos tratamentos utilizados. Siqueira (2001), em filés de tilápia irradiados com 1 e 2,2 kGy e armazenados em temperatura de 0,5°C a 1°C por 20 dias, observou, em teste sensorial, que os filés foram considerados próprios para comercialização por não apresentarem alteração de cor, textura e odor.

Segundo a Portaria 185 de 13/05/97 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, publicada no Diário Oficial da União, as propriedades sensoriais de odor, cor e aspecto devem ser características da espécie analisada. Ficou demonstrado, mediante os resultados obtidos, que os

tratamentos não interferiram significativamente nessas características dos filés de tilápia.

### **5.2.2 Filé cozido**

Os resultados apresentados referem-se à média de conceitos atribuídos pelo painel de julgadores às características da carne de peixe, submetida aos diversos tratamentos e, posteriormente, assada.

Conforme Miya (1972), o método empregado para cozimento tem efeito marcante na palatabilidade da carne e deve ser similar ao comumente utilizado pelo consumidor. O teste sensorial demonstrou que 80% das amostras tratadas foram consideradas, pelos juízes, muito boas quanto ao sabor quando comparadas ao controle.

Os juízes conceituaram 83 a 100% das amostras tratadas como normais quanto ao cheiro e à cor, portanto, os processamentos utilizados para melhor conservação do produto, não causaram interferência significativa nesses atributos.

Quanto aos aspectos gerais da carne, os provadores classificaram 83,33% das amostras entre boa e muito boa quando estas foram tratadas com cloro, ozônio, ozônio e cloro associado ao ultra-som. O controle teve a mesma classificação, ficando, portanto, evidenciado que esses tratamentos não influenciaram nas características gerais do produto.

Observando-se todas as propriedades sensoriais avaliadas e os dados obtidos e comparando os grupos tratados com o controle, constata-se que não houve modificações acentuadas em todos os parâmetros analisados. Ainda, deve-se considerar que essas avaliações são muito subjetivas, uma vez que cada juiz pode interpretar, de modo diferente, os parâmetros julgados, apesar de serem treinados.

Comparando com carne de frango, Erickson (1999), ao efetuar lavagem

de carcaças em chiller com água tratada com 18 mg/L de cloro (a partir de cloro gasoso), não observou diferença significativa entre amostras tratadas e controle, concluindo que a cloração da água não interferiu nas propriedades sensoriais da carne de frango cozido.

Sheldon & Brown (1986), quando utilizaram o ozônio entre 3,0 e 4,5 mg/L durante 45 minutos, relataram que coloração, sabor e odor não foram alterados após o tratamento das carcaças de frango. Chang & Sheldon (1989) igualmente descrevem que a utilização de 2,1 mg/L de ozônio em água de lavagem de carcaças, sob forma de pulverização não provocou alterações de coloração, sabor e odor após o tratamento das carcaças de frango e, além disso, não promoveu a sua oxidação lipídica.

## 6 CONCLUSÕES

Após a realização dos tratamentos, não foram observadas alterações de pH que pudessem interferir na comercialização e no consumo do filé de tilápia.

As alterações sofridas no parâmetro cor não foram de intensidade tal que pudessem comprometer a sua comercialização.

Nos tratamentos utilizados houve uma diferença na perda de peso após o cozimento, porém, não interferindo nas propriedades sensoriais do filé de tilápia.

Observando todas as propriedades sensoriais avaliadas, quando comparadas às amostras tratadas com o controle, constatou-se que não houve modificações que inviabilizassem a comercialização dos filés de tilápia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMSA. Guidelines for Cooking and Sensory Evaluation of Meat. **American Meat Science Association**. National Live Stock and Meat Board, Chicago, IL. 1978.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18ed. Washington: APHA, 1992.

ASHIE, I.N.A.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. **Critical Review in Food Science and Nutrition**. v.36, p.87-121, 1996.

BERAQUET, N.J.; LINDO, M.M.K. Transformações bioquímicas "post mortem" em pescado. **Bol. ITAL**, Campinas, v.22, n.2, p.169-192, 1985.

BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4ed. Philadelphia, PA: Lea & Febiger, 1991. 1162p.

BOOT, T.R. Ozone as a disinfectant in process plant. **Food Control**, v.2, n.1, p.44-9, 1991.

BOUTON, P. E.; HARRIS, P. V.; SHORTHORSE, W. R. Effect of ultimate pH upon the water-holding capacity and tenderness of mutton. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 36, n. 5, p. 435-439, May 1971.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal – RIISPOA**. Pescados e derivados, C.7, seção 1. Brasília, 1952. 144p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.185. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 19 maio 1997, Seção 1, p.10282.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agrícola.  
**Portaria nº 210 – Inspeção Tecnologia de Higiênico-sanitária de Carnes de Aves.** Republicada DOU nº 43, seção 1. 05/03/1999 c.

BRESSAN, M.C. **Efeito dos fatores de pré e pós abate sobre a qualidade da carne de peito de frango.** 1998. 201p. Tese (Doutorado) – Universidade de Campinas, Campinas, SP.

BONAGURIO S.; PÉREZ J. R. O.; GARCIA, I. F. F.; BRESSAN, M. C.; LEMOS, A. L. S. C. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês puros e mestiços com Texel abatidos com diferentes pesos. **R. Bras. Zootec.** v.32, n.6, suppl.2, Nov./Dec. 2003.

CHANG, H.Y.; SHELDON, B.W. Application of ozone with physical wastewater treatments to recondition poultry process waters. **Poultry Science**, v.68, p.1078-87, 1989.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. **Bioquímica de pescados e derivados.** Jaboticabal: FUNEP, 1994. 409p.

CONTRERAS, C.J.C. **Efeito do atordoamento elétrico, estimulação elétrica e desossa à quente na qualidade da carne do peito de frango “Pectoralis major”.** Campinas, 1995. 150p. Tese – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas.

CARDOSO, C. C., VEIGA, S. M. O. M, NASCIMENTO, L. C. FIORINI, J. E.; AMARAL, L. A. Microbiological evaluation of a mineral water packaging sanitizing processing with ozone. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, vol.23, no.1, p,59-61, jan./apr. 2003.

CARDOSO, C. C. **Avaliação microbiológica da eficiência de um processo de sanitização de latões de leite com ozônio.** 1999. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade de Alfenas , Alfenas.

DATTA, N. Food 4002. **Emerging Food Technologies and Biotechnology Lectures Notes: Ultrasonication** <<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>> Acesso em 16 de out.2002.

ERICKSON, M. C. Flavor quality implications in chlorination of poultry chiller water. **Food Research International**, v.32, p.635-641, 1999.

FELÍCIO, P.E. Qualidade da carne bovina: características físicas e organolépticas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1999. p.89-97.

FERREIRA, H. F.; MARASCHIN, R.P.; MARASCHIN, M.; BEIRÃO, L.H. Análise dos valores de pH em músculo de linguado (*Paralichthys sp*), pescada (Cynoscion) e tainhas (*Mugil brasiliensis*) capturados no litoral de Santa Catarina In: XIX CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS: ESTRATÉGIAS PARA DESENVOLVIMENTO. CD-Room Recife 2004. **Anais**. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004.

FERREIRA, M. W. Composição química e perfil lipídico do filé de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus 1757) cru e submetido a diferentes métodos de cocção . **Dissertação** (Mestrado em Ciências Dos Alimentos) UFLA - Lavras, 2005, 80 p.

FERNANDEZ-SALGUERO, J.; MACKIE, I.M. Preliminary survey of the content of histamine and other higher amines in some samples of Spanish canned fish. **Int. J. Food Sci. Technol.**, London, v.22, p.409-412, 1987.

FOEGEDING, P.M. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore populations and the importance of spore coat to resistance. **Food Microbiol.** v.2, p.123-34, 1985.

FORREST, J.C., ABERLE, E.D., HEDRICK, A. B., JUDGER, M.D., MERKEL, R.A. **Fundamentos de ciencia de la carne**. Ed. Acribia: Zaragoza, 1979, 466p.

FDA – Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies** – Ultrasound. 02 Jun, 2000. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov>> Acesso em 16 out.2002.

GOKOGLU, N.; YERLIKAYA, P. CENGIZ, E. Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Food Chemistry**, v.84, p.19-22, 2004.

GONZÁLES-RODRIGUES, M.; SANZ.J.J.; SANTOS, J. A.; OTERO, A.; GARCIA-LÓPEZ, M. Bacteriological quality of aquacultured freshwater fish portions in prepackaged trays stored at 3°C. **Journal of Food Protection**. v. 64, p.1399-1404, 2001.

GRAM, L. Evaluation of the bacteriological quality of seafood. In: H. H. Huss, H.H.; Jakobsen, M.; Liston, J. (ed.) **Quality assurance in the fish industry**. Amsterdam: Elsevier, 1992. p.377-388.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - 5º DISME – BH, 2004.

KIM, J.; YORSEF, A.E.; KHADRE, M. A. Ozone and its current and future application in the food industry. **Advances in Food and Nutrition Research**, v.45, p.167-218, 2003.

LANDGRAF, M; FRANCO, B.D.G.M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, p.182, 1996.

LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal). **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v. 2, cap. 11. Pescado Fresco.

LEITÃO, M.F.F. Deterioração microbiana do pescado e sua importância em saúde pública. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.3, n.3/4, p.143-152, 1984.

MIYA, E. E. Textura: sua definição, medida e relação a outros atributos de qualidade. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v.32, p.71-83, 1972.

NUNES, A.M.N. Qualidade dos pescados. **Hig. Alim.**, São Paulo, v.8, n.32, p.5-9, 1994.

NISHIGAWA, A.M.; ARANHA, S. Métodos físicos e químicos para controle do pescado. In: \_\_\_\_\_ **Controle de Qualidade do Pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988, p. 135-144.

ODA S. H. I.; SCHNEIDER J.; SOARES A. L., BARBOSA D. M. L.; IDA, E. I.; OLIVO R., e SHIMOKOMAKI, M. Detecção de cor em filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**. n.321, p.42-4, nov 2003.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da sua obtenção e transformação**. Goiânia: Universidade de Goiás, 1995. v.1, 586 p.

PEDROSA-MENABRITO, A.; REGENSTEIN, J.M. Shelf-life extension of fresh fish – a review. Part III – fish quality and methods of assessment. **J. Food Qual.**, Westport, v.13, p.209-223, 1990.

POHLMAN, F.W.; STIVARIUS, M.R.; McELYEA K.S.; JOHNSON.Z.B.; JOHNSON M.G. The effects of ozone, chlorine dioxide, cetylpyridinium chloride and trisodium phosphate as multiple antimicrobial interventions on microbiological, instrumental color, and sensory color and odor characteristics of ground beef. **Journal Meat Science**, v.61, p.307–313, 2002a.

POHLMAN, F.W.; STIVARIUS, M.R.; McELYEA K.S.; JOHNSON.Z.B.; JOHNSON M.G. Reduction of microorganisms in ground beef using multiple intervention technology. **Meat Science**, v.61, p.315–322, 2002b.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1992.

SCHERER, R.; DANIEL, A.P.; AUGUSTI, P.R.; LAZZARI, R.; LIMA, R.L.; FRIES, L.L. M.; RANDUZ NETO, J.; EMANUELLI, T. Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). *Cienc. Tecnol. Aliment.*, Campinas n.24, v.4, p.680-684, out- dez. 2004.

SEEMANN, G. Beziehungen zwischen der pH wert Änderung nach dem schlachten und anderen fleischqualitäts parametem beim hähnchen. **Fleischwirtschaft**. Frankfurt, v.66, n.4, p.604–60 6, 1986.

SHELDON, B. W.; CHANG, H.Y. The application of ozone and other physical processes for treating spent poultry chiller water. **Proceedings Food Processing Water Conf**. Atlanta, GA, sep.1-2, 1987.

SHELDON, B. W.; BROWN, A. L. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill Water. **Journal of Food Science**, v.52, n.2, p.305-309, 1986.

SHIAU, C.Y.; CHAI, T. Smoked dogfish processing and its refrigerated storage stability. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n°. 5, p. 1348-1350, 1985.

SIKORSKI, Z.E. Composición nutritive de los principales grupos de organismos alimenticios marinos. **Tecnología de los productos del mar: recursos**. Zaragoza: Acribia, 1990.p.41-72.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 227p.

SILVA, J. A. **Extensão da vida de prateleira da carne bovina pela utilização de sanitizantes físicos e químicos**. 1995. 117p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

SILVA SOBRINHO, A. G., ZEOLA, N. M. B. L., SOUZA, H. B. A. et al. Meat quality of lamb submitted to salting. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, jul/set. 2004, vol.24, no.3, p.369-372. ISSN 0101-2061.

SILVA SOBRINHO, A.G. **Body composition and characteristics of carcass from lambs of different genotypes and ages at slaughter**, Palmerston North, 1999. 54p. Report (PostDoctorate in Sheep Meat Production) – Massey University.

SINCLAIR, A. J.; O’DEA, K. Fats in human diets through history: is the western diet out of step? In: WOOD, J. D.; FISHER, A. V. **Reducing fat in meat animals**. London: Elsevier, 1990. p. 1- 47.

SIQUEIRA, A.A.Z.C. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2001.137p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz: Piracicaba, S.P.

SOUZA, M. L. R; BACCARIN A. E.; VIEGAS E. M. M.; KRONKA S. N. Defumação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira eviscerada e filé: aspectos referentes às características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. **Rev. Bras. Zootec.** v.33, n.1, Viçosa Jan./Fev.2004.

SOUZA, M.L.R., VIEGAS, E. M. M., SOBRAL, P. J.A. KRONKA, S.N. Effect of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) weight on yield and quality of their smoked and in natura fillets with and without skin. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Jan./Mar. 2005, vol.25, no.1, p.51-59.

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

STIVARIUS, M.R.; POHLMAN, F.W.; McELYEA, K.S.; APPLE, J.K. Microbial, instrumental color and sensory color and odor characteristics of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide. **Meat Science**, v.60, p.299-305, 2002.

TORRES, E. A. F. S.; ROGÊ FERREIRA, A. F.; RÍMOLI, C. D.; OLIVO, R. Estudos das Propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v.10, n.42, p.18-23, 1996.

VECIANA-NOGUÉS, M.T.; MARINÉ-FONT, A.; VIDAL-CAROU, M.C. Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial counts, ATP- related compounds, volatile amines, and organoleptic changes. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v.45, p.2036-2041, 1997.

VEIGA, S. M. M. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos.** 2003. p. 291 Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) UFLA: Lavras.

VIEIRA, S. Estatística Experimental. 2ª ed. São Paulo: Editora Atlas, 1999. p192.

XAVIER, C. V. A. **Métodos físicos e químicos para prolongamento da vida de prateleira da carne de frango refrigerada.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP, 1997.

ZEOLA, N.M.B.L. **Influência da alimentação nas características quantitativas da carcaça e qualitativas da carne de cordeiros Morada Nova.** Jaboticabal, 2002. 65p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP).

## **CAPÍTULO 4**

**AÇÃO SANIFICANTE DO DICLOROISOCIANURATO DE SÓDIO,  
OZÔNIO E ULTRA-SOM SOBRE A MICROBIOTA DE FILÉS DE  
TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*)**

## 1 RESUMO

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som sobre a microbiota de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*). In: \_\_\_\_\_. **Ação sanificante do dicloroisocianurato de sódio, ozônio e ultra-som em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. Cap.4, p.97-143. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Os efeitos da desinfecção microbiológica em filés de tilápia, coletados em Alfenas, MG, Brasil, foram estudados após aplicação dos tratamentos: água clorada (dicloroisocianurato de sódio – 3,0 a 3,5 mg/L) (T1), água clorada associada ao ultra-som (T2), água ozonizada (3,0 a 3,5 mg/L) (T3), e água ozonizada associada ao ultra-som (T4) e controle (T5). Os filés foram tratados por imersão nas soluções por 20 minutos. O crescimento de microrganismos aeróbios mesófilos (MA), psicrotróficos (P), fungos filamentosos e leveduras (FL), estafilococos coagulase positiva (SC), *Escherichia coli* (EC), coliformes a 35 °C (C), *Salmonella sp* (S), *Pseudomonas sp* (P) e *Listeria monocytogenes* (L) foi avaliado após 0, 7, 14 e 21 dias da aplicação dos tratamentos. No T4, no 14º dia, foi observada a menor média de crescimento de MA (5,34 log<sub>10</sub> UFC/g); P (6,10 log<sub>10</sub> UFC/g); FL (4,04 log<sub>10</sub> UFC/g); C (1,81 log<sub>10</sub> UFC/g) e SC (4,16 log<sub>10</sub> UFC/g). As S foram eliminadas após os tratamentos T2 e T4, ocorrendo reduções do número de microrganismos de 33,33% no T1 e de 66,66% em T3. As P foram eliminadas após os tratamentos T2, T3 e T4, ocorrendo redução de 66,66% no tratamento T1. Não foi detectada em nenhum dos tratamentos, inclusive o controle, presença de *Listeria monocytogenes*. Conclui-se que o tratamento T4 foi o mais eficiente na redução da microbiota presente nos filés, resultando em aumento da vida de prateleira.

Termos de indexação: tilápia, sanificação, microbiota de peixe, cloro, ozônio, ultra-som.

## 2 ABSTRACT

OLIVEIRA, Nelma de Mello Silva. Sanitizers' action of sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultrasound on the microflora of tilápia filets (*Oreochromis niloticus*). In: \_\_\_\_\_. **Effect of sodium dichloroisocyanurate, ozone and ultrasound in tilapias's filets (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. Chapter 4, p.97-143. Thesis (Doctorate in Food Science) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

The microbial load in tilapia's filets were studied after application of the treatments: chlorinated water (sodium dichloroisocyanurate - 3,0 to 3,5 mg/L) (T1); chlorinated water associated to ultrasound (T2); ozonated water (3,0 to 3,5 mg/L) (T3); and ozonated water associated to ultrasound (T4) and control (T5). The filets were treated by immersion in the solutions, pH 6,0, at 5°C, for 20 minutes. The growth of aerobic mesophilic bacterial (MA), psychrotrophic bacterial (P), filamentous fungi and yeasts (FL), positive *Staphylococcus* coagulase (SC), *Escherichia coli* (EC), coliformes to 35 °C (C), *Salmonella* sp (S), *Pseudomonas* sp (Ps) and *Listeria monocytogenes* (L) were evaluated after 0, 7, 14 and 21 days of the application of the treatments. In T4, in the 14th day, was observed smallest medium of growth of MA (5,34 log<sub>10</sub> UFC/g,); P (6,10 log<sub>10</sub> UFC/g,); FL (4,04 log<sub>10</sub> UFC/g,); C (1,81 log<sub>10</sub> UFC/g,) and SC (4,16 log<sub>10</sub> UFC/g,). S were eliminated after the treatments T2 and T4, with reductions of 33,33% in T1 and of 66,66% in T3. Ps was eliminated after the treatments T2, T3 and T4, with reductions of 66,66% in the treatment T1. *Listeria monocytogenes* was not detected in none treatment. In conclusion, T4 was the most efficient in the reduction of the microflora in the filets, resulting in increase in the shelf life.

Keywords: tilápia, sanitization, fish, microflora, chlorine, ozone, ultrasound.

### 3 INTRODUÇÃO

As alterações microbianas causadas pela multiplicação dos microrganismos podem modificar as características organolépticas do alimento, depreciando-o ou impedindo o seu consumo. A vida útil do pescado é determinada pelas reações enzimáticas, pelo número e espécies de microrganismos presentes, fatores esses dependentes da microbiota natural e manuseio desde a captura até a estocagem do produto final (Jay et al., 2005).

A microbiota do peixe é influenciada pelo seu hábitat (um dos principais fatores de seleção) e pela temperatura da água que, raramente ultrapassa a 25°C. Associadas a isso, as condições de estocagem favorecem o desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos. Os microrganismos mais importantes implicados na deterioração de pescado de água doce são *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi* e *Shewanella putrefaciens*. Esses gêneros, além da sua natureza psicrotrófica, são capazes de utilizar, para o seu desenvolvimento, substâncias nitrogenadas não-protéicas (Leitão et al., 1985; Leitão, 1977; Franco & Landgraf, 1996).

Dependendo da região de onde os peixes são obtidos e das condições de qualidade da água, a carga contaminante deve variar. Disney (1976) afirma, em estudo sobre a deterioração de pescado em áreas tropicais, que os peixes, nessas regiões, apresentam poucas espécies de psicrotróficos, razão pela qual evidenciam reduzidas taxas de deterioração quando estocados no gelo. Os microrganismos aeróbios mesófilos predominantes são mais adaptados a temperaturas ambientes mais elevadas, havendo acentuada queda destes por ocasião do armazenamento refrigerado, que inibe o seu crescimento.

O crescimento bacteriano se dá pela penetração microbiana nos músculos a partir das guelras ou vísceras, ocorrendo com intensidades

diferentes, dependendo também das condições de temperatura e umidade, podendo acelerar o processo de decomposição do produto (Shewan & Murray, 1979).

Devido à alta perecibilidade do pescado, a utilização de métodos de sanificação durante o processo de produção, com substâncias alternativas, pode influenciar na vida de prateleira. O controle microbiológico pode ser feito por várias maneiras e, dentre elas, destacam-se os meios químicos, garantindo a qualidade dos produtos, por controlar a população microbiana, que passa por resfriamento e soluções de sanificantes químicos (Thomson et al., 1976; Tsai et al., 1992).

O cloro, na indústria de alimento, é um produto muito utilizado pelo seu baixo custo e alto poder bactericida. Contudo, o hipoclorito de sódio é altamente reativo com substâncias húmicas, resultando na formação de trihalometanos, substâncias com características carcinogênicas. O dicloroisocianrato de sódio (DCIS) é uma alternativa para a desinfecção da água e alimentos, pois é menos reativo com substâncias húmicas (Macedo, 2000). O cloro e seus derivados atuam sobre os agentes indesejáveis por meio do ácido hipocloroso (HClO), o qual libera oxigênio nascente, que oxida os componentes celulares do citoplasma e núcleo, ou pela ação do cloro (Cl<sub>2</sub>), que pode associar-se com proteínas da membrana celular, interferindo nas funções biológicas normais das membranas, incluindo o transporte de nutrientes (Block, 1991).

Considerando a necessidade do controle de patógenos emergentes e redução dos níveis de trihalometanos na água potável, Kim et al. (1999) propõem a utilização do ozônio como alternativa sanificante em relação aos compostos clorados. A atuação do ozônio está relacionada com a rápida oxidação de lipídios insaturados e proteínas, principalmente as formadas por aminoácidos contendo o grupo sulfidril (SH). Essa substância oxida grupos sulfidril e amino, coagula as proteínas e inativa as enzimas desidrogenase,

catalase e peroxidase. O ponto de ação primário na célula é, possivelmente, a membrana celular, podendo ser por lise nas duplas ligações dos lipídios insaturados (Gurley, 1985; Kim et al., 1999).

O ozônio é uma alternativa para sanificação na indústria de alimentos, por possuir amplo espectro de ação, não deixando resíduos, devido ao seu alto poder oxidante (Torres et al., 1996). Ele reconhecido como possível substituto do cloro no tratamento industrial de alimentos e no controle do crescimento de microrganismos que se acumulam na superfície da água (Boot, 1991).

O ozônio tem amplo espectro de atuação contra bactérias, vírus, fungos filamentosos, leveduras e sobre formas esporuladas, exigindo menor concentração e menor tempo de ação do que aqueles exigidos pelo cloro. Esse composto tem, ainda, capacidade de oxidar alguns poluentes orgânicos e inorgânicos (Torres et al., 1996).

Um método físico muito utilizado na indústria de alimentos como sanificante é o vapor de água. Entretanto existem outras opções alternativas, como o ultra-som, que inativam os microrganismos pela introdução de ciclos alternados de compressão e expansão em meio líquido, obtendo-se efeito bactericida a partir das ondas de alta intensidade. Estas resultam na ocorrência de pequenas bolhas, que crescem até explodirem durante a fase de expansão (Forsythe, 2002). A forma de destruição dos microrganismos pelo ultra-som se deve à combinação de seus efeitos: cavitação e suas forças (formação e difusão de bolhas que causam mudanças físicas na célula), aumento de calor localizado e pressão e formação de radicais livres na água ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que possuem efeitos bactericidas (Datta, 2002), razão pela qual o Food and Drug Administration (FDA), indica o uso de ondas ultra-sônicas, associadas a outros processos de sanificação (FDA, 2000; Datta, 2002).

As técnicas de intervenção única durante o processamento de produtos cárneos são relativamente eficientes em reduzir microrganismos (Dorsa et al.,

1998; Gill & Bandoni, 1997), porém, tratamentos com antimicrobianos múltiplos para a desinfecção de carne antes do processamento podem prover maior barreira à sobrevivência e proliferação microbianas.

Esta investigação científica teve como objetivo avaliar *in vitro* a atividade sanificante da água ozonizada ou clorada, associada ou não ao ultrassom, sobre filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) por imersão, com relação ao crescimento de mesófilos aeróbios, psicrotróficos, bolores e leveduras, estafilococos coagulase positiva e à presença de *Salmonella* sp, *Pseudomonas* sp e *Listeria monocitogenes*.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material experimental

Os animais utilizados no presente estudo foram tilápias (*Oreochromis niloticus*) adultas e com peso vivo médio de 800 g, criadas em tanques de terra da estação de piscicultura da Universidade de Alfenas (latitude 21° 25'S, longitude 45° 58'S e altitude de 800 m). O clima apresentado nessa região é subtropical, úmido, com temperatura média anual de 20,5 °C (Instituto Nacional de Meteorologia, 2004).

O sistema de cultivo utilizado foi o intensivo, usando, na alimentação, ração com um teor de 28% de proteína bruta e 3200 kcal/kg de energia metabolizável (EM), fornecida duas vezes ao dia.

Os animais foram retirados dos tanques na fase de terminação e colocados em tanques (caixas de fibra de vidro) sendo submetidos a um período de 24 horas de depuração. Posteriormente, as 28 tilápias insensibilizadas em tanques com água e gelo (5°C) foram evisceradas e fileteadas sem peles, de forma que, de cada peixe, foram obtidos 2 filés, perfazendo um total de 56 amostras. Em seguida, os filés foram embalados em sacos plásticos estéreis, próprios para armazenamento de alimento em freezer ou geladeira e transportados ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo (Silva et al., 2001).

### 4.2 Tratamentos

Um total de 56 filés de tilápia, divididos aleatoriamente em 5 grupos, foram submetidos aos tratamentos: T1, água clorada com 3,0 a 3,5 mg/L de dicloroisocianurato de sódio (Macedo, 2000); T2, água clorada com 3,0 a 3,5 mg/L de dicloroisocianurato de sódio (Macedo, 2000) mais o ultra-som; T3, água ozonizada com 3,0 a 3,5 mg/L de ozônio (Sheldon & Brown, 1986; Chang

& Sheldon, 1989); T4, água ozonizada mais o ultra-som e T5, controle (tratado com água). Os tratamentos foram aplicados por imersão dos filés em solução a temperatura de  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  em cuba lavadora ultra-sônica por 20 minutos (as concentrações foram monitoradas a intervalos de 5 minutos).

A concentração de cloro foi determinada conforme previsto na legislação (Brasil, 1999). O residual de cloro foi monitorado por colorimetria por comparação visual, utilizando a solução padrão de N.N. dietil-p-fenilendiamina (DPD) e confirmado pelo método iodimétrico indireto, sendo o tiosulfato de sódio a 0,1N a solução titulante (APHA, 1992).

A concentração de ozônio foi determinada segundo Chang & Sheldon (1989), sendo dissolvida na água de resfriamento monitorada com auxílio do monitor Residual Ozone System (ROS), com instrumento indicador da Orbisphere Laboratories<sup>®</sup>, modelo 26506, contendo uma célula eletroquímica que determina o resíduo de ozônio por diferença de condutividade (Cardoso, 1999). Essa medida foi confirmada pelo método iodimétrico, que utiliza o tiosulfato de sódio a 0,1N como solução titulante (APHA, 1992).

### **4.3 Condições de elaboração experimental**

#### **4.3.1 Sistema de cloro**

No tratamento com cloro foi utilizada água da rede de abastecimento da Unifenas, que passa por tratamento de cloração convencional, no próprio campus. Para sua utilização, instalou-se, no seu ponto de chegada, no laboratório, um filtro de carvão para reter o residual de cloro. Essa água foi utilizada para o abastecimento de uma caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 250 litros, sendo conduzida por tubulação a cuba ultra-sônica.

O produto comercial utilizado foi o dicloroisocianurato de sódio (nome comercial Aquatabs<sup>®</sup>, Bayer). A solução de água clorada utilizada nos tratamentos foi preparada com 250 litros de água, adicionada de uma pastilha de

2,5 g de dicloroisocianurato de sódio, que produziu um residual de cloro livre de 3,0 mg/L a 3,5 mg/L.

A refrigeração da solução foi feita com 40 kg de gelo fabricado com água potável e picado, necessários para manter a temperatura dos 250 L de água entre 3°C a 5°C, por, aproximadamente 30 minutos.

#### **4.3.2 Sistema de ozonização**

A água utilizada para o tratamento com ozônio foi obtida da rede de abastecimento da Unifenas, passando por tratamento de cloração convencional, no próprio campus. Para sua utilização, instalou-se no seu ponto de chegada, no laboratório, um filtro de carvão para reter o residual de cloro. Essa água foi utilizada para o abastecimento de uma caixa d'água de fibra de vidro, com capacidade para 500 litros.

O ozônio foi obtido no próprio Laboratório de Microbiologia e Fisiologia de Microrganismos da Unifenas, produzido por um gerador que foi alimentado por um cilindro de 100 kg oxigênio. O gerador utilizado foi o modelo EAS 470 DC, que apresenta capacidade de 10 g/h a 3% de concentração em peso de ozônio gerado, quando operado com vazão de oxigênio de 4,2 L/min, à pressão de 1,0kgf/cm<sup>2</sup>. O cilindro de oxigênio foi conectado ao gerador através do regulador de pressão e fluxômetro. O ozônio produzido pelo gerador foi conduzido até a caixa d'água por meio de tubulação.

No período de ozonização da água, utilizou-se um sistema fechado de resfriamento em que o ozônio foi concentrado na caixa d'água, através de um conjunto venturi (bomba de recirculação). A água ozonizada passou por serpentina imersa em tanque isotérmico, contendo 40 kg de gelo seco, 20 L de água e 2,5 L de álcool, atingindo a temperatura de 3°C a 5°C e chegando a cuba ultra-sônica por meio da tubulação da serpentina.

O sistema foi operado com 5 L de oxigênio por minuto e pressão de

0,5kgf/cm<sup>2</sup>, com produção 6,88 g/h de ozônio. Trabalhando sob as condições ajustadas, após 30 minutos de saturação, os 500 L de água adquiriram um residual de ozônio entre 3,0 a 3,5 mg/L.

#### **4.3.3 Pontos de controle dos tratamentos**

O sistema, utilizado nos cinco tratamentos, foi operado com uma vazão de 4 L de solução/minuto, regulada antes do início de cada tratamento. Também foi monitorado o pH da solução de todos os tratamentos que apresentaram média de pH 6,0. O pH das soluções foi determinado a partir de uma amostra de 10 mL por imersão das tiras reagentes, com escala de 0 a 14 e intervalos de 0,2 unidades de pH.

A temperatura da solução dos tratamentos foi monitorada com auxílio de um termômetro acoplado a cuba lavadora, para verificar a temperatura no início, meio e fim da aplicação dos tratamentos.

#### **4.3.4 Manutenção das amostras ao término dos tratamentos**

Ao término dos tratamentos aplicados, cada filé foi retirado da cuba de resfriamento, ficando suspensos por 15 a 20 segundos para o gotejamento. Imediatamente após esse procedimento, as amostras foram acondicionadas assepticamente em embalagem plástica, estéril, própria para o armazenamento de alimentos, sendo identificada e refrigerada em estufa BOD, à temperatura de 1,5°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ).

#### **4.4 Análises microbiológicas**

As análises foram realizadas de acordo com Silva et al. (2001), exceto quando mencionados outros autores no texto.

#### **4.4.1 Preparo de amostras para a análise pela técnica da “lavagem superficial”.**

Após o tempo de 0, 7, 14 e 21 dias da aplicação dos tratamentos, três amostras de filés provenientes de cada um dos 5 tratamentos foram tomadas e preparadas da seguinte maneira: 225 mL de água peptonada a 0,1% em erlenmeyer aos quais foram adicionados 25 g das amostras. O conjunto foi agitado mecanicamente em mesa agitadora, tipo “Shaker” por 5 minutos (Sheldon & Brown, 1986; Ritter, 2000).

A partir dessas amostras, prepararam-se diluições de  $10^{-2}$  a  $10^{-6}$  para as análises microbiológicas quantitativas do tempo 0, e diluições de  $10^{-2}$  a  $10^{-9}$  para essas análises, nos demais tempos.

Nas pesquisas de *Salmonella* e *Pseudomonas*, o rinse foi inoculado “in natura”.

#### **4.4.2 Contagem de bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas, *Staphylococcus* sp, de fungos e leveduras.**

A partir de diluições seriadas da água de “rinsagem”, procedeu-se à inoculação, em triplicatas, utilizando-se os seguintes métodos e meios de cultura:

a) Plaqueamento em profundidade

a.1) Quantificação de bactérias aeróbias mesófilas em ágar padrão para contagem (PCA).

Acrescentou-se à placa de Petri 1 mL do material em 15 a 20 mL do meio apropriado. Após a semeadura realizada em câmara de fluxo laminar, as placas foram homogeneizadas e incubadas em estufas reguladas a 35°C a 37°C, por 48 horas.

b) Plaqueamento em superfície

b.1) Quantificação de bactérias aeróbias psicrotróficas, em ágar padrão

para contagem (PCA).

A inoculação das alíquotas de 0,1 mL das diluições adequada das amostras foi feita em placas, sendo espalhadas com alça de Drigalsky e incubadas a 7°C por 10 dias.

b.2) Quantificação de bolores e leveduras em ágar batata dextrose acidificado com ácido tartárico 1%

A inoculação das alíquotas de 0,1 mL das diluições adequada das amostras foi feita em placas, sendo espalhadas com alça de Drigalsky e incubadas a 25°C por 3 a 5 dias.

b.3) Quantificação de *Staphylococcus* sp em ágar Baird Parker.

A inoculação das alíquotas de 0,1mL das diluições adequada das amostras foi feita em placas, sendo espalhadas com alça de Drigalsky e incubadas a 35°C por 24 horas.

A confirmação de *Staphylococcus* sp foi realizada a partir de colônias específicas desenvolvidas no Baird Parker, apresentando as seguintes características: coloração negra, aspecto lustroso e formato convexo, 1 a 5 mm de diâmetro, rodeadas por halo claro de 2 a 5 mm de largura.

As colônias típicas foram contadas e identificadas por provas bioquímicas auxiliares, como catalase, crescimento em manitol salt ágar, coagulase, e DNase.

Para as provas de catalase e coagulase, as colônias típicas foram repicadas para o caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 horas. Após esse tempo, 0,3 mL da cultura foi adicionado a 0,5 mL de plasma de coelho e incubados em banho-maria a 37°C, por 1- 4 horas.

A partir da cultura em caldo BHI, colocou-se uma gotícula desse inóculo numa lâmina de microscópio em que foi gotejada água oxigenada. Observou-se o desprendimento de bolhas. Posteriormente, foram transferidos 5ml do tubo de caldo BHI positivo para o banho-maria a 100°C, mantendo-se por 15 minutos.

Em seguida, uma alçada foi inoculada em cavidade do ágar azul de toluidina-DNA. Incubou-se a 35°C a 37°C por 1 a 4 horas. O aparecimento de halo rosa ao redor do orifício inoculado indicou a presença da nuclease (DNase), característica marcante para a identificação do *S aureus*.

#### **4.4.3 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli***

De cada diluição seriada, foram retiradas alíquotas de 1 mL e adicionadas no frasco próprio contendo 9 mL de meio de cultura. Posteriormente, o conteúdo do frasco (amostra + meio) foi adicionado diretamente no centro da placa vazia do simplate e, depois de tampada, agitada em movimentos circulares nos sentidos horários e anti-horários.

O meio foi distribuído nas 84 cavidades e o excesso foi retirado, inclinando-se a placa num ângulo de 90° a 120° para absorção do mesmo por tampão de algodão localizado em um dos lados da placa. Após esse procedimento, incubou-se a placa a 37°C por 24 horas em posição invertida.

Na obtenção dos resultados para coliformes totais, contaram-se visualmente as cavidades que apresentaram coloração rósea ou vermelha. Incidindo lâmpada UV, de 365 nm de comprimento de onda e 6 w de potência, foram consideradas cavidades positivas para *E. coli* as que apresentaram qualquer fluorescência, independentemente da intensidade.

#### **4.4.4 Pesquisa de *Salmonella* spp.**

A metodologia empregada para a detecção de *Salmonella* spp, em alimentos, compôs-se das seguintes etapas:

- pré-enriquecimento: em recipiente com 10 mL da solução de rinsagem, obtida da lavagem superficial de amostras tratadas e do controle, representando o conteúdo bacteriano de aproximadamente 25 g do

produto, foram adicionados a 90 mL de água peçonhada tamponada a 1,0%. Tendo sido imediatamente vedado o recipiente, este foi colocado em agitador mecânico por 1 minuto e posteriormente, incubado a 35°C a 37 °C por 18 horas (ICMSF apud Silva et al, 2001);

- enriquecimento seletivo: após a fase de pré-enriquecimento, 1 mL da cultura de pré-enriquecimento foi transferida para duas baterias, contendo tubos com 9 mL dos meios caldo selenito-sistina (Caldo SC, Merck) e caldo de enriquecimento tetrionato (Caldo TT, Merck). Incubando-se, em seguida, uma bateria a 43°C e outra a 35°C, pelo período de 24 horas (Siqueira, 1995);
- plaqueamento em meios seletivos e indicadores, utilizando-se de meios sólidos: utilizaram-se os meios de cultura ágar Rambach; ágar, segundo Hektoen e ágar *Salmonella-Shigella* (Agar SS), todos da Merck. Alíquotas das culturas de enriquecimento foram estriadas em cada meio, efetuando-se, posteriormente, incubação das placas a 35°C a 37°C por 24 horas (Siqueira, 1995);
- triagem das colônias: colônias suspeitas obtidas nos meios seletivos foram repicadas para os meios Triplyce Sugar Iron Àgar (ágar TSI, Merck) e ágar lisina ferro (LIA, Merck), tendo os mesmos sido incubados à temperatura de 35°C a 37°C por 24 horas (Siqueira, 1995);
- provas bioquímicas complementares: a comprovação do gênero *Salmonella* foi feita utilizando-se o Sistema Api 20E e Reativos da Bio Merieux.

#### **4.4.5 Pesquisa de *Pseudomonas* spp.**

Cerca de 10 mL da solução “rinse”, obtidos da lavagem superficial de amostras tratadas e controles, representando o conteúdo bacteriano de aproximadamente 25 gramas do produto, foram adicionados a 90 mL de caldo

BHI (Brian Heart Infusion, Merck) com 1% de solução de nitro furantoína. O recipiente foi imediatamente vedado e colocado em um agitador mecânico por 1 minuto, sendo posteriormente, incubado a 35°C a 37°C / 24 a 48 horas.

Posteriormente, repicou-se o material, em triplicata, para o ágar cetrimide (Merck), sendo incubado a 42°C / 18 a 24 horas. Nas colônias características de *Pseudomonas*, que se desenvolveram nesse meio, foi realizado o teste da oxidase através de tiras reagentes, a confirmação do metabolismo oxidativo em meio para oxidação/fermentação (OF Broth, Merk) e a identificação bioquímica no Sistema BacTray III, da Difco (Cardoso, 1999).

#### **4.4.6 Isolamento de *Listeria monocytogenes***

Foram colocados 25 g da amostra em 225 mL de caldo de enriquecimento para *Listeria* (LEB), homogeneizando e incubando a 30 °C por 24 horas. Posteriormente, o frasco com o caldo LEB foi agitado, estriando-se com alça de platina, alíquotas do caldo de enriquecimento em placa com ágar Oxford e outra contendo ágar Palcam. As placas com ágar Oxford foram incubadas a 30°C e as com ágar Palcam a 35°C, todas por 24 a 48 horas. O caldo LEB foi reincubado por 24 horas, repetindo-se o plaqueamento após 48 horas de incubação. Após a incubação das placas por 24 horas, estas foram observadas verificando-se a presença ou não de colônias típicas; em casos negativos, as placas foram reincubadas e observadas novamente com 48 horas.

## 5 RESULTADO E DISCUSSÃO

As soluções dos tratamentos aplicados às amostras (filés) apresentaram concentrações médias de sanificantes variando entre 3,0 a 3,5 mg/L, em temperatura média de 3°C a 5°C e média de pH 6,0.

### 5.1 Contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios

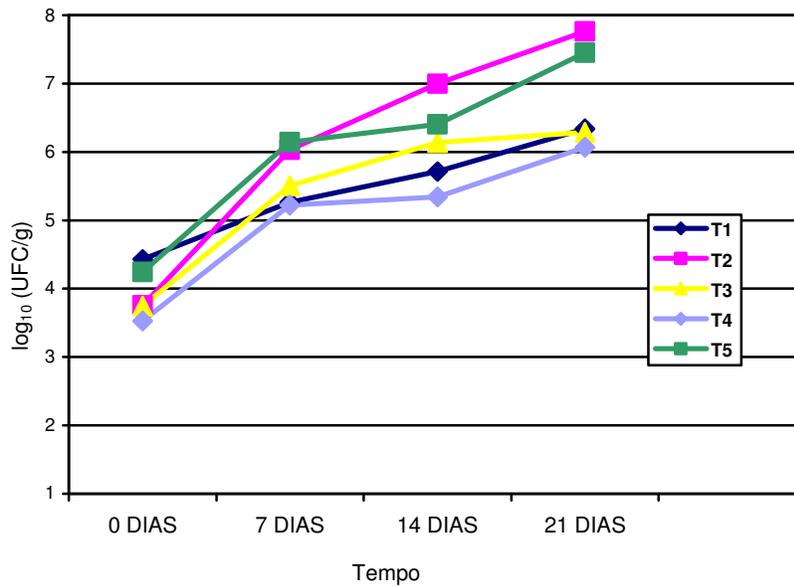
O número de microrganismos mesófilos é indicador da qualidade higiênica dos alimentos e fornece dados sobre tempo de conservação (Hobbs & Roberts, 1993; Silva, 1998). Contagens elevadas dessas bactérias indicam que o alimento pode ser insalubre, levando a crer que a matéria-prima foi contaminada e ou houve condições inadequadas de processamento (Siqueira, 1995; Landgraf & Franco, 1996). Nesse grupo, são encontradas bactérias patogênicas e o seu número decresce paulatinamente durante o armazenamento refrigerado (Noskova, 1978; Veiga, 2003).

No presente estudo, verificou-se que, no 14º dia, os grupos tratados que mostraram as menores médias de crescimento comparativamente aos sistemas controles foram as amostras do T4, com média de 5,34 log<sub>10</sub> UFC/g, seguido do T1, com 5,71 log<sub>10</sub> UFC/g (Figura 1).

A atuação mais efetiva do T4 deve-se à ação simultânea dos agentes químico e físico, levando à potencialização da ação sanificante. Por outro lado, o grupo T2 apresentou crescimento elevado (7 log<sub>10</sub> UFC/g), quando comparado aos demais tratamentos e grupo controle (6,40 log<sub>10</sub>UFC/g). Isso pode ser explicado pela ação facilitadora do ultra-som no deslocamento dos microrganismos, auxiliado por um menor efeito residual do dicloroisocianurato de sódio no 14º dia do tratamento (Kim et al., 1999; Datta, 2002; Veiga, 2003).

Segundo Batista et al. (2004), os resultados das análises bacteriológicas

realizadas na pele de matrinxã *Brycon cephalus*, procedente de piscicultura e conservado em gelo, para grupo de bactérias mesófilas a 35°C, apresentou crescimento discreto ao longo de todo o período de estocagem, passando de  $4,6 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> no primeiro dia para  $3,0 \times 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup> no 29º dia de estocagem. A legislação do estado de São Paulo, por meio do seu Código Sanitário, estabelece o limite máximo de  $3,0 \times 10^6$  UFC/g de pescado na contagem padrão em placa. No presente estudo, observou-se um crescimento ascendente no T2, embora ao longo dos 21 dias, os filés ficassem em temperaturas de 1,5°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ) além do tratamento sanitificante, confirmando a ação do ultra-som em facilitar a separação das células bacterianas das colônias.



T1 - Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 - Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio, T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 - Controle

FIGURA 1 Médias de crescimento de mesófilos aeróbios após os tratamentos

Wempe & Davdisom (1992) observaram que o tratamento de filés de carpa capim com solução de 200 µg/mL de hipoclorito de sódio reduziu significativamente as populações iniciais de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes. Jesus et al. (2001), estudando a estabilidade química e microbiológica de "minced fish" produzido em condições industriais, com espécies de peixes da Amazônia, observaram uma variação no crescimento de bactérias mesófilas de 4,88 a 6,81 UFC/g e de psicrotróficas de 4,20 a 6,81 UFC/g, num período de 120 dias de estocagem a -18°C. Scherer et al. (2004) observaram que as populações de bactérias mesófilas e psicrotróficas no grupo controle ultrapassaram as contagens preconizadas ( $3 \times 10^6$  UFC/g<sup>-1</sup> bactéria mesófilas e  $10^7$  UFC/g<sup>-1</sup> bactéria psicrotróficas - ICMF) antes do 14º dia de armazenagem, enquanto que, no grupo tratado com cloro este limite foi ultrapassado após o 14º dia de armazenagem.

Os resultados obtidos no presente estudo confirmam os obtidos por Scherer et al. (2004) e Wempe & Davdisom (1992).

O impacto de intervenções sanificantes antimicrobianas múltiplas foi estudado em amostras de carne bovina quanto aos aspectos microbianos com: água ozonizada a 1% seguida por ácido acético a 5% (OA); água ozonizada a 1% seguida por cloreto de cetylpyridinium a 0,5% (OC); dióxido de cloro 200 ppm seguido por fosfato de trisódio 10% (CT) e controle (C). As carnes foram processadas, tratadas em imersão com temperatura de 7,5°C, empacotadas, armazenadas a 4°C e analisadas nos tempos 0, 1, 2, 3 e 7 dias, após a exposição, para contagem padrão de aeróbios (APC), *E. coli* (EC), coliformes termotolerantes (CO) e *Salmonella typhimurium* (ST). Os tratamentos OA e OC reduziram os tipos bacterianos avaliados, enquanto o CT reduziu EC, CO e APC (Pohlman et al., 2002). Dentre os tratamentos de intervenção, os mais eficientes foram aqueles em que houve associação com o ozônio. Assim, os resultados do presente trabalho confirmaram os resultados de Pohlman et al. (2002).

Na sanificação microbiana de aparas de carne bovina foram comparados os tratamentos com água ozonizada 1% durante 7 minutos (7O) e 15 minutos (15O); com solução de dióxido de cloro 200 ppm (CLO) e controle (C). As aparas foram processadas, tratadas em imersão, empacotadas e armazenadas a 4°C. Nos tempos 0, 1, 2, 3 e 7 dias após exposição, foram analisadas quanto às contagens padrão em placa de bactérias aeróbias (APC), EC, CO e *Salmonella typhimurium* (ST). O tratamento CLO reduziu todos os agentes bacterianos avaliados, considerando que os tratamentos 7O e 15O reduziram somente APC e ST, e ainda 15O reduziu CO. Nos tratamentos conduzidos por Stivarius et al. (2002), o maior tempo de exposição ao ozônio (15 minutos) foi mais efetivo nas reduções microbianas do que sua utilização por menos tempo (7 minutos). Porém, no presente estudo, nas intervenções antimicrobianas com tratamento único, o dicloroisocianurato de sódio foi mais efetivo do que o ozônio para contagem de bactérias mesófilas aeróbias.

A legislação brasileira não determina valor padrão para microrganismos mesófilos aeróbios, mas, quando estes se apresentam em valores superiores a  $10^6$  a  $10^8$  UFC/g, podem aparecer alterações organolépticas detectáveis nos alimentos (Landgraf & Franco, 1996).

Os peixes obtidos na região Sul de Minas Gerais, onde o clima característico é o subtropical úmido, com uma variação média anual de temperatura entre 20,5°C a 25°C, o crescimento de microrganismos mesófilos e psicrotróficos é favorecido nos peixes. Imediatamente após a aplicação do tratamento, observou-se uma contagem maior de bactérias mesófilas nas amostras controle ( $4,24 \log_{10}$  UFC/g), quando comparadas com outros microrganismos, como, por exemplo, os psicrotróficos ( $4,1 \log_{10}$  UFC/g).

Leitão et al.(1985) relatou a ocorrência de predominância da microbiota mesofílica nos peixes fluviais e lacustres. Esse fato é explicado pelas condições de temperatura que, nessa região, são de clima subtropical, favorecendo o

estabelecimento da microbiota mesofílica no pescado (Liston, 1980; Shewan, 1971), o que poderia ser explicado também para os resultados aqui obtidos.

## 5.2 Contagem de microrganismos psicotróficos

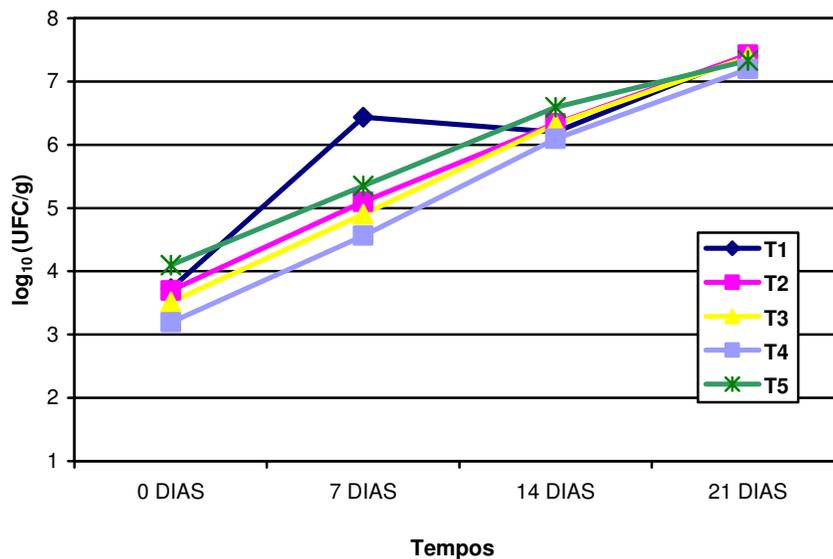
Os microrganismos psicotróficos estão relacionados com a população deteriorante que age em carnes sob refrigeração (Landgraf & Franco, 1996; Forsythe, 2002). Estando presentes, causam grande variedade de alterações. Sua detecção está associada à falha no processamento ou contaminações pós-processamento e, ainda, à estocagem prolongada sob refrigeração ou manutenção de frio inadequado (Brasil 1991/1992).

A legislação brasileira não contempla limites para psicotróficos. Entretanto, Shewan (1971) ressalta a presença de número elevado desses microrganismos em peixes frescos, bem como nos deteriorados. São bactérias psicotróficas Gram-negativas que se apresentam quando o pescado encontra-se armazenado à temperatura próxima de 0°C. Portanto, independente da microbiota inicial, a final consistirá na presença de psicotróficos, incluindo *Pseudomonas* sp., que se desenvolvem bem a baixas temperaturas.

No presente trabalho, a contagem média de bactérias mesófilas aeróbias no grupo controle, no 14º dia, foi de 6,40 log<sub>10</sub> UFC/g, e de psicotróficas foi de 6,59 log<sub>10</sub> UFC/g, confirmando a tendência de uma população psicotrófica final maior, visto que os peixes ficaram armazenados a 1,5°C (± 0,5°C) o que retarda o crescimento de bactérias mesófilas aeróbias.

Analisando-se o gráfico da Figura 2, observa-se que, no dia 0, os valores médios para contagem de psicotróficos foram próximos (3,73; 3,69; 3,51 3,19; e 4,10 log<sub>10</sub> UFC/g) entre os respectivos T1, T2, T3, T4 e T5 e um comportamento semelhante foi observado aos 14 dias (6,20; 6,33; 6,33; 6,10 e 6,59 log<sub>10</sub> UFC/g). Entretanto, no dia 7, houve um crescimento grande de psicotróficos no T1 (6,44 log<sub>10</sub> UFC/g) quando comparado aos outros

tratamentos (T2 – 5,10; T3 – 4,90; T4 – 4,56 e T5 - 5,35 log<sub>10</sub> UFC/g). Isso, possivelmente, pode ser explicado por uma resistência dos microrganismos ao agente sanificante. A resistência de algumas espécies de microrganismos a desinfetantes específicos varia consideravelmente. Bactérias não-esporuladas são menos resistentes que as formadoras de esporos; formas encistadas e vírus podem ser bastante resistentes (Rossin, 1987). A concentração de microrganismos é um outro fator importante, já que uma densidade elevada significa uma maior demanda de agente sanificante. A aglomeração de organismos pode criar uma barreira para a penetração do desinfetante (Meyer, 1994).



T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 -Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio, T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 – Controle

FIGURA 2 Média de crescimento de psicotróficos após os tratamentos propostos

O T4 mostrou crescimento de 3,19; 4,56; 6,10 e 7,20 log<sub>10</sub> UFC/g, que foi menor em todos os tempos (0, 7, 14, 21<sup>1</sup> dias), quando comparado ao crescimento no controle, que foi de 4,10; 5,35; 6,59 e 7,33 log<sub>10</sub> UFC/g. No T3 os resultados do crescimento, obtido nos respectivos tempos, foram de 3,51; 4,90; 6,33 e 7,39 log<sub>10</sub> UFC/g, que foi inferior quando comparado com controle e superior ao crescimento do T4, resultado diferente dos encontrados por Sheldon & Brown (1986) e Veiga (2003). Provavelmente, tais resultados variaram devido à diferença de tempo de contato empregado, ao teor de contaminação e ao tipo de carne analisada (frango) por ambos os pesquisadores. No trabalho, Sheldon & Brown (1986), ao realizarem o resfriamento de carcaças de frango, aplicando como descontaminante água ozonizada, com residual entre 3,0 e 4,5 mg/L durante 45 minutos, obtiveram reduções de 37% a 75% no número de microrganismos psicrotróficos. Veiga (2003) obteve 75% na redução desses microrganismos, quando utilizou, isoladamente, água ozonizada com tempo de aplicação de 20 minutos.

Segundo Batista et al. (2004), os resultados das análises bacteriológicas realizadas na pele de matrinxã (*Brycon cephalus*) procedente de piscicultura e conservado em gelo para grupo de bactérias psicrotróficas que apresentaram valores iniciais de  $6,7 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> mostraram redução no número até o quinto dia de estocagem. A partir daí, apresentou valores crescentes e semelhantes entre si, atingindo os valores de  $4,9 \times 10^7$  UFC/cm<sup>2</sup> de psicrotróficas aos 29 dias de estocagem. Após 16 dias de estocagem, as bactérias psicrotróficas já tinham atingido  $1,1 \times 10^7$  UFC/cm<sup>2</sup>. A partir desse ponto, parece indicar uma estabilização no crescimento dessas bactérias. Observaram-se, no 23º dia de estocagem, valores médios de  $5,0 \times 10^7$  UFC/cm<sup>2</sup> para contagem total de bactérias psicrotróficas.

---

<sup>1</sup> Os filés, aos 21º dia, apresentavam-se deteriorados.

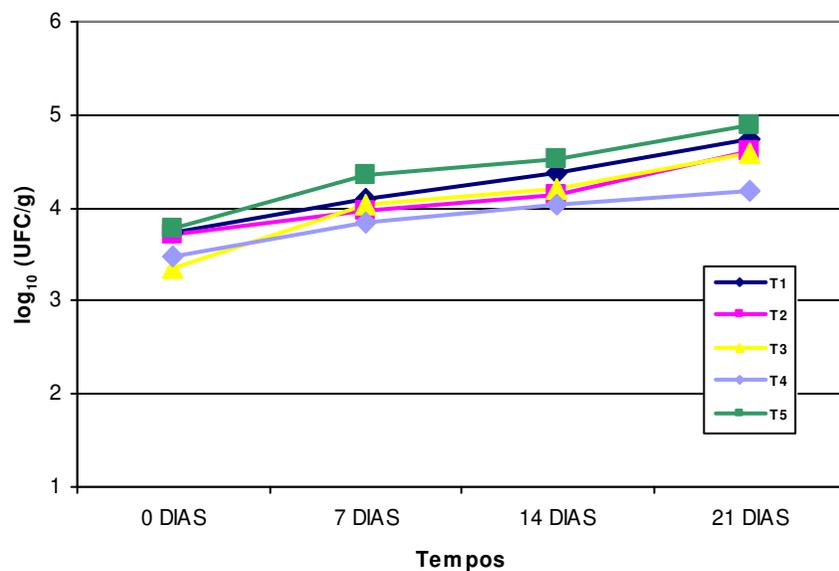
### 5.3 Contagem de fungos filamentosos e leveduras

Os fungos filamentosos e as leveduras, encontrados em índices elevados nos alimentos, fornecer informações sobre condições higiênicas de equipamentos, multiplicação desses microrganismos no produto, em decorrência de falha no processamento, e ou estocagem e matéria-prima contaminada (Siqueira, 1995). A legislação brasileira não conta com padrão sobre o grau de contaminação de organismos mesófilos para carnes, incluindo a de peixes, o mesmo acontecendo com relação a fungos filamentosos e leveduras.

As contagens médias de crescimento desses microrganismos, no presente estudo, variaram de 3,75 a 4,74  $\log_{10}$  UFC/g para T1; de 3,71 a 4,61  $\log_{10}$  UFC/g para T2; de 3,35 a 4,60  $\log_{10}$  UFC/g para T3; de 3,48 a 4,18  $\log_{10}$  UFC/g para T4 e de 3,79 a 4,88  $\log_{10}$  UFC/g para T5.

A redução no crescimento de fungos filamentosos e leveduras foi detectada no 14º dia, nos T4 (4,04  $\log_{10}$  UFC/g) e T2 (4,13  $\log_{10}$  UFC/g) sendo esses os resultados mais efetivos quando comparados ao T5 (4,53  $\log_{10}$  UFC/g) (Figura 3).

Veiga (2003), utilizando os tratamentos com água hiperclorada e ozonizada em sistema de resfriamento de meias carcaças de frango, encontrou redução de fungos e leveduras de 33,33% e 58,62%, respectivamente. Os mesmos tratamentos conjugados com ultra-som obtiveram reduções de 72,12% e 82,73%, respectivamente. O efeito do ultra-som em meio aquoso obteve redução de 60%, quando da utilização de água potável e ultra-som.



T1 - Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 - Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio, T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 - Controle.

FIGURA 3 Média de crescimento de fungos filamentosos e leveduras após os tratamentos propostos

Confirmando a ação sinérgica do ultra-som, quando associado aos sanificantes, Kaess & Weidmann (1968) reportaram que a utilização do ozônio gasoso (concentração maior que 2 mg/L), para estocagem de carnes em câmaras saturadas, aumentou a fase lag dos fungos *Tamnidium* sp e *Penicilium* sp. Da mesma forma, esses pesquisadores relataram que o uso simultâneo de radiação ultravioleta (2  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) e ozônio gasoso (5  $\mu\text{g}/\text{L}$ ) produziu efeito inibidor sinérgico contra os mesmos fungos (Kaess & Weidmann, 1973).

#### **5.4 Contagem de coliformes totais e *Escherichia coli***

A presença de coliformes a 35°C e *E. coli* é indicativo da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos. Percentuais elevados podem significar: matéria-prima contaminada; contaminação pós-processamento; limpeza e sanificações deficientes; tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem (Siqueira, 1995; Landgraf & Franco, 1996). De acordo com Jay et al.(2005), as bactérias do grupo coliformes são mesofílicas, mas podem crescer a temperatura de -2°C, porém, em temperaturas inferiores a 5°C, propiciam crescimento lento.

No presente experimento, a presença de *E. coli* não foi detectada em nenhuma das amostras durante o período de armazenamento. Como as tilápias passaram por depuração, esse processo deve ter permitido a limpeza do trato gastrointestinal, evitando a contaminação durante o abate. Resultados semelhantes foram observados por Lima et al. (1998) em filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratados com ácido láctico a 10% e armazenados entre 4°C a 10°C, durante 8 dias. As contagens iniciais de coliformes a 35°C mostraram valores de 0,60 log NMP/g, atingindo, posteriormente, valor de 4,17 log NMP/g em peixes depurados. Krolow et al. (2000) observaram que filés de carpa (*Cyprinus carpio*) depurada apresentaram médias mais baixas para coliformes a 35°C ( $4,3 \times 10^1$  NMP/g), quando comparados com os peixes não

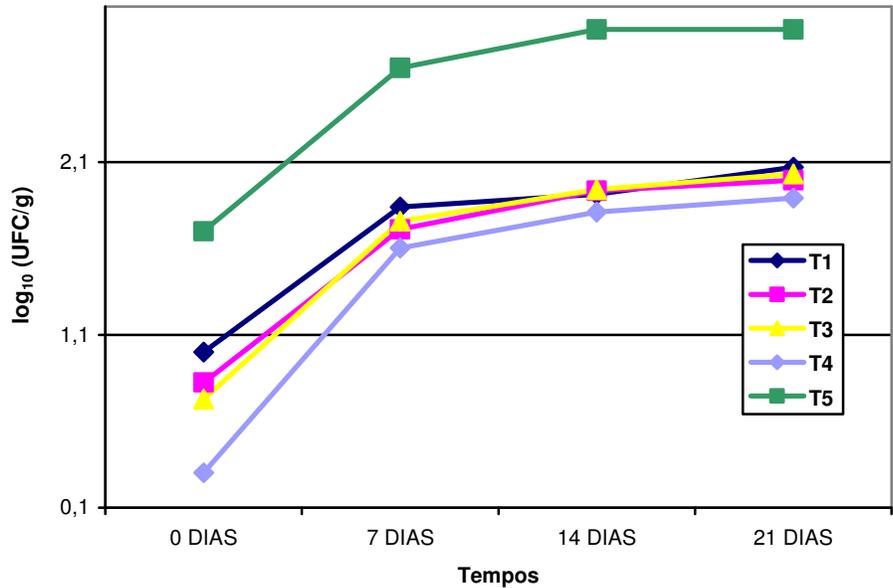
depurados ( $2,3 \times 10^2$  NMP/g).

Os resultados médios obtidos no crescimento de coliformes a 35°C nesse experimento foram de 1 a 2,07  $\log_{10}$  NMP/g para o T1; de 0,82 a 1,99  $\log_{10}$  NMP/g para o T2; de 0,72 a 2,03  $\log_{10}$  NMP/g para o T3; de 0,30 a 1,89  $\log_{10}$  NMP/g para o T4; e de 1,70 a 2,87  $\log_{10}$  NMP/g para T5 (Figura 4).

Analisando os dados apresentados no gráfico da Figura 4, observa-se que as médias de crescimento de coliformes a 35°C mostraram que, entre as amostras sanificadas e o grupo controle, existe uma diferença considerável de comportamento. Essa diferença é atribuída ao efeito dos sanificantes testados em comparação com as amostras não tratadas, que confirmam os resultados de Sheldon & Brown (1996); Pohlman et al. (2002) e Al-Hadad et al. (2005).

Considerando o comportamento dos resultados das amostras tratadas, observa-se que aos 0 e 7 dias, a diferença entre as médias é mais elevada e os tratamentos T3 e T4 foram mais efetivos nas reduções de crescimento (0 dia: 89% e 96% e 7 dias: 86% e 91% para os respectivos tratamentos) quando comparados aos T1 e T2 (0 dia: 80% e 86% e 7 dias: 84% e 88% para os respectivos tratamentos). Segundo Kim et al. (1999), essa efetividade pode ser resultado da ação de rápida oxidação de vários compostos da célula (lipídios insaturados, proteínas, principalmente as formadas por aminoácidos contendo o grupo sulfidril e inativação de enzimas) de um amplo espectro de microrganismos (Torres et al., 1996). Veiga (2003) relata que obteve redução das concentrações de coliformes totais, ao tratar carcaças de frangos com água potável, água hiperclorada e água ozonizada na ordem de 10%, 75% e 79%, respectivamente.

Nos tratamentos, no 14º dia (T1 88,88%, T2 88,35%, T3 88,16% e T4 91,24%), notou-se uma redução no crescimento médio de coliformes 35°C nos filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), em relação ao T5.



T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 -Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio, T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 – Controle.

FIGURA 4 Média de crescimento de coliformes a 35°C, após os tratamentos propostos

No T1 (88,88%) e T3 (88,16%), foram obtidos percentuais de redução de crescimento diferentes dos resultados encontrados por Veiga (2003) que, no tratamento clorado, obteve redução de 75% e com água ozonizada 78,95%. Os resultados diferentes obtidos no presente estudo se dão, possivelmente, pelo tipo de carne analisada que não apresenta barreiras ao sanificante como a pele de frango (Al-Haddad et al., 2005).

Ao se observar o T2 (88,35%) e T4 (91,24%), os percentuais de redução de crescimento mostram, mais uma vez, o efeito sinérgico da associação. As respectivas reduções estão próximas das encontradas por Veiga (2003), ou seja, de 90% para o cloro e ultra-som e de 94,56% para ozônio e ultra-som. O efeito isolado do ultra-som, em meio aquoso, sobre coliformes totais mostra reduções de 81,73% para água potável associada ao ultra-som (Veiga, 2003), conforme demonstrado por Lillard (1994), para microrganismos entéricos Gram-negativos.

Sheldon & Brown (1986) obtiveram redução de 91% de coliformes, 35°C e 45°C por mL de rinse, quando utilizaram o ozônio entre 3,0 e 4,5 mg/L durante 45 minutos. Essa redução de 91% foi maior que a do presente estudo no T3 (88,16%). A maior redução de coliformes descrita por Sheldon & Brown (1986) pode ser resultado do maior tempo de contato da solução sanificante com a matéria-prima. O T3, comparado ao tratamento descrito por Sheldon & Brown (1986), pode ser considerado mais eficiente, por ter sido empregado na mesma concentração em menor tempo de contato.

O impacto de intervenções antimicrobianas múltiplas foi estudado em carne bovina, quanto aos aspectos microbianos, segundo Pohlman et al., 2002. Em aparas de carne bovina, foram inoculadas *E. coli* e, então, se tratou com: água ozonizada 1%, seguida por ácido acético 5% (OA); água ozonizada 1%, seguida por cloreto de cetylpyridinium 0,5% (OC); 200 ppm dióxido de cloro, seguido por fosfato de trisódio 10% (CT) e controle (C). As carnes foram processadas, tratadas em imersão, empacotadas e armazenadas a 4°C e

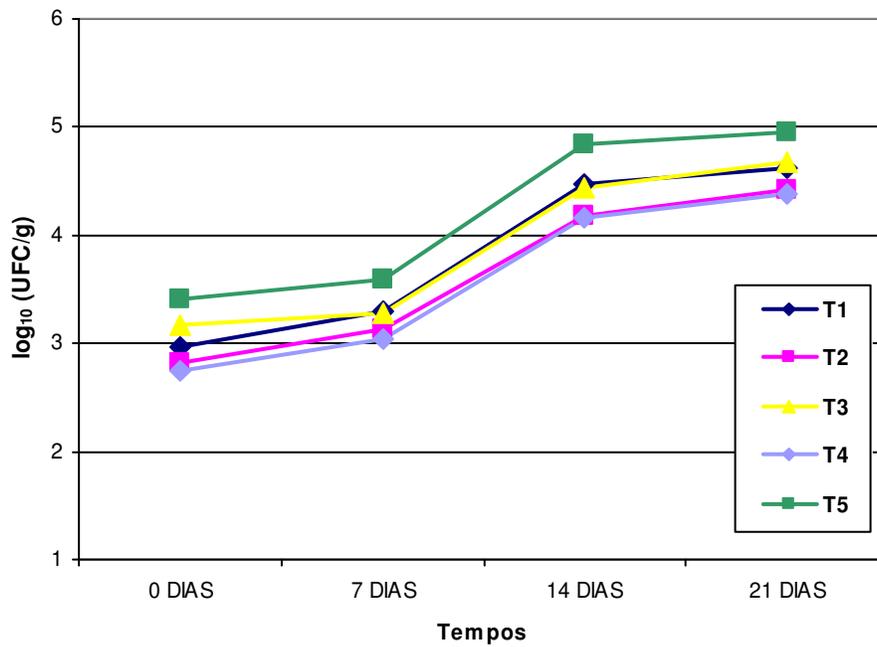
analisadas, nos tempos 0, 1, 2, 3 e 7 dias após a exposição para EC, coliformes (CO) *Salmonella typhimurium* (ST) e APC. Os tratamentos OA e OC reduziram todos os tipos bacterianos avaliados, enquanto o CT reduziu somente EC, CO. Entre os tratamentos de intervenção citados, os mais eficientes foram os de associação com o ozônio estando em compatibilidade com os resultados encontrados nessa pesquisa.

### **5.5 Estafilococos coagulase positiva**

Os estafilococos coagulase positiva são de origem humana e fazem parte da microbiota da pele, boca e fossas nasais. A contaminação de alimentos por esses microrganismos ocorre a partir dos manipuladores, bem como superfícies em que a limpeza e sanificação foram inadequadas (Siqueira, 1995; Castilho, 1997; Carvalho, 1999). *Staphylococcus aureus* é uma bactéria anaeróbia facultativa, mas prefere metabolismo aeróbico (Himtlan & Hotchkiss, 1986) e sua ocorrência em pescado é associada a águas contaminadas (Liston et al., 1963).

Os resultados médios obtidos nas contagens para os estafilococos coagulase positiva foram de 2,75 a 4,96 log<sub>10</sub> UFC/g. Vieira et al. (2000), em tilápias recém-capturadas, descreveram que as amostras apresentaram valores de *S. aureus* que variaram de <10 a 10,6x10<sup>2</sup> UFC/g. Por outro lado, segundo a resolução RDC nº12 de 2/1/2001 (Brasil, 2001), o limite aceitável de estafilococos coagulase positiva para pescado fresco é de 10<sup>3</sup> UFC/g. No presente experimento, entre o 7º e o 14º dia, as contagens ficaram de acordo com a legislação vigente no país. Os T2 e T4 foram os tratamentos mais eficientes na redução desse microrganismo.

Os resultados médios para estafilococos coagulase positiva em filés de pescado submetidos à sanificação ou não são apresentados no gráfico da Figura 5. Analisando-se esses dados, observa-se que houve uma diferença entre os filés tratados e os filés do grupo controle.



T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 -Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio, T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 – Controle.

FIGURA 5 Média de crescimento de Estafilococos coagulase positiva após os tratamentos.

No dia 0, as médias de crescimento foram de 2,97; 2,81; 3,17; 2,75; e 3,41 log<sub>10</sub> UFC/g para T1, T2, T3, T4 e T5, respectivamente; aos 7 dias, de 3,29; 3,12; 3,27; 3,05; e 3,59 log<sub>10</sub> UFC/g, respectivamente e, aos 14 dias, de 4,47; 4,17; 4,43; 4,16 e 4,84 log<sub>10</sub> UFC/g, respectivamente. Além disso, também se observa que o comportamento do crescimento nos tratamentos que associam o ultra-som é semelhante. Ou seja, independente do sanificante usado, quando este é associado ao ultra-som, o efeito na redução do crescimento do microrganismo é aumentada.

No presente estudo, no 14º dia, a redução microbiana do T1 e T3 foi de 57% e 61%, respectivamente e, quando o ultra-som foi associado, a redução foi de 79% em T2 e T4.

Veiga (2003), em carcaças de frango tratadas com os mesmos sanificantes e mesmas concentrações, encontrou redução de 35,29% e 70% para tratamentos com água clorada e ozonizada, respectivamente, e com o uso associado ao ultra-som, obteve uma redução de 88,89% e 100%, respectivamente, para estafilococos coagulase positiva.

## **5.6 *Salmonella* sp**

A *Salmonella* pode ser proveniente das matérias-primas contaminadas, das técnicas de processamento e de manipuladores portadores do agente (Associação Brasileira de Empresas de Refeições Coletivas – ABERC, 1999).

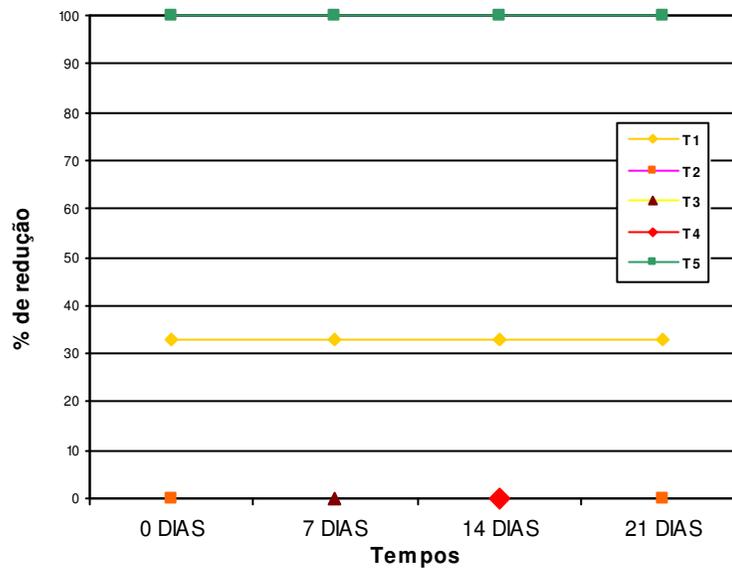
Observando-se a Figura 6, verifica-se que T2, T3 e T4 foram capazes de eliminar a *Salmonella*, pois, sua presença foi detectada nas amostras do T5. Resultados semelhantes foram citados por Veiga (2003), em carcaças de frango sanificados com água clorada (Dicloroisocianurato de sódio) e ozonizada, ambas na concentração de 3,0 – 3,5 mg/L por 20 minutos em cuba ultra-sônica, simulando um chiller. No presente trabalho, houve divergência de resultados para o tratamento com cloro, que não obteve redução total no crescimento de

*Salmonella*. Esses resultados demonstram o efeito das ondas ultrassônicas, quando associadas a outros métodos de sanificação, pois em ambos os trabalhos, foram obtidos 100% de inativação do crescimento de *Salmonella*.

Sheldon & Brown (1986) observaram redução de 48% no número de *Salmonella*, quando resfriaram carcaças de frango em água potável, durante 45 minutos. Esses autores, ao repetirem o experimento utilizando água ozonizada (3,0 – 4,5 mg/L por 45 minutos), verificaram redução de 81% no número de *Salmonella* sp/100 mL de rinse. Sendo assim, o presente estudo e o de Sheldon & Brown (1986) também constatam efeito positivo do ozônio sobre as células de *Salmonella*.

Vieira et al. (2000), analisando as condições higiênico-sanitárias durante o processamento de tilápias, observaram que 75% das amostras dos filés de peixes comercializados, em Campina Grande – PB, estavam próprios para o consumo e 25% impróprios, apresentando *Salmonella* spp. (8,3%) e coliformes fecais acima dos padrões (16,7%).

Mogkata et al. (1998) utilizaram cepas de salmonelas isoladas de diferentes abatedouros e as testaram frente ao ácido hipocloroso. Esses autores cultivaram essas bactérias em meio de cultura contendo 72 mg/L de HOCl e mostraram que algumas cepas de salmonelas crescem, mesmo na presença de elevada concentração de ácido hipocloroso, principal elemento de desinfecção dos produtos clorados. Block (1991) relata que vários tipos de microrganismos, tais como cepas de *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton* vêm apresentando diferentes graus de resistência ao cloro, o que pode comprometer a qualidade microbiológica e sanitária dos alimentos tratados com o produto. Entretanto, outros estudos têm encontrado redução da contaminação por *Salmonella* em 0,5 a 1,0 ciclo log<sub>10</sub> quando o cloro é adicionado à água do chiller (Patterson, 1968; Lillard, 1993).



T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio, T2 -Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som, T3 - Tratamento com ozônio, T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som e T5 – Controle.

FIGURA 6 Redução da presença de *Salmonella* sp após os tratamentos

Estudos mostraram que a concentração necessária de cloro ativo na água do chiller, para haver redução de 99,9% da carga microbiana é de 1200 mg/L. Todavia, essa concentração torna inviável por modificarem as características organolépticas da carne e geram altos níveis de compostos halogenados carcinogênicos (Dickson & Anderson, 1991).

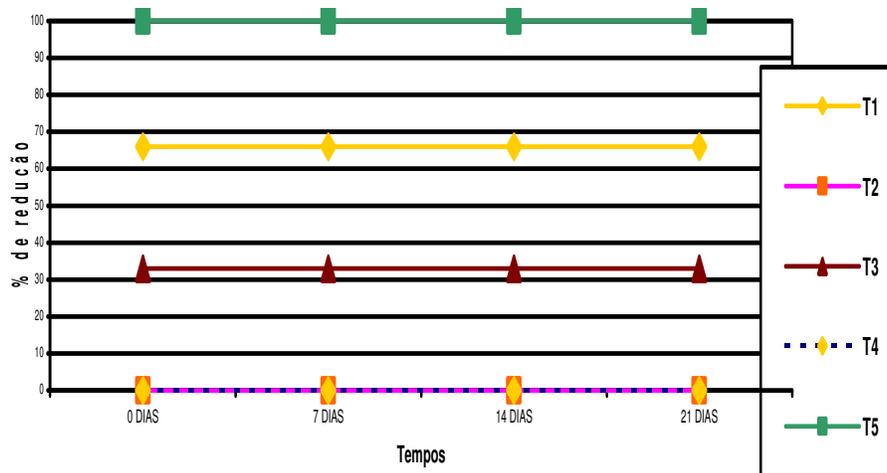
Lillard (1993;1994) estudou o efeito da cloração (0,5 mg/L) e da utilização de ondas ultra-sônicas, aplicadas por 30 minutos, sobre *Salmonella Typhimurium*, inoculadas artificialmente em carcaças de frango, concluindo que a aplicação isolada do ultra-som desloca as células bacterianas da pele, reduzindo a contagem por 1,0 a 1,5 ciclo  $\log_{10}$  e que a combinação cloração e ultra-som é mais efetiva, pois reduziu a contagem do microrganismo por 2,4 a 3,9  $\log_{10}$ .

### **5.7 *Pseudomonas* sp**

As contagens de psicrotóxicos e de *Pseudomonas* sp são consideradas meios aceitáveis de predizer o potencial de vida de prateleira (Russel, 1997). A presença desse microrganismo no trato intestinal de pessoas, assim como suas características fisiológicas, leva a um possível indicador de contaminação fecal (Carvalho, 1999).

Observando a Figura 7, verifica-se que os T2 e T4 eliminaram esse microrganismo. Porém, as mesmas foram detectadas nas amostras do T5. Nos T1 e T3 houve reduções de 66,66% e 33,33%, respectivamente, mostram a efetividade dos tratamentos associados ao ultra-som.

Os resultados obtidos neste estudo estão em desacordo com os encontrados por Veiga (2003), que encontrou aumento do número de carcaças positivas para o tratamento com dicloroisocianurato de sódio.



T1 – Tratamento com dicloroisocianurato de sódio; T2 -Tratamento com dicloroisocianurato de sódio associado ao ultra-som; T3 - Tratamento com ozônio; T4 - Tratamento com ozônio associado ao ultra-som; T5 – Controle.

FIGURA 7 Redução da presença de *Pseudomonas* sp após os tratamentos.

Al-Haddad et al. (2005), analisando peitos de frango resfriados inoculados com *Pseudomonas aeruginosa*, encontraram no tratamento com ozônio gasoso aplicado por 30 minutos, redução das contagens de *Pseudomonas* de 95%. Sob atmosfera modificada, a contagem de células *P. aeruginosa* inicial reduziu 58% e, então, estabilizou-se. O uso de ozônio gasoso por 15 minutos, associado ao empacotamento sob atmosfera modificada, resultou na sobrevivência de *P. aeruginosa* por 9 dias a 7°C.

O presente estudo, porém, demonstrou uma menor eficiência do tratamento com o ozônio dissolvido na água, quando comparado com o ozônio gasoso da pesquisa de Al-Haddad et al. (2005). Possivelmente, os resultados diferiram devido às formas de aplicação, concentrações e tempos de tratamentos diferentes usados em cada pesquisa.

### **5.8 *Listeria monocytogenes***

O microrganismo *Listeria monocytogenes* não foi isolado nos filés de tilápia utilizados nesta pesquisa.

### **5.9 Vida de prateleira**

A vida útil das amostras foi avaliada por meio de quantificação de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, pois a perda da qualidade se dá em função da multiplicação deles nos alimentos.

Esse parâmetro ainda foi verificado em função das características organolépticas visíveis da deterioração, presença de odor e limo (Franco & Landgraf, 1996; Cotta, 1997; Castillo et al., 2002; Forsythe, 2002).

Segundo Huss (1988), a perda da qualidade do pescado ocorre quando a contagem de bactéria aeróbia sobre a pele do peixe alcança  $10^8$  a  $10^9$  UFC/g. Por outro lado, ICMSF (1983) estabelece que o limite máximo de bactérias mesófilas aeróbias para pescado congelado deve ser de  $10^6$  UFC/g.

Forsythe (2002) descreve que para carne crua, é apontada a contagem de aeróbios mesófilos em placa como indicadores da vida útil, sendo o limite sugerido de  $10^6$  UFC/g. Relata, ainda, que a deterioração visível e ou limo ocorrem a partir de  $10^7$  UFC/g.

Como a legislação brasileira não determina limite para o número de mesófilos e psicrotróficos em carnes de forma geral, os limites sugeridos por ICMSF (1983), Ritter (2000) e Forsythe (2002) foram adotados neste trabalho. Dessa forma, os filés que apresentavam contagens de bactérias mesófilas aeróbias menor ou igual a  $10^6$  UFC/g foram considerados em condições higiênico-sanitárias aceitáveis e aqueles com contagens superiores a  $10^6$  UFC/g foram considerados impróprios para o consumo (deteriorados) e sem condições higiênico-sanitárias. Os filés que obtiveram contagens de bactérias psicrotróficas menor ou igual a  $10^7$  UFC/g foram considerados em condições higiênico-

sanitárias adequadas e aqueles com contagens superiores foram consideradas inadequadas para o consumo

No presente estudo (Figuras 1 e 2), as contagens de bactérias mesófilas aeróbias superiores a  $10^6$  UFC/g e de psicrotróficas superiores a  $10^7$  UFC/g foram obtidas após o 14º dia; algumas alterações organolépticas foram observadas já no décimo primeiro dia de resfriamento em alguns tratamentos. Nesse período, foi possível observar ligeira diferença no odor e pouca limosidade. Posteriormente ao 14º dia, contagem superior a  $10^6$  UFC/g foi verificada para bactérias mesófilas aeróbias e de  $10^7$  UFC/g para psicrotróficas e presença acentuada de limo e odor.

As amostras controles apresentaram deterioração aos sete dias de estocagem refrigerada ( $1,5^\circ\text{C}$ ,  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ), com contagem média de bactérias mesófilas aeróbias de  $6,15 \log_{10}$  UFC/g. Embora a contagem média de psicrotróficas tenha sido de  $5,35 \log_{10}$  UFC/g no filé, as características sensoriais demonstravam indícios de deterioração como ligeira alteração do odor e limosidade.

As amostras tratadas com água clorada apresentaram condições higiênico-sanitárias satisfatórias até o 14º dia, com contagens médias de  $5,71 \log_{10}$  UFC/g para bactérias mesófilas aeróbias e de  $6,20 \log_{10}$  UFC/g para psicrotróficas, valores que mostram condições higiênico-sanitárias consideradas satisfatórias.

No tratamento feito com água ozonizada, os filés apresentaram, no 14º dia, contagem média de bactérias mesófilas aeróbias de  $6,14 \log_{10}$  UFC/g e, para psicrotróficas,  $6,33 \log_{10}$  UFC/g. Esses valores são considerados dentro dos padrões higiênico-sanitários quando comparados com as contagens determinadas pelo ICMSF (1986).

Amostras tratadas com água clorada associada ao ultra-som não apresentaram condições higiênico-sanitárias satisfatórias no 14º dia,

apresentando contagens médias bactérias mesófilas aeróbias de  $7 \log_{10}$  UFC/g, apresentando-se em deterioração, apesar da contagem média para psicotróficas ser de  $6,33 \log_{10}$  UFC/g. O ocorrido pode ter sido causado pela ação facilitadora do ultra-som (Kim et al.,1999; Data, 2002) associada a alguns microrganismos resistentes ao cloro, levando ao aumento do número de mesófilos aeróbios no produto (Block, 1991).

Os filés submetidos ao tratamento com água ozonizada associada ao ultra-som obtiveram contagem média de bactérias mesófilas aeróbias, no 14<sup>o</sup> dia, de  $5,34 \log_{10}$  UFC/g e, para psicotróficas, de  $6,10 \log_{10}$  UFC/g, apresentando condições higiênico-sanitárias satisfatórias para o consumo, segundo o ICMSF (1986).

Os tratamentos com dicloroisocianurato de sódio, água ozonizada e água ozonizada associada ao ultra-som mostraram-se satisfatórios para aumentar a vida de prateleira, pois, como pode ser observados nos gráficos das Figuras 1 e 2, os números de bactérias mesófilas aeróbias e psicotróficas estavam compatíveis com os padrões estabelecidos pela literatura pertinente.

Observando-se os resultados obtidos, deve-se ressaltar que embora o tratamento com água ozonizada associada ao ultra-som tenha apresentado melhor desempenho no presente estudo, todos os sanificantes testados representam tecnologias com grande potencial de aproveitamento na indústria de processamento de pescado, embora sejam necessários estudos adicionais quanto às definições da dose/frequência correta, do tempo de contato necessário e da etapa ideal para a otimização desses processos.

## 6 CONCLUSÕES

Nas condições experimentais, diante dos resultados dos tratamentos para a sanificação dos filés de tilápia, a água ozonizada associada ao ultra-som foi o tratamento mais efetivo na redução de microrganismos, seguida do tratamento com água clorada. Os filés submetidos aos tratamentos sanificantes foram considerados deteriorados após o 14º dia de estocagem refrigerada ( $1,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-HADDAD, K. S. H., AL-QASSEMI, R. A S., Robinson, R.K. The use of gaseous ozone and gas packaging to control populations of *Salmonella infantis* and *Pseudomonas aeruginosa* on the skin of chicken portions. **Journal Food Control**. 16: 405–410, 2005.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 18<sup>th</sup> ed. Washington, 1992.

ABERC (Associação Brasileira das Empresas de Refeições Coletivas). **Manual ABERC de Práticas de Elaboração e Serviço de Refeições para Coletividades**. 5ed. São Paulo, p.203, 1999.

BATISTA, G.M.;LESSI, E.; KODAIRA, M.; FALCÃO, P. T. Post-mortem biochemical alterations in aquacultured matrinxã fish *Brycon cephalus* (Günther, 1869) when stored on ice. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Oct./Dec. 2004, vol.24, no.4, p.573-581. ISSN 0101-2061

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Métodos de análise microbiológica para alimentos**. 2 ed.136p. Brasília, 1991/1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agrícola. Portaria nº 210 – Inspeção Tecnologia de Higiênico-sanitária de Carnes de Aves. Republicada **DOU** nº 43, seção 1. 05/03/1999c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC n.12 Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília: ANVISA, **DOU**.10/01/2001b.

BLOCK, S.S. **Disinfection, Sterilization and Preservation**. 4th ed. Philadelphia, PA: Lea& Febiger, 1991. 1162p.

BOOT, T. R. Ozone as a disinfectant in process pant. **Food Control**, v 2, n.1, p.44-49.1991.

CARDOSO, C. C. **Avaliação microbiológica da eficiência de um processo de sanitização de latões de leite com ozônio**. 1999. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade de Alfenas, Alfenas.

CARVALHO, E.P. **Microbiologia de alimentos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999.

CASTILHO, C.J.C. Pontos críticos no processo de abate de frangos. In: SEMINÁRIO E WORKSHOP 'INDÚSTRIA DE CARNE DE AVES', 197, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1997, p.11-19.

CHANG, H.Y.; SHELDON, B.W. Application of ozone with physical wastewater treatments to precondition poultry process waters. **Poultry Science**, v.68, p.1078-87, 1989.

DATTA, N. Food 4002. **Emerging Food Technologies and Biotechnology Lectures Notes: Ultrasonication** <<http://library.uq.edu.au/bio/lectures/food4002-2002/ultrasonication.doc>> Acesso em 16 de out.2002.

DICKSON, J.S.; ANDERSON, M.E. Control of *Salmonella* on beef surfaces in a model system by pre and post evisceration washing and sanitizing, with hand without spray chilling. **Journal Food Protection**, 54:514-518, 1991.

DISNEY, J.G. The spoilage of fish in the tropics. Paper presented at the 1<sup>st</sup> **Annual Tropical Fisheries Technological Conference**, Texas, USA, March, 1976.

DORSA, W. J., CUTTER, C. N., & SIRAGUSA, G. R. Bacterial profile of ground beef made from carcass tissue experimentally contaminated with pathogenic and spoilage bacteria before being washed with hot water, alkaline solution, or organic acid and then stored at 4 or 12 °C. **Journal of Food Protection**, v.61, n.9, p.1109–1118, 1998.

FORSYTHE, J.S. **Microbiologia da segurança alimentar**. Tradução de Maria Carolina M. Guimarães e Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Center for Food Safety and Applied Nutrition. **Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies** – ultrasound. 02 June 2000. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov>>. Acesso em: 16 out. 2002.

GURLEY, B. Ozone: pharmaceutical sterilant of the future? **Journal of Parenteral Science and Technology**, v.39, n.6, p.256-261. 1985.

GILL, C. O., & BANDONI, M. The hygienic and organoleptic qualities of ground beef prepared from manufacturing beef pasteurized by immersion in hot water. **Meat Science**, 46(1), 67–75, 1997a.

HIMTLIAN, C.B.; HOTCHKISS, J.H. The safety of modified atmosphere packaging: A review. **Journal Food Technology**, v.40, n.12, p.70-76, 1986.

HOBBS, B. C.; ROBERTS, D. **Food Poisoning and Food Hygienic British library**. 6° ed. London: British Library. 375p.1993.

HUSS, H.H. **Fresh fish: quality and quality changes**. Rome, FAO, DANIDA, 1988. p. 43-4.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - 5° DISME – BH, 2004.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS-ICMSF. **Microorganisms in Foods. 2- Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications** University of Toronto Press, Toronto, 1986, 293p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microrganismos de los alimentos**. Técnicas de análisis microbiológicos. Zaragoza: Ed. Acribia, 1983. v. 1, 533p.

JAY, J. M., LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7th ed., 2005, 790 p. 87 illus., Hardcover  
ISBN: 0-387-23180-3

JESUS, R.S.; LESSI, Ed.; TENUTA-FILHO, A., Chemical and microbiological stability of Amazonian minced fish during the freezing. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, May/Aug. 2001, vol.21, no.2, p.144-148.

KAESS, G.; WEIDEMANN, J.F. Ozone treatment of chilled beef. In: Effect of low concentrations of ozone on microbial spoilage and surface color of beef. **Journal Food Technology**, v.3p.325-334, 1968.

KAESS, G.; WEIDEMANN, J.F. Effect of ultraviolet irradiation on the growth of microorganisms on chilled beef slices. **Journal Food Technology**, v.8, p.59-69, 1973.

KIM, JIN-GAB; YOUSEF, A.E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of food: a review. **Journal of Food Protection**, v.62, n.9, p.1071-1087, 1999.

KROLOW. A.C.R; MIGUENS, F.P; GULARTE, M; POUHEY, J.L.O.F; BANDEIRA, F.S; ANTONIOLLO, P.C; SILVA, W.P. Qualidade higiênica de lingüiça calabresa fresca elaborada a partir de filés de carpa húngara (*Cyprinus carpio*) submetida ou não à depuração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. Fortaleza, 2000. **Anais** Fortaleza: SBCTA, 2000. v.1, p.64-71.

LANDGRAF, M; FRANCO, B.D.G.M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

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

LEITÃO, M.F.F. Microbiologia do Pescado e Controle Sanitário no Processamento. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas-SP:ITAL, n.50, p.1-35, 1977.

LIMA, M. F. V.; ZAPPATA, J.F.F. Efeito do ácido láctico e do lactato de sódio sobre as características físicas, químicas e sensoriais de filés frescos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., Rio de Janeiro 1998. **Anais**. Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. p.739-742.

LILLARD H. S. Decontamination of poultry skin by sonication. **Food Technology**, v.48, n.12, p.72-73, 1994.

LILLARD H. S. Bacterial effect of chlorine on attached *Salmonella* with and without sonication. **Journal Food Protection**, v.56, p.716-717, 1993.

LISTON, J. Microbiology in fishery science. In: CONNELL, J.J. (ed), **Advances in Fish Science and Technology**, Fishing News Book Ltd., Surrey, England, p.138-157, 1980.

LISTON, J.; STANSBY, M.E.; OLCOTT, H.J.; Bacteriological and chemical basis for deteriorative changes. In; STANSBY, M.E. (Ed.). **Industrial fishery technology**: a survey of methods for domestic harvesting, preservation, and processing of fish used for food and for industrial products. New York: Reinhold, 1963. p.350-361.

MACEDO, J. A. B. **Águas & Águas**. Juiz de Fora: Ortofarma, 505p, 2000.

MEYER, S. T. Chlorine use in water disinfection, trihalomethane formation, and potential risks to public health. **Cad. Saúde Pública**, Jan./Mar. 1994, vol.10, no.1, p.99-110.

MOGKATA, R.M.; BROZEL, V.S.; GOUWS, P. A. Isolation of *Salmonella* resistant to hypochlorous acid a poultry abattoir. **Letters in Applied Microbiology**, v.27, n.6, p.379-383, 1998.

NOSKOWA, G.L. **Microbiológica das carnes conservadas por el frio**. Zaragoza: Acribia, 1978. 111p.

PATTERSON, J. T. Bacterial flora of chicken carcasses treated with high concentration of chlorine. **Journal of Applied Bacteriology**, n.31, v. 4, p.544-550, 1968.

POHLMAN A, F.W.; STIVARIUSB, M.R.; MCELYEAA K.S.; JOHNSONA Z.B.; JOHNSONC M.G. The effects of ozone, chlorine dioxide, cetylpyridinium chloride and trisodium phosphate as multiple antimicrobial interventions on microbiological, instrumental color, and sensory color and odor characteristics of ground beef. **Meat Science**, v.61, p.307–313, 2002.

RITTER, R. Contaminação bacteriana da água do sistema de pré-resfriamento de frango e sua influência na vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados. 2000.88p.**Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária) Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre.

ROSSIN, A. C.,. Desinfecção. In: **Técnica de Abastecimento e Tratamento de Água (Tratamento de Água)**, Vol. 2, São Paulo: CETESB/ASCETESB,1987.

RUSSEL, S. M. A rapid microbiological method for enumeration of *Pseudomonas fluorescens* form broiler chicken carcasses. **Journal of Food Protection**, v.60, n.4, p.385-390, 1997.

SÃO PAULO (Estado). Código Sanitário do Estado de São Paulo. São Paulo: IMESP, 1991. 412p.

SCHERER, R.; DANIEL, A.P.; AUGUSTI, P.R.; LAZZARI, R.; LIMA, R.L.; FRIES, L.L. M.; RANDUZ NETO, J.; EMANUELLI, T. Efeito do gelo clorado sobre parâmetros químicos e microbiológicos da carne de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas n.24, v.4, p.680-684, out- dez. 2004.

SHELDON, B. W.; CHANG, H.Y. The application of ozone and other physical processes for treating spent poultry chiller water. **Proceedings Food Processing Water Conf.** Atlanta, GA, Sept.1-2, 1987.

SHELDON, B.W.; BROWN, A.L. Efficacy of ozone as a disinfectant for poultry carcasses and chill water. **Journal of Food Science**, v.51, n.2, p.305-309, 1986.

SHEWAN, J.M. The microbiology of fish and fishery products: a progress report. **J. Appl. Bacterol.**, v. 34, p.299-315, 1971.

SHEWAN, J.M.; MURRAY, C.K. The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychrophiles. In: RUSSEL, A.D.; FULLER, R. (ed.), Cold Tolerant Microbes in Spoilage and the Environment. **Academic Press**, London, England, p.117-136, 1979.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V.C. A; Silveira, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. São Paulo: Varela, p.317, 2001.**

SILVA, J.A. Microrganismos patogênicos em carnes de frangos. **Rev. Higiene Alimentar**, v.12,n.58,p.9-14,1998.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos.** EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ). Brasília: EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, p.159, 1995.

STIVARIUS, M.R.; POHLMAN, F. W.; MCELYEA K. S.; APPLE, J.K. Microbial, instrumental color and sensory color and odor characteristic of ground beef produced from beef trimmings treated with ozone or chlorine dioxide. **Meat Science**, v.60, p.299-305, 2002.

THOMSON, J. E.; COX, N.A.; BAILEY, J. S. Chlorine, acid and heat treatments eliminated *Salmonella* on broiler carcasses. **Poultry Science**, v.55, p.1513-1517, 1976.

TORRES, E. A. F. S; ROGÊ FERREIRA, A. F; RÍMOLI, C. D; OLIVO, R. Estudos das Propriedades desinfetantes do ozônio em alimentos. **Higiene Alimentar**, v.10, n.42, p.18-23, 1996.

TSAI, L.; SCHADE, J. E.; MOLYNEUX, B. T. Chlorination of poultry chiller water: chlorine demand and disinfection efficiency. **Poultry Science**, v.71, p.188-196,1992.

VEIGA, S. M. M. **Sanificação de carcaças de frango: processos alternativos**. 2003. p. 291 Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) UFLA: Lavras.

VIEIRA, K.V.M; MAIA, D. C. C; JANEIRO, D. I; VIEIRA, R.H.F.S; CEBALLOS, B.S. O; Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em filés congelados. **Higiene Alimentar**. v.14, n.74, p.37- 40, 2000.

WEMPE, J.W., DAVIDSON, P.M. Bacteriological profile and shelf life of White Amur (*Ctenopharyngodon idella*).**Journal of Food Science**, v.57, p.66-68,1992.

## ANEXOS

<b>ANEXO A</b>		<b>Página</b>
Ficha de Avaliação Sensorial.....		145
<b>ANEXO B</b>		
TABELA 1B	Análise de variância e contraste da composição centesimal de filés de tilápia .....	147
TABELA 2B.	Média de AGS, AGM e AGP em g/100g de lipídios totais de filés de tilápia submetida aos tratamentos.....	148
TABELA 3B	Análise de variância e contraste dos ácidos graxos saturados em filés de tilápia.....	149
TABELA 4B	Análise de variância e contraste dos ácidos graxo moinsaturados em filés de tilápia.....	150
TABELA 5B	Análise de variância e contraste dos ácidos graxos polinsaturados em filés de tilápia.....	151
TABELA 6B	Análise de variância e contraste do colesterol em filés de tilápia .....	154
TABELA 7B	Análise de variância e contraste do índice de peróxido em filés de tilápia.....	154
<b>ANEXO C</b>		
TABELA 1C	Análise de variância dos valores de pH nos filés de tilápia ...	155
TABELA 2C	Análise de variância da perda de peso por cozimento dos filés de tilápia.....	155
TABELA 3C	Análise de variância dos componentes da cor (L*, a*, b*) dos filés de tilápia .....	156

## ANEXO A

### Avaliação Sensorial

#### Teste de Painel

Juiz N° \_\_\_\_\_

Nome \_\_\_\_\_

Código da amostra \_\_\_\_\_

#### Avaliação da carne de peixe crua

Marque com um “X” a opção que melhor represente o seu conceito e faça os comentários se necessários.

<b>Cheiro</b>	01	02	03	04	05
Normal	( )	( )	( )	( )	( )
Ligeiramente alterado	( )	( )	( )	( )	( )
Alterado	( )	( )	( )	( )	( )

---

<b>Cor</b>	01	02	03	04	05
Normal	( )	( )	( )	( )	( )
L. Alterada	( )	( )	( )	( )	( )
Alterada	( )	( )	( )	( )	( )

---

<b>Aspecto</b>	01	02	03	04	05
Normal	( )	( )	( )	( )	( )
L. Alterado	( )	( )	( )	( )	( )
Alterado	( )	( )	( )	( )	( )

---

**Ficha 02****Avaliação Sensorial  
Teste de Painel**

Juiz N° \_\_\_\_\_

Nome \_\_\_\_\_

Código da amostra \_\_\_\_\_

**Avaliação da carne de peixe cozida**

Marque com um “X” a melhor descrição para:

## 1) Sabor

	01	02	03	04	05
a)muito bom	( )	( )	( )	( )	( )
b)regular	( )	( )	( )	( )	( )
c)fraco	( )	( )	( )	( )	( )
d)muito fraco	( )	( )	( )	( )	( )
e)péssimo	( )	( )	( )	( )	( )

## 2) Cheiro

	01	02	03	04	05
a)Normal	( )	( )	( )	( )	( )
b)L.Alter.	( )	( )	( )	( )	( )
c)Alterado	( )	( )	( )	( )	( )

## 3)Cor

	01	02	03	04	05
a)Normal	( )	( )	( )	( )	( )
b)L. Alter.	( )	( )	( )	( )	( )
c)Alterada	( )	( )	( )	( )	( )

## 4) Características gerais

	01	02	03	04	05
a)muito boa	( )	( )	( )	( )	( )
b)boa	( )	( )	( )	( )	( )
c)ligeiramente boa	( )	( )	( )	( )	( )
d)neutra	( )	( )	( )	( )	( )
e)ruim	( )	( )	( )	( )	( )
f)péssima	( )	( )	( )	( )	( )

## ANEXO B

**TABELA 1B** Análise de variância e contraste da composição centesimal de filés de tilápia

Umidade					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	3,375	4	0,844	19,980	0,0001
Resíduo	0,422	10	0,042		
<b>Total</b>	<b>3,797</b>	<b>14</b>			

Umidade					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,687	0,237	-2,894	0,016	
Tratamento – Controle	-2,847	0,531	-5,365	0,000	
Cloro – Ozônio	0,887	0,237	3,737	0,004	

Proteína					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	1,930	4	0,482	10,182	0,0015
Resíduo	0,474	10	0,047		
<b>Total</b>	<b>2,404</b>	<b>14</b>			

Proteína					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	0,323	0,251	1,286	0,227	
Tratamento – Controle	2,603	0,562	4,632	0,001	
Cloro – Ozônio	-0,103	0,251	-0,411	0,690	

Lipídios					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	4,7111	4	1,1778	1757,9	0,0000
Resíduo	0,0033	5	0,0007		
<b>Total</b>	<b>4,7144</b>	<b>9</b>			

Lipídios					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-1,335	0,037	-36,469	0,000	
Tratamento – Controle	-1,635	0,082	-19,975	0,000	
Cloro – Ozônio	-2,165	0,037	-59,143	0,000	

Cinzas					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,0012	4	0,0003	7,3333	0,0050
Resíduo	0,0004	10	0,0000		
<b>Total</b>	<b>0,0016</b>	<b>14</b>			

...continua...

TABELA 1B, cont.

Contrastes	Cinzas			P-valor
	Valor	EP	T	
Sem US – US	0,030	0,007	4,108	0,002
Tratamento – Controle	0,043	0,016	2,654	0,024
Cloro – Ozônio	-0,003	0,007	-0,456	0,658

**TABELA 2B.** Média de AGS, AGM e AGP em g/100g de lipídios totais de filés de tilápia submetidos aos tratamentos.

A. GRAXOS	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>5</sub>
SATURADOS	0,475 ±0,005	0,450 ±0,010	0,640	1,080 ±0,010	0,830
MONOSATURADOS	0,460	0,420 ±0,010	0,620	1,055 ±0,005	0,825 ±0,005
POLIINSATURADOS	0,300	0,275 ±0,005	0,270	0,625 ±0,005	0,380
TOTAL	1,235	1,145	1,53	2,76	2,035

**TABELA 3B** Análise de variância e contraste dos ácidos graxos saturados em filés de tilápia.

MIRÍSTICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,806	4	0,202	6,717	0,0303
Resíduo	0,150	5	0,030		
Total	0,956	9			

MIRÍSTICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,65	0,245	-2,654	0,0452	
Tratamento – Controle	-2,35	0,548	-4,290	0,0078	
Cloro – Ozônio	0,25	0,245	1,021	0,3543	

PALMÍTICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	35,266	4	8,817	25,779	0,0016
Resíduo	1,710	5	0,342		
Total	36,976	9			

PALMÍTICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	4,75	0,827	5,743	0,0022	
Tratamento – Controle	-4,85	1,849	-2,623	0,0470	
Cloro – Ozônio	-4,75	0,827	-5,743	0,0022	

ESTEÁRICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,136	4	0,034	3,778	0,0887
Resíduo	0,045	5	0,009		
Total	0,181	9			

ESTEÁRICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,05	0,134	-0,373	0,7247	
Tratamento – Controle	0,85	0,300	2,833	0,0365	
Cloro – Ozônio	-0,05	0,134	-0,373	0,7247	

**TABELA 4B** Análise de variância e contraste dos ácidos graxos monoinsaturados em filés de tilápia

PALMITOLÉICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	2,026	4	0,507	46,045	0,0004
Resíduo	0,055	5	0,011		
Total	2,081	9			

PALMITOLÉICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,35	0,148	-2,360	0,0648	
Tratamento – Controle	-4,35	0,332	-13,116	0,0000	
Cloro – Ozônio	-0,35	0,148	-2,360	0,0648	

OLEICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	26,366	4	6,592	24,687	0,0017
Resíduo	1,335	5	0,267		
Total	27,701	9			

OLEICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	3,50	0,731	4,790	0,0049	
Tratamento – Controle	-6,60	1,634	-4,039	0,0099	
Cloro – Ozônio	-5,10	0,731	-6,979	0,0009	

EICOSENÓICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,106	4	0,027	8,833	0,0173
Resíduo	0,015	5	0,003		
Total	0,121	9			

EICOSENÓICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	0,10	0,077	1,291	0,2532	
Tratamento – Controle	-0,10	0,173	-0,577	0,5887	
Cloro – Ozônio	-0,40	0,077	-5,164	0,0036	

**TABELA 5B** Análise de variância e contraste dos ácidos graxos poliinsaturados em filés de tilápia

TRANS LINOLÉICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,014	4	0,004	1,750	0,2755
Resíduo	0,010	5	0,002		
Total	0,024	9			

TRANS LINOLÉICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,05	0,063	-0,791	0,4650	
Tratamento – Controle	-0,05	0,141	-0,354	0,7381	
Cloro – Ozônio	0,15	0,063	2,372	0,0638	

LINOLÉICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	11,766	4	2,942	2,983	0,1309
Resíduo	4,930	5	0,986		
Total	16,696	9			

LINOLÉICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	3,30	1,404	2,350	0,0656	
Tratamento – Controle	1,60	3,140	0,510	0,6321	
Cloro – Ozônio	2,20	1,404	1,567	0,1780	

$\alpha$ - LINOLÉICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	3,426	4	0,856	428,250	0,0000
Resíduo	0,010	5	0,002		
Total	3,436	9			

$\alpha$ - LINOLÉICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-1,45	0,063	-22,927	0,0000	
Tratamento – Controle	1,65	0,141	11,667	0,0001	
Cloro – Ozônio	-1,45	0,063	-22,927	0,0000	

$\gamma$ - LINOLEICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,084	4	0,021	21,000	0,0025
Resíduo	0,005	5	0,001		
Total	0,089	9			

...continua...

TABELA 5B, cont.

$\gamma$ - LINOLEICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,15	0,045	-3,354	0,0202	
Tratamento – Controle	0,05	0,100	0,500	0,6383	
Cloro – Ozônio	0,35	0,045	7,826	0,0005	

ARQUIDÔNICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	8,394	4	2,099	1049,250	0,0000
Resíduo	0,010	5	0,002		
Total	8,404	9			

ARQUIDÔNICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,75	0,063	-11,859	0,0001	
Tratamento – Controle	3,05	0,141	21,567	0,0000	
Cloro – Ozônio	3,75	0,063	59,293	0,0000	

EICOSAPENTAENÓICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,060	4	0,015	15,000	0,0054
Resíduo	0,005	5	0,001		
Total	0,065	9			

EICOSAPENTAENÓICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,15	0,045	-3,354	0,0202	
Tratamento – Controle	0,25	0,100	2,500	0,0545	
Cloro – Ozônio	-0,15	0,045	-3,354	0,0202	

DOCOSAPENTAENÓICO C22:5 $\omega$ 6					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	1,200	4	0,300	60,000	0,0002
Resíduo	0,025	5	0,005		
Total	1,225	9			

DOCOSAPENTAENÓICO C22:5 $\omega$ 6					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,25	0,100	-2,500	0,0545	
Tratamento – Controle	1,25	0,224	5,590	0,0025	
Cloro – Ozônio	1,35	0,100	13,500	0,0000	

...continua...

TABELA 5B, cont.

DOCOSAPENTAENÓICO C22;5 $\omega$ 3					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,794	4	0,199	99,250	0,0001
Resíduo	0,010	5	0,002		
Total	0,804	9			
DOCOSAPENTAENÓICO C22;5 $\omega$ 3					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,70	0,063	-11,068	0,0001	
Tratamento – Controle	1,20	0,141	8,485	0,0004	
Cloro – Ozônio	0,00	0,063	0,000	1,0000	
DOCOSAHEXAENÓICO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	4,690	4	1,173	586,250	0,0000
Resíduo	0,010	5	0,002		
Total	4,700	9			
DOCOSAHEXAENÓICO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-1,60	0,063	-25,298	0,0000	
Tratamento – Controle	4,50	0,141	31,820	0,0000	
Cloro – Ozônio	0,90	0,063	14,230	0,0000	

**TABELA 6B** Análise de variância e contraste do colesterol em filés de tilápia

COLESTEROL					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	347,41	4	86,85	61,48	0,0000
Resíduo	14,13	10	1,41		
Total	361,54	14			

COLESTEROL					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US		9,813	1,372	7,150	0,000
Tratamento – Controle		-29,533	3,069	-9,624	0,000
Cloro – Ozônio		-11,593	1,372	-8,447	0,000

**TABELA 7B** Análise de variância e contraste do índice de peróxido em filés de tilápia

PERÓXIDO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	1379,00	4	344,75	0,84	0,5541
Resíduo	2049,69	5	409,94		
Total	3428,69	9			

PERÓXIDO					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US		14,88	28,633	0,520	0,625
Tratamento – Controle		-112,01	64,026	-1,749	0,141
Cloro – Ozônio		-4,57	28,633	-0,160	0,879

## ANEXO C

**TABELA 1C** Análise de variância dos valores de pH nos filés de tilápia.

pH					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	0,013	4	0,003	1,472	0,2598
Resíduo	0,034	15	0,002		
Total	0,047	19			

pH				
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor
Sem US – US	0,015	0,048	0,315	0,757
Tratamento – Controle	0,145	0,106	1,363	0,193
Cloro – Ozônio	-0,080	0,048	-1,682	0,113

**TABELA 2C** Análise de variância da perda de peso por cozimento dos filés de tilápia.

PERDA DE PESO POR COZIMENTO					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	13,57	4	3,39	5,33	0,0071
Resíduo	9,55	15	0,64		
Total	23,12	19			

PERDA DE PESO POR COZIMENTO				
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor
Sem US – US	-0,055	0,798	-0,069	0,946
Tratamento – Controle	6,930	1,784	3,884	0,001
Cloro – Ozônio	-1,955	0,798	-2,450	0,027

**TABELA 3C** Análise de variância dos componentes da cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) dos filés de tilápia

$L^*$ (Luminosidade)					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	43,87	4	10,97	4,55	0,0046
Resíduo	84,44	35	2,41		
Total	128,31	39			

$L^*$ (Luminosidade)					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,520	1,098	-0,473	0,639	
Tratamento – Controle	7,307	2,456	2,976	0,005	
Cloro – Ozônio	-2,878	1,098	-2,620	0,013	

$a^*$ (Teor Vermelho)					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	2,47	4	0,62	0,34	0,8463
Resíduo	62,80	35	1,79		
Total	65,27	39			

$a^*$ (Teor Vermelho)					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	-0,468	0,947	-0,494	0,625	
Tratamento – Controle	-1,735	2,118	-0,819	0,418	
Cloro – Ozônio	0,068	0,947	0,071	0,944	

$b^*$ (Teor amarelo)					
FV	SQ	GL	QM	F	P-valor
Tratamentos	7,38	4	1,85	4,76	0,0036
Resíduo	13,57	35	0,39		
Total	20,95	39			

$b^*$ (Teor amarelo)					
Contrastes	Valor	EP	T	P-valor	
Sem US – US	0,300	0,440	0,681	0,500	
Tratamento – Controle	1,215	0,984	1,234	0,225	
Cloro – Ozônio	-0,047	0,440	-0,108	0,915	