



**Faculdade de Ciências do Mar e do Ambiente
Licenciatura em Biologia Marinha e Pescas
Tecnologia e Controlo de Qualidade dos Produtos da Pesca
2005/2006**

Evolução do grau de frescura de pescado fresco – análise sensorial através da tabela de frescura da UE e QIM e determinação da concentração de azoto básico volátil total (ABVT), azoto de trimetilamina (ATMA) e índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) na sardinha (*Sardina pilchardus*)

Elaborado por:

Gonçalo Graça nº 23780
Joana Pereira nº 24140
Manuel Olejua nº 23448
Nuno Domingues nº 24178
Ano: 4º TurmaB

1. Introdução

1.1. Alterações do pescado fresco

Na avaliação da qualidade do pescado, o grau de frescura constitui o factor com maior relevância. Os produtos de pesca são muito perecíveis em comparação com outros produtos de origem animal, devido às suas características intrínsecas (elevada concentração de água, baixo teor de tecido conjuntivo, tipo de proteínas, flora bacteriana de natureza psicrofíla, elevado teor de lípidos em algumas espécies) e às características do seu habitat natural (Nunes, 2004). Estas características são responsáveis por um conjunto de alterações que rapidamente contribuem na desvalorização e rejeição dos produtos de pesca. Estas alterações podem ser divididas em diferentes tipos: sensoriais, autolíticas, bacteriológicas e oxidação ou hidrólise de lípidos (Huss, 1995).

As primeiras alterações sensoriais, i.e., alterações percebidas através dos órgãos dos sentidos, estão relacionadas com a aparência e textura. O sabor característico da espécie vai ser desenvolvido durante os dois primeiros dias de armazenagem em gelo.

O *rigor mortis* constitui a alteração mais dramática, a qual se manifesta através do grau de contracção muscular. Após a morte, durante algumas horas, o músculo encontra-se relaxado e apresenta uma textura flexível e elástica, o qual devido ao ataque do *rigor mortis* passa para um estado de contracção que pode durar um ou mais dias. Após a resolução do rigor o músculo recupera a flexibilidade mas não a elasticidade (Huss, 1995).

As alterações autolíticas como o nome indica resultam da auto-digestão dos produtos de pesca devido à acção conjunta de enzimas e bactérias. Em algumas espécies a acção bacteriana é mais relevante, enquanto que em outras espécies é a acção enzimática.

No momento da morte o transporte de oxigénio para o músculo, através do sangue, é interrompido e a produção de energia através dos nutrientes ingeridos cessa. Embora em condições de anaerobiose o ATP possa ser sintetizado a partir da creatina fosfato e da arginina fosfato, a sua síntese termina quando a creatina e a arginina esgotarem. Portanto a glicolise constitui a única via de síntese de ATP em condições de anaerobiose. Esta vai produzir ácido láctico e ácido pirúvico como produtos finais e diminuir o valor do pH consequentemente. Mediante esta via são produzidas 2 moles de

ATP por cada mol de glucose, enquanto em condições de aerobiose são produzidas 36 moles.

A diminuição do pH leva à alteração das propriedades físicas do músculo, desnaturando as proteínas e aumentando a sua hidrofobicidade. Desta forma os níveis de ATP (7-10 $\mu\text{mol/g}$) não podem ser mantidos no organismo morto, dando origem ao *rigor mortis* quando a concentração de ATP for inferior 1 $\mu\text{mol/g}$.

No estudo das alterações autolíticas que envolvem enzimas proteolíticas, têm sido analisadas muitas proteases. Entre estas as mais descritas são as catepsinas, que têm sido descritas como as responsáveis pelo amolecimento do músculo e que existem nos lisossomas mas são libertadas devido a algum abuso físico. Outro grupo de proteases é conhecido por calpaínas, as quais estão associadas à autólise do músculo. Estas enzimas, mais activas a baixas temperaturas, digerem as proteínas da linha Z das miofibrilas, degradando a miosina (Muramoto *et al.*, 1989 in Huss, 1995). As collagenases são outro grupo de enzimas responsáveis pela ruptura e separação dos miómeros.

As alterações bacteriológicas são um outro grupo de alterações no peixe fresco, devida aos microorganismos existentes no corpo do peixe. Os microorganismos são encontrados na superfície externa, pele e brânquias, e no tracto digestivo. A constituição da flora bacteriana depende principalmente do lugar de captura do peixe, sendo este menor em ambientes frios e menos poluídos (Huss, 1995).

O músculo do peixe enquanto este estiver vivo e saudável é estéril, devido à acção do sistema imunológico. A morte do peixe implica o colapso do sistema imunológico e ocorre a invasão do músculo pelas bactérias. Após a invasão o crescimento bacteriano é do tipo exponencial, no entanto nos peixes tropicais ocorre uma fase de latência. A composição bacteriana não é constante, visto que esta tende a mudar ao longo do tempo e com a temperatura de armazenagem.

A maior parte dos compostos voláteis são produzidos por bactérias (Shewan, 1962), tais como a trimetilamina, compostos azotados voláteis, aldeídos, cetonas, ésteres, hipoxantina e outros compostos de baixo peso molecular. Os substratos usados para a produção de voláteis são os hidratos de carbono, nucleótidos e moléculas de azoto não proteico. Os aminoácidos são importantes para a formação de sulfitos e amoníaco.

O crescimento de bactérias consumidoras de oxigénio ocasiona a formação de nichos anaeróbicos no peixe. Muitas das bactérias responsáveis pela decomposição

utilizam o OTMA como receptor final de electrões durante a respiração anaeróbia. Como consequência é formada trimetilamina (TMA), um dos compostos dominantes no peixe deteriorado e responsável pelo odor típico do peixe. O cheiro característico dos compostos azotados voláteis é forte e desagradável, podendo ser detectado ao nível dos ppb, influenciando a qualidade inclusive nestas baixas concentrações.

Outro tipo de alterações no peixe fresco é devido a reacções de oxidação e hidrólise de lípidos. Estas reacções alteram a textura do músculo devido a formação de ligações covalentes das proteínas, e produzem uma série de substâncias de sabor e cheiro desagradável. Estas reacções podem ser enzimáticas ou catalizadas por enzimas microbianas, intracelulares ou digestivas.

O peixe é altamente afectado pela oxidação devido à elevada quantidade de ácidos gordos polinsaturados. A reacção ocorre devido à perda de um átomo de hidrogénio. Este radical lipídico reage rapidamente com o oxigénio dando origem a um radical peróxido. Estes hidroperóxidos são compostos muito instáveis e vão continuar a sua divisão dando origem a produtos secundários, cadeias carbonatadas mais curtas como aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos carboxílicos e alcanos. Estes compostos geram por sua vez um extenso espectro de odores e por vezes são responsáveis pela cor amarelada. Alguns destes aldeídos (como o aldeído malónico) podem ser determinados como substâncias reactivas ao ácido tiobarbitúrico.

A hidrólise dos lípidos ocorre devido a acção da triglicil lipase sobre os triacilgliceróis dando origem a diglicéridos, monoglicéridos e ácidos gordos livres.

1.2. Principais métodos para avaliação da qualidade do pescado fresco

Os métodos para a avaliação da qualidade do pescado fresco podem ser divididos em métodos sensoriais e métodos instrumentais. Os métodos instrumentais dividem-se por sua vez em métodos microbiológicos, físicos, químicos e bioquímicos (Huss, 1995). A avaliação sensorial analisa e interpreta as características dos produtos de pesca captadas através dos sentidos. Estes métodos sensoriais destacam-se pela facilidade e rapidez com que podem ser efectuados. No entanto podem existir diferenças entre as respostas aos diferentes estímulos por parte dos avaliadores, conduzindo a uma resposta não definitiva.

Neste sentido foi proposto o regulamento comunitário 24/06/96 de 26 de Novembro da União Europeia. Este inclui métodos de avaliação para peixes brancos,

azuis, elasmobrânquios, cefalópodes e crustáceos. Actualmente na comunidade Europeia este é o método mais utilizado, tanto pela indústria pesqueira como pelo serviço de inspecção (Nunes, 2004).

Este método apresenta três níveis de qualidade (E, A, B), no qual E corresponde à maior qualidade e B à menor. Valores obtidos abaixo de B implicam que o produto não é apto para o consumo humano (Huss, 1995).

Este regulamento contém normas de comercialização para mais de 40 espécies, no entanto exclui algumas das espécies comercializadas nas lotas portuguesas. Segundo avaliadores de diferentes países, as características descritas ou descritores utilizados neste método não permitem descrever convenientemente as alterações que ocorrem no pescado (Nunes, 2004).

Para ultrapassar estes inconvenientes, têm sido desenvolvidos novos métodos, como por exemplo o método do índice de qualidade (QIM), desenvolvido pela unidade de alimentos de Tasmânia. Este método é baseado nos atributos sensoriais mais significativos do peixe fresco, em que para cada um dos atributos é seleccionado um conjunto de 2 a 4 descritores que reflectem as alterações do pescado. A análise é feita com base num sistema de pontuação por demérito de 0 a 30.

Uma das vantagens deste método é o facto de cada atributo poder ter entre dois a quatro descritores. Estes descritores são por sua vez inequívocos, claros e breves de maneira a tornar a avaliação mais objectiva. Os descritores correspondentes ao estado de maior frescura são cotados com 0, sendo atribuída uma maior cotação quanto maior for o grau de decomposição.

Através deste método, determina-se uma correlação linear entre a qualidade sensorial e a duração do pescado em gelo, o que torna este método capaz de prever o tempo de conservação residual. Portanto não segue o padrão sigmóide tradicional de deterioração do pescado armazenado em gelo, dividido em quatro fases.

A utilização deste método permite fazer uma avaliação quantitativa da qualidade do pescado fresco. Desta forma podem ser estabelecidos limites de tolerância dos níveis químicos de deterioração. Desta forma as opiniões pessoais em relação à qualidade do produto ficam excluídas.

Enquanto os métodos sensoriais são indicados para avaliar produtos de muito boa ou muito má qualidade, os métodos bioquímicos e químicos podem ser utilizados para resolver dúvidas em relação ao estado da qualidade nos estados intermédios. Estes

métodos têm vindo também a substituir os métodos bacteriológicos, mais dispendiosos e demorados.

A determinação do azoto básico volátil total (ABVT), é um dos métodos mais usados na avaliação da qualidade do pescado. Este método mede a trimetilamina (produzida pela deterioração bacteriana), a dimetilamina (produzida por enzimas autolíticas durante a armazenagem em gelo), amoníaco (produzido por desaminação de aminoácidos), catabolitos de nucleótidos e outros compostos azotados básicos voláteis associados com a decomposição dos produtos de pesca. No entanto é apropriado para medir estados de deterioração avançados (Huss, 1995). Em Portugal a determinação do teor de azoto básico volátil total, é feita segundo a Norma Portuguesa 2930 de 1988, segundo o método de Conway.

Outro método muito usado mede a rancidez produzida pela oxidação lipídica. Este método do índice de TBA, mede a quantidade de aldeído malónico, expressa em miligramas, por 1000 gramas de produto. Durante os estados mais avançados da oxidação, a concentração dos produtos secundários aumenta. Alguns destes produtos reagem com o ácido tiobarbitúrico, formando um composto de cor vermelha que pode ser determinado através de espectrofotometria. Desta forma é possível medir a quantidade de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (Huss, 1995). Em Portugal a determinação do índice de ácido tiobarbitúrico é feita segundo a Norma Portuguesa 3356 de 1990.

2. Material e métodos

2.1. Análise sensorial

Foram colocadas várias sardinhas em gelo durante 4 dias, com o objectivo de serem analisadas para avaliar a evolução do estado de frescura. Realizou-se uma observação por dia, e utilizaram-se dois critérios de avaliação para o efeito: o índice de qualidade (QIM) e a tabela de frescura da União Europeia para peixes azuis.

2.2. Determinação do teor de azoto básico volátil total (ABVT) e do azoto de trimetilamina (ATMA) - Método de Conway

Para a determinação do azoto básico volátil total seguiu-se o procedimento indicado pela Norma Portuguesa 2930, de 1988. Mediu-se também o teor de ATMA e tirou-se conclusões sobre os resultados obtidos. Mediu-se o teor de ABVT e ATMA

de extractos de sardinha preparados após os vários dias de armazenagem em gelo (12, 36, 60 e 84 horas). Traçou-se uma curva de calibração com os resultados obtidos.

2.3. Determinação do índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) - Método espectrofotométrico

Para a determinação do índice de ácido tiobarbitúrico seguiu-se o procedimento indicado pela Norma Portuguesa 3356, de 1990. Mediu-se o índice de TBA de extractos de sardinha preparados após os vários dias de armazenagem em gelo (12, 36, 60 e 84 horas). Traçou-se uma curva de calibração com os resultados obtidos.

3. Resultados

3.1. Análise sensorial

3.1.1. Tabela de frescura da UE

A figura 1 representa a classificação em categorias de frescura de acordo com os critérios estabelecidos pelo regulamento (CE) n.º 2406/96 do Conselho de 26 de Novembro de 1996 relativo à fixação de normas comuns de comercialização para certos produtos da pesca, nomeadamente o grupo dos Peixes Azuis, onde se encontra a sardinha.

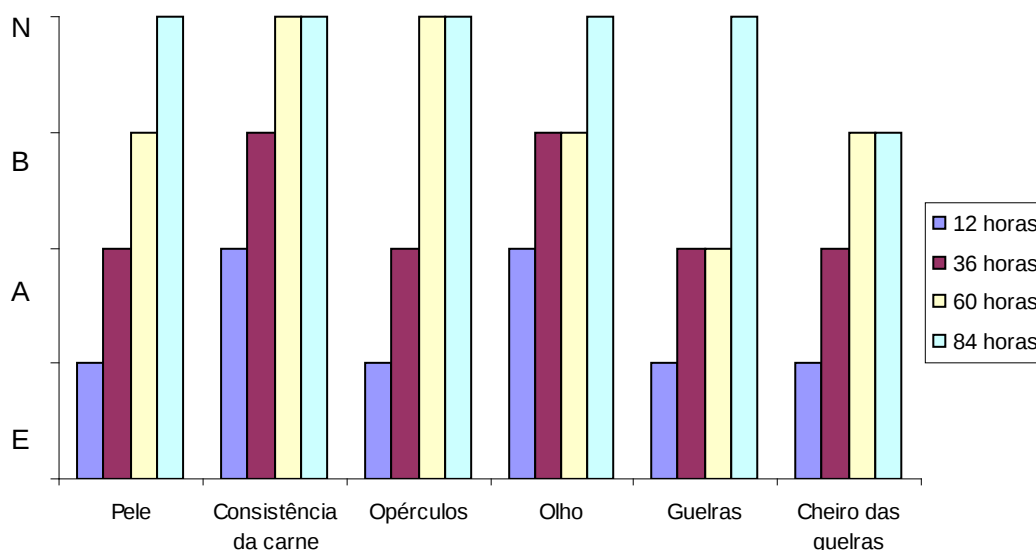


Figura 1 – Gráfico da classificação da frescura para Peixes Azuis segundo o regulamento (CE) n.º 2406/96 do Conselho de 26 de Novembro de 1996 ao longo do tempo ; E (extra), A e B são a categoria da frescura, N (não admitido).

É possível observar que ocorrem mudanças que reflectem a diminuição do grau de frescura, sendo estas mais acentuadas em determinados parâmetros, tais como o

estado dos opérculos, dos olhos e a consistência da carne. Através deste método as amostras deixam de ser admitidas após 60 horas com base na consistência da carne e aspecto dos opérculos.

3.1.2. QIM

A figura 2 representa o sistema de avaliação do índice de frescura para a sardinha (QIM). Este método aplica duas partes, uma avaliação do aspecto exterior e outra mais completa que inclui o estado da carne e da espinha. A avaliação foi feita com base no aspecto exterior, sendo atribuída uma pontuação mais elevada consoante a perda de frescura numa escala de 0 a 25, equivalendo este 25 à cotação máxima possível. Está representada também a recta de regressão estimada para o tempo de armazenagem em gelo em função dos pontos de demérito para as três sardinhas da amostra.

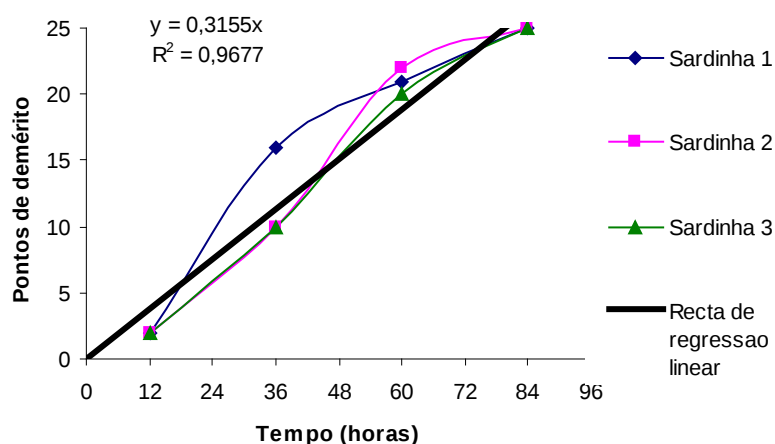


Figura 2 – Gráfico da evolução temporal da pontuação total da avaliação QIM da frescura da sardinha.

Como se pode ver pelo gráfico, entre os exemplares da amostra, a evolução da qualidade é diferente entre as amostras mas passadas 84 horas as três amostras de sardinha atingiram a pontuação máxima, ou seja, são rejeitadas, estando já impróprias para consumo.

A equação obtida para a regressão linear feita com a média das três sardinhas, com um $r^2 = 0,9677$, foi $Y=0,3155x$ em que y corresponde aos pontos de demérito e x ao tempo em horas.

3.2. Teor de ABVT e ATMA

A figura 3 representa o gráfico do teor de ABVT e ATMA calculados para a sardinha, ao longo das 84 horas.

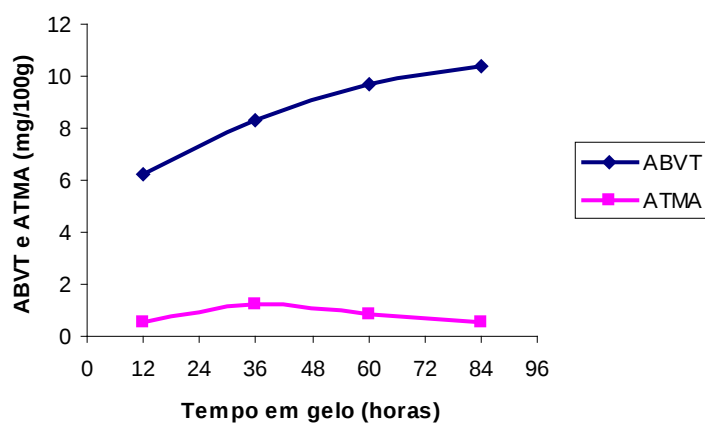


Figura 3 – Gráfico da evolução temporal do teor de ABVT e ATMA na sardinha.

O teor de ABVT aumenta ao longo do tempo enquanto, apresentando uma correlação aparentemente logarítmica enquanto o ATMA aumenta até às 36 horas e depois diminui, não se observando uma tendência.

3.3. Índice de TBA

A figura 4 representa o índice de TBA ao longo do tempo para a sardinha.

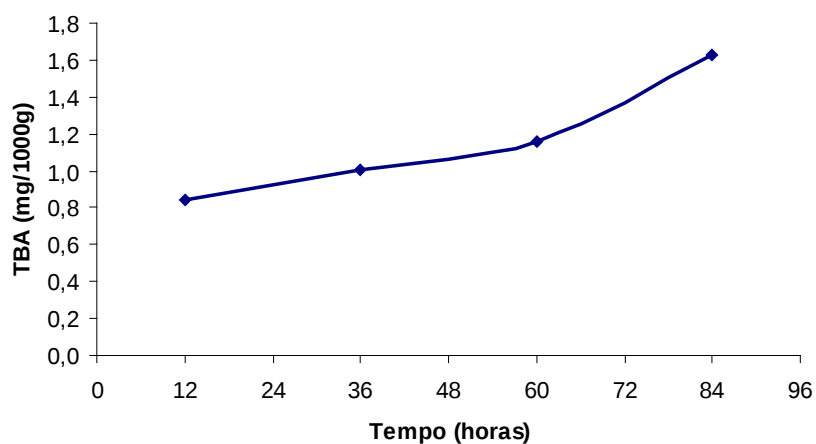


Figura 4 – Gráfico da evolução temporal do índice de TBA.

O índice de TBA aumenta ao longo do tempo mas há um aumento mais acentuado a partir das 60 horas. O do índice de TBA aumentou de 0,8 para 1,6, das 12 até às 84 horas

4. Discussão

No método da UE há a vantagem de não ser necessário abrir a amostra, ser um procedimento relativamente rápido, no entanto não é uma método específico para cada espécie, ao contrário do QIM. No método da UE as alterações que ocorrem no peixe não são descritas objectivamente, sendo por vezes confuso classificar a qualidade do peixe, enquanto no QIM as características dos parâmetros são mais objectivas, utilizando-se apenas uma ou duas palavras. No método da UE, a partir do momento em que uma das características é classificada como não admitida, há rejeição do produto enquanto no QIM a rejeição é feita com base na soma de todos os parâmetros, podendo a pontuação total variar de espécie para espécie, de acordo com a esquema QIM definida para a espécie. A vantagem principal do QIM reside no facto de poder ser adquirida uma correlação linear entre o tempo de conservação e a pontuação por demérito. Esta permite obter uma função capaz de determinar o tempo de conservação residual. Dado que o tempo de conservação total corresponde ao tempo em que a cotação é máxima.

Através da análise dos dois métodos (figura 1 e 2) o tempo de conservação máximo para a sardinha foi diferente. Através do método da UE a sardinha é rejeitada após as 60 horas enquanto através do método do índice de qualidade o tempo máximo de conservação atingido foi de 79,3 horas. A função obtida pela regressão linear permite-nos calcular o tempo de conservação residual para uma sardinha cuja data de captura seja desconhecida.

De acordo com Connell (1989) deparando os valores de ABVT com os de ATMA era suposto esperar um aumento paralelo, uma vez que a TMA é um dos constituintes das aminas básicas voláteis totais, no entanto os resultados por nós obtidos não apresentam esse comportamento. Ainda de acordo com Connell (1989) o teor da ABVT e ATMA não deve ser utilizado para calcular o grau de frescura na fase inicial de armazenagem, uma vez que a variação é dificilmente observada nesta fase, não sendo isto observado no aumento da concentração obtido na nossa análise. Tanto no primeiro caso como no segundo as divergências que ocorreram entre a nossa análise e as referências bibliográficas parecem indicar a existência de erros na nossa experiência. No entanto como era de esperar o valor de ABVT foi maior, e apresentou um crescimento

aparentemente logarítmico do que o ATMA, razão pela qual este método é frequentemente utilizado e preferido ao valor do ATMA, para determinar o grau de frescura.

Em relação ao índice de TBA, o maior aumento ocorreu após as 60 horas atingindo um máximo de 1,6 às 84 horas, segundo a Directiva 91/493 (valor não legislado mas aceite como limite) um peixe considera-se impróprio para consumo a partir de índices de TBA iguais ou superiores a 4,0 mg/1000g. De acordo com os nossos resultados a sardinha não foi rejeitada quando baseados nos valores do índice de TBA.

Por último, fazendo uma comparação entre os métodos utilizados, a análise sensorial (método da UE e QIM) e a análise química (ABVT, ATMA e TBA) concluímos que os métodos sensoriais se destacam pela rapidez embora possam existir divergências nas respostas aos estímulos por parte dos avaliadores. Os métodos sensoriais permitem fazer uma avaliação qualitativa em contraste com os métodos químicos que permitem uma avaliação quantitativa. A medição das concentrações do ABVT, TBA e ATMA, e o estabelecimento de limites para estas concentrações pode ser feita para avaliar a qualidade do pescado, avaliação essa, independente do observador.

Embora a sardinha seja um peixe gordo, em que se espera uma elevada taxa de oxidação dos lípidos, a baixa concentração obtida nos resultados (figura 4) revelam a importância da armazenagem em gelo nesta espécie.

5. Conclusões

Dentro da análise sensorial o QIM foi considerado o melhor método, pois é mais objectivo e permite estimar o tempo residual de armazenagem em gelo através de uma recta de regressão e é específico.

Apesar dos métodos químicos serem mais fiáveis, no caso presente a rejeição com base nos métodos sensoriais não corresponde à rejeição com base em métodos químicos.

O azoto de trimetilamina não mostra o grau de deterioração do peixe, sendo melhor o ABVT, o qual mostra uma correlação do tempo de armazenagem em Portugal.

No caso do TBA a sua concentração não foi considerada um bom avaliador da qualidade uma vez que os valores não ultrapassaram o valor limite estabelecido.

6. Referências bibliográficas

Connell, J.J. (1989); *Quality Control in the Fish Industry*; Ministério da Agricultura, Pescas e Alimentação; Estação de Investigação Torry; Aberdeen

Decision de la comision de 16 de agosto de 2001 *Por la que se Establecen Disposiciones Especiales para la Importación de Productos de la Pesca Procedentes de Uganda*; Diario oficial de las comunidades europeas

Huss, H.H. (1995) *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*, FAO Fisheries Technical Paper- 348, Ministério da Agricultura e Pescas, Dinamarca

Norma Portuguesa 2930 (1988) *Determinação do Teor de Azoto Básico Volátil Total. Método de Conway*. Instituto Português da Qualidade.

Norma Portuguesa 3356 (1990) *Determinação do Índice de Ácido Tiobarbitúrico (T.B.A). Método espectrofotométrico*. Instituto Português da Qualidade.

Nunes, M.L. Batista, I., (2004) Aplicação do Índice de Qualidade (QIM) na Avaliação da Frescura do Pescado, *Divulgação IPIMAR*, **29**: