



*Universidade dos Açores*  
*Departamento de Oceanografia e Pescas*

*Relatório de Estágio da Licenciatura em Biologia Marinha*



**Factores que Afectam a Qualidade dos Produtos de Aquacultura:**  
Efeito da dieta na qualidade final de dourada (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758 )

Estágio realizado em:



Unidade de Valorização dos Produtos da Pesca e Aquicultura (U-VPPA)  
IPIMAR

*Orientação: Dr.ª Amparo Gonçalves*  
*Supervisão: Doutor Mário Rui Pinho*

*Ana Filipa Dias de Sousa*

Horta, Dezembro de 2008.

*“Não é o mais forte que sobrevive,  
nem o mais inteligente,  
mas o que melhor se adapta às mudanças.”*

*Charles Darwin*

*Imagem da capa: FAO (2008).*

## Índice

---

Índice de figuras	iv
Índice de tabelas	v
Resumo	vi
Abstract	vii
1. Introdução	1
1.1. Aspectos gerais sobre produtos da pesca e aquacultura	1
1.2. Aspectos sobre a pesca e aquacultura de dourada	2
1.3. Características morfológicas e biológicas da dourada	5
1.4. Composição química do pescado	6
1.4.1. Água (humidade)	6
1.4.2. Lípidos	7
1.4.3. Proteínas	7
1.4.4. Azoto não proteico	8
1.4.5. Hidratos de carbono	8
1.4.6. Vitaminas e sais minerais	8
1.5. Efeito da dieta na qualidade final do pescado	9
1.6. Alterações da qualidade do pescado	9
1.6.1. Qualidade e grau de frescura do pescado	9
1.6.2. Evolução do músculo após a captura	11
1.6.3. Alterações sensoriais	12
1.6.4. Alterações bioquímicas	13
1.6.4.1. Oxidação lipídica	13
1.6.4.2. Desnaturação proteica	16
1.7. Alguns métodos para avaliação da qualidade do pescado	17
1.7.1. Análise sensorial	17
1.7.2. Medição de cor	17
1.7.3. Índice do ácido tiobarbitúrico	18
1.8. Conservação de pescado através da sua congelação	19
1.9. Objectivo	20

2. Material e métodos	21
2.1. Material	21
2.2. Métodos	22
2.1.2. Avaliação sensorial	22
2.2.2. Medição de cor	23
2.2.3. Análises bioquímicas	24
2.2.3.1. Preparação da amostra	24
2.2.3.2. Determinação do teor de humidade	24
2.2.3.3. Determinação do teor de cinza	25
2.2.3.4. Determinação do teor em proteína bruta	25
2.2.3.5. Determinação do teor em gordura	26
2.2.3.6. Determinação do teor em azoto não proteico	28
2.2.3.7. Determinação do grau de oxidação lipídica	28
2.2.3.8. Determinação do teor em proteína solúvel	30
2.2.3.9. Análise estatística	30
3. Resultados	31
3.1. Composição química dos filetes de dourada	31
3.2. Avaliação da qualidade de filetes de dourada	33
3.2.1. Análise sensorial	33
3.2.1.1. Cheiro	33
3.2.1.2. Aspecto	34
3.2.1.3. Sabor	35
3.2.1.4. Textura	36
3.2.1.5. Apreciação global	37
3.2.2. Análise do ácido tiobarbitúrico	38
3.2.3. Azoto não proteico	39
3.2.4. Proteína solúvel	40
3.2.5. Medição de cor	41
4. Discussão	44
4.1. Composição química dos filetes de dourada	44

4.2. Avaliação da qualidade dos filetes de dourada	46
4.2.1. Análise sensorial	46
4.2.2. Análise do índice do ácido tiobarbiturico	47
4.2.3. Azoto não proteico	48
4.2.4. Proteína solúvel	48
4.2.5. Medição de cor	49
5. Conclusões	51
6. Agradecimentos	53
7. Referências bibliográficas	55

## Índice de figuras

---

<b>Figura 1.1.</b> Evolução do peso dos desembarques em Portugal no período entre 1999 e 2007	1
<b>Figura 1.2.</b> Esquema representativo do ciclo de vida no cultivo de dourada, <i>S. aurata</i> , em regime extensivo	3
<b>Figura 1.3.</b> Esquema representativo do ciclo de vida no cultivo de dourada, <i>S. aurata</i> , em regime extensivo	4
<b>Figura 1.4.</b> Principais países produtores de dourada, <i>S. aurata</i> .	4
<b>Figura 1.5:</b> a) Caracteres distintivos da dourada, <i>S. aurata</i> .; b) Maxilar com dentes de <i>S. aurata</i>	5
<b>Figura 1.6:</b> Atributos da qualidade e a sua relação com a frescura em pescado	10
<b>Figura 1.7.</b> Alterações da qualidade do peixe conservado em refrigerado	12
<b>Figura 1.8.</b> Oxidação dos ácidos gordos	14
<b>Figura 1.9.</b> Diagrama tridimensional do espaço de cor utilizado no sistema* CIELAB ( $L^*$ , $a^*$ , $b$ )	18
<b>Figura 2.1.</b> a) Sala de análise sensorial da U-VPPA, IPIMAR; b) Gabinete de análise sensorial	22
<b>Figura 2.2.</b> Esquema representativo da escala linear não estruturada usada na de avaliação sensorial	23
<b>Figura 2.3.</b> a) Espectrocolorímetro triestímulo Macbeth Color-Eye 3000; b) Locais onde se efectuaram as medições nos filetes	24
<b>Figura 2.4.</b> a) Unidade de digestão; b) Unidade de destilação e titulação	26
<b>Figura 2.5.</b> Unidade de extracção de gordura	27
<b>Figura 3.1.</b> Pontuação para o “cheiro a ranço” para os filetes de dourada alimentados com as três diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses	33
<b>Figura 3.2.</b> Pontuação para os vários descritores do atributo “aspecto” para os filetes de dourada alimentada com as três diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses	34
<b>Figura 3.3.</b> Pontuação para o descritor “sabor a ranço” para os filetes de dourada alimentada com as três diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses	35
<b>Figura 3.4.</b> Pontuação para o atributo “textura” para os filetes de dourada alimentada com as tres diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses	36
<b>Figura 3.5.</b> Pontuação para o descritor “apreciação global para os filetes de dourada alimentada com as três diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses	38
<b>Figura 3.6.</b> Variação do índice do ácido tiobarbitúrico nos filetes de dourada alimentada com as três diferentes rações (FM, PP e VO), durante o	39

período de congelação de 3 e 7 meses

<b>Figura 3.7.</b> Variação da razão proteína solúvel/proteína bruta para os filetes alimentados com as três diferentes rações (FM, PP e VO), ao fim de 3 e 7 meses de congelação	40
---	----

## Índice de tabelas

---

<b>Tabela II.1.</b> Composição das rações utilizadas na alimentação das douradas	21
<b>Tabela III.1</b> Composição química dos filetes de dourada de indivíduos alimentados com três dietas diferentes (PP, FM e VO), após 3 e 7 meses de congelação	31
<b>Tabela. III.2.</b> Teor (%) de NPN dos filetes alimentados com as três diferentes rações (FM, PP e VO), ao fim de 3 e 7 meses de congelação	40
<b>Tabela III.3.</b> Resultados da medição de cor nos filetes de dourada alimentados com as três diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante três e sete meses	41

## Resumo

---

Portugal, devido à sua localização geográfica privilegiada, sob influência do Oceano Atlântico e do Mar Mediterrâneo, possui um enorme potencial para a aquacultura. A dourada (*Sparus aurata*), apresentando características biológicas favoráveis e um elevado valor comercial, encontra-se numa posição relevante na piscicultura marinha.

Nos últimos anos tem-se vindo agravar o problema do elevado custo das rações utilizadas em aquacultura, devido à sua composição rica em farinhas e óleos de peixe. Com o objectivo de baixar o preço da ração tem-se vindo a estudar a substituição desses elementos por outros equivalentes mas de origem vegetal.

Neste trabalho pretendeu-se estudar o efeito da substituição da farinha e óleo de peixe por proteína e óleo vegetal na qualidade final de dourada congelada. Assim foi estudada a composição química do músculo e avaliadas várias propriedades sensoriais, bem como o Índice de ácido tiobarbitúrico (determinação do grau de oxidação lipídica) e a solubilidade proteica (determinação da degradação proteica), com intuito de verificar as possíveis alterações no músculo do peixe devido ao armazenamento em congelado.

Verificou-se que a dieta apenas exerceu uma influência significativa no teor de gordura bruta do músculo e em alguns parâmetros da cor ( $b^*$ ,  $L^*$ , croma e brancura), enquanto que as propriedades sensoriais do músculo permaneceram inalteradas, tal como a solubilidade proteica e a oxidação lipídica.

O tempo de congelação foi um factor com grande influência nas alterações significativas que ocorreram nas propriedades sensoriais dos filetes e nos resultados da medição de cor.

Concluiu-se que é possível a substituição de óleos e farinhas de peixe por proteína e óleo vegetal, e que o armazenamento de filetes de dourada em congelado, apesar de possível, não se deve prolongar por muito tempo.

**Palavras-chave:** *Sparus aurata*, dieta, qualidade, congelação, propriedades sensoriais.

## Abstract

---

Due to its geographical location, under the influence of the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea, Portugal has a good potential for aquaculture.

The gilthead sea bream (*Sparus aurata*), which presents biological characteristics and a high commercial value, has an important position in marine aquaculture.

In recent years the cost of feed used in aquaculture, increased due to its rich composition in fishmeal and fish oil. The number of studies of replacement of these items to another of vegetable source, with the aim of lowering the price of bait, has been increased.

This work aimed to study the effect of the replacement of fishmeal and fish oil for vegetable oil and protein in the final quality of frozen gilthead sea bream. Thus, the chemical composition of muscle was determined and several sensory properties evaluated. The thiobarbituric acid index (determining the level of lipid oxidation) and protein solubility (determination of protein degradation) were measured in order to study the effect of frozen storage in the fish muscle.

The composition of the diet had a significant influence on crude fat content of muscle and on  $b^*$ ,  $L^*$ , chroma and whiteness colour parameters. On the other hand, the sensory properties of fish muscle remained unaffected, as well as the protein solubility and lipid oxidation.

The frozen time had a great influence on the changes that occurred in the sensory properties and in colour of the fillets.

We concluded that it is possible to replace oil and fish meal for protein and vegetable oil, and that a frozen storage of gilthead sea bream's fillets is possible but wouldn't to be continue for a long time.

**Key-words:** *Sparus aurata*, diet, quality, frozen storage, sensory properties.

## 1. Introdução

---

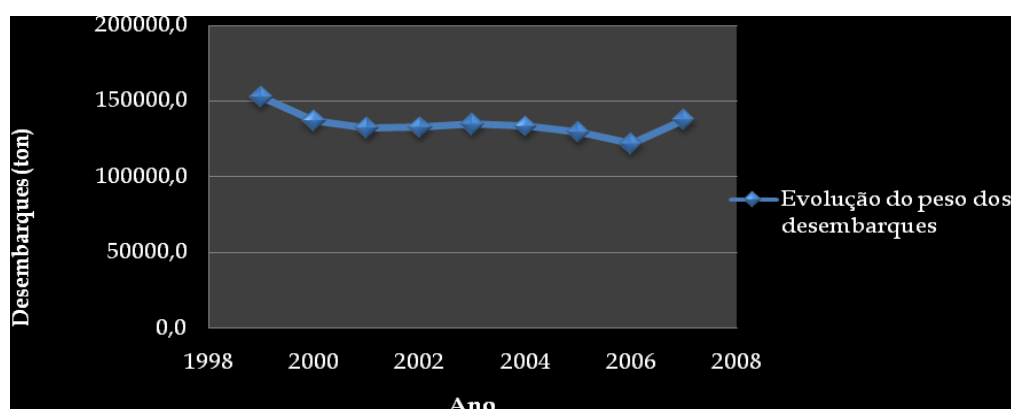
### 1.1. Aspectos gerais sobre produtos da pesca e aquacultura

---

Estima-se que a nível mundial, no período entre 2001 e 2003, a pesca tenha contribuído com aproximadamente 132 milhões de toneladas (peso vivo) de alimentos e que o consumo *per capita* seja de 16,4 kg/ano (peso vivo) (FAO, 2007).

No nosso país, os produtos da pesca e aquacultura têm uma enorme importância, uma vez que é o país da União Europeia (UE) que consome mais pescado, atingindo um consumo *per capita* de aproximadamente 57,1 kg/habitante/ano. Estima-se que numa dieta proteica de origem animal, 25 % tenha a sua origem em pescado. No período de 1994-1995, em média as famílias portuguesas gastaram em produtos da pesca 14 % do total das suas despesas em alimentação e bebidas (DGPA, 2007).

Em Portugal continental, os desembarques (peso vivo em ton) têm vindo a decrescer desde o ano de 1999 (152 833,5 ton) até 2007 (137 822,7 ton), tendo-se apenas verificado um ligeiro aumento no peso dos desembarques em 2003 (134 986,0 ton e 2007 (137 822,7 ton) relativamente aos respectivos anos anteriores (figura 1.1) (DGPA, 1999 - 2007).



**Fig. 1.1.** Evolução do peso dos desembarques em Portugal continental no período de 1999 e 2007. (Baseado nas estatísticas anuais, DGPA, 1999-2007).

São capturados anualmente, em todo o mundo, entre 91,44 e 101,6 milhões de toneladas de peixes e invertebrados marinhos (Sikorski *et al.*, 1994 *fide* Shahidi, 1997). A

sobrepesca tem causado a rotura de stocks de algumas espécies pelo que têm vindo a ser implementadas algumas estratégias de conservação (Shahidi, 1997).

Define-se “aquacultura” ou “aquiicultura” como o cultivo de animais (nos quais se incluem moluscos, crustáceos) e plantas aquáticas, o que requer algum tipo de intervenção no processo de criação, de forma a melhorar a protecção em relação a predadores (Vaz-Pires *et al.*, 2005). Este método de cultivo tem como principal objectivo a produção de proteína de origem animal para consumo humano (Diniz, 1998).

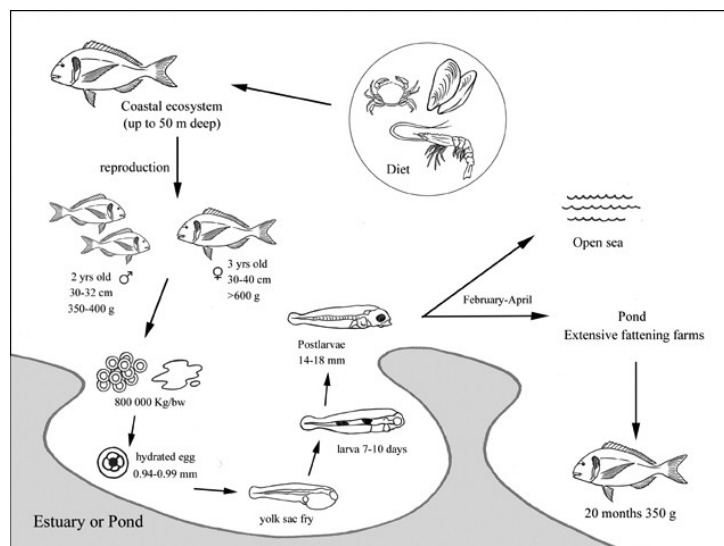
Apesar de apresentar, ainda, um papel modesto, a aquacultura é uma importante alternativa às formas tradicionais de abastecimento de pescado, representando cerca de 5% da quantidade de pescado fresco capturado e descarregado no continente português e cerca de 16% do seu valor económico. Em Portugal, a aquacultura marinha foi caracterizada inicialmente pela predominância de empresas familiares em regime extensivo, tendo vindo a evoluir para unidades em regime semi-intensivo e intensivo, e em alguns casos em empresas de maiores dimensões inclusive com interesse internacional (DGPA, 2007).

Devido à sua localização geográfica, Portugal, encontrando-se sob influência do Mar Mediterrâneo e do Oceano Atlântico, mostra um grande potencial para a actividade aquícola e para o desenvolvimento da cultura de novas espécies com interesse comercial (Diniz, 1998). No nosso país, a aquacultura é baseada em cultura em águas continentais, sobressaindo a cultura de truta arco-íris, e na cultura em águas oceânicas onde predomina a cultura de robalo, dourada e amêijoia (DGPA, 2007).

## 1.2. Aspectos sobre a pesca e aquacultura de dourada

---

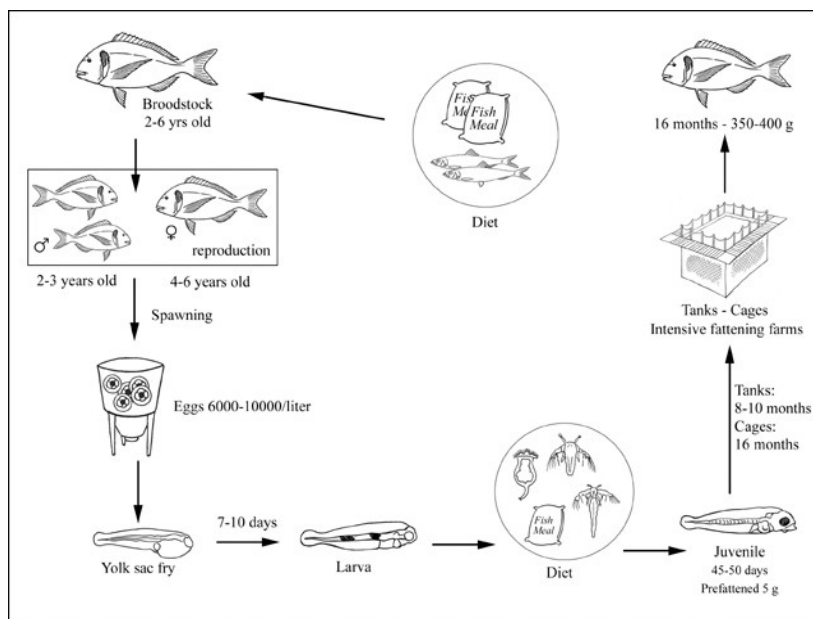
Devido às suas características biológicas e elevado valor comercial, a dourada ocupa um lugar relevante quer na pesca quer na piscicultura marinha. Esta importância deve-se também ao facto de ser possível o controlo de todo o seu ciclo de vida em cativeiro associado a elevadas taxas de crescimento e à resistência às condições ambientais e de cultura (Ardizzone *et al.*, 1988 *fide* Santinha, 1998). Em cativeiro esta espécie pode ser mantida em regime extensivo, semi-intensivo ou intensivo. No regime extensivo (figura 1.2) o cultivo dos animais é realizado em lagoas terrestres, sendo o repovoamento feito por juvenis que entram com as marés pelas comportas. O alimento é resultado da produtividade natural do meio, podendo ser complementado com outro tipo de alimento (Santinha, 1998).



**Fig. 1.2.** Esquema representativo do ciclo de vida no cultivo de dourada, *S. aurata*, em regime extensivo. Fonte: FAO, 2008.

O sistema semi-intensivo caracteriza-se por ser feito em tanques de terra-batida com dimensões apropriadas (0,5 a 1 ha), construídos especificamente para fins de cultivo. Toda a produção é planejada, sendo adquiridos os juvenis de acordo com a capacidade de suporte do meio, sendo esta, em parte, limitada pelas estruturas criadas. O alimento é feito à base de rações comerciais (granulados), mas sendo também aproveitado algum alimento natural que possa existir no meio. A renovação da água é efectuada por um sistema de bombagem, podendo, em alguns casos, aproveitar-se marés. Neste tipo de sistema torna-se indispensável a utilização de arejadores para fornecimento de oxigénio e movimento da massa de água (Santinha, 1998).

Finalmente, o sistema intensivo (figura 1.3) diferencia-se dos anteriores por ser realizado em tanques sintéticos, feitos de fibra de vidro ou betão, de dimensões de entre os 100 e 1000 m<sup>3</sup>. Estes são construídos de forma a obter-se o máximo de auto limpeza fazendo com que os dejectos e restos de ração sejam removidos de modo contínuo. O fornecimento de água é permanente e o oxigénio é fornecido através de arejadores que utilizam oxigénio puro. O alimento é composto unicamente por rações comerciais (Santinha, 1998).



**Fig. 1.3:** Esquema representativo do ciclo de vida de dourada, *S. aurata*, em sistema de cultivo intensivo. Fonte: FAO, 2008.

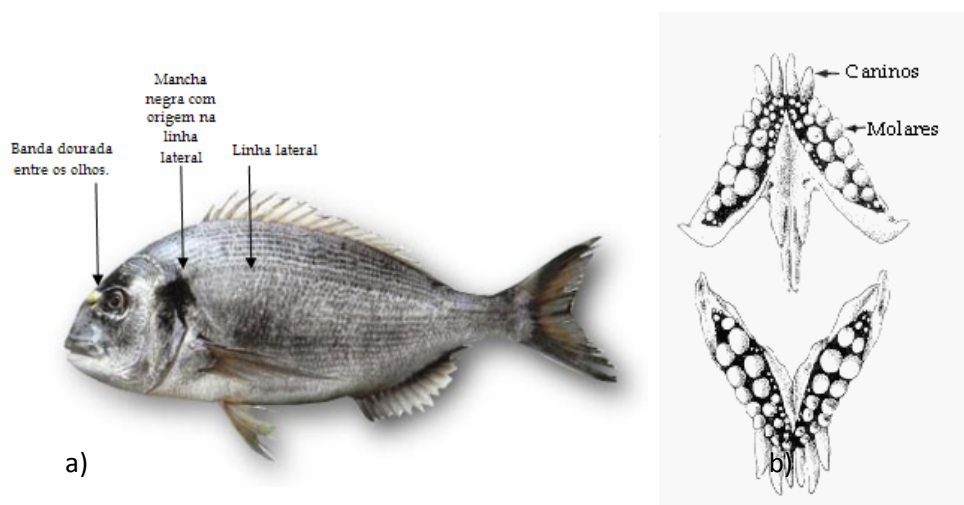
O cultivo de dourada é praticado em diversos países da UE (figura 1.4), ocorrendo as maiores produções no Mediterrâneo, sendo a Grécia responsável por 49% da produção e o maior produtor no ano de 2002. Segue-se a Espanha e a Itália, com 14 e 6 % respectivamente, sendo estes três países os principais produtores no Mediterrâneo (FAO, 2008).



**Fig. 1.4:** Principais países produtores de dourada, *S. aurata*. Fonte: FAO 2008.

### 1.3. Características morfológicas e biológicas da dourada (*Sparus aurata*)

A espécie *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 (Perciformes: Sparidae), de nome comum dourada, possui alguns caracteres distintivos, tais como, uma faixa de cor amarela “dourada” em crescente entre os olhos e uma mancha negra por cima do opérculo (figura 1.5a) (Saldanha, 1995). Tem na parte anterior dos maxilares 4 a 6 caninos fortes e compridos e, lateralmente, 2 a 4 fiadas de dentes molares (figura 1.5b). Estas características são suficientes para diferenciar a dourada de outras espécies de esparídeos. Apresenta ainda uma coloração geral cinzenta-prateada, mais de 70 escamas na linha lateral e a barbatana anal com III raios espinhosos e 11-12 raios moles (Sanches, 1992).



**Fig. 1.5:** a) Caracteres distintivos da dourada, *S. aurata*. Adaptado de: FAO (2008); b) Maxilar com dentes de *S. aurata*. Fonte: Schneider (1990 *fidé* FISHBASE, 2008).

Este peixe é uma espécie bentopelágica, de comportamento demersal. Habita em zonas costeiras de fundos rochosos, arenosos e de algas a profundidades de 30 m, podendo os indivíduos adultos ocorrer até aos 150 m de profundidade (Sanches, 1992; FAO, 2008). Sendo uma espécie eurihalina, adapta-se bem a águas salobras, entrando em estuários e rios (Sanches, 1992; FAO, 2008).

Distribui-se pelo Atlântico Este, desde as ilhas Britânicas até Cabo Verde, e ainda no mar Mediterrâneo, ocorrendo muito raramente no Mar Negro (FAO, 2008). Em Portugal existe apenas em águas continentais (Sanches, 1992).

Os indivíduos da espécie *S. aurata* atingem a maturidade sexual aos 1-2 anos (20-30 cm) para os machos e 2-3 anos (33-40 cm) para as fêmeas. A desova ocorre nos meses de Outubro a Dezembro, não se verificando desova no Mar Negro (FAO, 2008).

Na sua alimentação, como animais essencialmente carnívoros, alimentam-se de moluscos bivalves, crustáceos ou peixes, podendo tornar-se, em certas circunstâncias, herbívoros (FAO, 2008).

## 1.4. Composição química do pescado

---

Segundo Vaz-Pires *et al.* (2005), define-se como “pescado” todos os seres vivos aquáticos (e suas partes ou produtos) que possam ser utilizados para alimentação humana.

O conhecimento da composição química do pescado tem uma enorme importância na avaliação do seu valor nutricional. Actualmente já se encontra disponível bastante informação sobre a constituição química de diferentes tipos de pescado. No entanto, torna-se necessário, em alguns casos, a sua revisão e actualização de acordo com novos métodos analíticos mais fiáveis (Bandarra *et al.*, 2001). A composição química dos produtos da pesca varia de acordo com alguns aspectos intrínsecos (com a espécie ou mesmo individualmente com o sexo ou idade) e é influenciada por diversos factores ambientais e geográficos (Huss, 1995; Bandarra *et al.*, 2001). Essa variação está também muito relacionada com a composição da dieta (ração no caso de peixe de aquacultura), migrações e alterações sexuais relacionadas com o período de desova (espécies selvagens) (Huss, 1995).

Na composição química dos peixes, à semelhança de outros produtos de origem animal, incluem-se a água, proteínas e outros compostos azotados, lípidos, hidratos de carbono, minerais e vitaminas (Huss, 1995; Jacquot, 1961).

### 1.4.1. Água (Humidade)

O músculo dos peixes marinhos contém aproximadamente 50-80 % de água, podendo esta percentagem variar com a espécie e o estado nutricional do animal. O período de jejum, muito comum durante períodos de desova, causam um esgotamento das reservas dos tecidos e conseqüentemente causam um aumento do teor de água (Sikorski, 1990).

A água desempenha uma função importante nos organismos, a nível dos músculos e outro tipo de tecidos. Esta faz parte da maioria dos solventes orgânicos e inorgânicos, tornando possíveis os fenómenos bioquímicos que ocorrem nas células. Tem, igualmente, um grande impacto na conformação e reacções a nível das proteínas (Sikorski, 1990).

### 1.4.2. Lípidos

Os lípidos encontram-se presentes em todos os tecidos mas estão mais concentrados na parte subcutânea dos peixes gordos, no fígado (principalmente nos peixes magros), no tecido muscular e nas gónadas (Jacquot, 1961; Sikorski, 1990).

Nos peixes teleósteos existem dois tipos principais de lípidos, os fosfolípidos e os triglicéridos. Os primeiros fazem parte da composição das membranas celulares, sendo também designados por lípidos estruturais, enquanto os segundos são usados como reservas energéticas (Huss, 1995). Nos peixes magros pode ainda encontrar-se colesterol em quantidades semelhantes às encontradas no músculo dos mamíferos (aproximadamente 6% do total de lípidos) (Huss, 1995).

De acordo com o seu teor de gordura os peixes podem classificar-se em quatro classes distintas: magras (menos de 2 % de gordura); pouco gordas (2-4 % de gordura); gordas (4-8 % de gordura) e muito gordas (mais de 8 % de gordura) (Ackman, 1994 *fidé* Sikorski & Kolakowska, 2003).

### 1.4.3. Proteínas

Normalmente, em tabelas de alimentos (Martins, 2006), o conteúdo de proteína refere-se a proteína bruta. Na proteína bruta inclui-se proteínas propriamente ditas e outros compostos azotados, tais como ácidos nucleicos, trimetilamina (TMA) e óxido de trimetilamina (OTMA), aminoácidos livres, ureia, entre outros (Sikorski, 1990).

O músculo dos peixe e dos invertebrados marinhos é composto por 11 a 24 % de proteína bruta, podendo esta percentagem variar com a espécie ou com a condição nutricional e tipo de músculo do animal (Sikorski, 1990). As proteínas do músculo do peixe contêm todos os aminoácidos essenciais ao Homem (Huss, 1995).

De acordo com Huss (1995), estas proteínas podem ser divididas em proteínas estruturais (actina, miosina, tropomiosina e actomiosina), sarcoplasmáticas (mioalbumina, globulina e enzimas) e proteínas do tecido conjuntivo (colagénio).

A estrutura conformacional proteica dos peixes pode ser facilmente alterada devido a alterações das condições físicas do meio (Huss, 1995).

#### **1.4.4. Azoto não proteico**

Os compostos de azoto não proteico (NPN<sup>1</sup>) podem ser definidos como compostos de baixo peso molecular, solúveis em água e que contêm azoto de natureza não proteica (Huss, 1995).

A fracção de NPN inclui aminoácidos livres, bases voláteis azotadas (especialmente a amónia) e outras como o OTMA, que após a morte é reduzido a TMA, creatina e outros compostos (Jacquot, 1961).

Na maioria dos peixes teleosteos, o NPN corresponde a uma fracção de 9-18 % do total de azoto (Huss, 1995).

#### **1.4.5. Hidratos de Carbono**

O teor em hidratos de carbono no peixe é normalmente muito baixo (inferior a 0,5 %). No músculo escuro estriado os hidratos de carbono ocorrem sob forma de glicogénio e fazem parte da constituição química dos nucleótidos (Huss, 1995).

#### **1.4.6. Vitaminas e sais minerais**

As vitaminas e sais minerais presentes em cada espécie podem variar com a época do ano. De uma forma geral, os peixes são uma boa fonte de vitamina B e no caso das espécies gordas são também ricas em vitamina A e D (Huss, 1995).

No caso dos minerais, o músculo de peixe é considerado uma importante fonte de cálcio e fósforo, assim como de ferro, cobre e selénio. Os peixes de água salgada têm um elevado teor de iodo, enquanto que, nos peixes de aquicultura, o conteúdo de vitaminas e minerais é considerado um reflexo dos componentes da composição da ração usada na sua alimentação (Huss, 1995). A fracção mineral dos peixes e invertebrados marinhos varia entre 0,6 e 1,5 % da sua massa e divide-se em macroatmentos (sódio, potássio, magnésio, cálcio, ferro, fósforo, enxofre e cloro) e microatmentos (mercúrio, crómio, manganésio, cobalto, alumínio, cobre, níquel, arsénio, selénio, etc.) (Sikorski, 1990).



---

1) Do inglês "Non-Protein Nitrogen".

## 1.5. Efeito da dieta na qualidade final do pescado

---

As alterações na dieta de várias espécies de peixes marinhos selvagens têm vindo a ser alvo de estudo ao nível das variações provocadas por efeitos sazonais, geográficos e diferenças entre sexos. Têm vindo ainda a ser feitas comparações entre animais selvagens e de aquacultura e o efeito da dieta natural ou artificial na composição química destes peixes. Estudos realizados nesta área por Block, em 1959, mostraram que o tipo de dieta tem influência na composição química do peixe (Love, 1980).

Nos últimos anos, tem-se verificado o problema do elevado custo das rações para uso em aquacultura, preparadas à base de farinhas e óleos de peixe. Com o objectivo de reduzir o custo e também de diminuir algum impacte ambiental de algumas dessas rações tem-se vindo a estudar a substituição da farinha e do óleo de peixe por proteína e óleo vegetal (Francesco *et al.*, 2004; Paterson *et al.*, 1997; Pickova & Morkore, 2007). No entanto, surge o problema do efeito que esses novos componentes vegetais poderão vir a ter na qualidade final do produto de aquacultura. Este tema tem vindo a ser estudado por para vários autores, sendo defendido por alguns que essa alteração não tem qualquer influência na qualidade do músculo do peixe e apresentando estudos nos quais essa substituição é bem sucedida e onde não se verifica, no músculo, qualquer alteração quer a nível de crescimento e de efeitos metabólicos no organismo, nem a nível da cor, verificando apenas alterações a nível sensorial (Francesco *et al.*, 2004). Há ainda estudos que mostram que esteróis presentes na composição de uma ração contendo óleo vegetal não se manifestam na composição do músculo, o que indica que a qualidade do músculo não terá sido alterada pela modificação na dieta (Picokova & Morkore, 2007). Por outro lado existem outros autores que defendem que a substituição nas rações de componentes de origem animal por outros de origem vegetal poderá levar a alterações das características do músculo em relação à oxidação lipídica, assim como alterações em propriedades sensoriais (cheiro, sabor e textura) (López-Bote *et al.*, 2001).

## 1.6. Alterações da qualidade do pescado

---

### 1.6.1. Qualidade e Grau de Frescura do Pescado

A aceitação dos produtos da pesca e aquacultura pelo consumidor depende de vários atributos da qualidade (Haard, 1992; Tejada *et al.*, 2003). A qualidade, apesar de ser um termo

muito abrangente, pode ser caracterizada por vários aspectos dos quais sobressaem a higiene, o valor nutricional e dietético, a frescura, a facilidade de utilização pelo consumidor, as propriedades intrínsecas e a disponibilidade. No caso do pescado, a frescura (figura 1.6) é de enorme importância, fornecendo o primeiro critério para a aceitação ou rejeição do produto (Nunes & Batista, 2004). A qualidade do pescado em Portugal é da maior importância pois o nosso país é um dos maiores consumidores de pescado (fresco, refrigerado e congelado) da UE (Lourenço *et al.*, 2003; Ribeiro *et al.*, 2003).



Fig. 1.6: Atributos da qualidade e a sua relação com a frescura em pescado. Esquema adaptado de Oehlenschläger & Sorensen (1997) e de Ólafsdóttir *et al.*, 1997).

O peixe é dos produtos alimentares que mais facilmente se deteriora, sofrendo profundas alterações *post mortem*, mesmo quando conservado por congelação (Lourenço *et al.*, 2003; Tejada *et al.*, 2003). Estas alterações devem-se a características intrínsecas e ao seu habitat natural, mas também devido à sua composição química (elevada quantidade de água, tipo de proteínas e baixo teor de tecido conjuntivo) e a um conjunto de processos de natureza físico-química, bioquímica (actividade enzimática endógena) e microbiológica, manifestando-se em alterações no aspecto, odor, sabor, cor, e textura (Simpson, 1997; Huidobro *et al.*, 2000; Nunes & Batista, 2004). A forma como o peixe é capturado e o grau de higiene a bordo torna-se também relevante para o grau de frescura do pescado. O peixe capturado e o peixe de

aquacultura têm diferenças no grau de frescura e na qualidade. O esforço físico e a fadiga causados pela captura causam alterações ao nível molecular devido à extinção dos recursos energéticos (ATP, glicogénio e outros) (Sikorski, 1990). Para além disto, o aquacultor pode manipular diversos factores de modo a melhorar a qualidade do produto (*e.g.* factores físicos, idade biológica, crescimento, factores ambientais, dieta, entre outros) (Haard, 1992).

Ao longo do tempo têm vindo a ser desenvolvidos e utilizados diversos métodos bioquímicos e sensoriais que permitem avaliar a qualidade e grau de frescura do pescado (Ólafsdóttir *et al.*, 1997; Taliadourou *et al.*, 2003).

### 1.6.2. Evolução do músculo após a captura

Imediatamente após a captura do pescado inicia-se um processo de transformação no músculo que culmina na putrefacção. Esta evolução no músculo tem uma enorme importância do ponto de vista comercial e é possível distinguirem-se três fases (Sainclivier, 1983):

Fase de *pré rigor mortis* - Posteriormente à morte do peixe os músculos ainda se encontram plásticos e extensíveis, contêm algum glicogénio acumulado, fosfocreatina e ATP que estão relacionados com o estado fisiológico do peixe, particularmente com o nível de exaustão provocado pela captura. Os filamentos de actina e miosina têm ainda condições de se mover uns sobre os outros devido a ainda existir no músculo do complexo ATP-Mg<sup>2+</sup> que desempenha uma função modeladora que inibe a interacção entre estas duas proteínas. (Mendes, 1991). Nesta fase a circulação sanguínea diminui, assim como o transporte de oxigénio, o que leva a alterações no potencial redox, criando um ambiente propício à anaerobiose (Sainclivier, 1983).

Fase de *rigor mortis* - O *rigor mortis* pode ser definido como um conjunto de processos catabólicos que levam à rigidez do músculo do animal após a sua morte (Sikorski, 1990). A duração da fase de *rigor mortis* e o pH último (pH mínimo atingido durante a fase de *rigor mortis* (Sainclivier, 1983; Mendes, 1991)) estão directamente relacionados com o teor em glicogénio na altura da captura. Em peixe não fatigado pelas condições de captura, devido a uma grande concentração de glicogénio no músculo, a fase de *rigor mortis* ocorre mais tardiamente e é mais longa e o pH último será mais baixo. Quando o oposto acontece e os peixes sofrem grande esforço físico pela captura, então esta fase será mais prematura e dura

menos tempo. Neste último caso, também o pH último é mais elevado sendo mais propício a contaminações por microorganismos (Mendes, 1991).

Fase de resolução do *rigor mortis* - A origem directa da resolução do *rigor mortis* ainda não está completamente definida. No entanto, os processos que levam a esta fase parecem ter uma proveniência autolítica (Mendes, 1991). De forma paralela a este processo, ocorrem reacções de degradação celular, como a autólise dos tecidos, desnaturação proteica, libertação de ácidos gordos e desorganização progressiva do aparelho contráctil (Sainclivier, 1983; Mendes, 1991). Estes processos degradativos e a acção de algumas enzimas microbianas levam novamente ao relaxamento do músculo tornando a sua textura mole (Barroso *et al.*, 1997).

### 1.6.3. Alterações sensoriais

As primeiras alterações durante o armazenamento e conservação do pescado ocorrem a nível do aspecto e da textura, surgindo posteriormente alterações no sabor (Nielsen, 1997).

Estas alterações podem ser divididas em quatro fases conforme ilustra a figura 1.7:

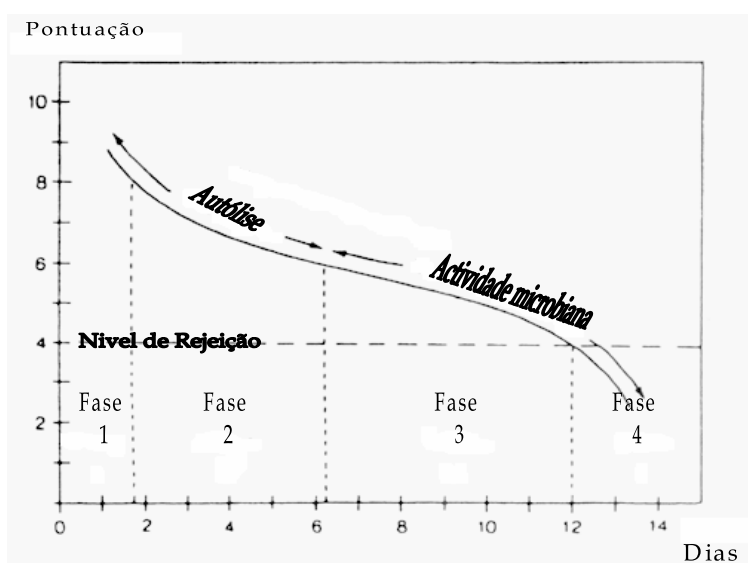


Fig. 1.7. Alterações da qualidade do peixe conservado em refrigerado. Adaptado de Huss (1995).

1ª Fase: Pescado muito fresco, sabor e cheiro a maresia ou neutro e sabor adocicado.

2ª Fase: Perda do cheiro e sabor característico.

3ª Fase: Aparecimento dos primeiros indícios de deterioração e de compostos voláteis depende da espécie e do processo de deterioração (aeróbia ou anaeróbia). Durante o estado mais avançado desenvolvem-se cheiros ligeiramente

adocicado, amoniacal, sulfídrico e a ranço. A textura do músculo torna-se cada vez mais mole e aquosa, ou muito seca.

4ª Fase: O peixe pode ser caracterizado como degradado e pútrido.

A 1ª e 2ª fase coincidem com as rápidas alterações autolíticas que ocorrem na primeira fase de *post mortem*. Na última fase ocorre uma actividade bacteriana bastante intensa e as alterações no músculo tornam-se muito notórias (Nunes & Batista, 2004).

#### **1.6.4. Alterações bioquímicas**

As alterações bioquímicas e microbiológicas que ocorrem no peixe após a sua captura dependem significativamente de alguns factores que estão relacionados com a concentração de alguns compostos nos tecidos do animal, a actividade de algumas enzimas endógenas, a contaminação microbiana e as condições pós captura (Sikorski, 1990). A conservação em gelo ajuda a manter por mais tempo a qualidade dos produtos, no entanto, no caso do peixe filetado devem ser tomadas algumas precauções contra a oxidação lipídica (Tshuchiya, 1961).

##### **1.6.4.1. Oxidação lipídica**

Os ácidos gordos dos organismos marinhos são na sua maioria mais complexos que os das plantas e animais terrestres. Caracterizam-se por ser particularmente insaturados, as cadeias contêm, normalmente, entre 14 a 16 carbonos, sendo também encontradas cadeias que contêm 20 e 22 carbonos. As cadeias dos ácidos gordos podem ter quatro, cinco ou seis ligações duplas. A variabilidade do conteúdo de ácidos gordos nos lípidos depende de numerosos factores, entre os quais, a dieta, a localização geográfica, temperatura ambiente estação do ano e tamanho do indivíduo. Ocorrem, por vezes, ácidos gordos saturados mas em pequenas quantidades (Kolakowska, 2003).

A oxidação lipídica nos produtos alimentares encontra-se dependente da composição em ácidos gordos e da actividade pro e antioxidante, assim como de factores externos (luminosidade, oxigénio e temperatura) (Sikorski & Kolakowska, 2003).

Os lípidos do peixe podem oxidar espontaneamente, em condições favoráveis, designando-se este tipo de oxidação por autooxidação, que ocorre em três etapas bem definidas: iniciação, propagação e terminação (Kolakowska, 2003; Tsuchiya, 1961), como se pode verificar na figura 1.8.

A iniciação ocorre na presença de um iniciador (um radical) que estimula a exclusão de um átomo de hidrogénio da cadeia do ácido gordo, formando-se um radical lipídico (L.). A energia e taxa de activação neste estado dependem do tipo de iniciador e do número de ligações insaturadas do substrato, não dependendo a taxa de dissociação da ligação C-H do comprimento da cadeia do ácido gordo (semelhante nos ácidos gordos, nos seus ésteres e nos triacilgliceróis) (Kolakowska, 2003).

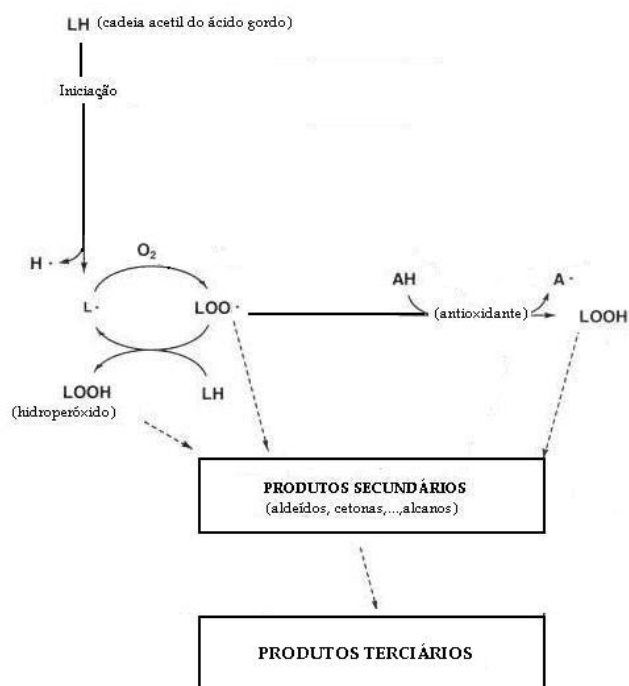


Fig.1.8. Oxidação dos ácidos gordos (Adaptado de Huss, 1995).

Durante a fase de propagação, os radicais alquilo, recentemente formados, reagem rapidamente com o oxigénio molecular, levando à formação de peróxido (LOO.), que posteriormente dá origem à formação de hidroperóxido (LOOH.), resultante da reacção destes compostos com a cadeia dos ácidos gordos (Kolakowska, 2003).

Os hidroperóxidos são compostos instáveis que se dividem dando origem, numa fase mais avançada da oxidação, a produtos secundários (aldeídos, cetonas e álcoois), responsáveis por alterações indesejadas no músculo do peixe (Tsuchiya, 1961).

A terminação da oxidação dos ácidos gordos ocorre quando duas espécies dos radicais formados reagem entre si levando à formação de um não-radical ou pode, igualmente, ocorrer aquando a reacção de um radical lipídico com uma substância antioxidante, formando-se

neste caso um radical antioxidante inerte devido á perda de um átomo de H no radical peróxido (Kolakowska, 2003).

Existem alguns compostos que mesmo em pequenas concentrações retardam a oxidação dos lípidos, essas substâncias são conhecidas como antioxidantes e estão presentes, naturalmente nos óleos, sendo por exemplo os compostos fenólicos conhecidos pela sua acção antioxidante. Os antioxidantes quebram a reacção de oxidação dos lípidos, ficando eles próprios oxidados (figura 1.8) (Tsuchiya, 1961).

A oxidação dos lípidos no peixe é responsável por alterações sensoriais como odor, descoloração, alterações no sabor e deterioração na textura (Sikorski & Kolakowska, 2003):

Alterações na cor: Os lípidos são responsáveis pela formação da cor dos produtos alimentares e da pigmentação superficial dos animais marinhos, dependendo esta coloração dos compostos caroteno-proteicos e da estrutura destes complexos (Sikorski & Kolakowska, 2003). Como consequência da oxidação, alguns compostos lipídicos perdem a cor ou tornam-se acastanhados ou avermelhados (Tsuchiya, 1961).

Alterações na textura: A estrutura de vários produtos alimentares é muito influenciada pela presença e quantidade de lípidos na sua composição química. Quando a quantidade de lípidos é baixa (inferior a 6 %) a textura de alguns peixes torna-se mais rígida (Sikorski & Kolakowska, 2003).

Alterações no odor e sabor: A degradação lipídica contribui para o aparecimento de odores desagradáveis como cheiro a azedo ou cheiro adocicado, entre outros (Sikorski & Kolakowska, 2003). O sabor dos óleos oxidados é diferente do das gorduras frescas e é rejeitado. Este sabor no peixe deve-se à presença de peróxidos, formaldeído, e compostos voláteis de azoto (*e.g.* azoto amoniacal, azoto de dimetilamina, azoto de trimetilamina). (Davis & Gill (1936) *fide* Tsuchiya, 1961). Desta forma, a oxidação lipídica pode ser detectada e avaliada por testes de análise sensorial e testes químicos.

As características dos óleos de peixe oxidados variam consoante o grau de oxidação e os factores que influenciam a sua oxidação (Tsuchiya, 1961).

#### Desenvolvimento de ranço:

O aparecimento de ranço atribui-se à oxidação atmosférica da gordura do peixe. Este processo encontra-se relacionado com o desenvolvimento de peróxidos e da sua

decomposição. Existem diversos factores externos, como a temperatura de armazenamento, que influenciam grandemente o aparecimento de ranço no peixe durante a conservação. O ranço é desenvolvido nas fases mais avançadas da degradação química, podendo ser detectado por testes sensoriais. No entanto, estes testes podem ser difíceis de aplicar, uma vez que este fenómeno não ocorre da mesma forma e no mesmo tempo para todas as espécies de peixe. Este facto pode ser obviado pela utilização de testes químicos que permitem determinar o grau de oxidação (Tsuhiya, 1961).

#### **1.6.4.1. Desnaturação Proteica**

Tal como acontece com os lípidos, as proteínas podem sofrer processos de oxidação durante uma armazenagem prolongada. As proteínas alimentares podem estar sujeitas a oxidação resultante da actividade do oxigénio, do radical do anião superóxido, e do radical do hidróxido, que se formam em ambientes aquosos como resultado de processos enzimáticos. A oxidação lipídica desenvolve um importante papel neste processo, uma vez que, os seus produtos participam na oxidação proteica (Sirkorski, 2001).

Podem ocorrer também reacções de proteólise de forma mais acelerada no peixe inteiro devido a enzimas presentes nas vísceras. Em alguns peixes gordos a proteólise ocorre mais intensamente na zona da barriga causando a sua lise e libertação de enzimas e bactérias para o resto do peixe. Estas enzimas endógenas podem levar à autólise dos tecidos musculares (Hardy & Burt, 1992).

Os estudos e técnicas mais comuns na quantificação das alterações das proteínas relacionam-se com a perda de solubilidade e extractibilidade das proteínas musculares. Estas alterações podem ser estudadas ao nível das proteínas totais ou ao nível de grupos particulares de proteínas (miofibrilhares, sarcoplasmáticas, ou grupo da actomiosina). A desnaturação proteica pode definir-se como a alteração da estrutura proteica dando origem à não solubilização ou extractibilidade das mesmas por soluções salinas que solubilizavam ou extraíam as proteínas iniciais. Durante a conservação em congelado ocorrem alterações indesejáveis no músculo do peixe podendo levar à diminuição da solubilidade e extractibilidade proteica. As alterações nas características das proteínas serão directamente proporcionais à temperatura e tempo de armazenamento. (Mendes, 1991).

## 1.7. Alguns métodos para a avaliação da qualidade do pescado

---

### 1.7.1. Análise Sensorial

Os métodos sensoriais têm vindo a ser bastante utilizados na avaliação do grau de frescura e qualidade do pescado, uma vez que são de fácil execução por não necessitarem de equipamento nem de estrutura laboratorial. No entanto, estes estudos requerem um grupo de pessoas treinadas e que apresentem um carácter objectivo (Batista *et al.*, 2001).

A análise sensorial pode ser definida como um método utilizado para analisar, medir e interpretar reacções características da alteração dos alimentos através dos sentidos (visão, cheiro, sabor e tacto). A maioria das alterações sensoriais só podem ser detectadas por humanos, no entanto, têm-se vindo a verificar um avanço de modo a introduzir instrumentos de medição (Meilgaard *et al.*, 1999).

Numa primeira fase é importante definir o objectivo do estudo e os meios disponíveis para o desenvolver. O espaço onde decorre a análise deve ter características especiais de luminosidade, circulação de ar (ar condicionado), temperatura (22 a 23 °C) e humidade relativa (50 % ou 65 % HR). Devem também ser escolhidos os atributos (por exemplo textura, cheiro, cor, sabor), bem como os seus descritores, adequados à amostra que irá ser analisada. É igualmente fundamental a escolha de um painel sensorial (conjunto dos provadores) treinado para a avaliação do produto, de maneira a identificarem rápida e eficientemente as várias características e alterações deste. Os provadores devem ainda estar familiarizados com o tipo de terminologia e escalas do método utilizado (Meilgaard *et al.*, 1999).

Podem ser utilizados diversos tipos de escalas, onde se devem relacionar o atributo/descritor (adocicado, suculento, etc.) com a sua intensidade (muito ou pouco doce, mole ou muito firme, etc.). As escalas podem ser categóricas, quando constituídas por categorias definidas numericamente, ou lineares, no caso de conterem uma linha horizontal de tamanho definido onde os provadores assinalam a sua avaliação (Meilgaard *et al.*, 1999).

### 1.7.2. Medição da cor

Algumas das alterações sensoriais podem ser detectadas por métodos instrumentais, como é o caso das alterações ao nível da cor.

Os métodos instrumentais de medição da cor têm vindo a ter cada vez mais importância no controlo da qualidade da indústria alimentar. Tecnologias mais avançadas têm simplificado o desempenho das metodologias utilizadas (Heia *et al.*, 1997).

O sistema CIELAB é frequentemente utilizado na medição da cor de produtos alimentares. Este sistema utiliza três parâmetros: valores de  $L^*$  (luminosidade),  $a^*$  (verde/vermelho) e  $b^*$  (amarelo/azul) (figura 1.9) (Botta, 1995; Heia *et al.*, 1997). Os valores de  $L^*$  variam entre 0 (preto) e 100 (branco), relativamente ao parâmetro  $a^*$ , a amostra encontra-se mais próxima da coloração verde quanto maior for o seu valor negativo e encontra-se mais próxima do vermelho quanto maior o seu valor positivo. Os valores de  $b^*$  variam de forma idêntica, sendo mais próximos do azul à medida que aumenta o valor negativo deste parâmetro e mais próximos do amarelo à medida que aumenta o seu valor positivo (Botta, 1995).

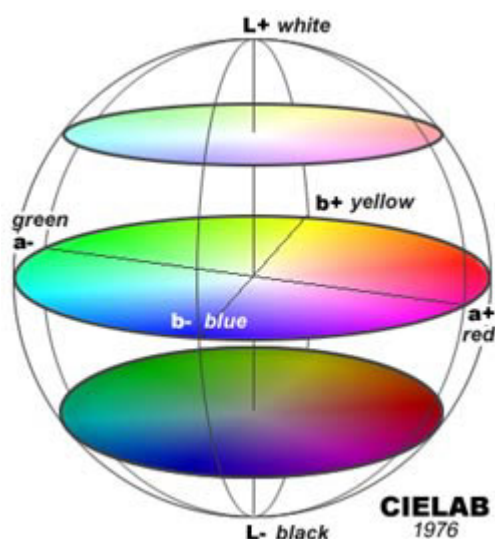


Fig. 1.9 - Diagrama tridimensional do espaço de cor utilizado no sistema\* CIELAB ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b$ ) (handprint media, 2001).

### 1.7.3. Índice do ácido tiobarbitúrico

O teste do Ácido Tiobarbitúrico ( $TBA^2$ ) é um dos métodos mais utilizados na determinação do nível da oxidação lipídica em produtos alimentares. Este teste foi desenvolvido por Bernheim *et al.*, em 1948, e foi modificado por Yu & Sinnhuber, em 1957 (Gould & Peters, 1971). Este teste origina um pigmento avermelhado resultante da reacção química entre o TBA e o aldeído malónico que é formado por oxidação de alguns ácidos gordos (Tarladgis *et al.*, 1960).

## 1.8. Conservação de pescado através da sua congelação

---

A conservação do pescado é o processo de diminuição da velocidade de decomposição após a sua captura. O pescado pode ser conservado por diferentes técnicas tais como a refrigeração, congelação, liofilização, apertização (conservas enlatadas), bem como por técnicas mais antigas como a secagem e fumagem. O principal objectivo da conservação é que o pescado chegue ao consumidor num estado próprio para o consumo (Porteiro, 2001).

A congelação consiste em baixar a temperatura de armazenamento do pescado, de modo a que a maioria da água que o constitui cristalize, preferencialmente de uma forma rápida (Vaz-Pires *et al.*, 2005).

As temperaturas de congelação aplicadas na pesca comercial moderna situam-se normalmente perto dos  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  e em alguns casos abaixo dos  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Estas temperaturas são bastante inferiores às temperaturas mínimas de desenvolvimento dos microorganismos mais resistentes a baixas temperaturas. Assim, a alteração na qualidade do produto durante a conservação em congelado encontra-se apenas dependente de factores físicos, químicos e enzimáticos. A qualidade do peixe congelado depende da qualidade inicial do produto fresco (determinada por factores biológicos, sazonais e grau de frescura do peixe e preparação para congelação), da temperatura e do tempo de armazenamento, protecção do produto contra alteração a nível proteico, oxidação e desidratação (Sikorski & Pan, 1994).

A congelação afecta a qualidade do peixe não só ao nível dos tecidos mas também ao nível celular e molecular, tendo assim, um importante impacto a nível químico e bioquímico. A temperaturas muito baixas ocorre desidratação, o que leva ao aumento do nível de sais nos tecidos e conseqüentemente à concentração dos fluidos dos mesmos (Sikorski & Pan, 1994). Formam-se também cristais de gelo que conduzem a uma redistribuição das ligações por pontes de hidrogénio e das atracções hidrófobas nas proteínas (Kolodziejska & Sikorski, 1980 *vide* Sikorski & Pan, 1994).

Este tipo de conservação afecta bastante a qualidade ao nível sensorial, desenvolvendo-se durante a congelação uma textura indesejada (dura e fibrosa), associada à perda de propriedades funcionais das proteínas musculares (desnaturação proteica). A oxidação lipídica que ocorre a baixas temperaturas afecta de igual forma a aparência dos produtos congelados e leva a uma diminuição no peso do produto assim como ao aparecimento de sabor e odor desagradável e à descoloração do mesmo (Sikorski & Pan, 1994).

## 1.9. Objectivo:

---

A dourada tem uma enorme importância a nível de aquacultura, sendo um dos produtos mais comercializados. Actualmente procuram-se novas formas de apresentação no mercado, de modo a facilitar a preparação e consumo deste tipo de peixe pelo consumidor, como é o caso dos filetes congelados para utilização imediata.

Procura-se também a utilização de novos componentes, em especial de origem vegetal, na composição da dieta de peixe de aquacultura, de modo a baixar os custos de produção, sem que estas alterações afectem a qualidade final dos produtos.

Neste contexto, este trabalho pretendeu avaliar o efeito da composição de 3 dietas em filetes de dourada durante um período de congelação (3 e 7 meses) a -20 °C. Para esse efeito, foram determinados diversos parâmetros (análise sensorial e análises químicas) que permitem avaliar algumas alterações ocorridas durante o período de armazenamento

## 2. Material e Métodos

---

### 2.1. Material

---

Os indivíduos adultos de dourada utilizados na elaboração deste trabalho provieram da Estação Experimental de Investigação do Centro de Ciências do Mar do Algarve (CCMAR).

No início da cultura, os animais com um peso inicial de 140 g, foram alimentados durante um mês com uma ração comercial para dourada. Após este período os peixes com cerca de 180 g de peso foram separados em 3 grupos. Os animais de cada grupo passaram a ser alimentados com dietas diferentes, sendo alimentados 3 vezes ao dia. Forneceu-se a um dos grupos uma dieta controlo semelhante à ração comercial para dourada (FM), enquanto que no segundo grupo 60 % da farinha de peixe foi substituída por proteína de origem vegetal (PP) e no terceiro grupo substituiu-se parcialmente a farinha de peixe e o óleo de peixe por ingredientes de origem vegetal (VO) (tabela II.1). As dietas ricas em PP e VO foram enriquecidas com aminoácidos essenciais.

**Tab. II.1.** Composição das rações utilizadas na alimentação das douradas.

Composição da Ração (%)	FM	PP	VO
Farinha de peixe	32,0	13,0	13,0
Proteína vegetal <sup>1</sup>	47,8	61,0	61,0
Óleo de peixe	14,8	15,9	5,9
Óleo vegetal <sup>2</sup>	-	-	10,0
Aminoácidos essenciais	-	0,8	0,8
Outros constituintes <sup>3</sup>	5,4	9,3	9,3

<sup>1</sup> soja, trigo e milho; <sup>2</sup> soja e colza; <sup>3</sup> vitaminas e sais minerais

Cada período de alimentação durou 12 semanas (90 dias) e foi realizado em triplicado para cada grupo.

O sistema de cultura de todos os grupos experimentais era composto por tanques circulares de plástico com água salgada a salinidade 35 ppm, temperatura

entre os 18 e os 25 °C, níveis de saturação de oxigénio na água acima dos 80 % e um fotoperíodo natural de Verão (entre Abril e Julho).

Terminada esta fase de cultura, os animais foram capturados, depois de um jejum de 48 h, e abatidos por hipotermia - numa mistura de gelo e água salgada (2:1). Após a morte, os peixes foram acondicionados em caixas de poliestireno e cobertos por uma película de plástico sobre a qual se colocou uma camada de gelo. Nestas condições foram transportados até às instalações do Instituto das Pescas da Investigação e do Mar (IPIMAR), onde ficaram durante uma noite a 3 °C. No dia seguinte as douradas foram filetadas de ambos os lados e foi-lhes retirada a pele. Os filetes foram lavados e colocados a escorrer durante 5 min. Finalmente colocaram-se em sacos de plástico, agrupando-se 5 filetes em cada saco, tendo sido armazenados a -20 °C. Recolheram-se amostras para avaliação da qualidade ao fim de 3 e 7 meses de congelação.

## 2.2. Métodos

---

### 2.2.1. Avaliação sensorial

A análise sensorial foi realizada em sala própria, dividida em 5 gabinetes individuais equipados com uma lâmpada fluorescente e uma piletta (figura 2.1. a).



Fig. 2.1. a) Sala de análise sensorial da U-VPPA, IPIMAR; b) gabinete de análise sensorial.

A avaliação foi efectuada por um painel constituído por 5 pessoas do IPIMAR, de ambos os sexos, experientes neste tipo de análise.

Após terem sido descongelados, os filetes foram aparados e embrulhados individualmente em papel de alumínio perfurado. Foram cozidos a vapor, a uma temperatura de 100 °C durante 10 min, num forno próprio para o efeito (Rational

Combi-Master CM6, Grosskuchentechnik GmbH). As amostras dos três grupos experimentais foram codificadas (de forma a não influenciar a avaliação) e apresentadas em simultâneo aos provadores, de modo a haver comparação. Cada provador avaliou um filete proveniente de cada um dos grupos, num total de 15 filetes por grupo. Os atributos avaliados foram o cheiro, o aspecto, o sabor e a textura, utilizando-se, para cada um, uma escala linear não estruturada, com 12 cm de comprimento (figura 2.2):

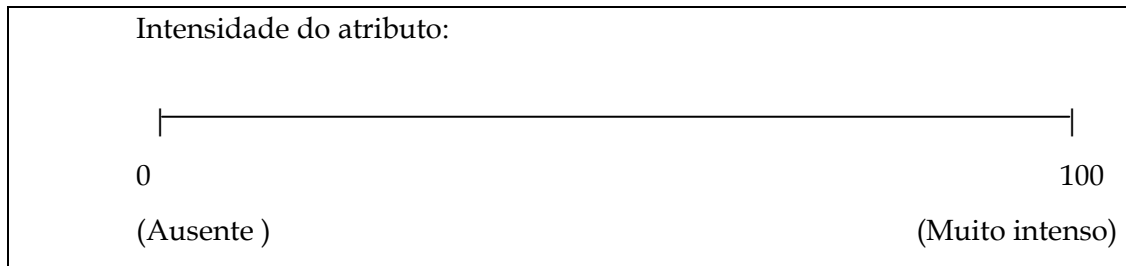


Fig. 2.2.: Esquema representativo da escala linear não estruturada usada na de avaliação sensorial.

### 2.2.2. Medição de cor

Os parâmetros da cor foram determinados num espectrocolorímetro triestímulos Macbeth Color-Eye 3000 (Macbeth Instruments Corporation) equipado com Software Macbeth® OPTIVIEW, versão 1.2 KA (figura 2.3 a)). A cor foi medida directamente na zona do músculo claro de 15 filetes de cada um dos grupos experimentais. Em cada filete obteve-se uma média de 5 medições simultâneas, para os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  do sistema CIELAB (*vide* figura 1.7) (Botta, 1995), para 8 locais do músculo (figura 2.3 b)).



Fig. 2.3. a) Espectrocolorímetro triestímulo Macbeth Color-Eye 3000; b) Locais onde se efectuaram as medições nos filetes.

Foi calculado o valor de Cromo, que representa a saturação de cor, e da brancura, através das seguintes equações:

$$\text{Croma} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$\text{Brancura} = 100 - \sqrt{[(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]}$$

### 2.2.3. Análises bioquímicas

#### 2.2.3.1. Preparação da amostra

Após a medição da cor, os filetes foram triturados numa picadora Moulinex®, de forma a obter-se uma polpa homogénea de três amostras compostas por 5 filetes de cada grupo experimental. Retirou-se uma pequena parte dessa polpa para análise de TBA e a restante foi armazenada a -20 °C até à realização das restantes análises (teor de humidade, cinza, proteína total, proteína solúvel, NPN e gordura).

#### 2.2.3.2. Determinação do teor de humidade

A percentagem de água foi determinada de acordo com o método oficial AOAC 950.46 (AOAC, 1998).

Previamente foram colocados os cadinhos na estufa a 100 °C, durante 30 min, e em seguida deixam-se arrefecer em excicador. Pesou-se 5 g de cada amostra para os cadinhos e deixaram-se na estufa, a 105 °C durante uma noite. No dia seguinte levou-se a peso constante e determinou-se a percentagem de humidade na amostra através da equação:

$$H (\%) = \frac{m_h - m_s}{m_h} \times 100,$$

na qual:

$m_h$  - Massa da amostra húmida (g).

$m_s$  - Resíduo seco da amostra (g).

### 2.2.3.3. Determinação do teor em cinza:

Após a determinação do teor de humidade, os cadinhos foram colocados numa mufla a  $500 \pm 25$  °C e o teor em cinza da amostra foi determinado segundo o método oficial AOAC 938.08 (AOAC, 1998).

O conteúdo em cinza da amostra foi calculado segundo a equação:

$$\text{Cinza (\%)} = \frac{m_c}{m_h} \times 100,$$

na qual:

$m_c$  - Resíduo de cinza (g).

$m_h$  - Massa da amostra húmida (g).

### 2.2.3.4. Determinação do teor em proteína bruta

Para a determinação da composição em proteína foi utilizado o método de Kjeldahl para quantificação de azoto total, descrito no método oficial AOAC 981.10 (AOAC, 1998). Pesaram-se 0,5 g de amostra para papel vegetal e colocou-se dentro de tubos de digestão que foram a digerir, em meio ácido, numa unidade de digestão Digestion System 20 - 1015 Digester (TECATOR) (figura 2.4 a)). Finalmente as amostras foram destiladas e tituladas numa unidade de destilação e titulação VELP® Scientifica UDK 152 (figura 2.4 b)).



Fig. 2.4. a) Unidade de digestão; b) Unidade de destilação e titulação.

Paralelamente realizou-se um ensaio branco, em triplicado, no qual apenas se colocou o papel vegetal no tubo de digestão. Realizou-se também um ensaio padrão utilizando-se 0,1 g de acetanilida.

A quantidade de azoto presente na amostra foi determinada através da equação:

$$\text{Azoto (\%)} = \frac{V_{\text{HCl}} \times 0,1 \times 14,007}{M_{\text{amostra}}} \times 100$$

na qual:

$V_{\text{HCl}}$  - Volume de HCl gasto na titulação da amostra (L).

$M_{\text{amostra}}$  - massa da amostra (g).

0,1 - Normalidade do HCl utilizado na análise.

14,007 - Equivalente grama de azoto.

Finalmente o teor em azoto foi multiplicado pelo factor 6,25, utilizado para a conversão do azoto total em proteína bruta, em alimentos de origem animal.

#### 2.2.3.5. Determinação do teor em gordura

O teor em gordura foi determinado de acordo com o método oficial AOAC 991.36 (AOAC, 1998). A amostra utilizada para a extracção foi previamente liofilizada e guardada a - 20 °C até ao dia da extracção.

Colocaram-se previamente os balões na estufa a 100 °C, durante 30 minutos. Deixaram-se arrefecer em excicador e registou-se o peso dos mesmos.

Pesou-se 1g de amostra liofilizada para papel de filtro que se colocou directamente na cartucha de extracção. Fechou-se a cartucha e colocou-se no extractor de 125 ml. Colocou-se 80 ml de éter etílico no balão e perpez-se o volume do extractor. Ligou-se a placa eléctrica a aproximadamente 40 °C e deixou-se a funcionar durante 7 horas, de modo a assegurar uma extracção completa (figura—

2.5). Depois da extracção procedeu-se à recuperação do éter. Após a evaporação total do éter levaram-se os balões à estufa a  $105 \pm 2$  °C até atingirem peso constante.



Fig. 2.5. Unidade de extracção de gordura.

O teor em gordura, em base húmida, foi calculado pela seguinte equação:

$$\text{Gordura (\%)} = \frac{M_{\text{gordura}} \times 100 \times (100 - H_{\text{ah}})}{M_{\text{sl}} (100 - H_{\text{al}})}$$

em que:

$M_{\text{gordura}}$  - massa de gordura na amostra liofilizada, (g).

$H_{\text{ah}}$  - Teor de humidade na amostra húmida (g).

$H_{\text{al}}$  - Teor de humidade na amostra liofilizada (g).

$M_{\text{al}}$  - massa da amostra liofilizada para a extracção, (%).

#### 2.2.3.6. Determinação do teor em azoto não proteico

Determinou-se o teor em NPN segundo o método oficial AOAC 991,21 (AOAC, 1998).

Pesou-se 10 g de amostra que se homogeneizou em 60 ml da solução de ácido tricloroacético (TCA) 10% - num homogeneizador Ultra-Turrax T25 Basic, IKA®-WERK, equipado com haste TWK-610-040T. Filtrou-se por papel de filtro, Whatman® nº 1, e recolheu-se o filtrado para uma proveta. Transferiu-se 5 ml do

extracto para um tubo de digestão e determinou-se o teor em azoto pelo método de Kejeldhal descrito em 2.2.3.5. A percentagem de NPN presente na amostra foi posteriormente calculada pela equação:

$$\text{NPN}_{\text{amostra}} (\%) = \frac{\text{N}_{\text{extracto}} \times 50}{\text{m}_{\text{amostra}}}$$

na qual:

$\text{N}_{\text{extracto}}$  - Azoto presente no extracto analisado (%).

50 - O volume total de extracto corresponde a aproximadamente 50 ml.

$\text{m}_{\text{amostra}}$  - massa de amostra utilizada na preparação do extracto (g).

#### 2.2.3.7. Determinação do grau de oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi avaliada pela técnica de determinação do índice de TBA, utilizando o método espectrofotométrico descrito na Norma NP 3356 (1990).

Homogenizou-se 15 g de amostra com 30 ml de solução TCA a 7,5 % (contendo 0,1 % EDTA e 0,1 % de solução alcoólica de galato de propilo), num homogeneizador Ultra-Turrax T25 Basic (IKA®-WERK) equipado com haste TWK-610-040T. Filtrou-se por papel de filtro Whatman® n° 1 para um Erlnenmayer.

Mediu-se para tubos de ensaio volumes de 1 a 5 ml de extracto e fez-se o volume a 5 ml com a solução de TCA. Juntou-se 5 ml de solução reagente de TBA a 0,02 mol/L e rolharam-se os tubos. Levaram-se a banho de água fervente durante 40 min. Retiraram-se os tubos, deixaram-se arrefecer em água e agitaram-se ligeiramente. O conteúdo de cada tubo foi transferido para uma célula de vidro e mediu-se a absorvância a um comprimento de onda de 530 nm, num espectrofotómetro Unicam® de absorção UV/VIS de duplo feixe.

No ensaio em branco foram utilizadas as mesmas quantidades de todos os reagentes utilizados no ensaio propriamente dito, tendo sido substituído o volume de amostra pela solução de TCA. Por cada ensaio realizaram-se 2 ensaios em branco.

Para elaborar as curvas-padrão utilizaram-se volumes de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 ml de uma solução-padrão de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), fez-se o volume a 5 ml com a solução de TCA. Obtiveram-se concentrações, respectivamente, de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 e 0,05  $\mu\text{mol/ml}$  de aldeído malónico. Seguiu-se a técnica de determinação descrita anteriormente. As curvas padrão foram realizadas paralelamente a cada ensaio e realizaram-se sempre em duplicado.

O índice de TBA, em mg de aldeído malónico por 1000 g da amostra, foi calculado segundo a equação:

$$\text{Índice de TBA} = \frac{72 \times c}{m \times V} \times (30 + mH),$$

na qual:

c - Concentração de aldeído malónico em  $\mu\text{mol}$ , calculada a partir da curva-padrão.

V - Volume da toma de ensaio (ml).

H - Humidade da amostra (%).

m - Massa da toma (g).

### 2.2.3.8. Determinação do teor em proteína solúvel

A determinação da proteína solúvel foi realizada segundo o método descrito por Ironside & Love (1958) e modificado por Ruiz-Capillas *et al.* (2002).

Pesou-se 2 g de amostra e homogeneizou-se em 40 ml de solução de NaCl a 5%, num homogeneizador Ultra-Turrax T25 Basic, IKA®-WERK, equipado com haste TWK-610-040T. Centrifugou-se a 10000 x g por minuto, durante 30 minutos, a uma temperatura de 2 °C, numa centrifugadora Kobota® 6800, Kobota Corporation, Japão. Colocou-se o sobrenadante num balão volumétrico de 100 ml. Voltou a

adicionar-se ao precipitado 20 ml da solução de NaCl, agitou-se e voltou a centrifugar-se nas mesmas condições. Recolheu-se o sobrenadante e juntou-se ao anterior no balão volumétrico. Perfez-se o volume do balão com água destilada e retiraram-se 10 ml, aos quais se juntou 10 ml de uma solução de TCA 10 % e centrifugou-se nas condições anteriores. Transferiu-se o precipitado para tubo de digestão e determinou-se o teor em azoto pelo método de Kjeldahl , anteriormente descrito (2.2.3.5), convertendo-se em proteína pela aplicação do mesmo factor 6,25.

#### **2.2.3.9. Análise Estatística**

Os resultados foram tratados no software estatístico Statistica© 6.1 (Stat Soft, Inc., Tulsa, OK 74104, USA). Foi verificada a normalidade dos resultados comparando os resíduos dos resultados obtidos com a distribuição normal esperada. A homogeneidade de variâncias foi testada através do teste de Levene. A existência de diferenças significativas entre os três grupos experimentais, para as diferentes variáveis estudadas, foi testada pelo teste paramétrico de Análise de Variância Factorial (ANOVA Factorial). No caso dos resultados com diferenças significativas foi utilizado o teste de Tukey para realizar as comparações múltiplas. Considerou-se a existência de diferenças significativas sempre nos testes estatísticos utilizados se obteve  $p < 0,05$ .

### 3. Resultados

#### 3.1. Composição química dos filetes de Dourada

Os resultados da composição química dos filetes estudados dos diferentes grupos experimentais estudados encontram-se na tabela III.1:

**Tab. III.1.** Composição química (média e desvio padrão) dos filetes de dourada de indivíduos alimentados com 3 dietas diferentes (PP, FM e VO), após 3 e 7 meses de congelação (N=15). PP - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM - douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo vegetal.

Tempo (em meses)	Ração	Humidade (%)	Cinza (%)	Proteína Bruta (%)	Gordura (%)
3	PP	70,22±0,65	1,364±0,029	21,18±0,48	6,86±0,28
	FM	68,88±0,10	1,414±0,031	20,58±0,43	8,75±0,43
	VO	69,93±0,60	1,408±0,033	20,24±0,38	8,13±0,96
7	PP	71,05±1,10	1,379±0,028	21,07±0,18	5,46±0,92
	FM	71,05±0,78	1,339±0,013	20,06±0,64	7,68±0,37
	VO	69,70±0,63	1,397±0,032	20,81±0,20	8,02±0,88

Nos filetes congelados durante 3 meses, verificou-se que os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM apresentaram o menor valor de humidade (68,88 %), enquanto que os filetes das douradas alimentadas com a dieta PP apresentam o maior teor (70,22 %).

Após 7 meses de congelação, verificou-se o maior teor de humidade nos filetes alimentados com as rações PP e FM (71,05 %, para ambos os grupos) e o menor valor foi observado nos filetes dos peixes alimentados com a ração VO (69,70 %).

De uma forma geral, a ração não exerceu alterações significativas na humidade dos filetes (Tuckey  $p > 0,05$ ), tendo apenas sido verificadas diferenças significativas entre os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM e PP, conservados durante 7 meses. Para estes dois grupos, apenas o tempo de congelação teve uma influência significativa no seu teor de humidade (Tuckey,  $p = 0,02$ ).

Relativamente ao teor em cinza, para os filetes congelados durante 3 meses, o grupo experimental alimentado com a dieta PP apresentou o menor valor (1,364 %), enquanto que o grupo alimentado com a dieta FM apresentou o maior teor (1,414 %).

Para as amostras após 7 meses de congelação, o grupo que apresentou o maior teor de cinza foi o grupo o que tinha sido alimentado com a dieta VO (1,397 %) e o menor valor observou-se no grupo alimentado com a dieta FM (1,339 %).

Não se verificaram quaisquer diferenças significativas no conteúdo em cinza dos filetes dos vários grupos experimentais (Tuckey,  $p > 0,05$ ).

O valor de proteína foi mais baixo nos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO (20,24 %), para o período de 3 meses de congelação, enquanto que, para o mesmo período, o maior teor de proteína bruta verificou-se nos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP (21,18 %).

Nos filetes com 7 meses de congelação verificou-se que o grupo experimental alimentado com a dieta FM tinha a menor percentagem (20,06 %), enquanto que o grupo experimental alimentado com a dieta PP apresentou o maior teor proteico (21,07 %).

Não se verificaram diferenças significativas no teor de proteína bruta dos filetes de nenhum dos grupos de filetes analisados (Tuckey,  $p > 0,05$ ).

Para a gordura bruta, nos filetes congelados durante 3 meses, verificou-se o menor teor em gordura no grupo de indivíduos alimentados com a dieta PP (6,86 %) e o maior teor foi observado no grupo dos indivíduos alimentados com a dieta FM (8,75 %).

Após 7 meses de congelação, verificou-se que os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP apresentaram o menor teor em gordura (5,46 %) e o maior teor lipídico foi observado nos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO (8,02 %).

Os resultados mostraram que ocorreram diferenças significativas, no teor em gordura dos filetes, e que tanto o tempo de congelação (Tuckey,  $p = 0,02$ ) como o tipo de dieta contribuíram para as mesmas. No que diz respeito á ração utilizada na alimentação dos indivíduos, verificou-se que a dieta PP causou diferenças significativas no teor de gordura dos filetes (Tuckey,  $p = 0,001$ ), comparativamente com os outros dois tipos de ração.

## 3.2. Avaliação da qualidade de filetes de dourada

### 3.2.1. Análise Sensorial

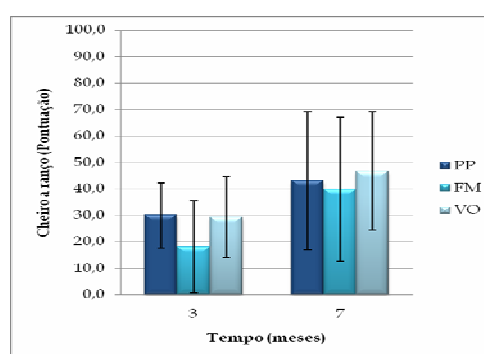
Os resultados da análise sensorial encontram-se expressos em pontuação para cada descritor, correspondendo o valor de 0 a quando o descritor não se verifica e o valor de 100 a quando o descritor se verifica com total intensidade no filete.

#### 3.2.1.1. Cheiro

O primeiro atributo avaliado foi o cheiro, no qual se avaliou apenas o descritor “cheiro a ranço” (figura 3.1).

Verificou-se que os filetes com um maior tempo de congelação (7 meses) apresentam cheiro a ranço mais intenso que os filetes congelados por menos tempo (3 meses). Foi nos filetes das douradas alimentadas com a dieta FM e congelados durante 3 meses, que se detectou menos intensamente o cheiro a ranço (18,02 pontos). Nos filetes alimentados com a dieta VO, congelados durante 7 meses, detectou-se mais intensamente este cheiro (46,76 pontos).

Para este descritor, não se verificou alterações causadas pela dieta nos filetes (Tuckey,  $p > 0,05$ ), no entanto o tempo causou diferenças significativas (Tuckey,  $p = 0,002$ ), tendo o cheiro a ranço intensificado dos 3 aos 7 meses de armazenamento.



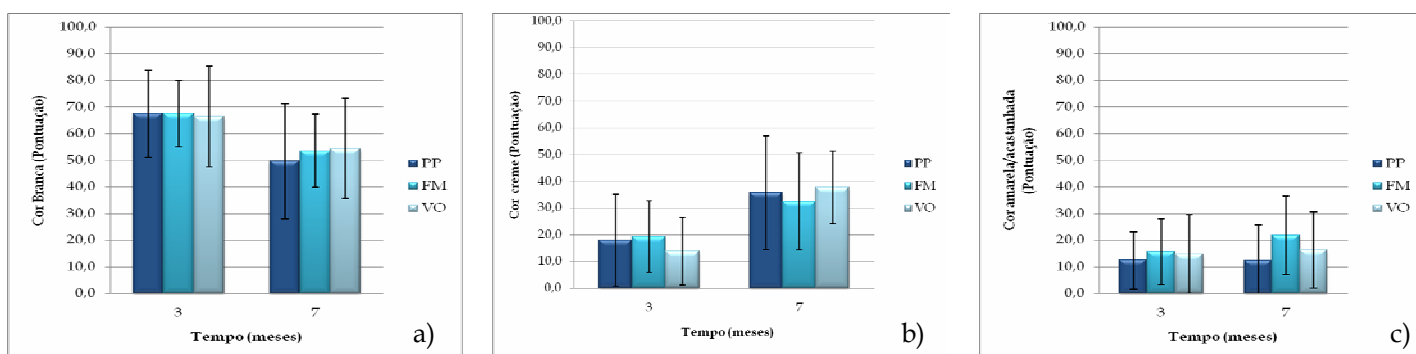
**Fig. 3.1.** Pontuação para o “cheiro a ranço” (média e desvio padrão) para os filetes de dourada alimentados com as 3 diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses (N=10). PP – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM – douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

### 3.1.1.1. Aspecto

Quanto ao aspecto dos filetes foi avaliada a cor, para este atributo foram analisados os descritores “cor branca”, “cor creme” e “cor amarela/acastanhada”.

Verificou-se que os filetes congelados durante 7 meses obtiveram menores pontuações para o atributo “cor branca” (figura 3.2 a)), dos quais, o grupo dos filetes cujos indivíduos foram alimentados com a dieta PP apresentou a coloração branca menos intensa (49,58 pontos), enquanto os filetes cujos indivíduos foram alimentados com a dieta FM e congelados durante 3 meses apresentaram a cor branca mais intensa (67,58 pontos).

O tempo de congelação teve influência significativa na coloração branca dos filetes (Tuckey,  $p=0,002$ ), tendo levado á diminuição da sua intensidade com o tempo de armazenamento, mas a dieta não mostrou efeito significativo neste atributo (Tuckey,  $p> 0,05$ ).



**Fig. 3.2.** Pontuação para os vários descritores do atributo “aspecto” (média e desvio padrão) para os filetes de dourada alimentada com as 3 diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses: a) Pontuação para o descritor “Cor branca”(N=10); b) Pontuação para o descritor “Cor creme”(N=10); c) Pontuação para o descritor “Cor amarela/acastanhada”(N=10). PP - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM - douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

Para a “cor creme” (figura 3.2 b)), os filetes congelados durante 3 meses obtiveram menores classificações, tendo o grupo dos filetes cujos peixes foram alimentados com a dieta VO, apresentado a coloração creme com menor intensidade (13,92 pontos). A maior pontuação foi atribuída ao grupo dos filetes congelados durante 7 meses e que os peixes tinham sido alimentados com a dieta VO (37,75 pontos).

Para este atributo verificaram-se algumas diferenças significativas no grupo dos filetes cujos indivíduos foram alimentados com a dieta VO e que foram armazenados em congelado durante 3 meses e no os filetes dos indivíduos que foram alimentados com as dietas

PP e VO e congelados durante 7 meses, verificou-se ainda que estas diferenças se devem ao tempo de congelação (Tuckey,  $p = 0,002$ ) e não á ração utilizada na alimentação dos animais (Tuckey,  $p > 0,05$ ).

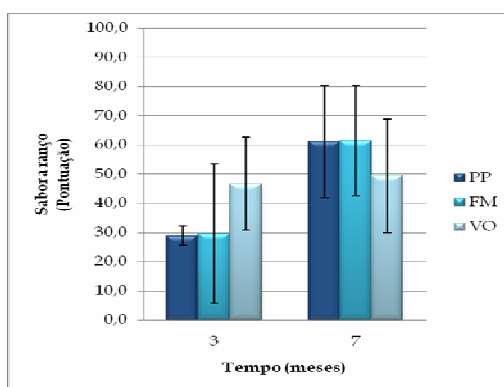
Para o último descritor do aspecto dos filetes, a “cor amarela/acastanhada” (figura 3.2 c)), verificou-se que os filetes das douradas alimentadas com a dieta FM e que foram congelados durante 7 meses apresentaram uma cor amarela/acastanhada mais intensa (21,79 pontos) e nos filetes congelados durante 7 meses e em que os indivíduos tinham sido alimentados com a dieta PP, verificou-se a menor intensidade da mesma cor (12,33 pontos).

Para este atributo não se verificaram diferenças significativas em nenhum dos grupos de filetes avaliados (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

### 3.1.1.2. Sabor

Para o atributo “sabor” avaliou-se o “sabor a ranço” (figura 3.3), os filetes congelados durante 7 meses obtiveram as maiores classificações, de entre os quais se destacam os grupos dos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM em que o sabor a ranço é mais intenso (61,46 pontos). O grupo dos filetes dos peixes alimentados com a dieta PP e que foram congelados durante 3 meses apresentou a menor classificação, sendo a mesma de 28,81 pontos.

Para este atributo verificaram-se diferenças significativas entre os grupos dos filetes avaliados, tendo-se verificado que o tempo de congelação é responsável pelas mesmas (Tuckey,  $p = 0,0001$ ) e não a dieta dos indivíduos (Tuckey,  $p > 0,05$ ).



**Fig. 3.3.** Pontuação para o descritor “sabor a ranço” (média e desvio padrão) para os filetes de dourada alimentada com as 3 diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses (N=10). PP – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM – douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

### 3.1.1.3. Textura

Finalmente, o último descritor a ser analisado foi a textura, analisaram-se os descritores “firmeza”, “coesividade”, “elasticidade” e “suculência”.

Relativamente à “firmeza”(figura 3.4 a)), os filetes congelados durante 3 meses apresentaram maiores pontuações, tendo o grupo dos filetes das douradas alimentadas com a dieta VO apresentado a maior firmeza (68,03 pontos). Os filetes congelados durante 7 meses e cujos indivíduos foram alimentados com a dieta PP apresentaram a menor firmeza (48,69 pontos).

Para este descritor não se verificaram diferenças significativas entre os grupos de filetes avaliados causadas pelo tipo de alimentação (Tuckey,  $p > 0,05$ ), tendo o tempo exercido algumas alterações significativas (Tuckey,  $p = 0,002$ ).

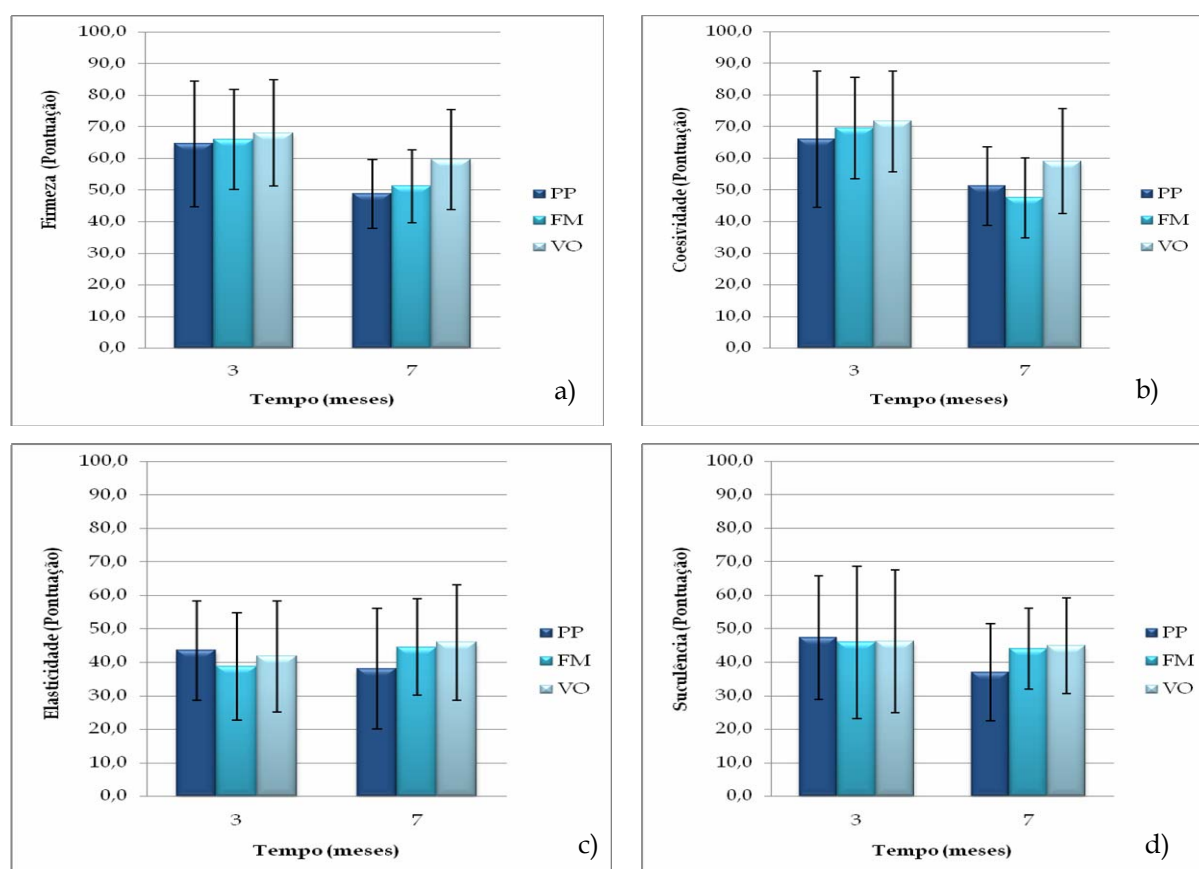


Fig. 3.4. Pontuação para o atributo “textura” (média e desvio padrão) para os filetes de dourada alimentada com as tres diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses: a) Pontuação para o descritor

“firmeza”(N=10); b) Pontuação para o descritor “coesividade”(N=10); c) Pontuação para o descritor “elasticidade”(N=10); d) Pontuação para o descritor “Suculência”(N=10) . PP - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM - douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

Os resultados da avaliação da “coesividade” encontram-se na figura 3.4 b), na qual pode verificar que os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO e que foram congelados durante 3 meses apresentaram a maior coesividade ( 71,67 pontos). Os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM e congelados durante 7 meses eram os menos coesos (47,48 pontos). Para este descritor verificam-se diferenças significativas nos grupos de filetes dos indivíduos alimentados com as dietas FM e VO congelados durante 3 meses e nos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM e que foram congelados durante 7 meses. Verificou-se ainda que a dieta não teve contribuição significativa para estas diferenças (Tuckey,  $p > 0,05$ ), tendo sido o tempo de congelação o responsável pelas mesmas (Tuckey,  $p = 0,0003$ ).

Para o descritor “elasticidade”(figura 3.4 c)) verificou-se que os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM e que foram congelados por 3 meses, obtiveram 38,06 pontos, sendo os filetes deste grupo os menos elásticos. Os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO e congelados durante 7 meses obtiveram a classificação de 45,92 pontos, apresentando os filetes deste grupo a menor elasticidade.

Em relação este descritor não se verificaram diferenças significativas para nenhum dos grupos de filetes avaliados (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

Finalmente, verificou-se que os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP e congelados durante 3 meses eram os mais suculentos (47,33 pontos) e os filetes dos indivíduos alimentados com a mesma dieta mas congelados durante 7 meses eram menos suculentos que os restantes (37,00 pontos) (figura 3.4 d)).

Para este descritor não se verificaram diferenças significativas para nenhum grupo de filetes avaliado (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

#### **3.1.1.4. Apreciação Global**

Foi pedido a cada provador a sua opinião pessoal, se gostou ou não do filete avaliado (0 - não gosto nada e 100 - gosto muito), tendo em conta todos os descritores que analisou.

De uma forma geral os filetes congelados durante 3 meses obtiveram classificações mais elevadas na “apreciação global” (figura 3.5), tendo sido o grupo dos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP o preferido dos provadores (49,00 pontos).

Os filetes congelados durante 7 meses obtiveram, no geral, pontuações mais baixas, e foi o grupo dos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO que os provadores menos gostaram (24,42 pontos).

Para a “apreciação global” não se verificaram diferenças significativas em nenhum dos grupos de filetes avaliados (Tuckey,  $p > 0,05$ ).

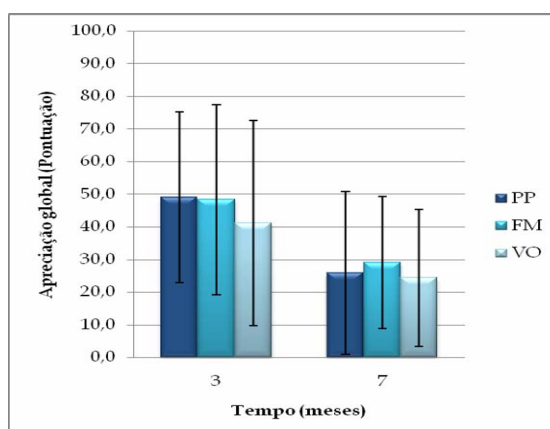
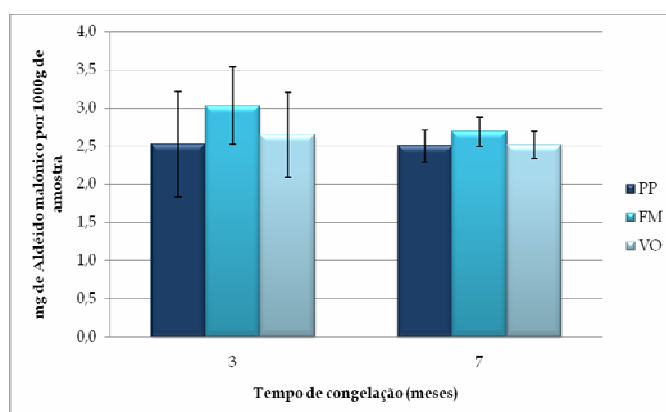


Fig. 3.5. Pontuação para o descritor “apreciação global” (média e desvio padrão) para os filetes de dourada alimentada com as tres diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses (N=10). PP - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM - douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

### 3.1.2. Análise do Índice do Ácido Tiobarbitúrico

Os resultados da análise do Índice de TBA encontram-se na figura 3.6, nos filetes de dourada alimentados com a dieta PP conservados em congelado durante 3 meses, observou-se que existia 2,53 mg de aldeído malónico por cada 1000 g de amostra, e ao fim de 7 meses de congelação, filetes de dourada alimentada com a mesma ração apresentavam 2,50 mg de aldeído malónico por cada 1000 g de amostra.



**Figura 3.6.** Variação do Índice do ácido tiobarbitúrico (média e desvio padrão) nos filetes de dourada alimentada com as 3 diferentes rações (FM, PP e VO), durante o período de congelação de 3 e 7 meses (N=15). PP – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM – douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

Nos filetes dos peixes alimentados com a dieta FM, após 3 meses de congelação verificou-se a existência de 3,03 mg de aldeído malónico por 1000 g de amostra e que ao fim de 7 meses de armazenamento, os filetes de indivíduos alimentados com a mesma ração apresentavam 2,69 mg de aldeído malónico por 1000 g de amostra.

Finalmente, nos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO, após 3 meses de congelação, verificaram-se 2,65 mg de aldeído malónico por 1000 g de amostra e 2,52 mg de aldeído malónico após 7 meses em congelado.

Não se verificou nenhuma diferença significativa em nenhum dos grupos causada pelo tempo de congelação nem pelo tipo de dieta utilizada, tendo-se o índice de TBA mantido constante entre os 3 e os 7 meses de armazenamento para todos os grupos experimentais (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

### 3.1.3. Azoto não Proteico

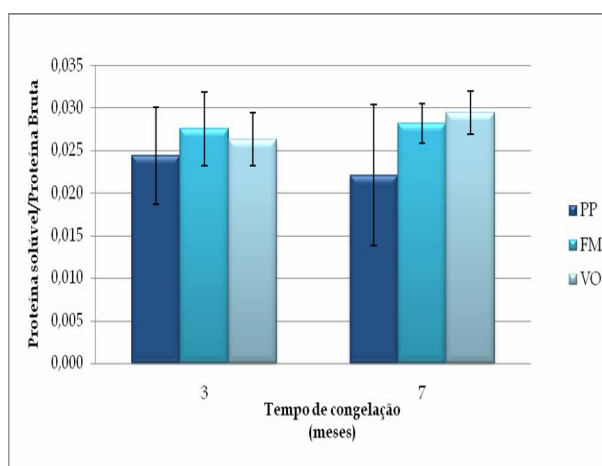
O teor em NPN dos filetes dos vários grupos experimentais encontram-se na tabela III.2, não houve diferenças significativas no conteúdo em NPN para os vários grupos experimentais analisados (ANOVA,  $p > 0,05$ ), variando o mesmo entre 0,28 % (filetes dos indivíduos alimentados com a ração FM e congelados durante 7 meses) e 0,30 % (filetes dos indivíduos alimentados com a ração PP, FM e VO congelados durante 3 meses e filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP e congelados durante 7 meses).

**Tab. III.2.** Teor (%) de NPN (média e desvio padrão) dos filetes alimentados com as 3 diferentes rações (FM, PP e VO), ao fim de 3 e 7 meses de congelação (N=15). PP - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM - douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO - douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

Tempo (meses)	Ração	NPN (%)
3	PP	0,30±0,01
	FM	0,30±0,03
	VO	0,30±0,01
7	PP	0,30±0,01
	FM	0,28±0,01
	VO	0,29±0,02

### 3.1.4. Proteína Solúvel

No que respeita à proteína solúvel, com um objectivo de melhor comparação da evolução da solubilidade proteica em cada grupo, foi calculada a razão proteína solúvel/proteína bruta, que se encontra representada na figura 3.7:



**Figura 3.7.** Variação da razão proteína solúvel/proteína bruta (média e desvio padrão) para os filetes alimentados com as 3 diferentes rações (FM, PP e VO), ao fim de 3 e 7 meses de congelação (N=15). PP - douradas

alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM – douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

Os filetes dos peixes alimentados com a dieta PP apresentavam após 3 meses de congelação uma razão proteína vegetal/proteína solúvel de 0,024 e após 7 meses de congelação de 0,022.

Relativamente aos filetes de dourada alimentada com a dieta FM, a razão entre a proteína solúvel e a proteína bruta foi de 0,028 para os filetes congelados durante 3 meses e de 0,028 para os filetes congelados durante 7 meses.

Os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO apresentaram após 3 meses de congelação uma razão proteína solúvel/proteína bruta de 0,026 e após 7 meses de congelação de 0,029.

Não se verificaram diferenças significativas causadas pelo tempo de congelação (ANOVA,  $p > 0,05$ ), tendo-se esta mantido constante, ou pelo tipo de dieta (ANOVA,  $p > 0,05$ ) na razão de proteína solúvel/proteína bruta dos filetes analisados.

### 3.1.5. Medição da cor

Os resultados da medição de cor, de acordo com o sistema CIELAB, encontram-se na tabela III.3:

**Tab. III.3.** Resultados da medição (média e desvio padrão) de cor nos filetes de dourada alimentados com as 3 diferentes rações (FM, PP e VO), congelados durante 3 e 7 meses (N=10). PP – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 16 % de óleo de peixe; FM – douradas alimentadas com ração com 32 % de farinha de peixe e 15 % de óleo de peixe; VO – douradas alimentadas com ração com 61 % de proteína vegetal e 10 % de óleo de peixe.

Tempo (meses)	Ração	L*	a*	b*	Croma	Brancura
3	PP	60,21±0,44	-2,68±0,18	0,99±0,34	2,87±0,24	60,12±0,044
	FM	60,75±0,52	-2,63±0,09	0,72±0,41	2,75±0,16	60,65±0,52
	VO	60,22±0,41	-2,64±0,16	0,65±0,49	2,75±0,27	60,12±0,40
7	PP	61,99±0,94	-2,72±0,21	1,49±0,47	3,12±0,33	61,86±0,94
	FM	62,98±1,32	-2,62±0,20	1,23±0,700	2,96±0,31	62,86±1,30

VO	61,98±0,67	-2,67±0,16	0,74±0,45	2,80±0,17	61,87±0,67
----	------------	------------	-----------	-----------	------------

Para o parâmetro L\*, os valores de todos os grupos encontram-se na gama do branco. O grupo dos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM e congelados durante 7 meses apresentou o maior valor de L\* (62,98), enquanto que o grupo dos filetes alimentados com a dieta PP e congelados durante 3 meses apresentou o menor valor de L\* (60,21).

Para este parâmetro, encontraram-se algumas diferenças significativas nos filetes analisados, o tempo de congelação levou a um aumento do valor de L\* em todos os grupos (Tuckey, p = 0,0001) e a ração FM também fez com que o valor de L\* nos filetes desses indivíduos difira significativamente (Tuckey, p = 0,01) dos valores do mesmo parâmetro nos filetes dos indivíduos alimentados com as dietas FM e VO, que são semelhantes entre si (Tuckey, p > 0,05).

Relativamente a a\*, todos os grupos de filetes apresentam resultados bastante idênticos, não se verificando diferenças significativas (ANOVA, p > 0,05) para os filetes analisados, em relação a este parâmetro.

Os valores para este parâmetro encontravam-se mais próximos da gama dos vermelhos, variando entre -2,72 (filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP, congelados durante 7 meses) e -2,62 (filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM, congelados durante 7 meses).

O grupo de filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP e congelados durante 7 meses apresentou o valor mais elevado (1,49) para o parâmetro b\*, tendo o grupo de filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO e congelados durante 3 meses apresentado o menor valor de b\* (0,65), todos os grupos experimentais apresentaram valores de b\* na gama dos amarelos.

Verificou-se que a dieta pode causar algumas alterações significativas, nos filetes, para este parâmetro, verificando-se diferenças significativas entre os grupos dos indivíduos alimentados com a dieta PP e os grupos dos indivíduos alimentados com a dieta VO (Tuckey, p = 0,003), no entanto, também o tempo foi responsável por diferenças significativas (Tuckey, p = 0,005).

Em relação à saturação de cor (croma) dos filetes, verificou-se que o grupo de filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP e congelados durante 7 meses apresentou a maior

saturação (3,12) e os filetes dos indivíduos alimentados com as dietas FM e VO e congelados durante 3 meses apresentam a menor saturação (o valor de croma de ambos foi de 2,75).

Tanto o tempo de congelação (Tuckey,  $p = 0,01$ ) como a dieta utilizada na alimentação dos peixes (filetes dos indivíduos alimentados com a dieta PP diferem dos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta VO, Tuckey,  $p = 0,02$ ) contribuíram para a existência de diferenças significativas no valor de croma dos filetes.

Finalmente e em relação à brancura, os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM e congelados durante 7 meses apresentaram a maior intensidade de brancura (62,86), tendo sido verificado o valor mais baixo para a brancura no filetes dos indivíduos alimentados com as dietas PP e VO, congelados durante 3 meses (ambos os grupos apresentaram o valor de 60,12) .

Encontraram-se algumas diferenças significativas na brancura dos filetes, diferindo os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta FM dos restantes filetes (Tuckey,  $p=0,01$ ), no entanto o tempo foi o factor que mais contribuiu para as diferenças encontradas (Tuckey,  $p = 0,0001$ ).

## 4. Discussão e conclusões

---

A ração é um dos componentes mais caros no cultivo de peixe. A alteração da sua composição, de forma a reduzir o seu custo, é o primeiro factor para incluir fontes proteicas e lipídicas de origem vegetal nas rações utilizadas em aquacultura. A influência da composição da dieta utilizada na alimentação de peixe de aquacultura na sua qualidade final tem vindo a ser alvo de alguma controvérsia por parte de vários autores.

### 4.1. Composição química dos filetes de dourada

---

A composição química do músculo está dependente de vários factores, entre os quais, a alimentação do individuo (composição da dieta, número de vezes que se alimenta, entre outros) (Huss, 1995; Grigorakis, 1999, *fidé* Grigorakis 2007). De acordo com Grigorakis (2007), a composição do músculo é o aspecto mais importante na qualidade do peixe. Alterações na composição do músculo pode ter consequências na comercialização, por exemplo, alterações de cerca de 2% no teor de gordura de alguns peixes pode alterar de forma considerável a qualidade e aceitação do produto (Grigorakis, 2007).

A água é o maior componente do músculo do pescado (Haard, 1992), assim alterações que afectem o teor de humidade podem ter grande impacto na qualidade.

O teor de humidade dos filetes após a congelação variou entre 68,88 e 71,05 % nos filetes analisados no presente trabalho, encontrando-se entre os valores indicados por Grigorakis (2007), para a mesma espécie criada em aquacultura alimentada com rações comerciais (69,1 e 75,8 %).

A humidade é um dos componentes mais susceptíveis a alterações durante a congelação, sendo o tempo de armazenamento um factor importante nestas alterações (Mendes, 1991). A alteração da humidade durante a congelação é causada pela cristalização da água do músculo, que conduz a um aumento de pressão na estrutura da célula, podendo levar a ruptura da membrana celular (Lourenço, 2004), ocorrendo perdas de humidade durante a posterior descongelação. Assim, seria de esperar uma diminuição no teor de humidade, ou que este se mantivesse constante, com o aumento do tempo de armazenamento em congelado, contudo verificou-se um aumento de humidade nos grupos PP e FM, que possivelmente não será uma consequência do tempo de congelação, mas sim devido procedimentos

metodológicos, uma vez que não foram analisados os mesmos filetes, nos dois tempos de congelação, e se usaram apenas 15 filetes para as análises de cada grupo experimental.

O teor em cinza é representativo do conteúdo em minerais no pescado, encontrando-se o teor dos filetes analisados de acordo com o esperado. Grigorakis (2007) demonstra que o teor em cinza em dourada de aquacultura, em condições semelhantes às deste trabalho e alimentadas com ração comercial, varia entre 1,28 e 1,56 %, encontrando-se os resultados obtidos de acordo com os mesmos. O teor em cinza é muito pouco variável e a ausência de diferenças significativas para os vários grupos experimentais mostra que nem a dieta, nem o tempo de armazenamento o influenciam.

De acordo com Grigorakis (2007), o teor proteico no músculo de dourada de aquacultura e alimentada com uma ração comercial varia entre 18,1 e 21,8 %. Nos filetes de dourada avaliados neste trabalho verificou-se uma variação entre 20,06 e 21,18 %, encontrando-se dentro da amplitude de valores sugerida por aquele autor. O efeito do conteúdo e natureza da proteína da dieta na composição proteica do filete diverge consoante os autores. Existem estudos que defendem que a fonte proteica (animal ou vegetal) é responsável pela variação no teor proteico no músculo enquanto outros autores defendem que o teor de proteína se mantém inalterado. De acordo com Shearer (1994), Cowey *et al* (1972) verificou que o teor em proteína na ração faz variar de forma directamente proporcional a composição em proteína no músculo, no entanto outro estudo desenvolvido por Nengas & Alexis (1996) mostra que substituindo parcialmente a farinha de peixe (10,20, 30 e 40 %) por uma farinha de origem vegetal não há qualquer alteração na composição química do músculo de dourada. Os resultados deste trabalho mostram que utilizando 47,8 % (ração FM) ou 61,0 % (rações PP e VO) de proteína vegetal na composição da ração não existe qualquer alteração no teor de proteína do músculo.

A composição lipídica e locais de acumulação de gordura no peixe podem tornar-se muito variáveis, estudos realizados em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), por Takeuchi *et al.* (1978) e por Davies (1989), mostram que existe correlação entre o aumento de lípidos na dieta e o aumento lipídico no músculo, não se verificando nos mesmos estudos uma alteração no teor em cinza e proteína. A humidade mostrou uma variação inversamente proporcional á da gordura (Shearer, 1994).

Neste trabalho verificaram-se diferenças significativas no teor lipídico dos filetes, tendo sido a dieta o factor que mais contribuiu para essas alterações. Observou-se que os filetes dos indivíduos alimentados com a ração PP apresentaram um teor de gordura significativamente inferior ao dos restantes grupos (Tuckey,  $p = 0,001$ ), que não seria de esperar uma vez que a dieta PP é a dieta com maior percentagem de óleo de peixe e não contém óleo vegetal.

O tempo de conservação também teve influência na alteração lipídica, verificando-se uma menor percentagem de gordura nos filetes após sete meses de congelação, que não era prevista e que, à semelhança do que foi sugerido para a humidade, se pode dever aos mesmos procedimentos na metodologia (não se tratar dos mesmos filetes em ambos os tempos de congelação e o reduzido número de amostras) (Tuckey,  $p = 0,02$ ).

## 4.2. Avaliação da qualidade dos filetes de dourada

---

### 4.1.1. Análise sensorial

Os resultados da avaliação sensorial têm um grande desvio padrão associado, este pode ser resultante tanto de alguma heterogeneidade no estado dos filetes como da subjectividade de cada provador.

Estudos elaborados por Francesco *et al.* (2004) mostraram que a dieta pode ter influência nos factores organolépticos do músculo de peixe, pois com a substituição total da farinha de peixe da ração por proteína vegetal os filetes tornaram-se mais firmes, menos adocicados, apresentaram um cheiro menos intenso e uma menor suculência comparando com os filetes dos indivíduos alimentados com a dieta à base de farinha de peixe. Um estudo realizado por Izquiero *et al.* (2005) mostrou que a substituição do óleo de peixe das rações comerciais por óleos de origem vegetal afecta as propriedades sensoriais (como a aparência e textura) dos filetes de dourada, principalmente quando o óleo de peixe é substituído em quantidades superiores que os 80 %. Verificou-se um brilho menos intenso nos filetes dos indivíduos alimentados com a dieta em que foi incluído óleo vegetal, mas por outro lado filetes verificou-se um aumento da suculência e da coesividade. Assim, tem sido defendido que as propriedades sensoriais podem ser bastante afectadas por estas alterações. No entanto não se verificou nos resultados deste trabalho nenhuma alteração significativa causada pela ração sobre os descritores avaliados. O facto de a substituição da farinha e óleo de peixe nas rações não ter sido muito elevada, sendo o teor de proteína vegetal sido de 61,0 % do total da

composição das rações PP e VO, enquanto na ração idêntica á ração comercial (ração FM) já existia 47,8 % de proteína vegetal, pode ter sido a razão. Como foi visto na bibliografia, a substituição da farinha de peixe por proteína vegetal torna-se mais problemática, no que diz respeito a alterações sensoriais, a partir dos 80 % de proteína vegetal ou na substituição total da farinha de peixe, o que não foi o caso neste estudo.

Relativamente à influência do tempo de congelação nas propriedades sensoriais dos filetes, verificou-se que foi o factor mais importante nas diferenças encontradas, tendo causado alterações no cheiro (aumento do cheiro a ranço), na cor (diminuição da intensidade da cor branca e aumentando a intensidade da coloração amarela/acastanhada), no sabor (aumento do sabor a ranço) e na textura (diminuição da firmeza e da coesividade). Com esta perda de características importantes na aceitação do peixe, os provadores mostraram a sua preferência pelos filetes que se encontravam congelados há menos tempo, não sendo esta significativa (Tuckey,  $p > 0,05$ ), e não tendo havido também rejeição de nenhum dos filetes. Estudos realizados com dourada congelada mostraram que o tempo de congelação faz diminuir o sabor e cheiros característicos, assim como a succulência e coesividade (Huidobro & Tejada, 2004), encontrando-se os resultados obtidos neste trabalho de acordo com este estudo.

#### **4.1.2. Análise do Índice do ácido tiobarbitúrico**

O índice de TBA foi utilizado neste estudo com o objectivo de determinar o grau de oxidação lipídica nos filetes dos vários grupos experimentais, uma vez que o malonaldeído analisado neste teste é um dos produtos secundários da oxidação lipídica (Simeonidou & Govaris (1996). Connell (1975) estimou que sempre que os valores de malonaldeído obtidos no teste de TBA são superiores a 1-2 mg por 1000 g de amostra, será possível notar cheiro e sabor a ranço na amostra (Huss, 1988).

Verificou-se que a concentração de malonaldeído não variou ao longo do período de congelação (ANOVA,  $p > 0,05$ ) e que a dieta também não teve qualquer influencia na oxidação lipídica (ANOVA,  $p > 0,05$ ).

Simeonidou & Govans (1996), num estudo sobre o efeito do armazenamento em congelado (- 18 °C) na qualidade de peixe inteiro e filetes de pescada do mediterrâneo (*Merluccius mediterraneus*) e chicharro (*Trachurus trachurus*), para os filetes de pescada, observaram que ao inicio do processo de armazenamento em congelado existiam 0,123 mg de malonaldeído por cada 1000g de amostra, aumentando para 0,212 mg aos três meses e ao fim de sete meses a quantidade de malonaldeído foi de 0,216 mg por cada 1000g de amostra. A

experiencia prolongou-se durante um ano tendo sido obtidas 0,285 mg de malonaldeído/1000g de amostra ao fim deste período.

No presente trabalho obtiveram-se, para os filetes de dourada, concentrações de malonaldeído muito superiores às obtidas por Simeonidou & Govans (1996) para filetes de pescada, sendo também superiores ao que foi estimado por Connell (1975 *fide* Huss, 1988) relativamente à possibilidade de detecção de cheiro e sabor a ranço nos filetes. Os descritores que permitem fornecer uma ideia sobre o estado de oxidação lipídica utilizados são o cheiro e sabor a ranço e a cor creme e amarela/acastanhada e para todos os grupos foi possível detectar este cheiro e sabor desagradável, assim como colorações creme e amarela acastanhada em todos os grupos.

Apesar de não se notar diferença significativa no índice de TBA para nenhum grupo experimental, os provadores notaram que, de uma forma geral, se intensificou o sabor e cheiro a ranço, e o aumento da intensidade da cor creme, apesar de a coloração amarela/acastanhada não ter sofrido uma alteração significativa com o tempo de congelação. Desta forma, e concordando com o que foi referido por Huss (1988), ao afirmar que o teste de TBA não permite avaliar de forma muito correcta a evolução sensorial dos produtos da oxidação lipídica, não se pode afirmar uma total correlação entre os valores obtidos no teste de TBA e os resultados da avaliação sensorial no que respeita à evolução da oxidação lipídica dos três aos sete meses.

#### **4.1.3 Azoto não proteico**

Os compostos de NPN no músculo do peixe incluem aminoácidos livres, péptidos, nucleotídeos e ácidos nucleicos, ureia, óxido de trimetilamina, entre outros e constituem entre 0,5 e 2% do músculo do peixe e 9 a 18 % do total de azoto nos teleósteos (Haard, 1992; Huss, 1995). O teor em NPN obtido foi muito semelhante em todos os grupos experimentais analisados (variando entre 0,28 e 0,30), estando de acordo com os resultados obtidos noutros estudos.

#### **4.1.4 Proteína Solúvel**

Realizou-se a análise de proteína solúvel aos três e aos sete meses de congelação com o intuito de avaliar a degradação proteica, uma vez que a perda de solubilidade proteica ou a

extractibilidade das proteínas miofibrilares são características da degradação do músculo (Sikorski, 1978).

Verificou-se que a solubilidade proteica se manteve constante ao longo da congelação para todos os grupos experimentais (ANOVA,  $p > 0,05$ ). Estes resultados estão de acordo com um estudo de Tejada *et al.* (2003), no qual se verificou que a solubilidade da proteína em dourada se manteve estável durante um ano em congelado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

A alteração das proteínas devido ao efeito da congelação encontra-se associada com a alteração da textura do músculo do peixe, e tem-se vindo a correlacionar a degradação nas proteínas com a oxidação lipídica (Sikorski, 1978). Neste trabalho não se pode estabelecer esse tipo de relação uma vez que a solubilidade proteica se manteve estável, assim como os níveis de aldeído malónico. Relativamente à textura, a elasticidade dos filetes não sofreu alterações enquanto que a firmeza diminuiu significativamente (o músculo tornou-se mais mole), o que também não permite estabelecer comparações com a degradação de proteína pois a perda de solubilidade faz aumentar a rigidez do músculo, devido à alteração na configuração da proteína e não o contrário (Sikorski, 1978).

#### 4.1.5 Medição da cor

Relativamente à cor dos filetes verificou-se que houve diferenças significativas no  $L^*$ ,  $b^*$ , croma e brancura, para os grupos experimentais em estudo. O tempo de congelação foi o factor que mais afectou a cor ( $L^*$ : Tuckey,  $p = 0,0001$ ;  $b^*$ : Tuckey,  $p = 0,005$ ; croma: Tuckey,  $p = 0,01$ ; brancura: Tuckey,  $p = 0,0001$ ). Como os valores de croma e brancura são obtidos através dos parâmetros  $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$ , encontram-se dependentes dos valores desses parâmetros e estão sujeitos à reflexão das diferenças encontradas entre os grupos experimentais para esses mesmos parâmetros do sistema CIELAB.

Aos sete meses de congelação verificou-se um ligeiro aumento do valor de  $L^*$ , para os três grupos de alimentação, relativamente aos valores obtidos para os mesmos aos três meses de congelação. De acordo com um estudo realizado por Huidobro & Tejada (2004), durante um ano, com dourada congelada inteira, o valor de  $L^*$  aumentou até aproximadamente aos 4 meses de congelação ( $L^* \approx 65$ ) e decaiu após este período (aos 7 meses,  $L^* \approx 57$ ), os mesmos autores tinham já anteriormente obtido resultados semelhantes em estudos com sardinha e pescada. Os resultados obtidos neste trabalho não se assemelham aos obtidos por Huidobro & Tejada (2004), no entanto o facto de este autor ter realizado medições de cor no peixe inteiro

pode causar esta diferença quando comparamos os dois resultados, pois as alterações de cor na pele e no músculo podem divergir. No que respeita ao efeito da dieta no valor de  $L^*$ , também se verificaram algumas diferenças na luminosidade dos filetes do grupo alimentado com a ração FM e os dois restantes grupos (onde o  $L^*$  era semelhante).

Verificou-se que os valores de  $a^*$  dos vários grupos são bastante idênticos, não tendo nem a dieta nem o tempo de congelação influenciado o valor de  $a^*$  (ANOVA,  $p > 0,005$ ). Os valores obtidos para o parâmetro  $a^*$  encontram-se na gama dos verdes (valores negativos de  $a^*$ ), correspondendo com um estudo desenvolvido por Izquierdo *et al.* (2005) sobre o efeito da substituição do óleo de peixe por óleos de origem vegetal em rações para dourada, apesar dos valores de  $a^*$  obtidos serem um pouco mais elevados que os deste autor, que se situavam entre -0,01 (filetes de indivíduos alimentados com ração com óleo de peixe) e 0,85 (filetes de indivíduos alimentados com uma ração na qual se substituiu 60 % do óleo de peixe por óleo de soja).

No que respeita a valores de  $b^*$  observou-se que para todos os grupos se encontravam na gama dos amarelos (valores de  $b^*$  positivos) e os valores eram mais elevados ao fim de sete meses de congelação, tendo o tempo de armazenamento exercido uma alteração bastante significativa nos filetes (Tuckey,  $p = 0,005$ ). Este facto pode ser explicado com o desenvolvimento de produtos da oxidação lipídica que conferem colorações amareladas/acastanhadas ao peixe. O aumento dos valores de  $b^*$  encontra-se de acordo com o que se obteve na análise sensorial, na qual os provadores notaram um aumento do atributo cor “amarela/acastanhada”.

Finalmente, através dos parâmetros de cor do sistema CIELAB foram calculadas a saturação de cor (croma) e a brancura dos filetes e verificou-se um aumento significativo (Tuckey,  $p > 0,01$ ) do croma com o aumento do período de congelação, observando-se um comportamento idêntico para a brancura (Tuckey,  $p > 0,0001$ ). A dieta também exerceu alterações significativas, tanto no croma como na brancura.

De acordo com Grigorakis *et al.* (2003 *fidé* Grigorakis 2007) a coloração do músculo encontra-se fortemente correlacionada com o teor em gordura e o seu aumento resulta no aumento da brancura. Para além disso, resultados obtidos por Izquierdo *et al.* (2005) verificou-se que a cor não sofre alteração quando o óleo de peixe é substituído até 60 % por óleos de soja, linhaça e colza, mas quando essa substituição é de 80 % podem ser detectadas alterações significativas na cor, tendo no entanto, essas diferenças sido consideradas irrelevantes por serem tão pequenas que não se tornam detectáveis pelo olho humano. No presente trabalho não se observou qualquer relação entre o teor de gordura e a brancura ou luminosidade,

contudo verificou-se que as rações PP e VO (com maiores teores de farinha e óleos vegetal) diminuíram a luminosidade (Tuckey,  $p = 0,01$ ) e a brancura (Tuckey,  $p = 0,01$ ) dos filetes comparativamente com os filetes de indivíduos alimentados com a dieta FM.

### 4.3. Conclusões

---

Em conclusão, substituição da proteína e óleo vegetal por proteína e óleo de origem vegetal não alterou, de um modo geral, a qualidade final dos filetes de dourada.

Dos estudos anteriormente realizados verificou-se que só valores de substituição superiores a 80 % na proteína e óleos que compõem a ração por equivalentes mas de origem vegetal levam a diferenças significativa, valor este muito superior ao existente nas rações usadas na alimentação das douradas utilizadas neste estudo.

Dos resultados obtidos para os dois diferentes tempos de congelação, verifica-se que é possível a comercialização em congelado de filetes de dourada, contudo para se manterem as propriedades sensoriais do peixe, o armazenamento não deverá ser prolongado.

A aquacultura na Europa tem vindo a crescer significativamente e a dourada encontra-se entre as espécies mais importantes, assim torna-se necessário que se aposte em novas formas de comercialização e de apresentação no mercado, tentando-se facilitar a preparação do produto pelo consumidor. Os filetes de dourada congelados são uma opção a ter em conta, tendo que se ter especial atenção às características de armazenamento em congelado, deve ter-se o cuidado de não fazer variar muito essas condições. Este estudo mostrou que o tempo de congelação não se pode prolongar muito para que o produto chegue ao consumidor em condições adequadas ao consumo. Será importante que em estudos futuros se realizem análises ao início da congelação (de forma a permitir avaliar as características do pescado antes da congelação) bem como análises químicas em períodos mais curtos (mensalmente).

Poderá ser interessante a utilização de outro tipo de testes de avaliação do grau oxidação, para além análise do índice de TBA, como é o caso da análise de do Índice de Peróxido que permitirá avaliar as primeiras fases de oxidação. Uma vez que os filetes de dourada parecem susceptíveis á oxidação lipídica após um período mais prolongado, poderá ser interessante o estudo do efeito da inclusão de uma maior quantidade de compostos antioxidantes na ração.

A alteração da farinha e óleo de peixe por proteína e óleo de origem vegetal tem tendência a tornar-se cada vez mais necessária, não só por se estar a tornar demasiado dispendioso manter estas fontes de origem animal, como devido a impactos ambientais no ambiente marinho. Na produção de óleos e farinhas de peixe são utilizados pequenos peixes pelágicos, que vivem na superfície ou a profundidades médias da coluna de água, tais como o arenque, sardinha, entre outros. Algumas das espécies usadas na produção de constituintes das rações são também relevantes na alimentação humana, sendo um risco para a manutenção sustentável dos stocks pesqueiros de algumas dessas espécies, e é já verificada alguma legislação de protecção, proibindo a captura de algumas espécies (arenque, e.g.), para fins de produção de rações. Neste contexto é da maior importância o aparecimento de alternativas, tal como a proteína e óleos vegetais que, não alterando a composição e propriedades sensoriais do produto final de aquacultura, diminuam a quantidade de peixe capturado para produção de rações. Neste trabalho verificou-se que essa substituição até determinada percentagem é bem sucedida, no entanto será da maior importância a realização de estudos mais detalhados, como por exemplo o perfil de ácidos gordos, que poderá ser muito susceptível a alterações, e que devido ao limite de tempo para realização deste trabalho não foi possível analisar. Será também interessante o estudo de outras fontes vegetais e da variação da percentagem de proteína e óleos vegetais utilizados.

De forma a aumentar o grau de confiança dos resultados, deste tipo de estudo, será importante em trabalhos futuros o aumento no número de amostras utilizadas, uma vez que existem características muito variáveis de indivíduo para indivíduo e não será possível a utilização de amostras dos mesmos filetes para as análises químicas e sensoriais ao longo de todo o período de armazenamento.

## 6. Agradecimentos

---

Um grande bem-haja ao Doutor Mário Rui Pinho pela ajuda, apoio, incentivo e orientação que demonstrou logo desde o início, até mesmo antes da partida de regresso a terras continentais!

Gostaria de agradecer à Dra. Amparo Gonçalves por me ter permitido a realização deste trabalho, assim como toda a orientação e disponibilidade ao longo destes últimos meses. Agradeço também à Eng<sup>a</sup> Leonor Nunes por ter permitido este estágio na U-VPPA (IPIMAR).

Não posso deixar de agradecer a todo o pessoal da U-VPPA, que com paciência e boa disposição me ajudaram e explicaram todos os procedimentos laboratoriais utilizados neste trabalho: à Patricia Anacleto, à Barbara Teixeira e à Dona Fernanda. Um obrigada muito grande e com um carinho especial à Carla Pires, à Cristina Ramos, à Rute Nelhas e à Susana Gonçalves por toda a ajuda com algumas das técnicas, por todo o apoio e amizade, conselhos, ensinamentos e boa disposição que foram uma constante durante todos os meses deste trabalho e que fizeram valer a pena este período de estágio!

Agradeço também ao Sr. Manuel Pires, ao Dr. Rogério Mendes, à Carla Pires, à Dra. Helena Silva e ao Eng. Irineu Batista, pela disponibilidade e paciência que demonstraram ao fazer parte do painel sensorial.

Quero aproveitar, nesta fase final da licenciatura para agradecer a todas as pessoas que tornaram possível a sua conclusão. Um grande e muito especial obrigado aos meus pais, por me terem apoiado e ajudado desde sempre, pela dedicação e carinho, por terem tornado tudo possível e por me terem deixado partir nesta grande aventura, apesar de todas as dificuldades da distância! Aos meus avós que também estiveram sempre presentes, mesmo estando lá tão longe. E ao meu mano João!

Aos meus “papás adoptivos”, a Li e o Alexandre, pelo carinho e apoio com que me receberam sempre desde a minha chegada às maravilhosas ilhas açorianas.

Às minhas amigas de sempre: à Sofia, à Paula, à Vânia e à Teresa que apesar de continuarem a achar a “aventura” nas ilhas açorianas uma grande loucura estiveram sempre presentes em cada regresso a casa.

A todos os que tornaram especial e fizeram valer a pena os anos de vida académica, aos que estiveram desde o início e aos que foram passando, mas que me fizeram crescer mais um bocadinho e me fizeram ver o mundo de outra forma. Não consigo nomear todos os que foram estando presentes como gostaria, mas ninguém será esquecido. Um obrigada especial à Tânia, à “Paulinha” Lourenço (a quem para além da amizade quero ainda agradecer a ajuda enorme na revisão deste trabalho), à Carla e ao Marco, à Ana, à Sandra e ao Zé, à Verinha e ao Nuno.

Finalmente mas, não menos importantes, à Diana, à Vanda, à Xana e ao Octávio, pelo “cantinho” onde pude terminar a parte escrita e pelo agradável ambiente e boa disposição que demonstraram nesta última, e por vezes complicada, fase do trabalho. Ao Dr. Humberto agradeço a ajuda na revisão das alterações bioquímicas no pescado.

## 7. Referências Bibliográficas

---

- AOAC 1998. Official Methods of Analysis of AOAC International. 16th Ed., 4th Rev.; Association of Official Analytical Chemists International, Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, CD
- BANDARRA, N. M., I. BATISTA, J. TAFULA & M. L. NUNES 2001. Valor Nutricional de Produtos da Pesca pp.75-87 in: *Produtos da Pesca. Qualidade, Segurança e Inovação Tecnológica*. Actas das Jornadas Técnicas e Científicas do IPIMAR. Publicações Avulsas IPIMAR.
- BARROSO, M., M.CARECHE, A. J. BORDERÍAS 1997. *Evaluation of fish freshness using mechanical methods*. Proceedings of the final meeting of the concerted action "Evaluation of fish freshness. Nantes. France. pp:12-14.
- BATISTA, I., M. L. NUNES, A. MARTINS, N. DELGADO, A. MENDES 2001. Relatório final de Projecto – *Monitorização da qualidade do pescado fresco e refrigerado descarregado em lota*. IPIMAR. pp 1-17.
- BOTTA, J. R. 1995. *Evaluation of seafood freshness quality*. VCH Publishers, New York. viii, 180 pp.
- DGPA 1999-2007. *Recursos da Pesca*. Serie Estatística. Volume A-B. Disponível em: <http://www.dgpa.min-agricultura.pt/>. Consultado em Novembro de 2008.
- DINIZ, M. 1998. A aquacultura pp. 13-15 in: HENRIQUES, M. A. R. (Ed). *Manual de Aquacultura*. Departamento de Produção Aquática, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto. 207 pp.
- FAO 2007. *FAO yearbook.Fishery statistics*. Commodities/FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, Vol. 101 .
- FAO 2008. *Cultured Aquatic Species Information Programme – Sparus aurata (Linnaeus, 1758)*. Disponível em: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus\\_aurata/en#tcN900EA](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Sparus_aurata/en#tcN900EA). Consultado em Junho de 2008.
- FISHBASE 2008. Maxilar de dourada. Disponível em: <http://www.fishbase.org/Photos/PicturesSummary.php?StartRow=6&ID=1164&what=species&TotRec=8>. Consultado em Junho de 2008.
- FAO 2008b. *Species Fact Sheets – Sparus aurata (Linnaeus, 1758)*. Disponível em: <http://www.fao.org/fishery/species/2384/en>. Consultado em Junho de 2008.
- FRANCESCO, M., G. PARISI, F. MÉDALE, P. LUPI, S. J. KAUSHIK, B. M. POLI 2004, *Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. J. aquaculture 236: 413-429.
- GOULD, E., J. A. PETERS 1971. *On testing the freshness of frozen fish – A review of biochemical indices of quality in fish, with special reference to frozen products*. Fishing News Books. London, 51pp.

GRIGORAKIS, K. 2007. *Compositional and organoleptic quality of farmed and wild seabream (Sparus aurata) and seabass (Dicentrarchus labrax) and factors affecting it: A review*. *Aquaculture*. 272:55-75.

HAARD, N. F. 1992. *Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish*. *Food Res. Int.* 25:289-307

HANDPRINT MEDIA 2001. *The CIELAB color model*. Disponível em: [http://personales.upv.es/gbenet/teoria%20del%20color/water\\_color/color6.html#LAB1](http://personales.upv.es/gbenet/teoria%20del%20color/water_color/color6.html#LAB1). Consultado em Outubro de 2008.

HARDY, R., J. R. BURT 1992. *Composition and deterioration of pelagic fish* in: BURTS, J.R., R. HAERDY, K. J. WHITTLE (Eds.). *Pelagic Fish: The resource and its exploitation*. Fishing News Books, Oxford, xv;352pp.

HEIA, K., F. SIGERNES, H. NIELSEN, J. OEHLenschLÄGER, K. SCHUBRING, J. BORDERIAS, K. NILSSON, B. JORGENSEN, P. NESVADBA 1997. *Evaluation of fish freshness by physical measurement techniques* pp: 374- 351 in: *Proceedings of the final meeting of the concerted action "Evaluation of fish freshness"*. International Institute of Refrigeration, 396pp.

HUIDOBRO, A., A. PASTOR, M. TEJADA 2000. *Quality Index Method Developes for Raw Gilthead Seabream (Sparus aurata)*. *J.F.S* 65: 1202-1205.

HUIDOBRO A., M. TEJADA 2004. *Gilthead seabream (Sparus aurata): suitable for freezing and commercial alternatives*. *Journal of Science Food and Agriculture* 84: 1405-1413.

HUSS, H. H. 1988. *Le poisson frais: qualité et alterations de la qualité*. Manuel de formation préparé pour le programme de perfectionnement FAO/DANIDA sur la technologie du poisson et le controle de qualité. FAO. Rome. 132 pp.

HUSS, H. H, 1995, *Quality and quality changes in fresh fish*. FAO Fisheries Technical Paper 348. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/v7180e/V7180E00.htm>

IZQUIERDO M. S., D. MONTERO, L. ROBAINA, M. J. CABALLERO, G. ROSENLUND, R. GINÉS 2005. *Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead sea bream (Sparus aurata) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding*. *Aquaculture* 250: 431-444.

JACQUOT, R. 1961. *Organic constituents of fish*. pp: 146-191 In: BORGSTROM, G. (Ed). *Fish as food*. Vol. 1. Academic Press. New York & London. xvi; 725pp.

KOLAKOWSKA, A. 2003. *Lipid Oxidation in Food Systems*. pp: 134-166 In: SIKORSKI, Z. E., A. KOLAKOWSKA (Ed.). *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. Chemical and Functional Properties of Food Components Series. CRC Press. U.S.A. 388pp.

LÓPEZ-BOTE, C. J., A. DIEZ, G. GORRAZE, J. ARZEL, M. ALVAREZ, J. DIAS, S. J. KAUSHIK, J. M. BAUTISTA 2001, *Dietary protein source affects the susceptibility to lipid peroxidation of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and seabass (Dicentrarchus labrax) muscle*. *Animal Science* 73: 443-449.

LOURENÇO, H. M., S. GONÇALVES, C. AFONSO, M. F. MARTINS, M. L. NUNES 2003. *Qualidade de produtos da pesca congelados comercializados em Portugal*. In: NUNES, M. L., N. M. BANDARRA (Eds). *Novas prespectivas sobre conservação e qualidade de alimentos*. Vol. 3. Actas do 6º Encontro de Química dos Alimentos. INIAP-IPIMAR/SPQ.

LOURENÇO, A. C. M. M. 2004. *Estudo de várias espécies de pescada armazenadas em congelado*. Dissertação de Mestrado em Controlo de qualidade e toxicologia de Alimentos. Universidade de Lisboa. Faculdade de Farmácia.

LOVE, R. M. 1980. *The Chemical Biology of Fishes*. Vol. 2. Academic Press Inc. New York.

MARTINS, I., 2006. Tabela da composição química de alimentos. Centro de Segurança Alimentar e Nutrição (ED.). Instituto Dr. Ricardo Jorge. Lisboa.

MEILGAARD, M., G. V. CIVILLE, B. T. CARR 1999. *Sensory Evaluation Techniques*. CCR Press LLC, 3rd edition, Florida. Pp 387.

MENDES 1991. *Proteínas de Pescado – Composição, alterações e aspectos funcionais*. Trabalho de Síntese apresentado para provas de acesso à categoria de Assistente de Investigação. DTPA – INIP, pp 121.

NENGAS, I. ALEXIS, M. N. 1996. *Partial substitution of fishmeal with soybean meal products and derivatives in diets for the gilthead sea bream Sparus aurata (L.)*. *Aquaculture Research*: 27: 147-156.

NORMA PORTUGUESA NP3356 1990. Determinação do Índice Tiobarbitúrico (TBA) – Método Espectrofotométrico. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.

NIELSEN, J. 1997. *Sensory Analysis of Fish*. Proceedings of the final meeting of the concerted action “Evaluation of fish freshness. Nantes. France. pp:12-14.

NUNES. M. L., I. BATISTA 2004. *Aplicação do Índice de qualidade (QUIM) na avaliação da frescura do pescado*. Folheto informativo nº29. IPIMAR-Divulgação. Lisboa

OEHLENSCHLÄGER, J., SÖRENSEN. N. K. 1997. Criteria of Seafish Freshness and Quality Aspects. *Evaluation of fish freshness using mechanical methods*. Proceedings of the final meeting of the concerted action “Evaluation of fish freshness. Nantes. France. pp:30-35.

ÓLAFSDÓTTIR, G., V. VERREZ-BANIS, J. B. LUTEN, P. DALGAARD, M. CARECHE, E. MARTINSDÓTTIR, K. HEIA 1997. The Need for Methods to Evaluate Fish Freshness. Proceedings of the final meeting of the concerted action “Evaluation of fish freshness. Nantes. France. pp:17-29.

PATERSON, B., B. GOODRICK, S. FROST 1997. *Controlling the quality of aquacultured food products*. *Food Science & Technology* 8: 253- 257.

PICKOVA, J., T. MORKORE 2007. *Alternate oils in fish feeds*. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109: 256-263.

PORTEIRO, F. M. 2001. *Pescado fresco – Manuseamento, conservação, estiva de pescado fresco e embarcações*. Formação Profissional 1. Direcção Regional das Pescas. Horta. pp 81.

RIBEIRO, I. V., SANTANA, M., NEVES, A. 2003. *Qualidade em pescado fresco/refrigerado*. In: NUNES, M. L., N. M. BANDARRA (Eds). *Novas prespectivas sobre conservação e qualidade de alimentos*. Vol. 3. Actas do 6º Encontro de Química dos Alimentos. INIAP-IPIMAR/SPQ.

RUIZ-CAPILLAS, A. M., J. MORALES, P. MONTERO 2002. *The effect of frozen storage on the functional properties of the muscle of voladote (Illex coindetii)*. *Food Chemistry* 78: 149-156.

SAINCLIVIER, M. 1983. *L'industrie alimentaire halieutique – Bulletin Scientifique et Technique*. École Nationale Supérieure Agronomique et Centre de Reserches de Rennes, Vol. 1, pp263.

SALDANHA, L. 1995. *Fauna Submarina Atlântica: Portugal continental, Açores e Madeira*. Edição Revista e aumentada (2º Ed.). Publicações Europa América. Lisboa. 364 pp.

SANCHES, J.G. 1992. *Guia para identificação do pescado de Portugal submetido a tamanho mínimo de captura*. Instituto Nacional de Investigação das Pescas.

SANTINHA, P. J. M. 1998. Dourada (*Sparus aurata*) in: pp. 165-176 in: HENRIQUES, M. A. R. (Ed). *Manual de Aquacultura*. Departamento de Produção Aquática, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto. 207 pp.

SHAHIDI, F. 1997. *Seafood safety, processing and biochemistry: an overview*. In: SHAHIDI, F., Y. JONES, D. D. KITTS. *Seafood Safety, Processing and Biotechnology*. CRC Press. 278 pp.

SHEARER, K. D 1994. *Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids*. *Aquaculture* 119: 63-88.

SIKORSKI, Z. E. 1978. *Protein changes in muscle of foods due freezing and frozen storage*. *International Journal of Refrigeration* 3 (vol. 1): 173 – 180.

SIKORSKI, E. Z. 1990. *Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation*. CRC Press. Boca Raton, Florida.

SIKORSKI, Z. E., B. SUN PAN 1994. *Preservation of seafood quality* pp. 168-195 in: SHAHIDI, F., J. R. BOTTA (Eds.). *Seafoods chemistry, processing technology and quality*. Blackie Academic & Professional. Great Britain, xiv;342pp.

SIKORSKI, Z. E., A. KOLAKOWSKA 2003. *The role of lipids in food quality*. pp:1-8 In: SIKORSKI, Z. E., A. KOLAKOWSKA (Ed.). *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. Chemical and Functional Properties of Food Components Series. CRC Press. U.S.A. 388pp.

SIKORSKI, Z. E. 2001. *Chemical reactions in proteins in food systems* in: Sikorski (Ed.). *Chemical & Functional Properties of Food Proteins*. Technomic Publishing Company. Lancaster, Pennsylvania, U.S.A. xiv; 473pp.

SIMEONIDOU S., A. GOVARIS, K. VARELTZIS 1997. *Effect of frozen storage on the quality of whole fish and fillets of horse mackerel (Trachurus trachurus) and Mediterranean hake (Merluccius mediterraneus)*. *Z Lebensm Unters Forsch A* 204: 405 - 410

TALIADOUROU, D., V. PAPADOPOULOS, E. DOMVRIDOU, I. N. SAVVAIDIS, M. G. KONTOMINAS 2003. *Microbiological, chemical and filleted Mediterranean aquacultured sea bass (Dicentrarchus labrax) stored in ice.* J. Sci Food Agric 83: 1373-1379.

TARLADGIS, B. G., B. M. WATTS, M. T. YOUNATHAN 1960. *A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods.* Journal of the American Oil Chemistry Society: 37:44-48.

TEJADA, M., A. HUIDOBRO, G.F. MOHAMED 2003. *Comparison of ghilthead sea bream (Sparus aurata) and hake (Merluccius merllucius) muscle proteins during iced and frozen storage.* J. Sci. Food Agric 83:113-122.

TSUCHIYA, T. 1961 *Biochemistry of fish oils* pp:211-257 in: BORGSTROM, G. (Ed). *Fish as food.* Vol. 1. Academic Press. New York & London. xvi; 725pp.

VAZ-PIRES, P., M. L. NUNES, I. BATISTA 2005. *Terminologia dos Produtos da Pesca e aquaculture.* Publicações Avulsas IPIMAR N°12. IPIMAR. Lisboa.