

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Bromatologia

Avaliação de condições de consumo da sardinha fresca,
descongelada e processada, através de substâncias que
reagem com o ácido tiobarbitúrico
e do nitrogênio de bases voláteis totais

Álvaro Augusto Feitosa Pereira

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho

São Paulo
2004

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

P336a Pereira, Álvaro Augusto Feitosa
Avaliação de condições de consumo da sardinha fresca,
Descongelada e processada, através de substâncias que reagem
com o ácido tiobarbitúrico e do nitrogênio de bases voláteis
totais / Álvaro Augusto Feitosa Pereira. -- São Paulo, 2004.
61p.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e
Nutrição Experimental.

Orientador: Tenuta Filho, Alfredo

1. Bromatologia 2. Sardinha : Controle de qualidade I.
T. II. Tenuta Filho, Alfredo, orientador.

641 CDD

Álvaro Augusto Feitosa Pereira

Avaliação de condições de consumo da sardinha fresca,
descongelada e processada, através de substâncias que
reagem com o ácido tiobarbitúrico
e do nitrogênio de bases voláteis totais

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho
orientador/ presidente

Profa. Dra. Lígia Bicudo de Almeida Muradian - 1° examinador

Prof. Dr. Odair Zenebon - 2° examinador

São Paulo, 19 de março de 2004.

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado a meu pai Virgílio, não mais vivo, e minha mãe Maria do Socorro, por todo o carinho e apoio que sempre me deram. Com certeza nunca teria chegado a ele sem vocês. Um beijo grande.

AGRADECIMENTOS

Como acredito que todo trabalho humano é coletivo, por menos que percebamos, muito difícil será citar todos e desde já minhas desculpas se por acaso esquecer alguém.

Primeiro agradeço a Deus pela oportunidade que me ofereceu com o dom da vida e da saúde.

Agradeço em seguida à minha família por tudo que sempre representou para mim.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Alfredo Tenuta Filho, por todo apoio e conhecimento passados.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq) pela bolsa de estudos.

Aos colegas pós-graduandos do laboratório, Andréa, Sandra, Cláudia, Marliz, Cristiane, à técnica Luciene e Professora Inar, pelos momentos passados juntos e a disposição de ajudar mesmo nas horas mais difíceis.

Aos demais colegas funcionários, alunos e professores do departamento: Alexandre, Professora Túllia, Lúcia, Professoras Beatriz e Maria Inês e todo o pessoal da Bioquímica, Professor Fernando e demais professores com quem tive o prazer de participar do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino.

Joana e Lurdinha, por todo o carinho com que sempre prepararam aquele cafezinho pra nós e o bom humor sempre.

Ao pessoal do Serviço de Inspeção Federal (S.I.F.), Aparecido, Fernando e Gilmar, pela grande ajuda na coleta das amostras na CEAGESP.

E a tantos quantos mais dos quais eu por ventura não tiver lembrado.

ÍNDICE

	página
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. Produção de pescado.....	2
2.1.1. Produção e significado comercial da sardinha brasileira.....	3
2.2. Características nutricionais da sardinha.....	4
2.2.1. Fonte de proteína.....	4
2.2.2. Fonte de ácidos graxos polinsaturados.....	6
2.3. Deterioração do pescado.....	9
2.3.1. Deterioração microbiológica.....	9
2.3.2. Deterioração química.....	12
2.3.2.1. Deterioração autolítica.....	12
2.3.2.2. Deterioração oxidativa lipídica.....	13
2.4. Substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico - TBARS como indicador da qualidade do pescado.....	18
2.5. Nitrogênio de bases voláteis totais - N-BVT como indicador de qualidade do pescado.....	19
2.6. Ações tóxica e anti-nutricional do aldeído malônico.....	21
3. OBJETIVOS.....	25
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1. Material.....	26
4.2. Métodos.....	27

4.2.1. Análise das substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	27
4.2.2. Análise do nitrogênio de bases voláteis totais (N-BVT).....	27
4.2.3. Análise de umidade.....	27
4.2.4. Análise da lisina biodisponível.....	27
4.2.5. Análise estatística.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5.1. Sardinha fresca comercializada no mercado atacadista.....	29
5.2. Sardinha fresca comercializada em feira-livre.....	32
5.2.1. Sardinha fresca comercializada antes do defeso da espécie.....	32
5.2.2. Sardinha descongelada comercializada durante o defeso da espécie...36	
5.3. Sardinha fresca da CEAGESP x Sardinha fresca de feiras-livres x Sardinha descongelada de feiras-livres.....	38
5.4. Sardinha processada.....	41
5.4.1. Sardinha salmourada.....	41
5.4.2. Sardinha anchovada.....	44
5.5. TBARS <i>versus</i> lisina biodisponível.....	46
5.6. Considerações adicionais.....	47
6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

LISTA DE TABELAS

	página
Tabela 1: Maiores produtores mundiais de pescado em 2001.....	2
Tabela 2: Composição de diversos tipos de carne.....	4
Tabela 3: Aminoácidos essenciais, coeficiente de eficiência protéica (PER), valor biológico e utilização líquida da proteína (NPU) de proteínas de origem animal.....	5
Tabela 4: Digestibilidade de várias fontes de proteína.....	5
Tabela 5: Ácidos graxos polinsaturados e lípides da sardinha brasileira (<i>Sardinella brasiliensis</i>).....	9
Tabela 6: Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha fresca desembarcada na CEAGESP.....	29
Tabela 7: Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha fresca comercializada antes do período de defeso da espécie.....	33
Tabela 8: Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha descongelada comercializada durante o período de defeso da espécie.....	37
Tabela 9: Teores médios \pm desvio-padrão de TBARS, N-BVT e umidade em sardinhas frescas e descongeladas, de acordo com as Tabelas 6, 7 e 8.....	38
Tabela 10: Teores médios \pm desvio-padrão de TBARS, N-BVT e umidade em sardinhas frescas e descongeladas, de acordo com as Tabelas 6, 7 e 8, calculados com base numa umidade média de 76 g/ 100 g.....	39
Tabela 11: Umidade, TBARS e N-BVT em sardinha salmourada integral ou lavada com água.....	42
Tabela 12: Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha anchovada.....	44
Tabela 13: Valores de TBARS, lisina biodisponível e umidade em sardinha fresca.....	46

LISTA DE FIGURAS

	página
Figura 1: Participação percentual dos países na produção mundial de pescado em 2001.....	2
Figura 2: Catabolismo de nucleotídeos.....	12
Figura 3: Peroxidação lipídica.....	15

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADP = difosfato de adenosina (*adenosine diphosphate*)
- AM = aldeído malônico
- AMP = monofosfato de adenosina (*adenosine monophosphate*)
- ANOVA = Análise de variância (*analysis of variance*)
- AOAC = *Association of Official Analytical Chemists*
- ATP = trifosfato de adenosina (*adenosine triphosphate*)
- BHT = butil-hidroxitolueno (*butylated hydroxitoluene*)
- CEAGESP = Companhia dos Entrepósitos e Armazens Gerais do Estado de São Paulo
- DHA = ácido docosahexaenóico (*docosahexaenoic acid*)
- DMA = dimetilamina
- EPA = ácido eicosapentaenóico (*eicosapentaenoic acid*)
- FAO = Organização para a Alimentação e Agricultura (*Food and Agriculture Organization*)
- IBAMA = Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
- IMP = monofosfato de inosina (*inosine monophosphate*)
- LANARA = Laboratório Nacional de Referência Animal
- LDL = lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein*)
- MDDL = N,N'-di-(4-metil-1,4-diidropiridina-3,5-dicarbaldeído)-lisina
- MMA = monometilamina
- N-BVT = nitrogênio de bases voláteis totais
- NPU = utilização líquida da proteína (*net protein utilization*)
- PER = coeficiente de eficácia protéica (*protein efficacy ratio*)
- PUFA = ácido graxo polinsaturado (*polyunsaturated fatty acid*)
- SDS = dodecil sulfato de sódio (*sodium dodecyl sulphate*)
- S.I.F. = Serviço de Inspeção Federal
- TBA = ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid*)
- TBARS = substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (*thiobarbituric acid reacting substances*)

TCA = ácido tricloroacético (*trichloroacetic acid*)

TEP = 1,1,3,3-tetraetoxipropano

TMA = trimetilamina

TMAO = óxido de trimetilamina (*trimethylamine oxide*)

WHO = Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization*)

Ω3 = ácidos graxos polinsaturados da série ômega 3

Ω6 = ácidos graxos polinsaturados da série ômega 6

RESUMO

O presente trabalho foi motivado pelas condições de comercialização da sardinha verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) fresca, descongelada e processada no município de São Paulo-SP, aparentemente não adequadas. Amostras de sardinhas foram analisadas usando como parâmetros os valores de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrogênio de bases voláteis totais (N-BVT). As amostras foram coletadas e analisadas em três momentos diferentes da cadeia produtiva: ao desembarque na CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo), durante a comercialização em feiras-livres antes da vigência do defeso da espécie e durante a comercialização em feiras-livres na vigência do defeso da espécie (dezembro a março). Para a sardinha desembarcada na CEAGESP, foram observados os seguintes valores médios \pm desvio-padrão: TBARS= $0,18 \pm 0,17$ mg de aldeído malônico (AM)/ kg e N-BVT= $15,75 \pm 2,39$ mg/ 100 g. Para a sardinha comercializada em feira-livre antes do defeso, os valores registrados foram TBARS= $0,82 \pm 0,63$ mg AM/ kg e N-BVT= $27,06 \pm 2,18$ mg/ 100g. Para a sardinha comercializada em feira-livre durante o defeso foram detectados TBARS= $7,14 \pm 5,36$ mg AM/ kg e N-BVT= $27,69 \pm 2,80$ mg/ 100 g . Os resultados mostraram haver, para os valores de TBARS, diferença estatisticamente significativa entre a sardinha desembarcada na CEAGESP e a comercializada em feira-livre antes do defeso, bem como entre estas e as comercializadas na vigência do defeso. Já para os valores de N-BVT foi notada diferença estatisticamente significativa entre a sardinha desembarcada na CEAGESP e as comercializadas em feira-livre, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre as sardinhas comercializadas em feira-livre antes e durante a vigência do defeso. Na sardinha salmourada foram verificados valores médios de TBARS= $4,07 \pm 1,22$ mg AM/ kg e N-BVT= $44,32 \pm 14,38$ mg/ 100 g quando não-lavada; e TBARS= $1,25 \pm 0,23$ mg AM/ kg e N-BVT= $39,63 \pm 4,00$ mg/ 100 g quando lavada. Para a sardinha anchovada foram detectados os valores médios de TBARS= $3,71 \pm 0,77$ mg AM/ kg e N-BVT= $62,96 \pm 9,33$ mg/ 100 g. Foram ainda comparados valores de TBARS e lisina biodisponível, não se observando correlação significativa entre eles ($R^2= 0,1732$). Apenas a sardinha fresca comercializada na CEAGESP apresentou condição aceitável de consumo.

ABSTRACT

This work was motivated by the observation of the apparently not adequate trade conditions of the fresh, defrosted and processed Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*) in the city of São Paulo-SP. Sardine samples were analysed for thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) and total volatile base nitrogen (TVB-N). The samples were collected and analysed at three different times in the production chain: on landing at CEAGESP (the Central Warehouse Company of the State of São Paulo), while on sale at the street markets before the species-catching prohibition and while on sale at the street markets during the species-catching prohibition period (December-March). The following results were observed for the sardine landed at CEAGESP (mean \pm standard deviation): TBARS= 0.18 ± 0.17 mg malondialdehyde (MDA)/ kg and TVB-N= 15.75 ± 2.39 mg/ 100 g. For the sardines collected at the street markets before the prohibition period, the results were TBARS= 0.82 ± 0.63 mg MDA/ kg and TVB-N= 27.06 ± 2.18 mg/ 100 g. The values detected for the samples collected at the street markets during the prohibition period were TBARS= 7.14 ± 5.36 mg MDA/ kg and TVB-N= 27.69 ± 2.80 mg/ 100 g. The results show a statistically significant difference between the TBARS values for the samples collected at CEAGESP and the ones collected at the street markets before the prohibition period and between the latter and the ones collected at the street markets during the prohibition period. On the other hand, a statistically significant difference was noticed between the TVB-N values for the sardines collected at CEAGESP and the ones collected at the street markets, but there was not any statistically significant difference between the samples collected at the street markets before and during the prohibition period. In unwashed brined sardines the following values were recorded: TBARS= 4.07 ± 1.22 mg MDA/ kg and TVB-N= 44.32 ± 14.38 mg/ 100 g, while for the washed samples the results were TBARS= 1.25 ± 0.23 mg MDA/ kg and TVB-N= 39.63 ± 4.00 mg/ 100 g. For ripened sardine values of TBARS= 3.71 ± 0.77 mg MDA/ kg and TVB-N= 62.96 ± 9.33 mg/ 100 g were detected. TBARS values were also compared to available lysine and no significant correlation was found ($R^2= 0.1732$). Only the fresh sardines landed at CEAGESP showed acceptable condition for consumption.

1.INTRODUÇÃO

Dentre as diversas espécies de pescado disponíveis no município de São Paulo-SP, a sardinha destaca-se por seu apreciável consumo, conseqüência de seu preço comercial mais baixo que o das demais.

O pescado é adquirido pelos comerciantes varejistas no comércio atacadista realizado na CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazens Gerais do Estado de São Paulo -, sendo efetuado desta forma o suprimento da sardinha e também de outras espécies aos consumidores locais.

A rigor não há informações suficientes concernentes à qualidade do pescado oferecido comercialmente na forma refrigerada. O mesmo ocorre quanto aos produtos derivados processados na forma de preservas. Esta situação pode estar permitindo que a comercialização de pescado se dê de uma forma não adequada, trazendo como conseqüência o risco inerente à Saúde Pública.

A suspeita apontada é o motivo da proposta do presente trabalho, tendo sido executado em relação à sardinha comercialmente fresca e descongelada, mantida sob refrigeração, e também com referência a produtos preservados derivados dessa mesma espécie.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. PRODUÇÃO DE PESCADO

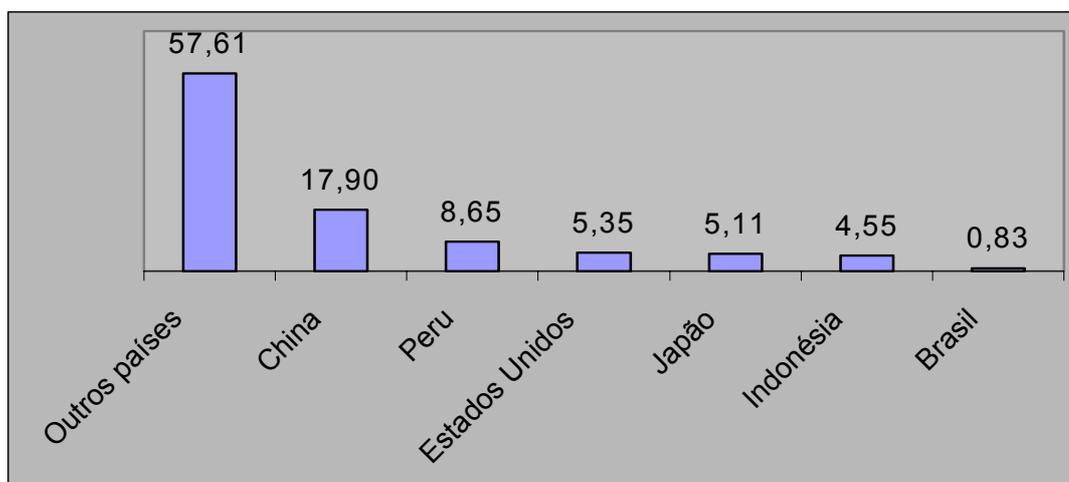
A produção mundial de pescado em 2001 atingiu cerca de 92,4 milhões de toneladas métricas, segundo a FAO - Food and Agriculture Organization (2004). A China é o principal país produtor, seguida pelo Peru, com 16,5 e 8,0 milhões de toneladas métricas, respectivamente. A produção brasileira colocou o país em 25º lugar, com menos de 1 milhão de toneladas métricas, e uma participação de 0,83% na produção mundial (Tabela 1, Figura 1).

Tabela 1: Maiores produtores mundiais de pescado em 2001 (FAO, 2004)

POSIÇÃO	PAÍS	PRODUÇÃO (a)
1º	China	16.529.389
2º	Peru	7.986.103
3º	Estados Unidos	4.944.406
4º	Japão	4.719.152
5º	Indonésia	4.203.830
25º	Brasil	770.000
TOTAL MUNDIAL		92.356.034

(a) Toneladas métricas

Figura 1: Participação percentual dos países na produção mundial de pescado em 2001 (FAO, 2004)



De acordo com o que foi apontado, a produção brasileira de pescado é pouco representativa no contexto mundial, apesar da extensão de sua costa, de 8.500 km.

2.1.1. PRODUÇÃO E SIGNIFICADO COMERCIAL DA SARDINHA BRASILEIRA

A espécie sardinha (sardinha-verdadeira) está geograficamente isolada dos demais grupos do seu gênero no Oceano Atlântico, ocorrendo do Cabo de São Tomé (RJ, 22°S) até à costa do Rio Grande do Sul, sendo mais abundante até o Cabo de Santa Marta Grande (SC, 28°S). A princípio considerava-se a ocorrência de duas espécies no litoral brasileiro, baseando-se no número de rastros do ramo inferior do primeiro arco branquial dos espécimes adultos: *Sardinella brasiliensis* e *S. aurita*, esta tida como sinonímia de *S. anchovia*. Isso foi contestado (ROSSI-WONGTSCHOWSKI, 1978) e em conseqüência, adotada a denominação *S. brasiliensis* para a espécie que ocorre do Rio de Janeiro para o Sul (FIGUEIREDO & MENEZES, 1978).

Em razão do declínio na exploração da sardinha, por sobre-pesca, a espécie vem sendo submetida ao controle oficial da produção, por intermédio de defeso. O objetivo é a recuperação da biomassa da espécie. Essa proteção implica a proibição da pesca durante 3 a 4 meses (primavera-verão), obviamente coincidentes com a época da desova.

A sardinha é o peixe brasileiro com maior captura, comercializada na forma fresca refrigerada, descongelada e enlatada.

A captura comercial iniciou-se no final da década de 50, com rápido crescimento durante a década de 60 até o pico de produção de 228 mil toneladas em 1973, mantendo-se no patamar de 90-140 mil toneladas nos 14 anos subseqüentes, com brusca queda em 1987, ficando em apenas 32 mil toneladas em 1990 e 17 mil toneladas em 2000. O colapso da produção pesqueira originou-se do fracasso no recrutamento devido ao reduzido cardume em desova, além das condições comerciais adversas na época de

reprodução. Assim, adotou-se um período de defeso mais prolongado para a espécie. Todo este quadro levou à redução da frota pesqueira atual em 50% comparada com a dos anos 80 (IBAMA, 1991; IBAMA, 1992; CERGOLE *et al.*, 2002).

2.2. CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS DA SARDINHA

A importância maior do pescado como alimento é em função de sua proteína, de alto valor biológico, motivado por uma adequada distribuição de aminoácidos essenciais e, quando de origem marinha, ser rica fonte em ácidos graxos polinsaturados da série ômega-3.

2.2.1. FONTE DE PROTEÍNA

O conteúdo protéico do pescado é ao redor de 20% (SILVA & CHAMUL, 2000), quantidade que ocorre também com outros alimentos de origem animal (Tabela 2). A adequação da distribuição de aminoácidos essenciais e da sua digestibilidade conferem à proteína do pescado um valor biológico tão elevado e importante quanto o das principais fontes protéicas (Tabelas 3 e 4).

ITÔ *et al.* (1969) observaram concentrações de proteína em *Sardinella brasiliensis* entre 18,9 e 28,5 g / 100 g na base úmida.

Tabela 2: Composição de diversos tipos de carne (UNITED STATES, 1963)

Tipo de carne	Umidade (%)	Proteínas (%)	Lípides (%)
Bovina	70-73	20-22	4-8
Suína	68-70	19-20	9-11
Frango	73,7	20-23	4,7
Cordeiro	73	20	5-6
Bacalhau	81,2	17,6	0,3
Salmão	64	20-22	13-15

Tabela 3: Aminoácidos essenciais, coeficiente de eficácia protéica (PER), valor biológico e utilização líquida da proteína (NPU) de proteínas de origem animal (FAO, WHO, UNU, 1985).

Aminoácido	Ovo	Leite	Bife	Peixe
Histidina*	22	27	34	35
Isoleucina*	54	47	48	48
Leucina*	86	95	81	77
Lisina*	70	78	89	91
Metionina + Cisteína*	57	33	40	40
Fenilalanina + Tirosina*	93	102	80	76
Treonina*	47	44	46	46
Triptofano*	17	14	12	11
Valina*	66	64	50	61
Aminoácidos essenciais*	512	504	480	485
Conteúdo protéico (%)	12	3,5	18	19
PER	3,9	3,1	3,0	3,5
Valor biológico (em ratos)	94	84	74	76
NPU	94	82	67	79

* mg / g de proteína

Tabela 4: Digestibilidade de várias fontes de proteína (FAO, WHO, UNU, 1985).

Fonte de proteína	Digestibilidade (%)
Ovo	97
Leite e queijo	95
Peixe	94
Arroz branco	88
Aveia	86
Farinha de milho	85
Feijão	78
Arroz integral	75
Milho	70

2.2.2. FONTE DE ÁCIDOS GRAXOS POLINSATURADOS

O conteúdo lipídico do pescado varia entre as espécies e com a época do ano, sendo sensivelmente menor após a desova devido à mobilização de lípidos para a mesma (ITÔ *et al.*, 1969; ROMERO *et al.*, 1996; BANDARRA *et al.*, 1997; GÁMEZ-MEZA *et al.*, 1999). Uma relação inversa entre os lípidos e a umidade é observada em consequência. No caso da sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*), ITÔ *et al.* (1969) relataram variação lipídica de 1,6 a 7,1 g/100g (valores ascendentes do verão para o outono, com máximo em abril/maio, decréscimo até outubro e novamente ascendente até o fim do ano) e LUZIA *et al.* (2003), 4,00 e 10,62 g/100g, no verão e inverno, respectivamente. SILVA *et al.* (1993) relataram lípidos totais entre 2,23 e 3,54 g/ 100 g (Tabela 5).

A fração lipídica do pescado marinho chama a atenção pelo perfil rico em certos ácidos graxos polinsaturados (com até 6 insaturações) de cadeia longa (com até 22 átomos de carbono). São referidos como LCPUFA (*long chain polyunsaturated fatty acids*, ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa) ou simplesmente PUFA. Esses ácidos graxos dividem-se em duas séries: uma derivada de sucessivas elongações e dessaturações, a partir do ácido graxo essencial linoléico (C18:2); e, a outra, formada por processos similares a partir do ácido α -linolênico (C18:3). A série formada a partir do ácido linoléico é chamada ômega-6 (Ω -6), enquanto a oriunda do ácido α -linolênico, é dita ômega-3 (Ω -3). As duas séries competem entre si pelas mesmas enzimas, cujos produtos finais de degradação são os eicosanóides. Os Ω -3 dão origem a eicosanóides com maior atividade vasodilatadora e menor efeito agregador de plaquetas e os Ω -6 degradam-se em eicosanóides com efeitos inversos (ou seja, menor vasodilatação e maior agregação de plaquetas). O mais importante representante da série Ω -6 é o ácido araquidônico (C20:4); em relação à série Ω -3 são os ácidos eicosapentaenóico (EPA, C20:5) e docosahexaenóico (DHA, C22:6). A competição dos PUFA Ω -3 e Ω -6 pela Δ -6 dessaturase é da maior importância, por ser controlada pela

interação entre hormônios e dieta, incluindo a proporção entre os ácidos linoléico (C18:2) e α -linolênico (C18:3) (UAUY & VALENZUELA, 2000).

O EPA e o DHA correspondem em cerca de 15% a 25% do óleo de pescado. Tanto o EPA quanto o DHA podem aliviar desordens devidas à produção excessiva de eicosanóides pró-inflamatórios e agregadores de plaquetas, ao modularem a síntese de ácido araquidônico e reduzirem a colesterolemia e lipoproteínas de baixa densidade (LDL) séricas (VENUGOPAL & SHAHIDI, 1996). Enquanto o EPA está mais relacionado à prevenção das doenças cardiovasculares, o DHA é mais efetivo nos processos de neurogênese, sendo mais importante para o feto e o lactente (UAUY & VALENZUELA, 2000).

A primeira evidência sobre a importância dos PUFA Ω -3 veio com a observação de que os esquimós, apesar de tradicionalmente consumirem grandes quantidades de óleo de mamíferos e pescado “gordo” marinhos, tinham menor tendência à doença coronariana (GROOM, 1993). As fontes de EPA e DHA são o fitoplâncton, a base de toda a cadeia alimentar marinha (CONNOR, 1997).

VISENTAINER *et al.* (2000) analisaram EPA e DHA no olho e no filé de seis espécies da costa brasileira: atum, olho de boi, serra, cavalinha, bonito e sardinha (*Sardinella brasiliensis*). Observaram que, com exceção da sardinha, a concentração de DHA era maior que a de EPA. Também notaram que em quatro espécies (serra, cavalinha, olho de boi e sardinha) ambos os ácidos graxos estavam mais concentrados no olho do que no filé. Encontraram, no filé de sardinha, concentrações de EPA de 18,68 mg e de DHA de 13,77 mg por 100 g de lípidos (Tabela 5).

BADOLATO *et al.* (1994) examinaram a *Sardinella brasiliensis* ao longo do processo de enlatamento, observando rápida migração do óleo de soja (rico em ácido linoléico, C18:2, Ω -6), com predominância do perfil de seus ácidos graxos no produto final. Estes resultados foram posteriormente confirmados por

PÉREZ-OLLEROS *et al.* (1997) e AUBOURG & MEDINA (1997) para a sardinha europeia (*Sardina pilchardus*).

A descoberta dos efeitos funcionais dos PUFAs Ω -3 levou a uma demanda por suplementos alimentares. BADOLATO *et al.* (1991) concluíram que, apesar dos baixos valores de EPA (99 mg/g), os suplementos produzidos a partir de óleo da *Sardinella brasiliensis* apresentaram teores de DHA (155 mg/g) acima do convencionalmente aceito (120 mg/g) para os suplementos.

SILVA *et al.* (1993) verificaram o conteúdo lipídico da *Sardinella brasiliensis* e como ele é influenciado por algumas formas de processamento. Ao contrário de VISENTAINER *et al.* (2000), estes autores encontraram teores de DHA (27,82 – 32,65 g/ 100 g de lípidos) 3-4 vezes maiores que os de EPA (7,88 - 8,21 g/ 100 g de lípidos), confirmando assim os estudos de BADOLATO *et al.* (1991). Porém, os valores encontrados para as concentrações de EPA, DHA e lípidos totais foram um tanto discrepantes do estudo de LUZIA *et al.* (2003), enquanto o teor de lípidos totais variou entre 2,23 e 3,54% do peso úmido. A exemplo do que ocorre no enlatamento, durante processo de fritura há incorporação dos ácidos graxos do óleo de fritura e alteração do perfil de ácidos graxos da sardinha. Já nos processos de cozimento e defumação, há estabilidade no perfil de ácidos graxos, enquanto ocorrem perdas significativas de tocoferóis. Assim, sugere-se que a estabilidade lipídica da *S. brasiliensis* se deva aos tocoferóis, lípidos estes com atividade antioxidante (Tabela 5), conforme os resultados de SILVA *et al.* (1993).

Tabela 5: Ácidos graxos polinsaturados e lípides da sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*).

	<i>ITÔ et al.</i> (1969)	<i>SILVA et al.</i> (1993)	<i>VISENTAINER et al.</i> (2000)	<i>LUZIA et al.</i> (2003)
EPA*	-	7,88 - 8,21	18,68	1,87 - 3,02
DHA*	-	27,82 – 32,65	13,77	10,1 - 11,3
Ω-3*	-	-	32,45	13,4
Ω-6*	-	-	-	1,45 - 2,59
total de lípides**	1,6 - 7,1	2,23 - 3,54	-	4,00 - 10,62

*g/ 100 g de lípides

**g/ 100 g

Ω-3 = ácidos graxos polinsaturados da série ômega-3

Ω-6 = ácidos graxos polinsaturados da série ômega-6

2.3. DETERIORAÇÃO DO PESCADO

Entende-se por deterioração toda mudança nas características organolépticas que levem à rejeição do pescado, por se apresentar impróprio ao consumo. A deterioração é de origem endógena (chamada de química), oriunda dos processos de decomposição após a morte do animal, e também microbiológica, por ação principalmente de bactérias psicrótróficas. A predominância de um ou outro tipo varia devido a fatores como a espécie, a época do ano e os métodos de manuseio e preservação do pescado antes do consumo.

2.3.1. DETERIORAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Logo após a morte, com a paralização dos sistemas de defesa, bactérias localizadas nas guelras, pele e intestinos do pescado utilizam para seu desenvolvimento substâncias de baixo peso molecular (aminoácidos livres, açúcares e bases nitrogenadas), resultando em alterações de odor, cor e textura características (ASHIE *et al.*, 1996).

No início a deterioração é superficial, porém cortes decorrentes da evisceração ou abusos na temperatura de estocagem provocam a invasão em profundidade das bactérias, resultando maior deterioração. A estocagem sob refrigeração favorece o desenvolvimento de bactérias psicróficas, predominando as dos gêneros *Moraxella* e *Pseudomonas*. Uma importante reação é a conversão do óxido de trimetilamina (TMAO, inodoro) à trimetilamina (TMA, principal componente do odor característico do pescado) por ação da trimetilamina oxidase bacteriana ou enzimas endógenas. Outros produtos da deterioração microbiológica incluem gás sulfídrico, mercaptanas, aminas biogênicas, amônia, indol e compostos carbonílicos (ASHIE *et al.*, 1996).

Acredita-se que o pescado oriundo de águas mais frias seja mais susceptível à deterioração durante a estocagem em baixa temperatura, por possuir uma flora contaminante inicial naturalmente psicrófila (WHEATON & LAWSON, 1985). Entretanto, o trabalho de MARRAKCHI *et al.* (1990) não confirma tal fato de forma definitiva.

O método comumente utilizado para a conservação do pescado é através do gelo, e a qualidade da água utilizada na sua produção pode ser um fator potencial de contaminação do pescado. PIMENTEL (2000) mostrou que, pelo menos no que tange ao gelo utilizado em supermercados da Grande São Paulo-SP, ocorria a contaminação do gelo a partir do pescado e não o contrário. Paralelamente à flora microbiana deteriorativa saprofítica, podem ocorrer espécies patogênicas como resultado do manuseio do pescado, a bordo ou em terra, e também veiculadas pelo gelo. PIMENTEL (2000) isolou *Salmonella sp* tanto no pescado como no gelo empregado na refrigeração.

GENNARI *et al.* (1999) e ABABOUCHE *et al.* (1996) estudaram as alterações microbiológicas na sardinha europeia (*Sardina pilchardus*) mantida em gelo, e GARCÍA & CARECHE (2002) consideraram seu armazenamento em mistura de gelo e água salgada superior, química, sensorial e microbiologicamente.

WATANABE (1965) demonstrou a importância da descontaminação microbiológica prévia ao congelamento da *Sardinella brasiliensis* a -18°C , já que 40% da flora total da contaminação inicial podem contribuir para a posterior rancificação do produto congelado.

Quando é usado sal na preservação da sardinha, como é o caso da salmourada e anchovada, a penetração nos tecidos inibe os fenômenos de deterioração microbiológica e autolítica. A biota Gram-negativa de deterioração natural da *Sardina pilchardus* não é halotolerante e sua composição é grandemente influenciada pela atividade de água do produto. Ao longo do processo de maturação (descrito por MENDES *et al.*, 1999), que pode durar até 240 dias, é gradativamente substituída por micrococos halotolerantes, fungos, microrganismos formadores de esporos e bactérias produtoras de ácido lático. Por demanda de mercado, às vezes o produto é oferecido ao consumidor antes da maturação completa, o que exige uma garantia de segurança do produto. Foi observado que um período mínimo de maturação de 90 dias é seguro do ponto de vista da potencial sobrevivência de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* Enteritidis (ARKOUDELOS *et al.*, 2003).

SLABYJ & TRUE (1978) observaram baixas contagens de bactérias viáveis em sardinha do Maine (*Clupea harengus*) preservada em salmoura, concluindo que a deterioração não era predominantemente de origem bacteriana.

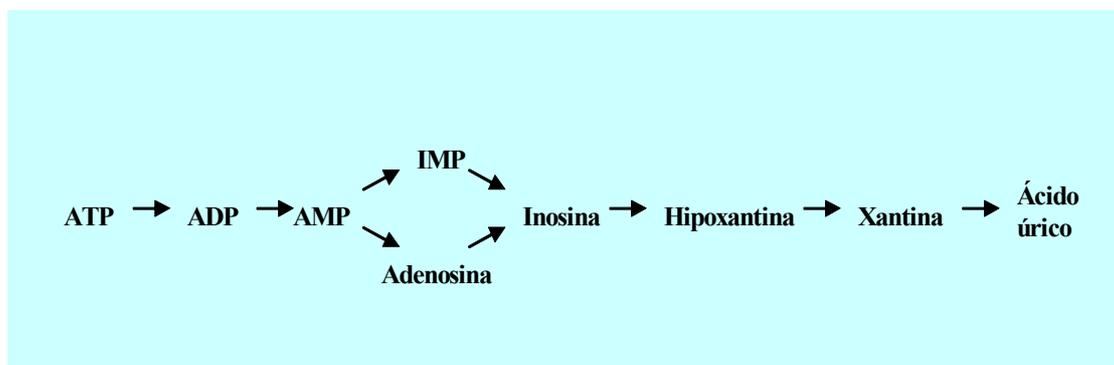
2.3.2. DETERIORAÇÃO QUÍMICA

A deterioração química envolve principalmente processos de autólise e de oxidação lipídica.

2.3.2.1. DETERIORAÇÃO AUTOLÍTICA

Embora a deterioração do pescado seja atribuída à atividade de microrganismos, o processo na verdade inicia-se por ação de enzimas endógenas dos músculos ou que extravazam das vísceras. Traumas mecânicos originados na captura, que variam segundo a tecnologia empregada, no manuseio (evisceração, por exemplo) e estocagem a bordo, e na descarga em terra e distribuição do pescado, contribuem para que as enzimas contidas nas vísceras tenham acesso ao músculo, agindo autoliticamente. A atividade autolítica ocorre porque, após a morte, com a paralização da corrente sangüínea e conseqüentemente do aporte de glicose e outras matérias-primas para a produção de adenosina trifosfato (ATP), os tecidos ficam privados da principal fonte energética para os processos metabólicos e as células gradualmente perdem a capacidade de manter a integridade (Figura 2).

Figura 2: Catabolismo de nucleotídeos (ASHIE *et al.*, 1996; SPINELLI, 2000)



ATP= Trifosfato de adenosina; ADP= Difosfato de adenosina; AMP= Monofosfato de adenosina; IMP= Monofosfato de inosina

Até à formação de hipoxantina, o processo ocorre com relativa rapidez e é autolítico. A partir da transformação de hipoxantina em xantina, começam a atuar as enzimas bacterianas e o processo torna-se mais lento.

ATP e ADP impedem fisiologicamente a interação entre actina e miosina. A depleção desses dois nucleotídeos provoca ligação cruzada permanente de actomiosina, que se traduz pela rigidez muscular. Dentre as alterações bioquímicas potencialmente advindas da autólise do pescado, merecem destaque a peroxidação lipídica, que pode ser iniciada por lipoxigenases, peroxidases e enzimas microssomais, levando a alterações de palatabilidade, bem como as de textura, causadas por colagenases e catepsinas (ASHIE *et al.*, 1996).

Vários fatores concorrem no processo de autólise: temperatura e tempo de estocagem, estado nutricional da espécie quando da captura, composição química da espécie e estágio do ciclo reprodutivo. ANDERSEN *et al.* (1997) observaram maior autólise em trutas com uma dieta mais rica em lípidos. BENJAKUL & BAUER (2001) concluíram que o aumento do número de ciclos de congelamento seguido de descongelamento acarretava maior atividade de α -glicosidase e β -N-acetil-glicosaminidase, enquanto GRIGORAKIS *et al.* (2003) perceberam maior atividade autolítica no verão em relação ao inverno.

2.3.2.2. DETERIORAÇÃO OXIDATIVA LIPÍDICA

Este tipo particular de deterioração merece atenção especial. Afeta direta e principalmente ácidos graxos polinsaturados como o EPA e o DHA, anulando o seu valor nutricional e funcional, além da produção de compostos tóxicos.

Lípidos estão sujeitos à ação de espécies químicas altamente reativas, como oxigênio, radicais livres ou enzimas (principalmente lipoxigenases).

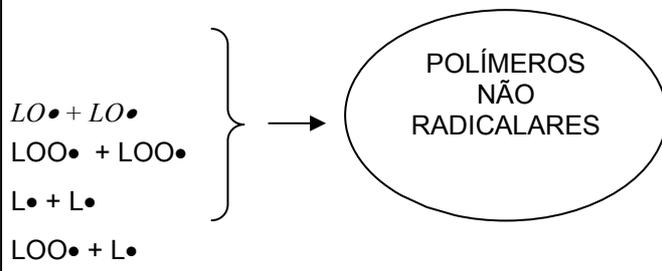
Como resultado dessas reações, formam-se hidroperóxidos instáveis, que tendem a se decompor em radicais peróxi ou alcóxi. Esta fase inicial do evento é conhecida como peroxidação lipídica. Os peróxidos, por sua vez, oxidam as substâncias lipídicas ou se convertem a compostos carbonílicos, mais estáveis, sendo o principal deles o aldeído malônico (AM). Tais compostos carbonílicos formados são genericamente denominados *substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico - TBARS (thiobarbituric acid reacting substances)*. O AM pode interagir com outros compostos tais como aminas, nucleosídeos, ácidos nucléicos, proteínas, aminoácidos ou outros aldeídos, também produtos finais da oxidação lipídica (SHINMOTO *et al.*, 1992; AUBOURG, 1993; SIMEONIDOU *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 1999).

As TBARS têm sido vastamente usadas como indicadoras da peroxidação lipídica em alimentos, e de forma particular em pescado.

A peroxidação lipídica é um fenômeno inevitável, intimamente ligada à rancidez e capaz de propagar-se por reação em cadeia. Tal reação em cadeia também é dita autoxidação, porém necessita de um catalisador que converta o oxigênio triplete em singlete. Isto pode ocorrer via radiações, ou por agentes redutores, enzimáticos ou não. Uma vez iniciada por algum catalisador, o fenômeno, aí sim, torna-se auto-oxidativo, visto que os produtos da reação catalisarão novas reações, em geral descritas em termos de iniciação, propagação e término (Figura 3).

Na iniciação ocorre a subtração de um átomo de hidrogênio de um grupo metilênico entre duas duplas ligações cis de um ácido graxo insaturado, com a formação de um radical alílico estável com deslocamento de elétrons ao longo de três átomos de carbono. Na fase de propagação, o radical lipídico formado na iniciação reage com oxigênio molecular para formar radicais peroxila que, por sua vez, reagirão com as cadeias laterais de outras moléculas de ácidos graxos polinsaturados, formando hidroperóxidos lipídicos e radicais lipídicos, estes últimos sofrendo uma estabilização de ressonância que resulta numa mistura de hidroperóxidos isoméricos contendo grupos de dienos conjugados. Os hidroperóxidos recém-formados podem subtrair átomos de hidrogênio de

Figura 3: Peroxidação lipídica (KUBOW, 1992)

Iniciação	$X\bullet + LH \rightarrow L\bullet + XH$
Propagação	$L\bullet + O_2 \rightarrow LOO\bullet$ $LOO\bullet + LH \rightarrow L\bullet + LOOH$
Término	 <p> $LO\bullet + LO\bullet$ $LOO\bullet + LOO\bullet$ $L\bullet + L\bullet$ $LOO\bullet + L\bullet$ </p> <p>POLÍMEROS NÃO RADICALARES</p>

$X\bullet$ = Espécie química altamente reativa; LH = Ácido graxo insaturado com átomo de hidrogênio passível de ser subtraído de cadeia lateral; $L\bullet$ = Radical lipídico; $LOO\bullet$ = Radical peroxila; $LOOH$ = Hidroperóxido lipídico; $LO\bullet$ = Radical alcoxila.

outras cadeias laterais de ácidos graxos polinsaturados e assim propagar a reação. A subtração de átomos de hidrogênio por radicais peroxila é o passo mais lento e limitante da propagação. O fenômeno entra em fase de término com a remoção de radicais livres, seja pela combinação de radicais formando polímeros não-radicalares (importante em baixas concentrações de oxigênio no interior do sistema lipídico) ou pela presença de hidrogênio ou outro doador de elétrons (anti-oxidantes) (KUBOW, 1992).

É reconhecida na oxidação de ácidos graxos insaturados a formação de aldeído malônico, principal produto secundário na oxidação lipídica, considerado potencialmente cancerígeno e/ou mutagênico. Por mecanismos semelhantes, o colesterol também pode ser concomitantemente oxidado, formando óxidos com propriedades citotóxicas, aterogênicas, cancerígenas e mutagênicas. A oxidação do colesterol é melhor observada no processamento e/ou estocagem (MORALES-AIZPURÚA & TENUTA-FILHO, 2002).

Espécies de sardinha e afins têm sido estudadas quanto à estabilidade oxidativa de sua fração lipídica, quando mantidas estocadas sob refrigeração ou congelamento, e também durante o processamento. AUBOURG *et al.*

(1997) observaram para *Sardina pilchardus* estocada a 0°C, teores de 2,04; 6,43; 8,03 e 4,70 mg AM/ kg, respectivamente para os períodos de estocagem em gelo de 1, 3, 9 e 16 dias, enquanto SIMEONIDOU *et al.* (1998) relataram 2,46 e 18,32 mg AM/ kg, para a sardinha *Sardine mediterraneus* estocada inteira, por 6 dias. PACHECO-AGUILAR *et al.* (2000) detectaram forte oxidação lipídica na sardinha *Sardinops sagax caerulea* a partir do quinto dia de estocagem a 0°C, com índice de peróxido próximo de 35 mEq O₂/ kg e TBARS acima de 35 mg AM/ kg, no 11° dia. GARCÍA & CARECHE (2002) compararam três sistemas distintos de refrigeração para a sardinha europeia (*Sardina pilchardus*). Propuseram a conservação em mistura de água salgada e gelo, com reposição periódica do gelo durante toda a distribuição, do desembarque até ao consumidor final. Observaram para este sistema de conservação níveis de TBARS de 5 µmol/ kg (0,36 mg AM/ kg) aos 8 dias de estocagem e 10 µmol/ kg (0,72 mg AM/ kg) aos 13 dias.

WATANABE (1965) estudou o armazenamento da sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*) a -18°C e concluiu que, do ponto de vista comercial, o produto conservou-se em boas condições por 2 meses. Este período que coincidiu com o pico do índice de peróxido (cerca de 30 milimoles/ 1000 g de óleo) e as primeiras manifestações organolépticas de rancidez. Com o uso do anti-oxidante BHT (butil-hidroxitolueno), o período de conservação foi prolongado por mais 30 dias.

ROBLES-MARTINEZ *et al.* (1982) propuseram o valor de TBARS de 18 µmol/ kg (1,30 mg AM/ kg) como indicador geral de rancidez em pescado congelado, enquanto KELLEHER *et al.* (1994) correlacionaram valores de até 6 µmol AM/ kg (0,43 mg AM/ kg) com odor suave de *mackerel* e de 6 a 10 µmol AM/ kg (0,43 a 0,72 mg AM/ kg) com odor associado à rancidez.

CARECHE & TEJADA (1990) encontraram os seguintes valores de TBARS na *Sardina pilchardus* R. estocada a -18°C: 5 µmol AM/ 100 g (3,6 mg AM/ kg) aos 30 dias; 4,5 µmol AM/ 100 g (3,2 mg AM/ kg) aos 60 dias; 5 µmol AM/ 100 g (3,6 mg AM/ kg) aos 120 dias; 14 µmol AM/ 100 g (10 mg AM/ kg)

aos 180 dias; 7 $\mu\text{mol AM/ 100 g}$ (5 mg AM/ kg) aos 270 dias e 7 $\mu\text{mol AM/ 100 g}$ (5 mg AM/ kg) aos 360 dias. Com referência a esta mesma espécie, AUBOURG & MEDINA (1997) não conseguiram encontrar correlação significativa entre as medições das TBARS e da concentração de compostos fluorescentes, tendo sido a matéria-prima previamente congelada (durante até 12 meses) e então processada na forma enlatada. Por outro lado, AUBOURG *et al.* (1998) estabeleceram forte correlação entre a fluorescência e o tempo de estocagem a -18°C ($R=0,92$), observando valores de TBARS de 1,6 mg AM/ kg, aos 15 dias, e 5,0 mg AM/ kg, aos 4 meses de estocagem.

SLABYJ & TRUE (1978) pesquisaram a sardinha do Maine (*Clupea harengus*) submetida à salga, antes do enlatamento. Verificaram níveis de TBARS entre 0,22 mg AM/ kg (zero dia de estocagem, a $7,2^{\circ}\text{C}$, em salmoura a 3%) e 5,00 mg AM/ kg (3 dias de estocagem, a $0,6^{\circ}\text{C}$, em salmoura a 12%).

MARUF *et al.* (1990) demonstraram, em relação ao *mackerel* submetido a salmouras a 5 e 15%, teores de TBARS variando de 5,5 a 25,2 mg AM/ kg para períodos de estocagem de zero a 20 semanas, a 30°C . Os autores relataram ainda que os valores de TBARS aumentaram conforme era maior a concentração salina.

AYENSA *et al.* (1993) monitoraram o processo tradicional de produção de sardinha anchovada, a partir da sardinha europeia *Sardina pilchardus*. Encontraram valores de TBARS acima de 50 mg AM/ kg (que decaíram para cerca de 5 mg/ kg ao final do processamento de 180 dias) e índices de peróxidos de até 150 mEq de peróxidos/ kg, por volta do 40° dia de maturação. Foi verificada ainda intensa redução nos teores de proteína, de 60 para 40 g/ 100 g; e no de lípidos, de 30 para 20 g/ 100 g.

HERNÁNDEZ-HERRERO *et al.* (1999) estudaram o processo de maturação de anchova (*Engraulis encrasicolus*) em salmoura durante um período de 9 semanas. Observaram quantidades de TBARS de 10,75 mg AM/ kg (antes do processamento) até 13,46 mg AM/ kg (2^{a} e 4^{a} semanas).

2.4. SUBSTÂNCIAS QUE REAGEM COM O ÁCIDO TIOBARBITÚRICO – TBARS COMO INDICADOR DA QUALIDADE DO PESCADO

Diferentemente do N-BVT, que é um índice com força legal, não há para o de TBARS quantidade estabelecida acima da qual o pescado está oxidado sob o ponto de vista lipídico e/ou impróprio ao consumo.

O teste das TBARS é vastamente utilizado para avaliar peroxidação lipídica em produtos cárneos frescos e congelados, mas não serve para produtos fritos nem liofilizados. TBARS são produzidas em quantidades consideráveis a partir de ácidos graxos contendo três ou mais insaturações. O fundamento teórico proposto para o método é a formação de um cromógeno róseo a partir da condensação de duas moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) com uma de aldeído malônico (WILKINSON *et al.*, 2001), muito embora possa haver a formação de cromógenos alaranjados ou amarelos por interferência de outros compostos (GUILLÉN-SANS & GUZMÁN-CHOZAS, 1998).

A reação ocorre em meio ácido (pH 1-2) e alta temperatura (cerca de 100°C) visando a aumentar sua velocidade e sensibilidade. Como padrão para análise quantitativa usa-se o 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), que libera etanol e aldeído malônico após hidrólise ácida. Outros aldeídos não provenientes da degradação lipídica (acetaldeído e produtos de reações de Maillard) podem reagir com o TBA, especialmente quando a concentração de aldeído malônico é pequena. Sacarose e glicose, dentre outros açúcares, podem apresentar sinergismo na formação de TBARS, desta forma sobrestimando o resultado do teste. Além disto, o aldeído malônico pode não reagir com o TBA estando complexado com outros compostos (SILVA *et al.*, 1999).

Mesmo com as limitações inerentes, a determinação de TBARS é a mais empregada em estudo sobre pescado, tanto pela simplicidade quanto pela eficiência com que se correlaciona com os eventos oxidativos lipídicos.

Dentre os diversos protocolos possíveis para a aplicação do método, a extração da amostra é feita em ácido tricloroacético (TCA) previamente à reação com TBA, o que parece ser o mais adequado por evitar a exposição da matriz cárnea diretamente ao tratamento térmico. Interferências por proteínas, pigmentos, aldeído fórmico e íons metálicos parecem desprezíveis (FERNÁNDEZ *et al.*, 1997). O tempo de aquecimento do reativo (TBA) e amostra varia com diversos autores, entre 5 e 60 minutos (BENZIE, 1996).

No protocolo usado em nosso laboratório, o procedimento atende ao proposto por VYNCKE (1970) - inclusive com a presença de antioxidante BHT indicada por CRACKEL *et al.* (1988) - onde o mesmo extrato de TCA obtido para determinação de N-BVT é usado para quantificar TBARS.

2.5. NITROGÊNIO DE BASES VOLÁTEIS TOTAIS – N-BVT COMO INDICADOR DA QUALIDADE DO PESCADO

O limite estabelecido por lei para nitrogênio de bases voláteis totais é 30 mg N-BVT / 100 g. Acima disso o pescado não está apto ao consumo (SÃO PAULO, 1991).

O método quantifica, além das bases já presentes no pescado fresco, produtos da degradação microbiológica e/ou autolítica de compostos nitrogenados.

As principais bases nitrogenadas envolvidas são amônia, monometilamina (MMA), dimetilamina (DMA) e trimetilamina (TMA), encontradas no músculo do pescado em proporções variáveis segundo a espécie e o estado de deterioração da amostra. O pH do músculo encontra-se entre 7,0 e 7,5 (exceto em graus muito avançados de deterioração) e, sob tais condições, estes compostos, que num pH elevado são gases à temperatura ambiente, encontram-se em sua forma iônica e são completamente solúveis em água. O método fundamenta-se na elevação do pH para levar os

compostos nitrogenados à sua forma não-iônica, volátil. No método por destilação, o pH da solução deve ser de no mínimo 10,6 para que as bases estejam 99% livres, o que se consegue com adição de solução de hidróxido de sódio ao extrato de músculo de pescado em ácido tricloroacético previamente obtido (GIANNINI, 2003).

O método de quantificação do N-BVT é preconizado nos procedimentos de fiscalização da qualidade do pescado por diversos organismos oficiais, como o LANARA – Laboratório Nacional de Referência Animal (BRASIL, 1981), Instituto Adolfo Lutz (1985), AOAC - Association of Official Analytical Chemists (1980) e Analytical Methods Committee (1979). É a técnica não-sensorial mais usada na garantia de qualidade industrial (DAVIS, 1995).

Como as bases voláteis totais incluem a amônia, que está presente no pescado fresco, os valores iniciais são bem acima de zero. O músculo branco pescado magro, por exemplo, apresenta N-BVT ao redor de 20 mg/ 100 g. À medida que o pescado se degrada, há aumento exponencial no valor de N-BVT e da contagem bacteriana (DAVIS, 1995).

BERAQUET *et al.* (1985) avaliaram a qualidade da sardinha brasileira *Sardinella brasiliensis*, fresca e processada termicamente, através de métodos químicos. Os autores relataram quantidades de N-BVT entre 21-30 mg/ 100 g para um período de estocagem de 14 dias a 0-4°C, em relação à sardinha fresca.

A sardinha européia *Sardina pilchardus* tem sido muito estudada quanto à estocagem em gelo. MARRAKCHI *et al.* (1990), trabalhando com espécimes capturados em Agadir (Marrocos), notaram uma vida-de-prateleira de 9 dias, levando de 10 a 15 dias para atingir o valor de 30 mg N-BVT/ 100 g. ABABOUCHE *et al.* (1996) registraram dois padrões de evolução do N-BVT: um mais rápido, atingindo 45 mg/ 100 g em 200 horas, atribuído ao crescimento de *Shewanella putrefaciens*; e outro, menos intenso, chegando a 30 mg/ 100 g após 400 horas, devido ao que tudo indicava ao desenvolvimento de *Pseudomonas*, demonstrando assim a influência microbiológica na produção

de bases voláteis. AUBOURG *et al.* (1997) registraram 26,67 mg/ 100 g, após 9 dias a 0°C, e 39,78 mg/ 100 g, após 1 dia a 15°C. GARCÍA & CARECHE (2002) ao proporem a conservação da referida sardinha em mistura de água salgada e gelo, relataram valores de N-BVT de 10 mg/ 100 g, aos 8 dias de estocagem, e 15 mg/ 100 g, aos 13 dias, durante o verão.

Para a sardinha congelada, AUBOURG *et al.* (1998) registraram resultados de N-BVT variando de 24,1 a 35,6 mg/ 100 g, respectivamente para 8 e 12 meses de estocagem, em sardinha europeia (*Sardina pilchardus*), a -18°C. Curiosamente, os valores decresceram para períodos posteriores a 1 ano, sendo registrados 29,6 e 30,2 mg/ 100 g para os períodos de estocagem de 18 e 24 meses, respectivamente. Analogamente, WATANABE (1965) estudou a sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*) estocada a -18°C, encontrando valor máximo de 25 mg N-BVT/ 100 g aos 100 dias de estocagem.

HERNÁNDEZ-HERRERO *et al.* (1999), examinando o processo de cura da anchova (*Engraulis encrasicolus*) em salmoura, verificaram teores de N-BVT variando entre 19,89 e 35,64 mg/ 100 g, respectivamente para os períodos de maturação de 1 e 9 semanas. O valor de 30 mg/ 100 g foi ultrapassado após 8 semanas de processamento.

2.6. AÇÕES TÓXICA E ANTI-NUTRICIONAL DO ALDEÍDO MALÔNICO

A produção de compostos carbonílicos biologicamente ativos a partir da peroxidação lipídica em alimentos e em sistemas vivos já é conhecida há muito tempo. Dentre tais compostos contam-se acroleína, 4-hidroxil-2-nonenal e aldeído malônico (AM). O AM está envolvido em processos de envelhecimento, mutagênese e carcinogênese. A toxicidade de aldeídos se deve à sua capacidade de formar ligações cruzadas com proteínas e covalentes com ácidos nucleicos (AUBOURG, 1993; MIYAKE & SHIBAMOTO, 1996).

Normalmente acreditava-se que no mecanismo de formação de AM a partir de ácidos graxos são necessárias pelo menos três insaturações. No entanto, MIYAKE & SHIBAMOTO (1996) chegaram à formação de AM também a partir de ácidos graxos com menos de três insaturações, como o ácido oléico (monoinsaturado), sugerindo uma possível via metabólica alternativa. Outra hipótese levantada seria a da formação de certos radicais a partir da peroxidação lipídica e a combinação destes compostos para formar o AM.

A capacidade do AM para modificar biomoléculas pode ser afetada pelo balanço entre sua formação e degradação. Têm sido propostas rotas catabólicas para o AM, mediadas por aldeído-desidrogenases ou peroxidases (ZHANYUAN & BRAMLAGE, 1993).

A peroxidação lipídica leva à diminuição da lisina biodisponível (GIRÓN-CALLE *et al.*, 2002). O AM liga-se a ϵ -amino grupos livres de resíduos de lisina nas proteínas alimentares, das quais é liberado no decorrer do processo digestivo na forma de N- ϵ -(2-propenal)-lisina. Menos de 10% do AM encontra-se em estado livre nos alimentos (PICHE *et al.*, 1988).

Dos resíduos de aminoácidos pesquisados, a lisina biodisponível mostrou-se um indicador sensível para avaliar a alteração protéica durante a estocagem (EL-LAKANY & MARCH, 1974). Os resíduos de metionina oxidam-se muito mais rapidamente do que os de lisina, porém num grau bem menor. As perdas de triptofano sob as condições de processamento e estocagem são desprezíveis quando comparadas às de lisina (NIELSEN *et al.*, 1985).

A concentração de AM diminui com os tratamentos culinários, provavelmente devido à sua liberação da estrutura de N- ϵ -(2-propenal)-lisina e posterior volatilização (KUBOW, 1992). Estudos sobre a toxicidade crônica do AM, por via oral, indicam mudanças patológicas dose-dependentes no fígado (KUBOW, 1990).

O fato de menos de 10% do aldeído malônico encontrar-se em estado livre nos alimentos levanta a preocupação de uma possível carcinogenicidade oculta, embora os trabalhos de PICHE *et al.* (1988) e DRAPER & HADLEY (1990) indiquem que a N-ε-(2-propenal)-lisina não é mutagênica e extensivamente excretada por uma rota que não gera AM no estado livre.

Os produtos secundários da peroxidação lipídica ingeridos são absorvidos, especialmente no fígado, e a toxicidade dos óleos oxidados está mais relacionada com a quantidade de produtos secundários do que de hidroperóxidos. Outros aldeídos mais tóxicos, como os 4-hidróxi-aldeídos, podem estar presentes em grandes quantidades sem alterar os resultados das análises de TBARS. O 4-hidróxi-nonenal, por exemplo, é forte eletrófilo e reage com grupos tiol da glutathione, inibindo a divisão celular. Grande e imediato aumento na concentração de AM foi verificado na urina de ratos que ingeriram uma dieta rica em óleo de fígado de bacalhau (KUBOW, 1992).

Além da N-ε-(2-propenal)-lisina, mais dois adutos de AM foram identificados: bases de Schiff de iminopropeno e compostos 4-substituídos 1,4-diidropiridina-3,5-dicarbaldeído. As bases de Schiff de iminopropeno são prontamente hidrolisadas no pH gástrico. Os compostos 4-substituído 1,4-diidropiridina-3,5-dicarbaldeído são formados pela reação do AM com amino grupos na presença de alcanais. Foi pesquisado o produto de tal reação com albumina sérica bovina ou polilisina, denominado N,N'-di-(4-metil-1,4-diidropiridina-3,5-dicarbaldeído)-lisina, ou simplesmente MDDL. Os resultados mostraram que o MDDL não é absorvido na parede intestinal nem pode ser hidrolisado à lisina livre nos tecidos. Esta classe de adutos de AM tem dois grupos aldeído que podem reagir com outros amino grupos, causando ligações cruzadas de proteínas. São formados durante o consumo excessivo de etanol e têm estrutura altamente imunogênica e tóxica. A exemplo dos N-2-propenais, sua formação é provavelmente irreversível e as proteínas afetadas têm de ser resintetizadas (GIRÓN-CALLE *et al.*, 2003)

Embora grandes alterações patológicas devido à ingestão de produtos da oxidação lipídica sejam improváveis nas condições normais de alimentação

humana, ações metabólicas mais sutis destes compostos sobre o estado nutricional da vitamina E, enzimas metabolizadoras de drogas, atividade plaquetária, metabolismo de lipoproteínas e atividade mutagênica ainda não podem ser descartadas (KUBOW, 1992).

3.OBJETIVOS

Empregando as TBARS e o N-BVT como indicadores, avaliar as condições de consumo em relação à:

- Sardinha fresca comercializada no mercado atacadista;
- Sardinha fresca e descongelada comercializada em feira-livre, respectivamente antes e durante o período de defeso da referida espécie; e,
- Sardinha processada, comercializada em supermercado.

4.MATERIAL E MÉTODOS

4.1.MATERIAL

Os reagentes utilizados tinham grau analítico compatível com a metodologia empregada.

Amostras, comercialmente frescas, de sardinha-verdadeira (*Sardinella brasiliensis*) foram obtidas em São Paulo-SP, na Companhia de Entrepósitos e Armazens Gerais do Estado de São Paulo (CEAGESP) (outubro de 2003) e em feiras-livres (Zona Oeste: bairros de Pinheiros, Butantã e Rio Pequeno).

Na CEAGESP, as amostragens contaram com as facilidades oferecidas pelo Serviço de Inspeção Federal (S.I.F.) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, realizadas tão logo se deu a “retirada do lacre” dos caminhões transportadores de pescado, sob fiscalização oficial. Os portos de desembarque das amostras foram Santos e São Sebastião - SP, Rio de Janeiro-RJ e Itajaí-SC.

Nas feiras-livres, as amostragens foram realizadas em setembro-novembro de 2001 e janeiro-fevereiro de 2002, respectivamente nos períodos antes do defeso e de defeso da espécie.

Os produtos preservados derivados de sardinha – sardinha salmourada e sardinha anchovada mantida em óleo – foram obtidos em supermercados localizados nos bairros mencionados anteriormente.

Cerca de quinze espécimes de sardinha (aproximadamente 500 g) compuseram cada amostra, depois de serem lavados previamente, descamados, decapitados, eviscerados, filetados e, finalmente, triturados e homogeneizados até formarem uma pasta homogênea. No caso das amostras de sardinha salmourada, os procedimentos que antecederam as análises foram: lavagem, ou não, com água (durante 2 minutos, em água potável corrente), para retirada do excesso de sal superficial, após o que foram

igualmente triturados e homogeneizados. No caso das sardinhas anchovadas, procedeu-se apenas à drenagem do óleo de cobertura.

4.2.MÉTODOS

4.2.1. ANÁLISE DAS SUBSTÂNCIAS QUE REAGEM AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS)

Foi empregado o método citado por VYNCKE (1970), que envolve a extração da amostra (10 g) em ácido tricloroacético (concentração final de 7,5%), filtração em papel de filtro e leitura a 538 nm. Utilizou-se anti-oxidante BHT, conforme indicado por CRACKEL *et al.* (1988), para evitar a oxidação lipídica durante os procedimentos que antecedem à quantificação.

4.2.2. ANÁLISE DO NITROGÊNIO DE BASES VOLÁTEIS TOTAIS (N-BVT)

O método utilizado baseou-se no indicado pelo LANARA (BRASIL, 1981), que propõe a destilação em meio alcalino por arraste a vapor, empregando 10 mL do extrato usado para a determinação das TBARS.

4.2.3. ANÁLISE DE UMIDADE

Conforme o método adotado pelo LANARA (BRASIL, 1981), o qual quantifica as substâncias voláteis a 105°C, por gravimetria.

4.2.4. ANÁLISE DA LISINA BIODISPONÍVEL

A amostra foi previamente desengordurada pelo método de BLIGH & DYER (1959). O solvente foi eliminado por evaporação à temperatura ambiente e a amostra seca e desengordurada, triturada em *gral.* Procedeu-se à análise de lisina biodisponível pelo método de VIGO *et al.* (1992), dissolvendo-se a amostra seca, desengordurada e triturada em solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 10%, em concentrações entre 1 e 10 mg de proteína por mL de solução. Construiu-se uma curva-padrão de caseína e considerou-se o quociente mg de lisina / mg de caseína igual a 0,08484 (FERRER *et al.*, 2003).

A concentração de proteína em solução foi analisada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1980).

4.2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Procedeu-se à análise de variância (ANOVA) utilizando-se o programa de computador Excell da Microsoft ($p = 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SARDINHA FRESCA COMERCIALIZADA NO MERCADO ATACADISTA

A avaliação das condições de consumo da sardinha fresca no comércio atacadista, desembarcada na CEAGESP, expressada pelas substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) e nitrogênio de bases voláteis totais (N-BVT), está indicada na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha fresca desembarcada na CEAGESP^a

Amostragens	TBARS (mg/kg)^b	N-BVT (mg/ 100 g)	Umidade (g/100g)	Portos de desembarque
1	0,05 ± 0,00	14,51 ± 0,79	77,16 ± 0,84	Itajaí - SC
2	0,08 ± 0,00	14,92 ± 1,36	77,42 ± 0,53	Itajaí - SC
3	0,13 ± 0,01	15,89 ± 1,20	77,45 ± 0,22	Itajaí - SC
4	0,10 ± 0,00	12,81 ± 0,79	77,71 ± 0,65	Itajaí - SC
5	0,11 ± 0,00	15,86 ± 1,32	74,29 ± 0,40	Itajaí - SC
6	0,15 ± 0,00	17,40 ± 0,79	75,01 ± 0,14	Itajaí - SC
7	0,10 ± 0,01	16,08 ± 0,80	75,89 ± 1,44	Itajaí - SC
8	0,19 ± 0,01	18,91 ± 1,35	77,45 ± 1,02	Itajaí - SC
9	0,08 ± 0,01	17,09 ± 1,44	77,76 ± 1,33	Itajaí - SC
10	0,42 ± 0,01	14,40 ± 0,80	78,36 ± 0,19	Santos - SP
11	0,08 ± 0,00	14,83 ± 1,35	79,84 ± 0,21	S. Sebastião - SP
12	0,02 ± 0,00	11,47 ± 0,76	79,08 ± 0,60	Santos - SP
13	0,08 ± 0,00	13,69 ± 0,92	77,55 ± 0,51	Itajaí - SC
14	0,27 ± 0,01	14,99 ± 1,36	77,07 ± 0,23	Itajaí - SC
15	0,27 ± 0,01	14,62 ± 0,79	78,89 ± 0,31	Itajaí - SC
16	0,29 ± 0,00	16,71 ± 1,39	78,62 ± 0,33	Santos - SP
17	0,71 ± 0,01	17,17 ± 1,32	78,45 ± 0,24	Itajaí - SC
18	0,09 ± 0,00	22,19 ± 0,77	79,57 ± 0,08	Rio de Janeiro - RJ
Valor mínimo	0,02	11,47	74,29	
Valor máximo	0,71	22,19	79,84	
Valor médio	0,18	15,75	77,64	
Desvio-padrão	0,17	2,39	1,46	
Coefficiente de variação (%)	93,79	15,17	1,88	

(a) Média±desvio-padrão; (b) Expressas em aldeído malônico

Os resultados obtidos (Tabela 6) revelaram teores médios de TBARS de $0,18 \pm 0,17$ mg AM/kg (n=18). Duas amostras apenas, ou 11,1% das 18 analisadas, tinham seus valores acima de 0,30 mg AM/kg, sendo que 11 delas, ou 61,1%, estavam abaixo de 0,15 mg AM/kg. Não foram encontrados na literatura estudos indicando níveis de TBARS na sardinha brasileira *Sardinella brasiliensis*, quando mantida sob refrigeração.

A oxidação lipídica é uma das principais reações de deterioração do pescado, pelas conseqüências inerentes – antinutricionais, comprometimento sensorial e toxicológicas. A presença de aldeído malônico em pescado é interpretada como indicativa da ocorrência de oxidação lipídica, como produto secundário. Essa oxidação manifesta-se muito mais no pescado quanto maior for seu conteúdo em lípidos, principalmente pela maior quantidade de substrato oxidável – ácidos graxos insaturados. A sardinha estudada tem teores lipídicos não superiores a 7 g / 100 g, segundo os estudos feitos por ITÔ *et al.* (1969), abaixo dos de muitas espécies de peixes pelágicos como o arenque, cujos níveis ultrapassam a 20 g/ 100 g.

A sardinha examinada está sujeita à oxidação de sua fração lipídica na dependência de seu histórico, como matéria-prima, e dos tratamentos recebidos, principalmente: manuseio e estocagem a bordo da embarcação pesqueira, tempo de estocagem, desembarque em terra e distribuição para o mercado visando à comercialização, sob refrigeração, ou à industrialização, onde pode ser congelada ou enlatada.

Como foi dito anteriormente, não há na literatura uma quantidade estabelecida de TBARS, definindo exatamente a ocorrência de oxidação lipídica, a partir da qual o pescado não pode ou não deve ser consumido, sob pena de ingestão de compostos tóxicos formados. Valores de TBARS de até 6 μmol de AM/ kg (0,43 mg AM/ kg) correlacionaram-se com odor suave de filés de *mackerel*, e de 6 a 10 μmol de AM/ kg (0,43 a 0,72 mg AM/kg) com o de odor a ranço, segundo KELLEHER *et al.* (1994). ROBLES-MARTINEZ *et al.*

(1982) propuseram 1,30 mg AM/kg como indicador geral de rancidez para pescado congelado.

Levando em conta os estudos de KELLEHER *et al.* (1994), os resultados de TBARS da sardinha, contidos na Tabela 6, são favoravelmente inferiores a 0,43 mg AM/ kg, portanto com frescor desejável.

Os resultados referentes ao N-BVT, na Tabela 6, também confirmam a adequação da sardinha estudada para o consumo. Estes resultados estão abaixo do limite estabelecido por legislação vigente (SÃO PAULO, 1991). O citado limite é de 30 mg N-BVT / 100 g e os resultados da Tabela 6 foram de 11,47 a 22,19 mg N-BVT / 100 g, inferiores aos 21-30 mg/ 100 g obtidos por BERAQUET *et al.* (1985) durante estocagem da sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*) por 14 dias sob 0-4°C.

O pescado chega à CEAGESP vindo de diferentes regiões (Tabela 6) para a comercialização no atacado. O transporte é rodoviário, o pescado é mantido sob condições de refrigeração , com gelo comum, e toda operação submetida à fiscalização do Serviço de Inspeção Federal – SIF, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Das 18 amostras analisadas, 3 eram procedentes do porto de Santos-SP, 1 de São Sebastião-SP, 1 do Rio de Janeiro-RJ e as demais de Itajaí-SC. O tempo médio de trânsito entre o porto de origem e a CEAGESP foi de 12 horas e 30 minutos, com um máximo de 16 horas e 30 minutos (amostras 13 e 18, provenientes de Itajaí-SC e do Rio de Janeiro-RJ, respectivamente) e mínimo de 3 horas e 30 minutos (amostra 12, proveniente do porto de Santos-SP).

Levando em conta a possibilidade de um tempo de estocagem a bordo de 2-3 dias, 2 dias de transporte rodoviário, com origem em Itajaí-SC, de onde se originou a maioria das amostras, é possível considerar que a sardinha possa estar sendo oferecida comercialmente na CEAGESP, em São Paulo-SP, no máximo ao redor de 7 dias após a captura, estando mantida em gelo.

Os resultados da Tabela 6 estariam então expressando uma condição aceitável de consumo para a sardinha comercializada na CEAGESP.

5.2. SARDINHA COMERCIALIZADA EM FEIRA-LIVRE

5.2.1. SARDINHA FRESCA COMERCIALIZADA ANTES DO DEFESO DA ESPÉCIE

A comercialização no atacado realizada na CEAGESP ocorre de terça-feira a sábado, mais intensivamente nas terças-feiras e sextas-feiras e nas primeiras horas, entre 02h00 e 06h00. No mesmo dia, o pescado estará então sendo oferecido no comércio varejista – feiras-livres, por exemplo.

O varejista comerciante de pescado irá reabastecer-se de mais pescado depois de esgotado o seu estoque, e fará isso na dependência da oferta existente na CEAGESP. Nesses termos, o tempo entre a captura do pescado e o de seu consumo será variável e sem qualquer controle prático possível. Quanto mais tempo o pescado permanecer estocado, maiores serão as chances de deterioração, principalmente a lipídica.

A avaliação das condições de consumo da sardinha fresca comercializada em feiras-livres antes do defeso da espécie consta na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha fresca comercializada antes do período de defeso da espécie.^a

<i>Amostragens</i>	<i>TBARS (mg/kg)^b</i>	<i>N-BVT (mg/ 100 g)</i>	<i>Umidade (g/100g)</i>
1	0,70 ± 0,03	-	76,13 ± 0,40
2	0,40 ± 0,00	-	73,73 ± 0,38
3	0,60 ± 0,02	-	71,97 ± 0,12
4	1,43 ± 0,10	24,54 ± 0,79	73,67 ± 0,21
5	0,53 ± 0,01	-	74,87 ± 0,12
6	0,22 ± 0,01	25,65 ± 2,45	74,62 ± 0,15
7	2,73 ± 0,14	-	73,86 ± 0,10
8	0,60 ± 0,03	27,01 ± 0,01	76,43 ± 0,16
9	1,16 ± 0,03	28,01 ± 1,26	72,47 ± 0,32
10	-	27,96 ± 0,85	69,87 ± 0,72
11	0,22 ± 0,02	22,14 ± 1,20	72,59 ± 0,05
12	0,42 ± 0,02	26,89 ± 1,39	73,06 ± 0,20
13	0,33 ± 0,02	28,37 ± 1,18	72,65 ± 0,07
14	0,59 ± 0,01	29,98 ± 1,55	73,60 ± 0,05
15	1,02 ± 0,05	26,95 ± 1,58	74,47 ± 0,04
16	1,09 ± 0,03	29,77 ± 1,61	70,50 ± 0,06
17	1,09 ± 0,08	27,46 ± 0,78	69,00 ± 0,06
Valor mínimo	0,22	22,14	69,00
Valor máximo	2,73	29,98	76,43
Valor médio	0,82	27,06	73,15
Desvio-padrão	0,63	2,18	2,02
Coefficiente de variação (%)	76,21	8,04	2,76

(a) Média±desvio-padrão; (b) Expressas em aldeído malônico.

O conteúdo médio de TBARS (Tabela 7) – $0,82 \pm 0,63$ mg AM/kg – dá conta que a sardinha comercializada em feira-livre (varejo), antes do defeso, apresentou um nível de oxidação lipídica bem maior que o verificado em relação à da comercialização na CEAGESP (atacado) – ($0,18 \pm 0,17$ mg AM/kg, Tabela 6).

O aumento de TBARS verificado para a sardinha pode ser traduzida estabelecendo-se que o conteúdo de AM médio foi incrementado em 4,55 vezes ou em 355%. Os resultados obtidos sugerem que essa possível instabilidade oxidativa da sardinha seja decorrente das condições de estocagem praticadas no comércio varejista.

PACHECO-AGUILAR *et al.* (2000) observaram, em *Sardinops sagax caerulea*, valores de TBARS de até 35 mg AM/ kg após 11 dias de estocagem a 0°C. SIMEONIDOU *et al.* (1998) verificaram 2,46-18,32 mg AM/ kg em *Sardine mediterraneus* no decorrer de 6 dias de estocagem em gelo. Com relação à *Sardina pilchardus*, AUBOURG *et al.* (1997) encontraram valores de 2,04-8,03 mg AM/ kg ao longo de 9 dias de estocagem a 0°C, embora este valor tenha recuado para 4,70 mg AM/ kg após 16 dias; e GARCÍA & CARECHE (2003) relataram teores muito baixos quando o pescado foi mantido numa mistura de gelo e água salgada (0,36 mg AM/ kg aos 8 dias e 0,72 mg AM/ kg aos 13 dias, durante o verão).

Em relação ao valor máximo de 0,43 mg AM/ kg, observado para o *mackerel* no estado fresco, por KELLEHER *et al.* (1994), os do presente trabalho (Tabela 7) foram superiores, sugerindo falta de frescor.

Os níveis médios de N-BVT da Tabela 7 ($27,06 \pm 2,18$ mg/ 100 g) não ultrapassaram o limite estabelecido por legislação vigente (SÃO PAULO, 1991), correspondente a 30 mg/ 100 g. Todavia, o aumento constatado de 71,8% (de 15,75 para 27,06 mg/ 100 g) para sardinha comercializada em feira-livre sugere ter havido evolução de bases voláteis também por conta das condições de manuseio e estocagem aplicadas, em comparação com o produto comercializado na CEAGESP (Tabela 6).

BERAQUET *et al.* (1985) encontraram valores entre 21 e 30 mg N-BVT/ 100 g de sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*) estocada durante 14 dias a 0-4°C. Os trabalhos com sardinha europeia *Sardina pilchardus* mostraram níveis de 30 mg/ 100 g sendo alcançados entre 10 e 15 dias de estocagem em

gelo (MARRAKCHI *et al.*, 1990) e 26,67 mg/ 100 g após 9 dias (AUBOURG *et al.*, 1997). Para a mesma espécie, ABABOUCH *et al.* (1996) verificaram dois padrões de evolução de N-BVT: um mais rápido (45 mg/ 100 g após 200 horas), devido ao desenvolvimento de *Shewanella putrefaciens*; e outro, mais lento (30 mg/ 100 g após 400 horas), ao que tudo indica devido ao crescimento de *Pseudomonas*, enquanto GARCÍA & CARECHE (2002) mostraram a eficiência da conservação em mistura de gelo e água salgada – a exemplo do que é feito a bordo de embarcações pesqueiras – com valores de 10 e 15 mg/ 100 g, respectivamente após 8 e 13 dias de estocagem, em pleno verão europeu.

Os resultados de TBARS e de N-BVT das Tabelas 6 e 7 são concordantes entre si, já que a formação de aldeído malônico e bases voláteis tendem a aumentar durante a estocagem, estando o pescado refrigerado.

Os resultados obtidos são coerentes com a prática observada no manuseio do pescado em geral, em feiras-livres, onde a refrigeração é visivelmente deficiente.

Nas feiras-livres tem sido comum oferecer-se a sardinha na forma “espalmada”, ou seja, descamada, decapitada, eviscerada, sem espinha dorsal e sem a nadadeira caudal, e principalmente sem a devida refrigeração com gelo. O músculo fica então sob ação direta do oxigênio atmosférico, propiciando a peroxidação lipídica. Este tipo de produto não foi objeto de estudo neste trabalho, mas é óbvio que apresenta maior potencial de deterioração que a sardinha inteira.

5.2.2. SARDINHA DESCONGELADA COMERCIALIZADA DURANTE O DEFESO DA ESPÉCIE

O defeso da sardinha impõe que na sua vigência não haja a captura da espécie. O mercado é então suprido pelo produto previamente capturado e estocado congelado para essa finalidade, que o comercializa na forma descongelada.

Com a inclusão da estocagem sob congelamento, por período variável e sem controle estrito, ao que tudo indica, o espaço de tempo entre a captura e o consumo fica muitíssimo aumentado. Essa situação potencialmente favorece a deterioração do produto, como sugerem os resultados de literatura.

Na avaliação feita das condições de consumo da sardinha descongelada, comercializada em feiras-livres, os resultados verificados apontam para uma deterioração da fração lipídica, na maioria das amostras analisadas (Tabela 8), podendo isso ter sido o reflexo da estocagem sob congelamento.

Níveis de até 15,66 mg AM/kg foram detectados. Apenas 2 (13%) das 15 amostras tinham conteúdo de TBARS abaixo de 1,30 mg AM/kg, quantidade proposta por ROBLES-MARTINEZ *et al.* (1982) como indicadora de rancidez para o pescado congelado. Com a mesma tendência, os teores de N-BVT (Tabela 8) também superaram os da Tabela 7 (sardinha fresca), sendo observado que o limite de 30 mg N-BVT/ 100 g (SÃO PAULO, 1991) foi ultrapassado em 3 das 15 amostras.

Para sardinha descongelada (Tabela 8), o valor médio de TBARS foi 39,7 vezes e o de N-BVT 75,6% maiores que os respectivos valores médios para sardinha fresca comercializada na CEAGESP (Tabela 6).

Tabela 8 – Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha descongelada comercializada durante o período de defeso da espécie.^a

Amostragens	TBARS (mg/kg)^b	N-BVT (mg/ 100 g)	Umidade (g/ 100 g)
1	1,94 ± 0,05	26,19 ± 0,53	72,07 ± 0,64
2	5,24 ± 0,10	27,28 ± 0,62	70,44 ± 0,70
3	2,04 ± 0,01	25,97 ± 0,87	72,62 ± 0,04
4	4,10 ± 0,17	28,44 ± 0,76	71,16 ± 0,12
5	1,07 ± 0,05	28,57 ± 0,56	71,52 ± 0,14
6	1,28 ± 0,02	28,17 ± 1,48	70,60 ± 0,24
7	1,78 ± 0,06	30,60 ± 2,54	72,27 ± 0,79
8	7,37 ± 0,06	32,51 ± 2,18	72,37 ± 0,86
9	12,60 ± 0,32	22,39 ± 0,89	71,16 ± 0,94
10	15,39 ± 1,30	22,86 ± 0,08	67,14 ± 2,30
11	7,16 ± 0,12	25,94 ± 1,51	69,58 ± 1,12
12	5,90 ± 0,18	31,05 ± 0,96	70,51 ± 0,14
13	12,52 ± 0,79	26,96 ± 0,82	71,73 ± 0,13
14	15,66 ± 0,13	29,46 ± 1,00	71,05 ± 0,12
15	13,08 ± 0,77	28,91 ± 0,65	71,12 ± 0,32
Valor mínimo	1,07	22,39	67,14
Valor máximo	15,66	32,51	72,62
Valor médio	7,14	27,69	71,02
Desvio-padrão	5,36	2,80	1,36
Coefficiente de variação (%)	75,02	10,10	1,91

(a) Média±desvio-padrão; (b) Expressas em aldeído malônico.

Estes valores são considerados muito elevados, tanto os de TBARS como os de N-BVT. Como já foi exposto, o congelamento seguido por descongelamento catalisa a peroxidação lipídica (WATANABE, 1965; SIMEONIDOU *et al.*, 1998; PACHECO-AGUILAR *et al.*, 2000), seja pelo efeito de concentração de pró-oxidantes, seja pela eliminação da concorrência com reações por agentes microbiológicos, o que justificaria os valores elevados de TBARS. A título de comparação com os valores de TBARS apresentados na Tabela 8, CARECHE & TEJADA (1990) observaram valores entre 3,6 e 10,0 mg AM/ kg na sardinha europeia *Sardina pilchardus* estocada a -18°C durante

1 a 6 meses, embora estes valores, curiosamente, tenham caído à metade quando se prolongou a estocagem até 360 dias.

WATANABE (1965), trabalhando com a sardinha brasileira *Sardinella brasiliensis*, registrou concentração máxima de N-BVT de 25 mg/ 100 g após 100 dias a -18°C. O autor defendia a descontaminação microbiológica prévia ao congelamento, concluindo que 40% da flora contaminante inicial podiam contribuir para a rancificação do pescado congelado.

5.3. SARDINHA FRESCA DA CEAGESP x SARDINHA FRESCA DE FEIRAS-LIVRES x SARDINHA DESCONGELADA DE FEIRAS-LIVRES

As avaliações das condições de consumo das sardinhas frescas comercializadas na CEAGESP (Tabela 6) e em feiras-livres (Tabela 7) e das sardinhas descongeladas comercializadas em feiras-livres (Tabela 8) foram sumarizadas nas Tabelas 9 e 10.

Tabela 9: Teores médios \pm desvio-padrão de TBARS, N-BVT e umidade em sardinhas frescas e descongeladas, de acordo com as Tabelas 6, 7 e 8.

Sardinha	TBARS (mg AM/ kg)	N-BVT (mg/ 100g)	Umidade (g/ 100 g)
Fresca			
CEAGESP(a) (Tabela 6)	0,18 \pm 0,17 ^a (n=18)	15,75 \pm 2,39 ^a (n=18)	77,64 \pm 1,46 ^a (n=18)
Feiras-livres(a) (Tabela 7)	0,82 \pm 0,63 ^b (n=16)	27,06 \pm 2,18 ^b (n=12)	73,15 \pm 2,02 ^b (n=17)
Descongelada			
Feiras-livres(b) (Tabela 8)	7,14 \pm 5,36 ^c (n=15)	27,69 \pm 2,80 ^b (n=15)	71,02 \pm 1,36 ^c (n=15)

(a) Antes do defeso; (b) Durante o defeso; n=Amostragens. Letras sobrescritas iguais indicam diferenças estatisticamente não-significativas ($p= 0,05$).

Tabela 10: Teores médios \pm desvio-padrão de TBARS, N-BVT em sardinhas frescas e descongeladas, de acordo com as Tabelas 6, 7 e 8, calculados com base numa umidade média de 76 g/ 100 g

Sardinha	TBARS (mg AM/ kg)	N-BVT (mg/ 100g)
Fresca		
CEAGESP(a) (Tabela 6)	0,19 \pm 0,19 ^a (n=18)	16,98 \pm 2,93 ^a (n=18)
Feiras-livres(a) (Tabela 7)	0,74 \pm 0,57 ^b (n=16)	23,93 \pm 2,34 ^b (n=12)
Descongelada		
Feiras-livres(b) (Tabela 8)	5,84 \pm 4,31 ^c (n=15)	23,02 \pm 2,87 ^b (n=15)

(a) Antes do defeso; (b) Durante o defeso; n=Amostragens. Letras sobrescritas iguais indicam diferenças estatisticamente não-significativas ($p=0,05$).

Analisando os resultados expressos na Tabela 9, percebe-se uma concentração média de TBARS na sardinha fresca comercializada em feiras-livres antes do defeso quase 5 vezes superior ao valor médio encontrado na sardinha fresca comercializada no mercado atacadista da CEAGESP, como já foi afirmado anteriormente. No caso da sardinha descongelada comercializada em feiras-livres, o valor médio da concentração de TBARS é cerca de 40 vezes maior do que o da sardinha fresca comercializada na CEAGESP, ou ao redor de 9 vezes em relação ao produto fresco obtido em feiras-livres. Isto significa que, do ponto de vista da oxidação lipídica, os produtos considerados diferem entre si, em função dos tratamentos pós-captura que receberam. Ou seja, a sardinha pode chegar à CEAGESP em condições compatíveis com o consumo, mas quando é oferecida no mercado varejista sua qualidade fica comprometida, principalmente no caso da comercialização durante o defeso.

Por si sós estes resultados são suficientes para sugerirem urgente reavaliação das condições de congelamento impostas à sardinha, principalmente quando destinada à comercialização durante o defeso. Um estudo feito por WATANABE (1965) já indicava dificuldades na estocagem da sardinha *Sardinella brasiliensis* sob congelamento. Na época não havia a preocupação voltada ao defeso. Foi verificado que a sardinha mantinha-se

adequadamente congelada por até 2 meses, período este menor que o do referido defeso, de 3-4 meses.

Conforme já mencionado, a oxidação lipídica é a principal reação de deterioração em pescado, principalmente quando os níveis de ácidos graxos são elevados. Isto se dá tanto em pescado mantido refrigerado como no estocado sob congelamento (WATANABE, 1965; SIMEONIDOU *et al.*, 1998; PACHECO-AGUILAR *et al.*, 2000).

As quantidades de TBARS verificadas na sardinha descongelada oferecida comercialmente durante o defeso, indicadas nas Tabelas 8 e 9, são muito significativas se consideradas as relatadas por AUBOURG *et al.* (1998), que trabalharam com a *Sardina pilchardus*, uma espécie europeia de sardinha. O valor médio de 7,14 mg AM/ kg para sardinhas descongeladas (Tabelas 8 e 9), segundo os autores, só foi alcançado após 12 meses de estocagem a -18°C ou 4 meses a -10°C.

Deve ainda ser considerado o fato de as quantidades de TBARS indicadas (Tabelas 8 e 9) estarem subestimando a oxidação lipídica. Isto se deve ao fato de o aldeído malônico reagir com proteínas, por exemplo, tornando-se indisponível parcialmente à quantificação (PICHE *et al.*, 1988; KUBOW, 1992; SILVA *et al.*, 1999; GIRÓN-CALLE *et al.*, 2002; GIRÓN-CALLE *et al.*, 2003).

Analisados em seus teores médios de N-BVT, os produtos mencionados na Tabela 9 continham valores abaixo de 30 mg/ 100 g, que é o limite legal tolerado (SÃO PAULO, 1991), conforme apontado anteriormente. No entanto, foi muito significativo o acréscimo de 72-76% verificado na sardinha fresca e na descongelada obtidas de feiras-livres, em relação à comercializada na CEAGESP. Esta evolução de N-BVT pode estar indicando avanço no processo deteriorativo, assim como ocorreu com as TBARS.

Os níveis de N-BVT encontrados por AUBOURG *et al.* (1998) na sardinha europeia *Sardina pilchardus* estocada a -18°C variaram entre 24,1 e

35,6 mg/ 100 g, ao longo de 24 meses de estocagem. Curiosamente, o valor mais alto foi registrado aos 12 meses, decaindo para 29,6 mg/ 100 g aos 18 meses e 30,2 mg/ 100 g aos 24 meses de estocagem.

Os resultados médios das Tabelas 6, 7 e 8 foram calculados e expressos em relação a um teor de umidade de 76 g/ 100 g, conforme consta na Tabela 10. O objetivo foi o de poder analisar também os resultados, eliminando a interferência da umidade, que variou entre 71 e 77 g/ 100 g entre os produtos estudados.

5.4. SARDINHA PROCESSADA

5.4.1. SARDINHA SALMOURADA

Os resultados de umidade, TBARS e N-BVT da sardinha salmourada constam na Tabela 11. As amostras foram analisadas na forma integral e depois de lavadas. A análise do produto lavado com água é justificada em razão deste procedimento anteceder o consumo, com vista à retirada de excesso de sal. As amostras integrais não foram correspondentemente as mesmas submetidas à lavagem com água.

Durante as amostragens foi observada uma falta de uniformidade na apresentação comercial do produto, sendo por vezes armazenado submerso na salmoura e outras vezes não. Este fato implica em diferenças quanto à exposição do produto ao oxigênio atmosférico e a microrganismos.

Tabela 11 – Umidade, TBARS e N-BVT em sardinha salmourada integral ou lavada com água

Amostra	Integral / Lavada	Umidade (g/ 100 g)	TBARS (mg AM / kg)		N-BVT (mg / 100 g)	
			Base úmida	Base seca	Base úmida	Base seca
1	Integral	52,92 ± 0,37	4,48 ± 0,04	9,52	33,72 ± 1,41	71,62
2	Integral	53,21 ± 0,54	5,61 ± 0,13	11,99	61,21 ± 0,97	130,82
3	Integral	55,88 ± 0,19	3,17 ± 0,06	7,18	51,25 ± 2,10	116,16
4	Integral	56,32 ± 0,42	3,03 ± 0,02	6,94	31,10 ± 0,79	71,20
M ± DP		54,58 ± 1,77 ^b	4,07 ± 1,22 ^b	8,91 ± 2,36 ^b	44,32 ± 14,38 ^a	97,45 ± 30,66 ^a
CV (%)		3,23	29,84	26,51	32,45	31,46
5	Lavada	65,47 ± 0,31	1,48 ± 0,01	4,29	35,68 ± 3,50	103,33
6	Lavada	67,20 ± 0,18	1,41 ± 0,00	4,30	38,60 ± 2,13	117,68
7	Lavada	68,75 ± 0,33	1,03 ± 0,02	3,30	39,05 ± 0,77	124,96
8	Lavada	68,17 ± 0,06	1,08 ± 0,04	3,39	45,20 ± 3,48	142,00
M ± DP		67,40 ± 1,44 ^a	1,25 ± 0,23 ^a	3,82 ± 0,55 ^a	39,63 ± 4,00 ^a	121,99 ± 16,08 ^a
CV (%)		2,13	18,23	14,39	10,10	13,18

As amostras integrais (1-4) não são correspondentemente as mesmas que foram lavadas com água em laboratório (5-8). M ± DP = Média±desvio-padrão. CV = coeficiente de variação. Letras sobrescritas iguais indicam diferenças estatisticamente não-significativas (p= 0,05).

Foi observado um valor médio de TBARS - 4,07 ± 1,22 mg AM/ kg - nas amostras integrais de sardinha salmourada maior que o da sardinha fresca comercializada na CEAGESP (0,18 ± 0,17 mg AM/ kg) e nas feiras-livres (0,82 ± 0,63 mg AM/ kg) e abaixo do da sardinha descongelada comercializada em feiras-livres (7,14 ± 5,36 mg AM/ kg). Neste caso também o valor de TBARS pode estar subestimando a oxidação lipídica por combinação do AM com proteínas, por exemplo (PICHE *et al.*, 1988; KUBOW, 1992; SILVA *et al.*, 1999; GIRÓN-CALLE *et al.*, 2002; GIRÓN-CALLE *et al.*, 2003).

Os teores de TBARS (Tabela 11) encontrados na sardinha salmourada estudada não puderam ser comparados correspondentemente com os relatados na literatura. Os autores consultados não trabalharam especificamente com sardinha salmourada. SLABYJ & TRUE (1978) relataram valores de TBARS entre 0,22 e 5,00 mg AM/ kg em sardinhas do Maine (*Clupea harengus*) submetidas à salmoura antes do enlatamento. MARUF *et al.*

(1990) relataram de 5,5 a 25,2 mg AM/ kg em *mackerel* (*Rastrelliger kanagurta*) submetido à salmoura seguida de secagem.

A análise do nível de oxidação lipídica, indicado pelos valores de TBARS, em produtos salgados, deve contemplar a interferência do sal no fenômeno químico. MARUF et al. (1990) verificaram valores de TBARS crescentes à medida que o pescado era submetido a concentrações salinas gradativamente maiores. Além disto, o efeito osmótico do sal reduz bastante a umidade do tecido muscular, levando à concentração de pró-oxidantes e danos à estrutura física e química do pescado, alterando a disponibilidade de substratos para as reações de oxidação lipídica. Uma avaliação mais acurada exigiria, portanto, conhecimento sobre a procedência e qualidade da matéria-prima e o processamento (salmouragem) imposto à amostra.

Na comparação entre as amostras lavadas e integrais de sardinha salmourada, observou-se uma maior e óbvia umidade nas lavadas, além de diferença significativa de 57% a menos no valor médio de TBARS. Considerando a necessidade de meio ácido (TCA) na extração, de acordo com o método de quantificação empregado (VYNCKE, 1970), ao que tudo indica, a lavagem do produto com água não teria o efeito de extrair o AM. Todavia não deve ser completamente descartada essa possibilidade, inclusive pela presença do NaCl. Seria importante do ponto de vista prático a redução do AM durante a dessalga de produtos salgados e secos de pescado realizada antes do consumo.

As dúvidas surgidas quanto aos resultados da Tabela 11 referentes aos níveis de TBARS do produto lavado em relação ao não-lavado precisam portanto ser esclarecidas.

No que diz respeito aos valores de N-BVT - 31,10 - 61,21 mg/ 100 g - (Tabela 11) nas amostras de sardinha salmourada integral, estes revelaram-se superiores ao limite legal de 30 mg/ 100 g (SÃO PAULO, 1991). O mesmo se deu em relação às amostras lavadas (35,68 - 45,20 mg/ 100 g). HERNÁNDEZ-HERRERO et al. (1999) registraram valores de 19,89 mg N-BVT/ 100 g em

anchova (*Engraulis encrasicolus*) com apenas uma semana de salga, atingindo 35,64 mg N-BVT/ 100 g após 9 semanas. O limite de 30 mg/ 100 g foi atingido após 8 semanas.

5.4.2. SARDINHA ANCHOVADA

Os valores de TBARS, N-BVT e umidade encontradas nas amostras de sardinha anchovada analisadas no presente trabalho encontram-se compilados na Tabela 12.

Tabela 12 – Valores de TBARS, N-BVT e umidade em sardinha anchovada.^a

Amostragens	TBARS (mg/ kg)^b	N-BVT (mg/ 100 g)	Umidade (g/ 100 g)
1	4,73 ± 0,10	63,63 ± 1,38	42,40 ± 1,17
2	4,67 ± 0,03	65,44 ± 1,60	48,52 ± 0,42
3	3,36 ± 0,03	41,62 ± 4,05	44,96 ± 0,91
4	4,50 ± 0,08	65,36 ± 2,09	42,41 ± 0,10
5	2,90 ± 0,03	52,40 ± 2,12	49,43 ± 0,08
6	2,38 ± 0,04	68,03 ± 4,13	43,90 ± 0,47
7	3,80 ± 0,06	74,56 ± 2,12	49,03 ± 0,35
8	3,39 ± 0,09	63,70 ± 0,79	47,31 ± 0,22
9	3,82 ± 0,07	66,12 ± 0,80	46,27 ± 0,31
10	3,59 ± 0,08	68,70 ± 2,83	49,38 ± 0,31
Valor mínimo	2,38	41,62	42,40
Valor máximo	4,73	74,56	49,43
Valor médio	3,71	62,96	46,36
Desvio-padrão	0,77	9,33	2,80
Coefficiente de variação (%)	20,60	14,82	6,04

(a) Média±desvio-padrão; (b) Expressas em aldeído malônico (AM).

Os resultados de TBARS para sardinha anchovada (Tabela 12) mostram um valor médio de 3,71 ± 0,77 mg AM/kg, intermediário entre os das amostras

lavadas ($1,25 \pm 0,23$ mg AM/kg) e não-lavadas ($4,07 \pm 1,22$ mg AM/kg) de sardinha salmourada (Tabela 11).

AYENSA *et al.* (1993) informaram a ocorrência de valores de TBARS acima de 50 mg AM/kg em sardinha anchovada (*Sardina pilchardus*) por volta do 40° dia de processamento, havendo depois uma redução para 5 mg AM/ kg, aos 180 dias de maturação. Todos os valores de TBARS para a sardinha anchovada analisada neste estudo (Tabela 12) estão abaixo de 5 mg AM/ kg apontado pelos autores. A redução observada entre os valores encontrados aos 40 dias de maturação (50 mg AM/ kg) e o final do processo aos 180 dias (5 mg AM/ kg) leva a supor que 90% dos produtos secundários da oxidação lipídica reagiram com outros compostos, como proteínas, por exemplo (PICHE *et al.*, 1988; KUBOW, 1992; SILVA *et al.*, 1999; GIRÓN-CALLE *et al.*, 2002; GIRÓN-CALLE *et al.*, 2003). Os valores de TBARS encontrados, portanto, podem estar subestimando o verdadeiro conteúdo de aldeído malônico nas amostras, por estar ele complexado com proteínas ou outros compostos. AYENSA *et al.* (1993) informam ainda o decréscimo no teor lipídico da *Sardina pilchardus* de 30 para 20 g/ 100 g na base seca, ao longo dos 180 dias. Isto implica em menor substrato para as reações de peroxidação lipídica. É importante lembrar ainda que o produto, findo o processo de maturação, é oferecido ao consumidor imerso em óleo comestível, desta forma isolando-o do contato direto com o oxigênio atmosférico, o que inibiria esta via de ocorrência da peroxidação lipídica.

No que diz respeito aos níveis de N-BVT (Tabela 12), a sardinha anchovada foi de longe o produto que apresentou os valores mais elevados em todas as amostras (valor médio de $62,96 \pm 9,33$ mg N-BVT/ 100 g), e portanto superiores ao limite legal de 30 mg/ 100 g (SÃO PAULO, 1991).

HERNÁNDEZ-HERRERO *et al.* (1999) relataram níveis de N-BVT entre 19,89 e 35,64 mg/ 100 g durante a maturação (9 semanas) de anchova (*Engraulis encrasicolus*). Os teores elevados de N-BVT nas amostras de sardinha anchovada analisadas (Tabela 12) poderiam estar relacionados com o

efeito da reduzida umidade ($46,36 \pm 2,80$ g/ 100 g), que significa maior massa de substrato, bem como os processos de cura (maturação) que podem durar até 240 dias (MENDES *et al.*, 1999). Durante a cura ocorre intensa atividade de enzimas bacterianas formando grandes quantidades de produtos de degradação nitrogenados, evidenciada pela redução na concentração de proteínas de 60 para 40 g/ 100 g da base seca (AYENSA *et al.*, 1993).

5.5. TBARS VERSUS LISINA BIODISPONÍVEL

Amostras de sardinha fresca comercializadas em feiras-livres antes do defeso, com diferentes concentrações de TBARS, foram escolhidas e comparadas com as concentrações de lisina biodisponível para as respectivas amostras. O objetivo foi verificar a existência de possível correlação, conforme sugere a literatura (KUBOW, 1992; GIRÓN-CALLE *et al.*, 2002).

Os resultados, reunidos na Tabela 13, não indicaram correlação significativa ($R^2= 0,1732$) entre as TBARS e a lisina biodisponível.

Tabela 13 – Valores de TBARS, lisina biodisponível e umidade em sardinha fresca.^a

Amostra	TBARS (mg/ kg)	Lisina biodisponível. (g/ 100 g proteína)	Umidade (g/ 100 g)
1	0,92 ± 0,03	5,45 ± 0,29	74,84 ± 0,07
2	2,25 ± 0,14	6,01 ± 0,31	76,17 ± 0,38
3	0,99 ± 0,03	5,68 ± 0,40	73,96 ± 0,36
4	14,92 ± 0,86	5,19 ± 0,10	75,07 ± 0,14
5	14,54 ± 0,58	5,73 ± 0,37	76,01 ± 2,26
Valor médio	6,72	5,61	75,21
Desvio-padrão	7,33	0,31	0,91
Coefficiente de variação (%)	108,99	5,50	1,20

(a) Média±desvio-padrão; (b) Expressas em aldeído malônico (AM).

Os resultados obtidos aqui conduzem à questão controversa sobre a toxicidade do AM como produto secundário da oxidação lipídica. Embora não haja a rigor o estabelecimento de níveis aceitáveis e um conhecimento exato sobre metabolização e excreção e certeza sobre efeitos nocivos à saúde das TBARS, a literatura apresentada no presente trabalho dá conta dos potenciais perigos. Sua capacidade de complexar ácidos nucleicos por si já é no mínimo algo para se pensar com cuidado. À parte de seu papel anti-nutricional, a simples bioindisponibilidade de nutrientes pode ocultar possíveis efeitos deletérios à saúde do consumidor. Embora os tratamentos culinários diminuam a concentração de aldeído malônico (KUBOW, 1990), resta a questão sobre seu destino após o cozimento dos alimentos: é decomposto ou converte-se a outros compostos, talvez até mais nocivos?

5.6. CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS

De acordo com a Tabela 9 não são boas as condições de consumo da sardinha comercializada em feiras-livres, observadas principalmente em relação à oxidação lipídica, medidas através das TBARS.

Os resultados obtidos sugerem que o comprometimento da fração lipídica da sardinha se dá após a comercialização no atacado, realizada na CEAGESP, sendo mais proeminente no produto descongelado, ou seja, durante o período de defeso da espécie.

O comprometimento da qualidade sugerida pelos resultados durante o comércio varejista, feito em feiras-livres, é fruto do desconhecimento de produtores, comerciantes e órgãos oficiais de fiscalização. Ao consumidor também cabe parcela da responsabilidade, a de não estar exigindo ou não saber ou não poder exigir o pescado com qualidade minimamente adequada.

Ao fazer isso, o consumidor submete-se ao mesmo tempo aos riscos inerentes. O consumidor deve, portanto, ser esclarecido.

Não é justificável um quadro como este, numa época onde a qualidade de qualquer produto é também uma mercadoria, pela importância que tem. Nas feiras-livres, o comércio de pescado, pela perecibilidade do produto, chega a ser de risco em determinadas situações, com ônus para o consumidor.

Em feiras-livres inexitem iniciativas voltadas às boas práticas de manuseio e comercialização de pescado. É comum o uso de gelo insuficiente destinado à refrigeração do produto, assim como também é comum a inexistência de fiscalização coibindo essa prática.

Independentemente de ser fresca ou descongelada, a sardinha também é oferecida na forma "espalmada" (limpa, sem ossos, com os filés ainda unidos entre si) sem estar embalada. O potencial de comprometimento da qualidade desse produto é elevado, principalmente em relação à oxidação lipídica e à contaminação microbiana.

Medidas preventivas destinadas à melhoria da situação atual são necessárias. Algumas delas são de fácil implementação: a) restabelecimento de atuação efetiva de órgãos oficiais de fiscalização no mercado varejista de pescado, a exemplo do que ocorre na CEAGESP, no sentido de salvaguardar a prática sanitária e a manutenção da cadeia de frio; b) promoção de um programa de educação sanitária para os profissionais comerciantes que manipulam o pescado; c) esclarecimento ao consumidor, usando linguagem adequada, sobre os riscos potenciais para a sua saúde e a de seus familiares que representa o pescado com a qualidade comprometida.

De maior complexidade é a melhoria da qualidade do produto congelado, comercializado em feiras-livres, na forma descongelada. Estudos específicos são necessários voltados à questão tecnológica do congelamento, assim como as características intrínsecas da espécie envolvida que venham a interferir no produto final.

Os produtos de sardinha aqui analisados, de muito mais baixo consumo, também apresentaram problemas nas condições de consumo (Tabelas 11 e 12), em relação aos quais estudos são necessários também.

6. CONCLUSÕES

1. A sardinha fresca comercializada na CEAGESP apresentou condição aceitável de consumo, tendo por base os níveis adequados de TBARS (considerando como referência dados de literatura) e de N-BVT (considerando o limite legal vigente).
2. O mesmo não ocorreu com as sardinhas fresca e descongelada comercializadas em feiras-livres, levando em conta as TBARS. Ou seja, não apresentaram condições aceitáveis de consumo.
3. As sardinhas salmourada e anchovada não apresentaram condições aceitáveis de consumo tendo em conta os níveis de N-BVT encontrados, acima do limite legal vigente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABABOUC, L.H.; SOUIBRI, L.; RHALIBY, K.; OUAHDI, O.; BATTAL, M.; BUSTA, M.M. Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. **Food Microb.**, Sidcup, v.13, p.123-132, 1996.

ANALYTICAL METHODS COMMITTEE. Recommended general methods for examination of fish products. **Analyst**, Letchworth, v.104, p.434-450, 1979.

ANDERSEN, U.B.; THOMASSEN, M.S.; RØRÅ, A.M.B. Texture properties of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects of diet, muscle fat content and time of storage on ice. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.74, p.347-353, 1997.

ARKOUDELOS, J.S.; SAMARAS, F.J.; TASSOU, C.C. Survival of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Enteritidis on salted sardines (*Sardina pilchardus*) during ripening. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.66, n.8, p.1479-1481, 2003.

ASHIE, I.N.A.; SMITH, J.P.; SIMPSON, B.K. Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Fort Lauderdale, v.36, n.1/2, p.87-121, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 13.ed. Washington: AOAC, 1980.

AUBOURG, S.P. Review: interaction of malondialdehyde with biological molecules - new trends about reactivity and significance. **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford, v.28, p.323-335, 1993.

As referências bibliográficas estão de acordo com a norma NBR6023/2002 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e as abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI) 2003.

- AUBOURG, S.P.; SOTELO, C.G.; GALLARDO, J.M. Quality assessment of sardines during storage by measurement of fluorescent compounds. **J. Food Sci.**, Chicago, v.62, n.2, p.295-304, 1997.
- AUBOURG, S.P.; MEDINA, I. Quality differences assessment in canned sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.45, p.3617-3621, 1997.
- AUBOURG, S.P.; SOTELO, C.G.; PÉREZ-MARTÍN, R. Assessment of quality changes in frozen sardine (*Sardina pilchardus*) by fluorescence detection. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaign, v.75, n.5, p.575-580, 1998.
- AYENSA, G.; BANDARRA, N.; NUNES, M.L.; PASCUAL, C. Evolucion de los ácidos grasos de la *Sardina pilchardus* a lo largo del proceso de anchoado. **Alimentaria**, Madrid, v.239, p.77-80, 1993.
- BADOLATO, E.S.G.; CARVALHO, J.B.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S. Determinação dos ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) em óleo de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) brasileira e em suplementos alimentares à base de óleo de sardinha. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.51, n.1/2, p.75-81, 1991.
- BADOLATO, E.S.G.; AUED-PIMENTEL, S.; TAVARES, M.; MORAES, C. Sardinhas em óleo comestível. Parte II. Estudo da interação entre os ácidos graxos do peixe e do óleo de cobertura. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v.54, n.1, p.21-26, 1994.
- BANDARRA, N.M.; BATISTA, I.; NUNES, M.L.; EMPIS, J.M.; CHRISTIE, W.W. Seasonal changes in lipid composition of sardine (*Sardina pilchardus*). **J. Food Sci.**, Chicago, v.62, n.1, p.40-42, 1997.
- BENJAKUL, S.; BAUER, F. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles. **Food Chem.**, Kidlington, v.72, p.207-217, 2001

- BENZIE, I.F.F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, London, v.47, p.233-261, 1996.
- BERAQUET, N.J.; LINDO, M.M.K.; VIEIRA, M.C. Métodos químicos na avaliação da qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca e processada termicamente. **Col. ITAL**, Campinas, v.15, p.141-170, 1985.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, Ottawa, v.37, n.8, p.911-917, 1959.
- BRASIL. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. Pescado fresco. In: _____. **Métodos analíticos oficiais para o controle de produtos de origem animal e seus ingredientes**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v.2, cap.11.
- CARECHE, M.; TEJADA, M. Effect of neutral and oxidized lipids on protein functionality in megrim (*Lepidorhombus whiffiagonis* W.) and sardine (*Sardina pilchardus* R.) during frozen storage. **Food Chem.**, Kidlington, v.37, p.275-287, 1990.
- CERGOLE, M.C.; SACCARDO, S.A.; ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C.L.D.B. Fluctuations in the spawning stock biomass and recruitment of the Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*) 1977-1997. **Rev. Bras. Oceanogr.**, São Paulo, v.50, p.13-26, 2002.
- CONNOR, W.E. Do the n-3 fatty acids from fish prevent deaths from cardiovascular disease? **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v. 66, p. 188-189, 1997.

CRACKEL, R.L.; GRAY, J.I.; PEARSON, A.M.; BOOREN, A.M.; BUCKLEY, D.J. Some further observations on the TBA test as an index of lipid oxidation in meats. **Food Chem.**, Kidlington, v.28, p.187-196, 1988.

DAVIS, H.K. Quality and deterioration of raw fish. In: RUITER, A., ed. **Fish and fishery products: composition, nutritive properties and stability**. Wallingford: Cab International, 1995. cap.7, p.215-242.

DRAPER, H.H.; HADLEY, M. A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. **Xenobiotica**, v.20, p.901-907. 1990. *apud* KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biol. Med.**, New York, v.12, p.63-81, 1992.

EL-LAKANY, S.; MARCH, B.E. A comparison of chemical changes in freeze-dried herring meals and a lipid-protein model system. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.25, p.889-897, 1974.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION). Fisheries. Statistics. Yearbook of Fishery Statistics: Summary Tables. **Fish, Crustaceans, Molluscs, etc.**: capture production by principal producers. Disponível em: <http://www.fao.org/fi/statist/summtab/default.asp>. Acesso em: 23 jan. 2004.

FAO/WHO/UNU. *Energy and Protein Requirements*. Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. World Health Organization Rep. Ser. 724. WHO, Geneva, 1985. *apud* FENNEMA, O.R. (ed.) **Food Chemistry**, 3.ed. New York: Marcel Dekker, 1996. 1069p.

FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.A. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. **Food Chem.**, Kidlington, v.59, n.3, p.345-353, 1997.

FERRER, E.; ALEGRÍA, A.; FARRÉ, R.; ABELLÁN, P.; ROMERO, F.; CLEMENTE, G. Evolution of available lysine and furosine contents in milk-based infant formulas throughout the shelf-life storage period. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.83, n.5, p.465-472, 2003.

FIGUEIREDO, J.L.; MENEZES, N.A. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil**: Teleostei (1). São Paulo: Museu de Zoologia/USP, 1978. 110p.

GÁMEZ-MEZA, N.; HIGUERA-CIAPARA, I.; CALDERÓN DE LA BARCA, A.M.; VÁZQUEZ-MORENO, L.; NORIEGA-RODRÍGUEZ, J.; ANGULO-GUERRERO, O. Seasonal variation in the fatty acid composition and quality of sardine oil from *Sardinops sagax caeruleus* of the Gulf of California. **Lipids**, Champaign, v.34, n.6, p.639-642, 1999.

GARCÍA, R.; CARECHE, M. Influence of chilling methods on the quality of sardines (*Sardina pilchardus*). **J. Food Prot.**, Des Moines, v.65, n.6, p.1024-1032, 2002.

GENNARI, M.; TOMASELLI, S.; COTRONA, V. The microflora of fresh and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) Sea and stored in ice. **Food Microb.**, Sidcup, v.16, p.15-28, 1999.

GIANNINI, D.H. Determinación de nitrógeno básico volátil (NBV) en pescado. Consideraciones generales. **Alimentaria**, Madrid, v.40, n.343, p.49-54, 2003.

GIRÓN-CALLE, J.; ALAIZ, M.; MILLÁN, F.; RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; VIOQUE, E. Bound malonaldehyde in foods: bioavailability of the N-2-propenals of lysine. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.50, p.6194-6198, 2002.

GIRÓN-CALLE, J.; ALAIZ, M.; MILLÁN, F.; RUIZ-GUTIÉRREZ, V.; VIOQUE, E. Bound malonaldehyde in foods: bioavailability of N,N'-di-(4-methyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarbonyl)lysine. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.51, p.4799-4803, 2003.

GRIGORAKIS, K.; TAYLOR, K.D.A.; ALEXIS, M.N. Seasonal patterns of spoilage of ice-stored cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Food Chem.**, Kidlington, v.81, p.263-268, 2003.

GROOM, H. Oil-rich fish. **Nutr. Food Sci.**, Toller Lane, n.6, p.4-8, 1993.

GUILLÉN-SANS, R.; GUZMÁN-CHOZAS, M. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Fort Lauderdale, v.38, n.4, p.315-330, 1998.

HERNÁNDEZ-HERRERO, M.M.; ROIG-SAGUÉS, A.X.; LÓPEZ-SABATER, E.I.; RODRÍGUEZ-JEREZ, J.J.; MORA-VENTURA, M. Total volatile basic nitrogen and other physico-chemical and microbiological characteristics as related to ripening of salted anchovies. **J. Food Sci.**, Chicago, v.64, n.2, p.344-347, 1999.

IBAMA. **Relatório da reunião do grupo permanente de estudos sobre a sardinha**. Itajaí: IBAMA/CEPSUL, 1991. 16p.

IBAMA. **Relatório da reunião técnica sobre sardinha**. Itajaí: IBAMA/CEPSUL, 1992. 8p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: volume 1 - métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado, 1985. p.274-275.

ITÔ, Y.; SANCHES, L.; SILVA, D.R. Seasonal variation of the chemical composition of sardine. **Contrib. Inst. Oceanogr. Univ. S. Paulo -Tecnol.**, São Paulo, n.6, p.1-8, 1969.

KELLEHER, S.D.; HULTIN, H.O.; WILHELM, K.A. Stability of mackerel surimi prepared under lipid-stabilizing processing conditions. **J. Food Sci.**, Chicago, v.59, n.2, p.269-271, 1994.

KUBOW, S. Toxicity of dietary lipid peroxidation products. **Trends in Food Sci. Technol.**, Kidlington, v.1, n.9, p.67-73, 1990.

KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Rad. Biol. & Med.**, New York, v.12, p.63-81, 1992.

LUZIA, L.A.; SAMPAIO, G.R.; CASTELLUCCI, C.M.N.; TORRES, E.A.F.S. The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. **Food Chem.**, Kidlington, v.83, p.93-97, 2003.

MARRAKCHI, A.E.; BENNOUR, M.; BOUHRITI, N.; HAMAMA, A.; TAGAFAIT, H. Sensory, chemical and microbiological assessments of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. **J. Food Prot.**, Des Moines, v.53, n.7, p.600-605, 1990.

MARUF, F.W.; LEDWARD, D.A.; NEALE, R.J.; POULTER, R.G. Chemical and nutritional quality of Indonesian dried-salted mackerel (*Rastrelliger kanagurta*). **Int. J. Food Sci. Technol.**, Oxford, v.25, p.66-77, 1990.

MENDES, R.; GONÇALVES, A.; NUNES, M.L. Changes in free amino acids and biogenic amines during ripening of fresh and frozen sardine. **J. Food Biochem.**, Trumbull, v.23, p.295-306, 1999.

MIYAKE, T.; SHIBAMOTO, T. Simultaneous determination of acrolein, malonaldehyde and 4-hydroxy-2-nonenal produced from lipids oxidized with Fenton's reagent. **Food Chem. Toxic.**, Kidlington, v.34, n.10, p.1009-1011, 1996.

MORALES-AIZPURÚA, I.C.; TENUTA-FILHO, A. Óxidos de colesterol: ocorrência em alimentos, formação e efeitos biológicos. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, São Paulo, v.38, n.4, p.431-442, 2002.

NIELSEN, H.K.; DE WECK, D.; FINOT, P.A.; LIARDON, R.; HURRELL, R.F. Stability of tryptophan during food processing and storage. 1. Comparative losses of tryptophan, lysine and methionine in different model systems. **Brit. J. Nutr.**, Wallingford, v.53, p.281-292, 1985.

PACHECO-AGUILAR, R.; LUGO-SÁNCHEZ, M.E.; ROBLES-BURGUEÑO, M.R. Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. **J. Food Sci.**, Chicago, v.65, n.1, p.40-47, 2000.

PÉREZ-OLLEROS, L.; GARCÍA-CUEVAS, M.; PÉREZ, M.; RUIZ-ROSO, B.; VARELA, G. Algunos aspectos de la utilización nutritiva de cuatro diferentes elaboraciones comerciales de sardinas enlatadas. **Alimentaria**, Madrid, n.288, p.137-141, 1997.

PICHE, L.A.; COLE, P.D.; HADLEY, M.; VAN DEN BERGH, R.; DRAPER, H.H. Identification of N- ϵ -(2-propenal) lysine as the main form of malonaldehyde in food digesta. **Carcinogenesis**, Oxford, v.9, n.3, p.473-477, 1988.

PIMENTEL, L.P.S. **Características físico-químicas e microbiológicas do gelo utilizado na conservação de pescado comercializado em supermercados na Grande São Paulo, Brasil, 1999**. São Paulo, 2000. 51p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo.

ROBLES-MARTINEZ, C. ; CERVANTES, E.; KE, P.J. 1982. Recommended method for testing the objective rancidity development in fish based on TBARS formation. Can. Tech. Rpt. Fish. Aquatic Sci. No.1089, 1982. *apud* KURADE, S.A.; BARANOWSKI, J.D. Prediction of shelf life of frozen minced fish in terms of oxidative rancidity as measured by TBARS number. **J. Food Sci.**, Chicago, v.52, n.2, p.300-302, 1987.

ROMERO P., N.; ROBERT C., P.; MASSON S., L.; LUCK U., C.; BUSCHMANN A., L. Composición en ácidos grasos y aporte de colesterol de conservas de jurel, sardina, salmón y atún al natural. **Arch. Latinoam. Nutr.**, Caracas, v.46, n.1, p.75-77, 1996.

ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C.L.D.B. *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879): estudo sobre a estrutura da espécie na área entre 23°S (RJ) e 28°S (SC), Brasil. São Paulo, 1978. 2v. Tese de Doutorado - Instituto de Biociências - Universidade de São Paulo.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. **Código Sanitário**: Decreto nº 12.342, de 27 de setembro de 1978: regulamento da promoção, preservação e recuperação da saúde no campo de competência da Secretaria de Estado da Saúde (revisto e atualizado até dezembro de 1990). 4.ed. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado, 1991. 412p.

SHINMOTO, H.; DOSAKO, S.; NAKAJIMA, I. Anti-oxidant activity of bovine lactoferrin on iron/ascorbate induced lipid peroxidation. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, Tokyo, v.56, n.12, p.2079-2080, 1992.

SILVA, S.M.C.S.; KUGA, E.K.; MANCINI-FILHO, J. Efeito do processamento sobre ácidos graxos poliinsaturados da fração lipídica da sardinha (*Sardinella brasiliensis*) e da tainha (*Mugil cephalus*). **Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo**, São Paulo, v.29, n.1, p.41-46, 1993.

SILVA, F.A.M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Quím. Nova**, São Paulo, v.22, n.1, p.94-103, 1999.

SILVA, J.L.; CHAMUL, R.S. Composition of marine and freshwater finfish and shellfish species and their products. In: MARTIN, R.E.; CARTER, E.P.; FLICK, Jr., G.J.; DAVIS, L.M., eds. **Marine and freshwater products handbook**. Lancaster: Technomic, 2000, p.31-45.

- SIMEONIDOU, S.; GOVARIS, A.; VARELTZIS, K. Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage on ice. **Food Res. Int.**, Kidlington, v.30, n.7, p.479-484, 1998.
- SLABYJ, B.M.; TRUE, R.H. Effect of preprocess holding on the quality of canned Maine sardines. **J. Food Sci.**, Chicago, v.43, p.1172-1176, 1978.
- SPINELLI, J. Factors relating to finfish flavor, odor, and quality changes. In: MARTIN, R.E.; CARTER, E.P.; FLICK, Jr., G.J.; DAVIS, L.M., eds. **Marine and freshwater products handbook**. Lancaster: Technomic, 2000. p.819-835.
- UAUY, R.; VALENZUELA, A. Marine oils: the health benefits of n-3 fatty acids. **Nutrition**, Tarrytown, v.16, n.7/8, p.1-5, 2000.
- UNITED STATES. Agriculture Research Service. **Composition of foods: raw, processed, prepared**. Washington, 1963. p.159. (U.S. Department of Agriculture. Agriculture Handbook, n.8).
- VENUGOPAL, V.; SHAHIDI, F. Structure and composition of fish muscle. **Food Rev. Int.**, New York, v.12, n.2, p.175-197, 1996.
- VIGO, M.S.; MALEC, L.S.; GOMEZ, R.G.; LLOSA, R.A. Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of reactive lysine in dairy products. **Food Chem.**, Kidlington, v.44, p.363-365, 1992.
- VISENTAINER, J.V.; CARVALHO, P.O.; IKEGAKI, M.; PARK, Y.K. Concentração de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) em peixes marinhos da costa brasileira. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.20, n.1, p.90-93, 2000.
- VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichm.**, Leinfelden, n.12, p.1084-1087, 1970.

WATANABE, K. Sardinha congelada: alterações durante armazenamento a -18°C. **Contrib. Avulsas Inst. Oceanogr.: Tecnol.**, São Paulo, v.3, n.207, p.1-12, 1965.

WHEATON, F.W.; LAWSON, T.B. **Processing aquatic food products**. New York: John Wiley, 1985. cap.10, p.225-272.

WILKINSON, A.L.; SUN, Q.; SENEAL, A.; FAUSTMAN, C. Antioxidant effects on TBARS and fluorescence measurements in freeze-dried meats. **J. Food Sci.**, Chicago, v.66, n.1, p.20-24, 2001.

ZHANYUAN, D.; BRAMLAGE, W.J. Malonaldehyde oxidation by hydrogen peroxide and by light-excited riboflavin in model systems. **J. Food Sci.**, Chicago, v.58, n.4, p.925-928, 1993.