

BIOQUÍMICA

DE PESCADOS E DERIVADOS



Emilio Contreras G.

Alex Augusto Gonzales
Oceánólogo

Editora FUNEP



Bioquímica de Pescados e Derivados

Emílio S. Contreras Guzmán

Professor de Tecnologia de Pescados e Derivados
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Universidade Estadual de Campinas
Ex-pesquisador do Instituto de Fomento Pesquero,
Santiago de Chile.

Alex Augusto Gonçalves
Oceanólogo

PEDIDOS PARA:

FUNEP - Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia,
Medicina Veterinária e Zootecnia

Rodovia Carlos Tonanni, Km 5
Caixa Postal, 541
14870-990 - Jaboticabal - SP
Tel: (0163) 23-1322 - Ramal 213 ou: (0163) 23-3326
Fax: (0163) 22-2978

FCAVJ - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus
de Jaboticabal - UNESP

Para uso FUNEP

Nº 02.07.0014-4 Preço _____

Contreras-Guzmán, Emílio S.
C764b Bioquímica de pescados e derivados. Jaboticabal:
FUNEP, 1994. _____
409 p.

1 - Pescados - Bioquímica. I-A. II-T.

CDU: 639.2:577.1

Índice

	Pág.
Apresentação	01
Ictiologia e Tecnologia	05
CAPÍTULO 1 - Cadeia alimentar no mar	07
1.1 - Fitoplâncton	07
1.2 - Fotossíntese	08
1.3 - Zooplâncton	11
1.4 - Elos e eficiência da cadeia alimentar	11
1.5 - Referências Bibliográficas	13
CAPÍTULO 2 - Classificação das espécies de peixes	15
2.1 - Espécies fluviais e marinhas do Brasil	17
2.2 - Referências Bibliográficas	21
CAPÍTULO 3 - Estrutura do corpo e dos músculos	23
3.1 - Forma externa dos peixes	23
3.2 - Estrutura do corpo	25
3.3 - Estrutura dos músculos	27
3.3.1 - Macroestrutura: massas musculares principais	28
3.3.2 - Segmentos musculares	30
3.3.3 - Miotomas ou miômeros	32
3.3.4 - Microestrutura: a célula muscular	32
3.4 - Referências Bibliográficas	36
CAPÍTULO 4 - Rendimentos da parte comestível	37
4.1 - Parte útil, tronco limpo e filés de peixes	37
4.1.1 - Influência da forma externa	39
4.1.2 - Influência do tamanho da cabeça	39

4.1.3 - Influência da porcentagem de resíduos	41
4.2 - Parte útil de moluscos e crustáceos	43
4.3 - Referências Bibliográficas	46
CAPÍTULO 5 - Composição química de peixes, crustáceos e moluscos	47
5.1 - Divisão das espécies na base da composição química	48
5.2 - Composição química dos músculos claros e dos vermelhos	50
5.3 - Variação da composição através do corpo	51
5.4 - Variação da composição química com a idade e estação do ano	55
5.5 - Variação da composição química com o sexo e o desenvolvimento gonadal	62
5.6 - Tabela geral de composição química de pescados do Brasil	64
5.7 - Referências Bibliográficas	69
CAPÍTULO 6 - Elementos minerais	73
6.1 - Referências Bibliográficas	77
CAPÍTULO 7- Compostos nitrogenados não protéicos (N.N.P.)	79
7.1 - Teor de nitrogênio não protéico, protéico e total em alguns peixes, crustáceos e moluscos brasileiros	81
7.2 - Componentes individuais do nitrogênio não protéico	85
7.2.1 - Derivados do amônio quaternário	86
Óxido de trimetilamina (OTMA)	86
Origem do OTMA	87
Funções do OTMA	88
Variações do OTMA através do corpo	90
Variação sazonal do OTMA	93
Betaínas	95
Funções das betaínas	96
7.2.2 - Derivados da guanidina	96
Creatina	96
Creatinina	99
Arginina	100

Octopina	100
7.2.3 - Derivados do imidazol	101
Histidina	101
Carnosina	104
Anserina	106
Balenina	106
7.2.4 - Uréia	106
7.2.5 - Aminoácidos livres dos músculos de pescados	110
Funções dos aminoácidos livres	111
Aminoácidos livres de camarões marinhos e de água doce	117
Aminoácidos livres em relação ao sabor e aroma típicos dos crustáceos e peixes	117
Alterações dos aminoácidos livres com o ciclo da muda	119
7.2.6 - Derivados das purinas e pirimidinas	121
7.3 - Referências Bibliográficas	123
CAPÍTULO 8 - Nitrogênio Protéico (N.P.)	131
8.1 - Estudos de solubilidade	133
8.2 - Separação das proteínas contidas nos extratos miofibrilares e sarcoplasmáticos	138
8.2.1 - Componentes das proteínas sarcoplasmáticas	142
8.2.2 - Componentes das proteínas miofibrilares	145
8.2.2.1 - Características e funções das proteínas individuais	147
Miosina	147
Actina	149
Actomiosina	151
Tropomiosina	151
Troponinas	151
Actininas	152
Proteína M	152
Proteína C	152
8.2.3 - Componentes das proteínas estromáticas	152

Colágeno	153
Reticulina	155
Elastina	156
8.2.4 - Composição de aminoácidos dos músculos de peixes, crustáceos e moluscos	156
8.3 - Referências bibliográficas	162
CAPÍTULO 9 - Enzimas proteolíticas endógenas dos peixes, crustáceos e moluscos	169
9.1 - Proteases ácidas de origem muscular	170
9.2 - Proteases alcalinas de origem muscular	175
9.3 - Proteases neutras de origem muscular	178
9.4 - Proteases alcalinas do aparelho digestivo	180
9.5 - Interligação entre degradação protéica endógena edesenvolvimento de micoorganismos	184
9.6 - Referências Bibliográficas	184
CAPÍTULO 10 - Fenômenos bioquímicos no rigor-"mortis"	189
10.1 - Modificações das propriedades físicas dos músculos	190
10.1.1 - Características da fase de pré-rigor-"mortis"	190
10.1.2 - Características do rigor-"mortis" pleno (full rigor)	192
Enfraquecimento do tecido conjuntivo	193
Relação entre pH e rigor-"mortis"	195
Efeito da temperatura no tempo de entrada no rigor-"mortis"	195
10.1.3 - Características da fase de pós-rigor-"mortis"	197
10.2 - Modificações dos carboidratos	198
10.2.1 - Teor de glicogênio e produtos de sua degradação no músculo de pescado	200
10.2.2 - Comparação entre o rigor-"mortis" de animais de sangue quente e de peixes	206
10.3 - Modificações dos nucleotídeos	208
10.3.1 - Degradação dos nucleotídeos do ATP	209
Inosina e Hipoxantina	209
10.4 - Referências Bibliográficas	217
CAPÍTULO 11 - Deterioração do frescor	225

Aspectos fisiológicos da intoxicação por histamina	273
Mecanismos de detoxificação	275
Produção da descarboxilase da histidina e caracterização de suas propriedades	277
Histamina em relação à composição do alimento	278
Histamina em relação à manipulação das matérias primas	279
Histamina em peixes enlatados	281
11.4.2.2 - Cadaverina, putrescina, agmatina e outras aminas	284
11.5 - Compostos voláteis de enxofre	287
11.5.1 - Micoorganismos responsáveis pela geração de voláteis com enxofre	288
11.6 - Vida útil dos peixes de clima tropical	292
11.7 - Referências Bibliográficas	294
CAPÍTULO 12 - Lipídios de peixes, crustáceos, moluscos e algas	315
12.1 - Natureza e função dos lipídios poliinsaturados	316
12.2 - Composição dos lipídios de peixes, crustáceos e moluscos	318
12.2.1 - Lipídios neutros (L.N.)	319
12.2.1.1 - Triacilgliceróis (Triglicerídeos)	322
12.2.1.2 - Hidrocarbonetos (H.C)	324
12.2.1.3 - Carotenóides	327
12.2.1.4 - Vitaminas lipossolúveis	331
Vitamina A	331
Vitamina D	333
Vitamina E	334
12.2.1.5 - Esteróis (Colesterol)	336
12.2.1.6 - Éter-acilgliceróis e ácidos graxos	341
12.2.1.7 - Ceras	344
12.2.2 - Lipídios Polares (LP)	345
12.2.2.1 - Fosfolipídios (FL)	345

11.1 - Alterações do teor de NNP, particularmente dos aminoácidos livres na fase de pós-rigor-"mortis"	228
11.2 - Formação de amônia	233
11.2.1 - Formação de amônia da degradação de nucleotídeos	233
11.2.2 - Formação de amônia por desenvolvimento microbiano	236
11.2.3 - Formação de amônia por hidrólise da uréia	238
11.3 - Bases voláteis totais (BVT)	240
11.3.1 - Métodos para determinação das bases voláteis totais	242
11.3.2 - Evolução das bases voláteis totais em peixes armazenados em gelo	244
11.4 - Formação de aminas	246
11.4.1 - Mecanismos de formação de trimetilamina	248
11.4.1.1 - Formação de TMA por OTMA-ase de origem bacteriana	250
Trimetilamina em peixes de carne clara	254
Trimetilamina em sardinhas e outros clupeídeos	257
Trimetilamina em camarões e outros crustáceos	258
11.4.1.2 - Produção de trimetilamina por enzimas endógenas	263
11.4.1.3 - Produção de dimetilamina e aldeído fórmico por ação da OTMA-ase endógena	264
Formação de trimetilamina em extratos de vísceras de peixes	267
11.4.1.4 - Formação de trimetilamina, dimetilamina e aldeído fórmico por reações químicas	268
11.4.2 - Aminas não voláteis	269
11.4.2.1 - Histamina	272

12.2.2.2 - Glicolipídios (GLI)	351
12.3 - Ácidos Graxos (AG)	355
12.3.1 - Influência das ligações duplas na estrutura e propriedades físicas dos glicerídeos	359
12.3.2 - Ácidos graxos de algas em geral	362
12.3.2.1 - Ácidos graxos de algas marinhas	365
12.3.2.2 - Ácidos graxos de algas de água doce	368
12.3.3 - Ácidos graxos de organismos animais em relação à sua dieta	370
12.3.3.1 - Ácidos graxos de peixes herbívoros de água doce	373
12.3.3.2 - Ácidos graxos de peixes marinhos	374
Ácidos graxos da sardinha brasileira	375
Ácidos graxos da anchoveta em relação à indústria de farinha de peixe	379
Ácidos graxos do óleo de peixes de elos superiores	381
12.3.3.3 - Óleo de fígado de peixes	383
12.3.3.4 - Gorduras de peixes de água doce brasileiros	386
12.3.3.5 - Ácidos graxos de fosfolipídios	392
12.4 - Referências Bibliográficas	399

Apresentação

O final do século vinte nos surpreende com uma bagagem preciosa de conhecimentos científicos e aplicações tecnológicas no campo dos alimentos, particularmente nos de origem aquática.

É o legado de uma plêiade de talentos que dominaram o cenário por mais de meio século, estabelecendo as bases da Ciência e Tecnologia de pescados que atualmente usufruímos.

Nomes como SHEWAN, CONNELL, LISTON, DYER, STANSBY, ACKMAN, BERTULLO e outros, nos inspiram e fascinam com seu raciocínio penetrante e sua escrita elegante e concisa. Alguns deles já nos deixaram, tornando impossível o sonho dos discípulos de encontrar-se com os seus mentores.

Ligeiramente mais recente, a contribuição japonesa explodiu na década de sessenta, assombrando-nos com o volume e originalidade de suas pesquisas e soluções tecnológicas que mudaram o rumo da indústria de pescados.

O Brasil não permaneceu alheio a esse acontecimento, através de contribuições dos centros tradicionais de pesquisa marinha de Fortaleza, São Paulo e Rio Grande do Sul. Posteriormente, novos centros, com ênfase na inter-relação entre exploração-criação e industrialização, têm-se engajado, tornando mais próxima a consecução da tarefa que a própria natureza delegou-lhes: aprofundar o conhecimento das espécies tropicais e subtropicais, para otimizar o aproveitamento dos recursos alimentares e ingressar no século vindouro devidamente aparelhados.

O texto que apresentamos aborda aspectos químicos, bioquímicos e físicos dos músculos de peixes, crustáceos e moluscos com o intuito de prestar sustentação científica para desenvolvimentos tecnológicos.

As matérias foram organizadas em doze capítulos, destacando em cada um o que é importante para a industrialização, controle de qualidade e propriedades sensoriais. Os capítulos iniciais tratam da distribuição das espécies nas regiões continentais e litorâneas do Brasil, do rendimento da carne em função das formas anatômicas e da composição química centesimal da parte comestível de espécies marinhas e de água doce. Os capítulos intermediários são dedicados aos componentes químicos típicos das espécies, enfatizando as suas funções nos tecidos do animal vivo e sua influência no aproveitamento como alimento. Nos capítulos finais estuda-se a evolução do frescor de pescados desde o pré-rigor-"mortis", até o pós-rigor-"mortis", isto é, abrangendo a faixa de frescor máximo até o início da putrefação.

Pode-se compreender que esta variedade de assuntos não permite um detalhamento exaustivo, portanto as informações precisaram ser condensadas em tabelas e esquemas e as discussões limitadas ao essencial.

A esquematização dos conceitos dá mais agilidade à exposição e tornando-a acessível para alunos com pouca familiaridade nos alimentos de origem aquática.

O público alvo do livro são os engenheiros de alimentos, biólogos, químicos, nutricionistas e pesquisadores que precisam de um texto com informação condensada, orientada para os aspectos químicos e bioquímicos dos pescados.

Sempre que possível, o material para montagem dos capítulos foi escolhido de informações brasileiras; quando não, a montagem foi feita com publicações estrangeiras, preferindo as de origem latino-americanas que, semelhante às brasileiras, são menos difundidas na literatura internacional.

Uma parte importante dos dados provém do Laboratório de Pescados e Derivados, da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP. Trata-se de experimentos de aulas, trabalhos de tese e pesquisas do autor, acumuladas em quase duas décadas de ensino.

Outros dados brasileiros foram obtidos de revistas e boletins científicos, apresentações em congressos, relatórios de encontros e simpósios e outros eventos sobre bioquímica e tecnologia de pescados. Vale salientar a surpreendente quantidade de informações encontradas na forma de teses de mestrado ou doutorado, ignoradas e desaproveitadas por falta de uma difusão maior em jornais científicos.

Face à amplitude do assunto, não foi dedicado um capítulo especial para os aspectos microbiológicos, porém a sua importância na decomposição dos pescados é evidenciada e reconhecida pela abordagem detalhada dos metabólitos formados no período pós-rigor-"mortis".

Outros aspectos, não focalizados no texto, dizem respeito a alterações das propriedades funcionais das proteínas e a fenômenos oxidativos dos lipídios poliinsaturados. Tal enfoque obrigaria detalhar os processos de conservação de pescados, o que foge do objetivo deste texto.

Professor Emílio S. Contreras Guzmán

Campinas, 1994

Ictiologia e Tecnologia

A Ictiologia, ou estudo dos peixes, abrange diversas ciências cujo conhecimento é fundamental para o aproveitamento racional dos recursos.

Entre os campos da Ictiologia, os relacionados com Ecologia e Preservação das espécies aquáticas têm adquirido maior destaque face a série de desastres ecológicos e à exploração insensata que tem causado o desaparecimento total ou parcial de várias espécies tradicionalmente abundantes.

O equilíbrio entre exploração e preservação das espécies passa pelo conceito de manutenção de sua capacidade reprodutiva que só pode ser avaliada após pesquisas biológicas prolongadas e de alto custo. Tais estudos têm sido realizados apenas para umas poucas espécies de grande interesse comercial.

A contaminação crescente do meio aquático veio acrescentar um novo elemento prejudicial à manutenção dos estoques, tornando ainda mais urgente o entrosamento entre as pesquisas biológicas, ecológicas e o nível de exploração industrial.

Outros aspectos da alçada da Ictiologia abordam a Fisiologia, Anatomia e Bioquímica das espécies. Tal conhecimento presta à moderna Tecnologia de Pescados elementos valiosos para maximizar a qualidade e aprimorar os processos. O comportamento fisiológico das espécies, antes e após a morte, é fator decisivo na escolha dos sistemas de captura, tratamentos da matéria-prima a bordo e precauções no manuseio na indústria. Além do mais, o conhecimento das características anatômicas dos peixes, quer seja a nível de macroestrutura quanto à microestrutura dos tecidos, é da maior importância para o desenho das máquinas filetadoras, sistemas de resfriamento, remoção da pele e evisceração.

A Tecnologia de Pescados atual apóia-se em várias ciências puras ou aplicadas, longe do empirismo inicial, para atingir os objetivos de maximizar a utilização das matérias-primas e produzir alimentos nutritivos e saborosos, próprios para a sociedade atual, que está ciente do significado do termo "qualidade".

A Figura 1 resume a inter-relação entre Tecnologia de Pescados, Ictiologia e outras disciplinas.

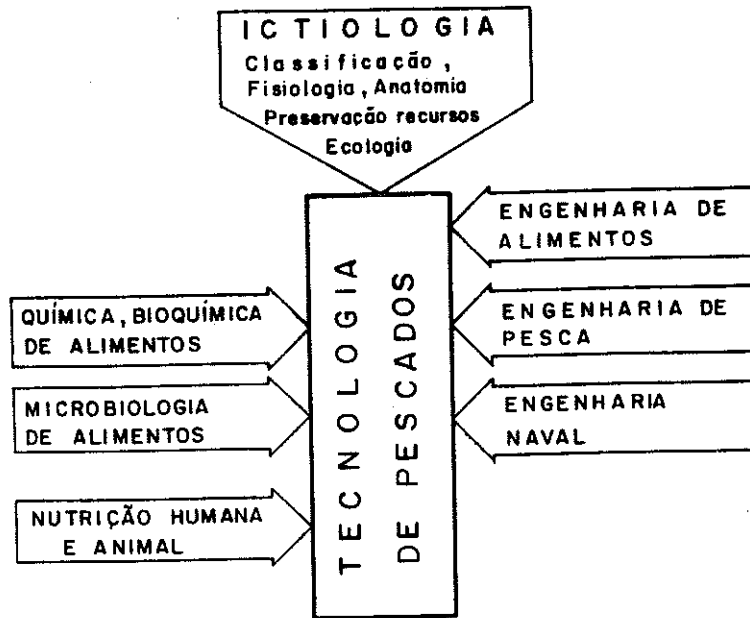


FIGURA 01 - Ciências puras e aplicadas em que se apóia a tecnologia de pescados.

1 - Cadeia Alimentar no Mar

1.1 - Fitoplâncton

As plantas aquáticas constituem, no mar, o primeiro elo da cadeia alimentar. Mediante a fotossíntese, os organismos eucarióticos inferiores como **euglenas, dinoflagelados e diatomáceas**, além de alguns procarióticos fotossintetizantes como as algas azul-esverdeadas e algumas bactérias, transformam compostos de origem inorgânica (CO_2 , NO_3^-) em compostos orgânicos (carboidratos, proteínas e gorduras) que servem como alimento para o segundo elo, o zooplâncton, e para peixes herbívoros.

Por imposição do "habitat", os vegetais marinhos existem majoritariamente como organismos unicelulares; esta característica apresenta várias vantagens (Isaacs, 1982):

- a) Favorecem a captação da energia luminosa de maneira mais eficiente que nas algas superiores tipo planta;
- b) Apresentam tamanho adequado para servir de alimento aos animais microscópicos do zooplâncton;
- c) Favorecem a captação dos nutrientes dissolvidos e a excreção dos resíduos catabólicos;
- d) Permitem a liberdade de movimentos, facilitando a ocupação máxima da camada d'água iluminada.

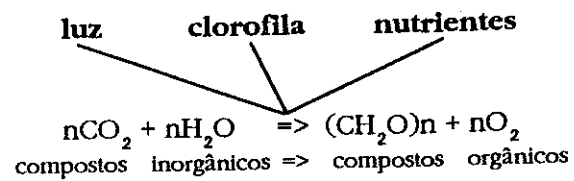
As algas, semelhantes às plantas superiores, têm importância relativamente menor que as microscópicas e pertencem a três grandes classes: algas marrons, verdes e vermelhas, e acumulam amido, laminarina e gorduras como reserva.

As algas unicelulares mais importantes são as dinoflageladas e as diatomáceas. As primeiras têm paredes de celulose e acumulam gorduras e leucosina como material de reserva. As dinoflageladas, embora comumente sejam unicelulares, podem apresentar estrutura coenocítica ou filamentosa.

As diatomáceas são nitidamente unicelulares, com paredes de sílica e acumulam amido como reserva. A abundância e distribuição das diatomáceas e dinoflageladas têm mostrado um comportamento sazonal, predominando, no inverno, as dinoflageladas e, na primavera e no verão, as diatomáceas (Sette, 1971).

1.2 - Fotossíntese

O volume de matéria vegetal sintetizada pelas algas depende de vários fatores, que aparecem de um modo simplificado na equação clássica da **fotossíntese**:



A fotossíntese no mar verifica-se quando nenhum dos elementos da equação é limitante.

Dióxido de Carbono (CO₂): Este composto não é limitante, pois o CO₂(HCO₃⁻), produto do metabolismo dos seres vivos do mar, e o CO₂ do ar, incorporado na água pela agitação superficial, mantêm uma concentração relativamente alta (© 100 mg/l), se comparada com a existente no ar a igualdade de volume, que é umas 150 vezes menor (Sette, 1971).

Luz Solar: A luz solar fornece os fótons que podem ser convertidos em energia química mediante a clorofila. O ATP e o NADPH resultantes

são usados nas numerosas reações que levam à formação de moléculas orgânicas (Lehninger, 1985), como é mostrado esquematicamente na figura 2.

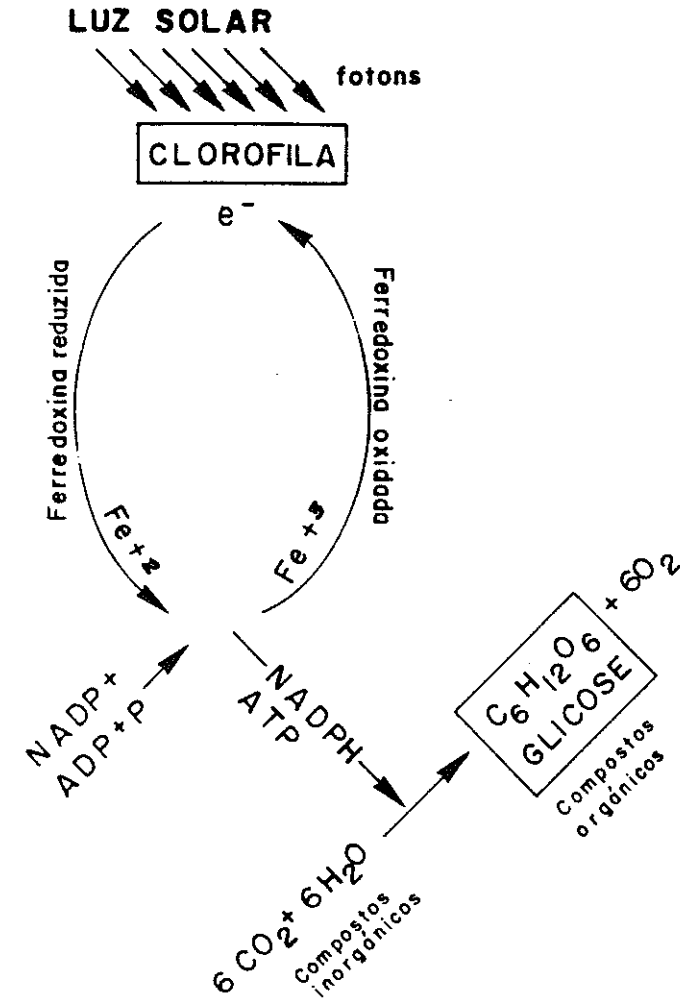


FIGURA 02 - Esquema da fotossíntese mostrando a transformação da energia luminosa em química que serve para síntese de compostos orgânicos (matéria viva).

A luz, comumente, não é limitante no mar, porém, em águas turvas, a camada iluminada fica muito restrita à superfície, enquanto que, nas águas claras, a intensidade diminui progressivamente com a profundidade para chegar a zero em torno dos 180 metros. Somente na camada iluminada pode ocorrer síntese de matéria vegetal.

Nutrientes: A água do mar é um meio relativamente pobre em sais minerais indispensáveis para o crescimento de vegetais. Tais compostos são os fosfatos e nitratos que existem em teores entre 0,0001 e 0,18 mg/l para os primeiros e entre 0,001 e 0,6 mg/l para os segundos.

A concentração destes compostos aumenta gradualmente com a profundidade, atingindo o máximo entre 600 e 900 m (Pinchot, 1982).

Se se considerar que as algas frescas contêm entre 0,1 e 0,4% de N, seriam necessários entre 4,4 e 17,7 kg de NO_3^- para cada tonelada de alga sintetizada, uma quantidade que somente pode ser fornecida pelo deslocamento contínuo dos minerais depositados no fundo para as zonas superficiais iluminadas. Esta reciclagem de nutrientes constitui um dos fatores mais críticos da fertilidade marinha.

A homogeneização dos nutrientes, por simples difusão, é pouco eficiente, visto que a reposição dos sais esgotados deve ser feita com rapidez, acompanhando a velocidade do consumo. A agitação pelas ondas e turbulências produz uma boa mistura nas costas baixas, porém, nas mais fundas, o efeito de mistura é irrelevante.

Em algumas regiões com invernos frios, a ascensão dos nutrientes ocorre pelo fenômeno conhecido como **viragem invernal**. O esfriamento das águas superficiais aumenta sua densidade, afundando-as e substituindo-as por massas do fundo, menos frias e mais ricas em nutrientes.

Nas costas abruptas, onde a plataforma continental ou insular é estreita, ocorre o fenômeno chamado **ressurgência (upwelling)**, onde as massas oceânicas se chocam nas paredes da plataforma, revirando e homogeneizando a água na vizinhança. O efeito de ressurgência é maior se ocorre em conjunção com as grandes correntes oceânicas. No Brasil, uma das maiores ressurgências ocorre na região de Cabo Frio, sendo responsável pela abundância de sardinha.

1.3 - Zooplâncton

É formado por inúmeros pequenos animais como medusas, anêmonas, pequenos crustáceos, organismos em estado larval e, principalmente, por copépodos, que correspondem aos insetos terrestres.

A ordem **COPEPODA** tem mais de 2000 espécies herbívoras, onívoras e carnívoras. As espécies herbívoras habitam geralmente na superfície, porém, há copépodos herbívoros de águas profundas onde não há fotossíntese. Estes organismos migram verticalmente à noite, às vezes percorrendo 500 metros até atingir a superfície, onde consomem o fitoplâncton sintetizado durante o dia (Isaacs, 1982).

1.4 - Elos e eficiência da cadeia alimentar

A existência de um número enorme de animais, convivendo simultaneamente no meio aquático, explica-se pela lei de sobrevivência, que tem como protagonistas consumidores e consumidos, como é idealizado na Figura 3.

As algas microscópicas e a vegetação marinha multicelular formam o primeiro elo da cadeia, o único que sintetiza matéria viva a partir de substâncias inorgânicas.

Os vegetais são consumidos por animais herbívoros, que constituem o segundo elo da cadeia, também chamado **2º. nível trófico**. Os herbívoros principais pertencem ao zooplâncton, mas também há moluscos e peixes pequenos ou médios, formando parte deste nível trófico.

O terceiro elo (**3º. nível trófico**) é constituído por peixes, crustáceos e moluscos carnívoros, que se alimentam de zooplâncton e de peixes herbívoros. Ainda que comumente os animais deste elo sejam de porte pequeno ou médio, também há animais de grande tamanho, como a baleia azul e o tubarão-peregrino.

O quarto elo (**4º. nível trófico**) é formado por carnívoros superiores, que consomem carnívoros inferiores e peixes herbívoros.

O último elo (**5º. nível trófico**) é constituído pelos grandes predadores (tubarões, lulas gigantes, barracudas e outros) que consomem animais de todos os tamanhos, inclusive do seu próprio nível trófico.

O esquema de 5 níveis tróficos é uma simplificação necessária, porém nem sempre correta, pois alguns carnívoros podem tornar-se onívoros e até herbívoros por alterações do "habitat" ou nos diferentes estágios do seu desenvolvimento.

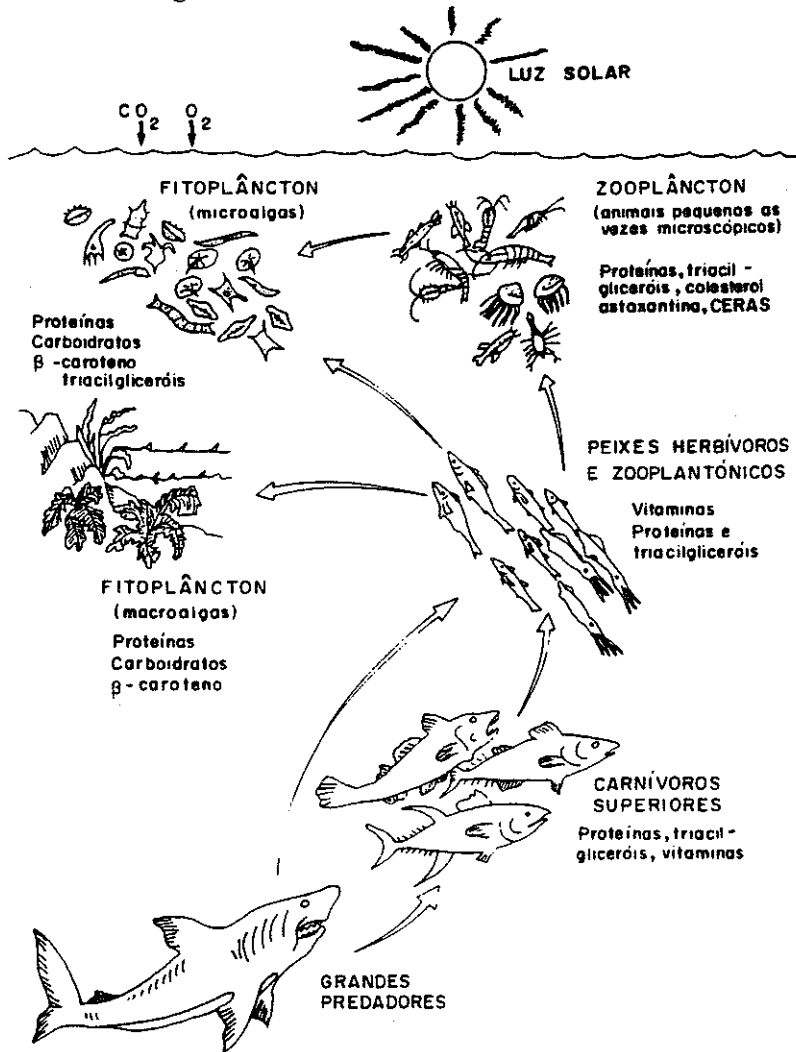


FIGURA 03 - Transferência de nutrientes através dos elos da cadeia alimentar.

Quando um animal é ingerido por outro, apenas uma porcentagem pequena é transformada em tecido; o resto é usado em outras funções ou desperdiçado. Apenas a porção tornada tecido estará disponível para o elo seguinte, como é mostrado na Figura 4. Essa porção depende da fisiologia da espécie e de fatores ambientais, sendo estimados grosseiramente em 10% da ingestão inicial. Estima-se que os peixes de alto valor comercial precisem de 5 etapas (Pinchot, 1982); conseqüentemente, uma tonelada de atum ter-se-ia formado a partir de 10⁵ toneladas de fitoplâncton.

Nos peixes de criação artificial, os elos são reduzidos ao mínimo, e a conversão alimentar, ao máximo; deste modo, em condições ideais, é possível conseguir conversões alimentares próximas de 1, isto é, para cada kg de ração ingerida, o peso vivo aumentaria também em 1 kg. Os peixes têm a vantagem irrefutável de ser animais de sangue frio, de modo que não consomem energia para manutenção da temperatura corporal, como o fazem as aves e mamíferos. Além do mais, a excreção dos resíduos metabólicos, sem grandes mudanças bioquímicas, é menos dispendiosa que o mecanismo dos animais de sangue quente (ácido úrico).

A ausência de termorregulação endógena tem também inconvenientes, pois nas estações frias, o crescimento se reduz ao mínimo. Nos trópicos, porém, o crescimento é mantido durante o ano todo, o que implica uma grande vantagem para a aquicultura nestas regiões.

1.5 - Referências bibliográficas

- ISAACS, J.D. The nature of oceanic life. In: Life in the sea, readings from scientific american. W.H. Freeman, San Francisco. 1982. pp.224-30
- LEHNINGER, A.L. Princípios de bioquímica. 2a. ed. Editora de Livros Médicos, São Paulo, 1985. pp.460-83.
- PINCHOT, G.B. Marine farming. In: Life in the sea, readings from scientific american. W.H. Freeman, San Francisco, 1982. pp.5-17.

SETTE, O.E. Resources and their environment. In: Our changing fisheries. Sidney Shapiro, Washington, 1971. pp.20-39.

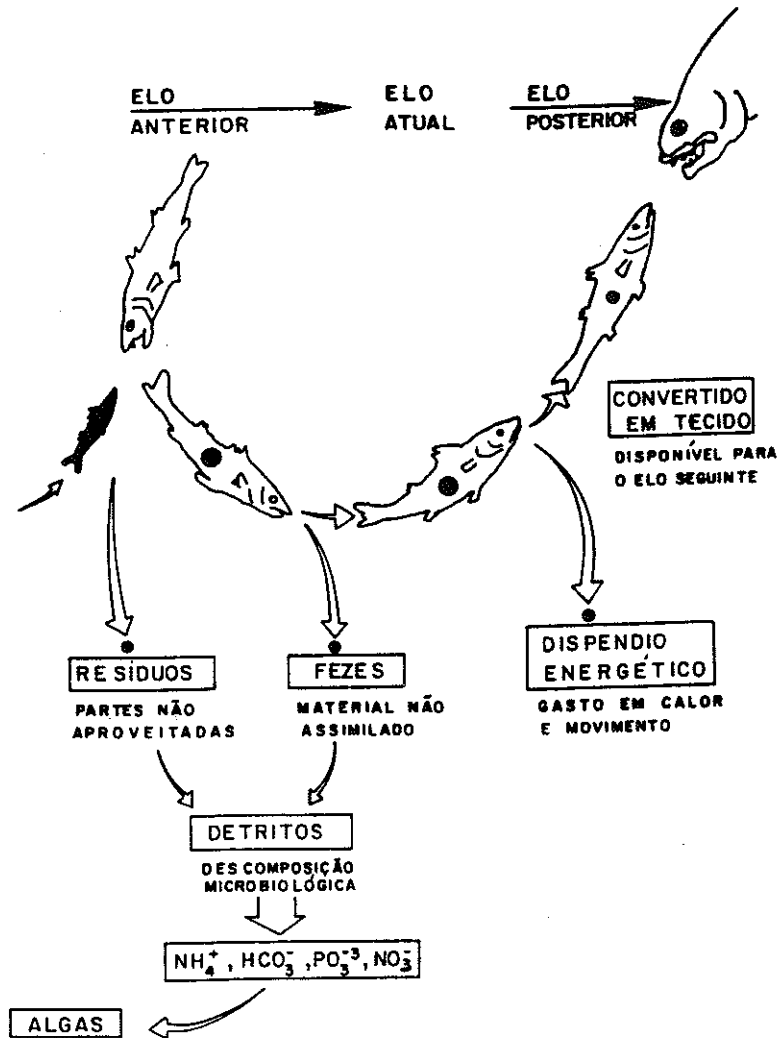


FIGURA 04 - Aproveitamento do alimento ingerido num elo da cadeia alimentar.

2 - Classificação das espécies de peixes

A necessidade de rotular exatamente as espécies, particularmente nos produtos de comércio internacional, torna cada vez mais importante o conhecimento da identificação biológica. Além disso, no próprio Brasil, existe confusão, devido ao uso de nomes diferentes para uma mesma espécie nas diversas regiões geográficas.

Face a esta necessidade, acompanhamos o esquema de classificação, mostrado na Tabela 1, que inclui somente as espécies mais comuns no Brasil e foi adotado da classificação de Lagler et al. (1977), cuja terminologia nos parece mais informativa que a de outras classificações, particularmente quando destinada a tecnólogos de pescados.

A Tabela 1 restringe-se às classes **CONDRICTHYES** e **OSTEICTHYES**, que abrigam a quase totalidade dos peixes de captura atual e potencial do mundo.

A classe **CONDRICTHYES**, também denominada **SELACHII** ou **ELASMOBRANCHII**, compreende os tubarões, raias e quimeras, que se agrupam em duas subclasses. O detalhamento das famílias justifica-se pela abundância destes recursos nos mares tropicais e pela aceitação crescente da carne destas espécies pela população brasileira.

Os termos **cação** e **tubarão** são usados no Brasil indistintamente para designar os peixes de maior tamanho, e o termo **caçonete** é reservado aos peixes de "porte" menor, conhecidos também sob o nome genérico de dogfish.

Todas as espécies da classe **CONDRICTHYES** têm esqueleto de cartilagem, calcificado em graus diferentes, de acordo com a sua função estrutural (coluna vertebral, arco das guelras, nadadeiras, mandíbulas, etc.). A calcificação, porém, não tem nenhuma semelhança com a ossificação.

TABELA 1 - Espécies de importância econômica do Brasil, identificadas pela Classe, Ordem e Família a que pertencem (baseada em Lagler et al., 1977).

CLASSE	SUBCLASSE	ORDEM	FAMÍLIA	NOME COMUM
CONDRICTHYES	ELASMOBRANCHII	SQUALIFORMES (PLEUROTREMATA*)	ALOPIDAE	tubarão-raposa
			CARCHARIDAE	tubarão-mangona
			SQUALIDAE	cação-prego
			SQUATINIDAE	cação-anjo
			SPHYRNIDAE	tubarão-martelo
			CARCHARINIDAE	tubarão-azul
			ISURIDAE	anequim
			CETORHINIDAE	peregrino
			SCYLIOHINIDAE	cação-pinho
		ORECTOLOBIDAE	lambaru	
		RAJIFORMES (HYPOTREMATA*)	RAJIDAE	raia-chita
			DASYATIDAE	raia-manteiga
			RHINOBTIDAE	raia-viola
			DRISTIDAE	raia-serra
			MOBULIDAE	raia-manta
			CENTROPOMIDAE	robalo
		PERCIFORMES (PERCOMORPHI*)	SERRANIDAE	badejo, mero
			BRANCHIOTIDAE	bataia
PINGUIPIDAE	namorado			
PERCIDAE	perca			
POMATOMIDAE	enchova			
LUTJANIDAE	vermelho			
CARANGUIDAE	pampo, xaréu			
SPARIDAE	patgo			
SCIAENIDAE	pescada, corvina			
MULLIDAE	trilha			
CORYPHAENIDAE	dourado-de-mar			
SCOMBRIDAE	bonito, atum, serra			
TRICHURIDAE	carapau, espada			
PLEURONECTIFORMES (HETEROSOMATA*)	BOTHIDAE		linguado (olhos do lado esquerdo)	
	PLEURONECTIDAE		linguado (olhos do lado direito)	
OSTEICTHYES (TELEOSTEOS)	ACTINOPTERYGII	GADIFORMES (ANACANTHINI*)	GADIDAE	abóbrea, bacalhau
		MERLUCIIDAE	merluza	
		CLUPEIFORMES (ISOSPONDYLI*)	CLUPEIDAE	sardinha
		ENGRAULIDAE	manjuba, anchova	
		ANGUILLIFORMES (APODES*)	ANGUILLIDAE	engua
		MURAENIDAE	moréia	
		CONGRIDAE	congro	
		CYPRINIFORMES (OSTARIOPHYSI*)	BAGRIDAE	bagre-amarelo
			PIMELODIDAE	mandi
			SILURIDAE	bagre-nupaca
		Subordem: SILUROIDEA	ARIIDAE	bagre-marinho
			DORADIDAE	abotoado
		TETRADONTIFORMES (PLECTOGNATHI*)	BALISTIDAE	cangulo
			MONOCANTHIDAE	peixe-porco
			OSTRACIDAE	peixe-cofre
MUGILIFORMES (PERCESOSES*)	TETRAODONTIDAE	banco		
	MUGILIDAE	tainha		
BELONIFORMES (SYNENTOGNATHI*)	SCOMBERESOCIDAE	sauri		
	BELONIDAE	agulha		
	EXOCOETIDAE	peixe-voador		

* - termo usado no GUIA DE PEIXES DO LITORAL BRASILEIRO (Suzuki, 1983).

A classe **OSTEICTHYES**, também denominada **PISCES**, congrega todos os peixes com esqueleto ósseo. Porém, as diferenças com a classe **CONDRICTHYES** não se limitam apenas à composição do esqueleto, mas também à estrutura da pele, morfologia dos órgãos sexuais, modo de fecundação, estrutura das guelras, mecanismos de regulação osmótica e várias outras características fisiológicas e anatómicas, algumas das quais influem fortemente no comportamento dos músculos "post-mortem".

A classe **OSTEICTHYES** abriga as famílias de maior importância industrial. Na subordem **CLUPEIDEA**, encontram-se as diferentes espécies de sardinha, que é o peixe típico para enlatado e farinha no mundo inteiro. À subordem **SCOMBROIDEA**, pertencem os atuns, bonitos, cavalas e outros peixes próprios para o enlatamento. Na subordem **SILUROIDEA**, encontram-se os bagres marinhos e de água doce, estes últimos representados pelo surubim, jaú, piramutaba e outros bagres de grande valor comercial que são um patrimônio biológico específico das regiões tropicais do continente sul-americano.

2.1 - Espécies fluviais e marinhas do Brasil

No Brasil, encontram-se representadas praticamente todas as famílias de peixes do Oceano Atlântico, exceto as espécies subantárticas.

Na figura 5, são mostradas as diferentes espécies, localizadas por região, que têm sido relacionadas para efeito de comercialização por particulares, por instituições locais ou por expedições de pesquisas oceanográficas.

Um apanhado geral da figura permite concluir que, na região Sul litorânea, predominam as espécies magras, de carne clara, que são adequadas para a elaboração de peixe salgado e produtos congelados (filés, porções, etc.).

Na região Centro-Sul litorânea, a presença da sardinha é marcante, assim como a existência de atuns e bonitos, que tornam esta região a mais importante produtora de enlatados. Também são abundantes as espécies valiosas para a comercialização em estado fresco (garoupa, namorado, cherne e camarão), situação que é compartilhada pela região Nordeste. Nesta região, as espécies para utilização industrial são poucas,

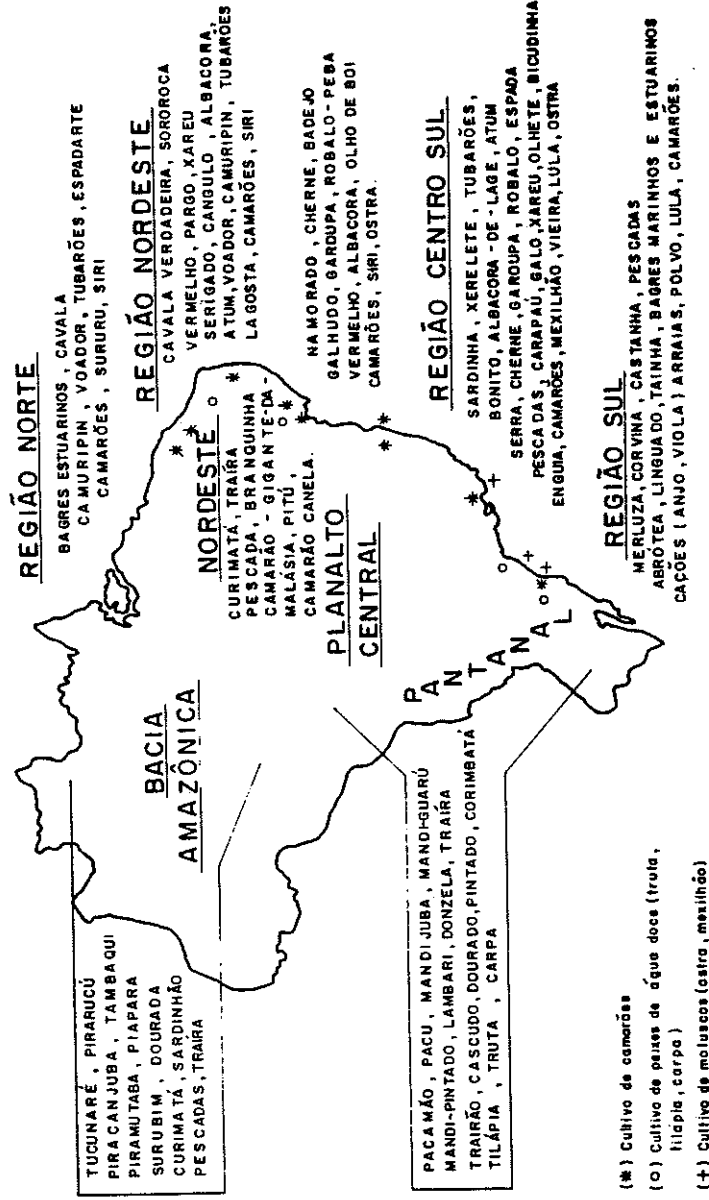


FIGURA 5 - Espécies marinhas e de água doce capturadas nas diferentes regiões do Brasil.

fazendo exceção o pargo, camarão e, especialmente, a lagosta, que são processados por congelação para o mercado internacional. Algumas espécies são congeladas inteiras e comercializadas no Sul como peixe fresco.

Na região Nordeste, há um desenvolvimento importante da aquíicultura, tanto de peixes quanto de crustáceos (camarão-gigante-da-Malásia).

Na região Norte, há destaque para o camarão, moluscos e espécies eurialinas. Trata-se da região tipicamente camaroneira. Dentre as regiões continentais, destaca-se a bacia amazônica, com sua fauna aquática diversificada e de grande valor comercial (pacu, piramutaba, pirarucu, tambaqui, surubim e outros).

Na região Centro e Sul continental, há várias espécies autóctones (dourado, pintado) ou introduzidas, sejam da Amazônia ou de outros continentes (tilápia, carpa, truta). A região tem um grande potencial para a aquíicultura, pois conjuga condições para espécies tropicais e de clima temperado.

Castagnolli (1992) fez uma recompilação das espécies nativas que apresentam possibilidades efetivas para criação comercial, enfatizando as espécies da subfamília **BRYCONINAE** (matrinxã, piraicanjuba), além das já tradicionais (pacu, tambaqui) como as de maior potencial (tabela 2).

TABELA 2 - Classificação de algumas espécies de água doce nativas do Brasil com potencial para a aquíicultura.

CLASSE	FAMÍLIA	SUBFAMÍLIA	REPRESENTANTES	NOME CIENTÍFICO
OSTEICHTHYES	CHARACIDAE	MILEINAE	pacu tambaqui pirapitinga	<i>Piaractus mesopotamicus</i> <i>Colossoma macroponum</i> <i>Colossoma brachipomum</i>
		BRYCONINAE	matrinxã piracanjuba	<i>Brycon cephalus</i> <i>Brycon orbivittatus</i>
	PROCHILODONTIDAE	corimbata	<i>Prochilodus lineatus</i>	
	ANOSTOMIDAE	piapara	<i>Leporinus piapara</i>	
		piáu-verdadeiro piavussu	<i>Leporinus iridicus</i> <i>Leporinus sp.</i>	
	ARAPAIMIDAE	pirarucu	<i>Arapaima gigas</i>	

Fonte: Castagnolli (1992).

Quanto aos crustáceos, Lobão e Torres (1985) salientam que as espécies mais propícias para criação são as do gênero *Macrobrachium*, das quais quatro são autóctones e uma alóctone: o camarão-gigante-da-Malásia (*M. rosenbergii*), nativa das regiões asiáticas tropicais e subtropicais.

Das espécies nativas, os autores opinam que o camarão-canela (*M. amazonicum*) apresenta ótimas perspectivas para a criação artificial, devido a sua resistência e proliferação, mesmo reconhecendo que, em termos de tamanho e sabor o camarão-pitu (*M. carcinus*) e o gigante-da-Malásia têm maior aceitação.

A tabela 3 dá uma visão geral sobre as espécies de camarões marinhos e de água doce que têm importância no mercado de produtos da pesca, tanto a nível doméstico quanto a nível internacional.

TABELA 3 - Camarões de água doce com potencial para criação e camarões marinhos de expressão comercial no Brasil.

Camarões de água doce (*)		Camarões marinhos (**)	
Nome Científico	Nome Comum	Nome Científico	Nome Comum
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	camarão gigante-da-Malásia	<i>Penaeus schmitti</i>	camarão-legítimo ou verdadeiro
<i>Macrobrachium carcinus</i>	camarão-pitu	<i>Penaeus brasiliensis</i>	camarão-rosa
<i>Macrobrachium acanthurus</i>	camarão-verdadeiro	<i>Penaeus aztecus subtilis</i>	camarão-rosa
<i>Macrobrachium amazonicum</i>	camarão-canela	<i>Penaeus paulensis</i>	camarão-rosa
<i>Macrobrachium iheringi</i>		<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>	camarão-sete-barbas
		<i>Hymenopenaeus mulleri</i>	camarão-sete-barbas
		<i>Artemisa longinaris</i>	camarão-vermelho

* - Fonte: Lobão e Torres (1985)

** - Fonte: Comissão Acessora Regional de Pesca para o Atlântico-Sul da F.A.O.

2.2 - Referências Bibliográficas

- CASTAGNOLLI, N. Criação de peixes de água doce. FUNEP, Jaboticabal, 1992.
- LAGLER, F.K., BARDACH, J.E., MILLER, R.R., PASSINO, R.D. Ichthyology. 2ª ed. John Wiley and Sons, New York, 1977.
- LOBÃO, V.L., TORRES-ROJAS, N.E. Camarões de água doce. 3ª ed. Ícone, São Paulo, 1985.
- SUZUKI, R.C. Guia dos peixes do litoral brasileiro. Books Edições, Rio de Janeiro, 1982.

3 - Estrutura do corpo e dos músculos

3.1 - Forma externa dos peixes

A forma externa das espécies marinhas é resultado da adaptação às condições específicas do "habitat" para sobreviverem e reproduzirem-se.

Assim, os grandes nadadores caracterizam-se pelo formato de torpedo ou fuso (figura 6A) que se acerca da forma ideal para o deslocamento de um corpo em um meio líquido com o menor gasto de energia. O formato de seção levemente ovóide permite a estas espécies desenvolver grandes velocidades na migração à procura de alimento ou para desova. São peixes predadores, formam cardumes e, geralmente, habitam na superfície. Estas características estão associadas ao termo **pelágico**, em contraposição ao termo **demersal**, com que são designadas as espécies de águas mais profundas, pouco velozes e que, geralmente, não têm hábitos migratórios.

Os peixes pelágicos são de grande importância industrial, visto que, por formar cardumes, podem ser extraídos em grande quantidade em menos tempo. Os peixes típicos para enlatados (atum, sardinha, bonito, cavala) são pelágicos.

Os formatos B, C e D da figura 6 são variações da forma fusiforme ideal. A forma B resulta da compressão lateral, mais forte na zona dorsal que na ventral, o que produz uma seção com forma de pêra. A pescada, corvina, castanha, abrótea e outras espécies demersais têm este formato. Quando a compressão lateral é muito intensa, a espessura do corpo diminui proporcionalmente, como no galo, pampo, pacu, carpa, tilápia, tambaqui e outras espécies que habitam em profundidades pequenas, onde a forma comprimida facilita o trânsito através da abundante vegetação aquática e possibilita as voltas bruscas. A compressão máxima ocorre nos linguados (figura 6 E) e outros peixes planos, que se deitam de lado nos fundos de areia ou lama. Estas espécies representam exemplos de alta especialização.

O achatamento do corpo e da cabeça produz formas deprimidas, como ocorre com os bagres (figura 6C) e outras espécies de águas turbulentas ou correntosas, onde a forma achatada permite maior aderência às rochas do fundo. O achatamento máximo ocorre nas raias (figura 6F) e alguns cações (anjo e viola). O formato de seta (figura 6D) pode ser considerado derivado do fusiforme por esticamento. A seção pode ser circular, como na bicudinha, ou comprimida, como na barracuda, sororoca, agulha e outras espécies setiformes.

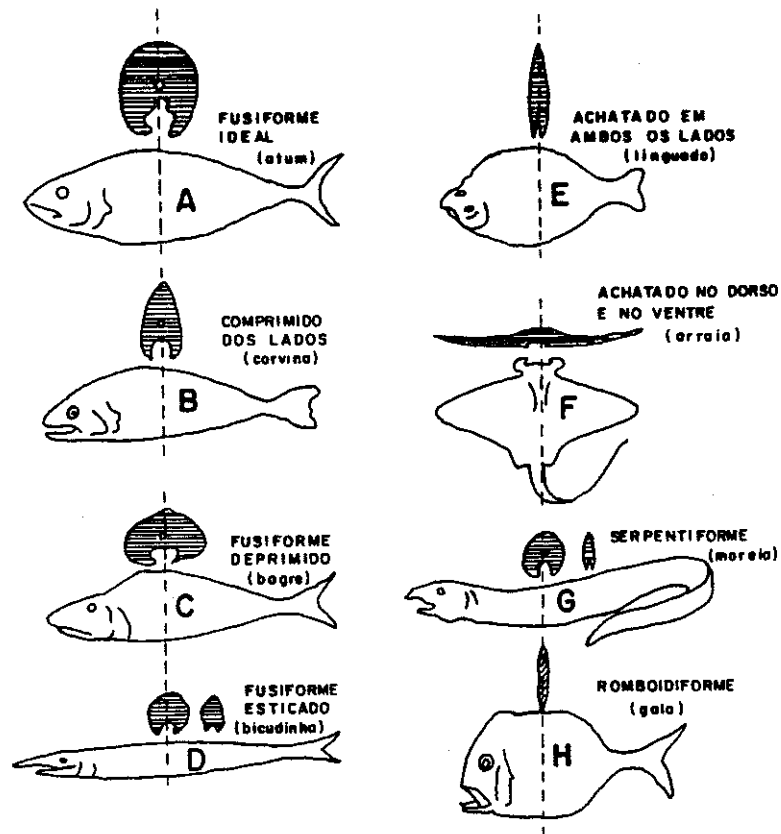


FIGURA 06 - Perfil e seção de várias espécies mostrando as formas típicas de peixes pelágicos, demersais e bentônicos.

A forma de serpente (figura 6 G) é típica de espécies bentônicas (habitam o próprio chão do mar), como as enguias. Algumas espécies moram em tocas, como as moréias e lampréias, porém há, também, espécies demersais típicas com forma de cobra, como o congro e o peixe "espada", sendo que este último não deve ser confundido com o espadarte. O espada tem formato de serpente, porém é tão comprimido lateralmente que mais se assemelha a uma fita.

A forma do corpo tem grande importância na escolha dos equipamentos para pesca, estocagem a bordo e processamento na indústria, como é mostrado no esquema seguinte:

FORMA EXTERNA DAS ESPÉCIES	a) Influi nas operações de decapitação, evisceração e limpeza geral por métodos manuais ou mecanizados;
	b) Influi no dimensionamento das caixas, prateleiras, câmaras e outros implementos para armazenagem a bordo;
	c) Influi na adequação e no rendimento da carne quando pré-processada na forma de corpo limpo, postas ou filés;
	d) Afeta a velocidade de resfriamento com gelo e de congelamento a bordo ou na indústria.

3.2 - Estrutura do corpo

O esqueleto, suporte do corpo, está formado pelos ossos, cartilagem, espinhos duros, espinhos flexíveis das nadadeiras, escamas e dentes.

A figura 7 mostra a coluna vertebral de um peixe ósseo após a remoção dos filés, assim como uma seção da parte anterior (tronco) e posterior (cauda) para evidenciar os detalhes das vértebras.

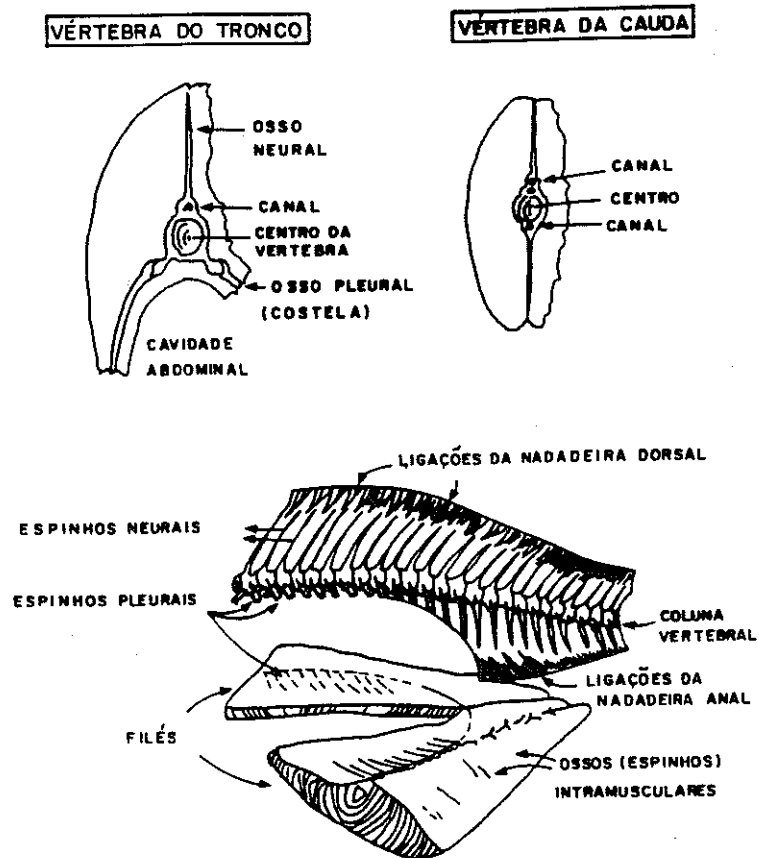


FIGURA 07 - Diferenças entre as vértebras do tronco e as da cauda e estrutura óssea principal de um peixe após a remoção dos filés.

A coluna vertebral é formada pelas vértebras que se encaixam umas às outras pela parte central. Todas as vértebras têm um orifício na parte superior para permitir a passagem da medula espinhal e, nas vértebras da cauda, há também um orifício na parte inferior para os vasos sanguíneos. Cada vértebra do tronco tem 3 espinhos: um neural (dorsal) e dois pleurais (costelas); estes últimos servem de armação para a cavidade ventral. Durante a filetagem, é comum que os espinhos pleurais (costelas) fiquem no filé, do qual devem ser removidos quando são muito duros. Algumas espécies têm espinhos não-articulados nas vértebras, chamados de **ossos intramusculares** que estão inseridos no tecido conjuntivo do músculo (miosepta), através do qual se ligam à coluna vertebral. São pequenos ossos em forma de reta ou curva que, quando muito abundantes, tornam a carne inaproveitável para o consumo direto. Atualmente, porém, até as espécies mais espinhudas podem ser aproveitadas nos equipamentos separadores de carne (meat separators), obtendo-se carne triturada sem espinhos (minced fish).

Nos peixes elasmobrânquios (cações e raias), a coluna vertebral é feita de vértebras de cartilagem que, à semelhança dos teleosteos, ligam também 3 espinhos: um neural e dois pleurais (costelas). A coluna vertebral está colocada na parte superior do corpo e não no centro, como nos peixe ósseos, por isso os espinhos neurais são pequenos. A carne de cação tem alguns espinhos, mas não envolvem riscos, pois são de cartilagem e tornam-se moles no peixe cozido.

3.3 - Estrutura dos músculos

Os tecidos orgânicos apresentam estruturas características de acordo com as suas funções fisiológicas. Os músculos somáticos, tanto a nível macro quanto celular, têm estrutura fibrosa, própria para contrair-se ou relaxar-se na função locomotora.

Os músculos do tronco organizam-se ao longo da coluna de maneira simétrica, algo menos complexo que a dos animais terrestres.

3.3.1 - Macroestrutura: massas musculares principais (figura 8)

Após decapitação, evisceração e remoção da pele, a seção mostra a carne, geralmente de cor clara (esbranquiçada, ligeiramente rosa ou acastanhada), organizada em 4 blocos bem definidos, dispostos na forma de um quadrante, como é mostrado na figura 8A. Os dois quadrantes superiores são as massas dorsais esquerda e direita, separadas entre si por uma linha divisória vertical, chamada "septo esquelotogênico médio". Os quadrantes inferiores são as massas ventrais esquerda e direita que estão separadas das massas dorsais pelo chamado "septo esquelotogênico horizontal". Os músculos abaixo do septo horizontal são também denominados de "hipaxiais" e os de cima, de "epaxiais".

Todos os peixes têm, também, uma massa muscular vermelha (dark muscle, bloody muscle) que corre lateralmente desde a cabeça até a cauda. A porcentagem e a forma do músculo vermelho são características da espécie. Nos peixes sedentários, apresenta-se como uma camada fina, embaixo da pele, perfazendo em torno de 5% do peso do filé. Nos peixes migratórios, particularmente nos escombrídeos, o músculo vermelho pode perfazer até 30% da parte comestível e pode incursionar até a coluna vertebral, como ocorre com o albacora (*Germo alalunga*) (figura 8B). Neste peixe, o músculo vermelho é muito abundante na região central, diminuindo e separando-se em dois fios vermelhos na zona da cauda. No bonito de barriga listrada ou skipjack (*Euthynnus pelamis*) (figura 8C), o tecido vermelho tem forma complexa, apresentando incursões na massa muscular clara (músculo ordinário); já o bonito-pintado (*Euthynnus alleteratus*), mesmo sendo taxonomicamente próximo dos anteriores, apresenta o músculo vermelho em forma simples.

Em algumas espécies muito ativas, o músculo vermelho é mais denso na zona caudal (figura 8G).

O arranjo das fibras vermelhas e seu comportamento fisiológico e bioquímico é completamente diferente das fibras claras (ordinárias). Algumas diferenças aparecem reunidas na tabela 4.

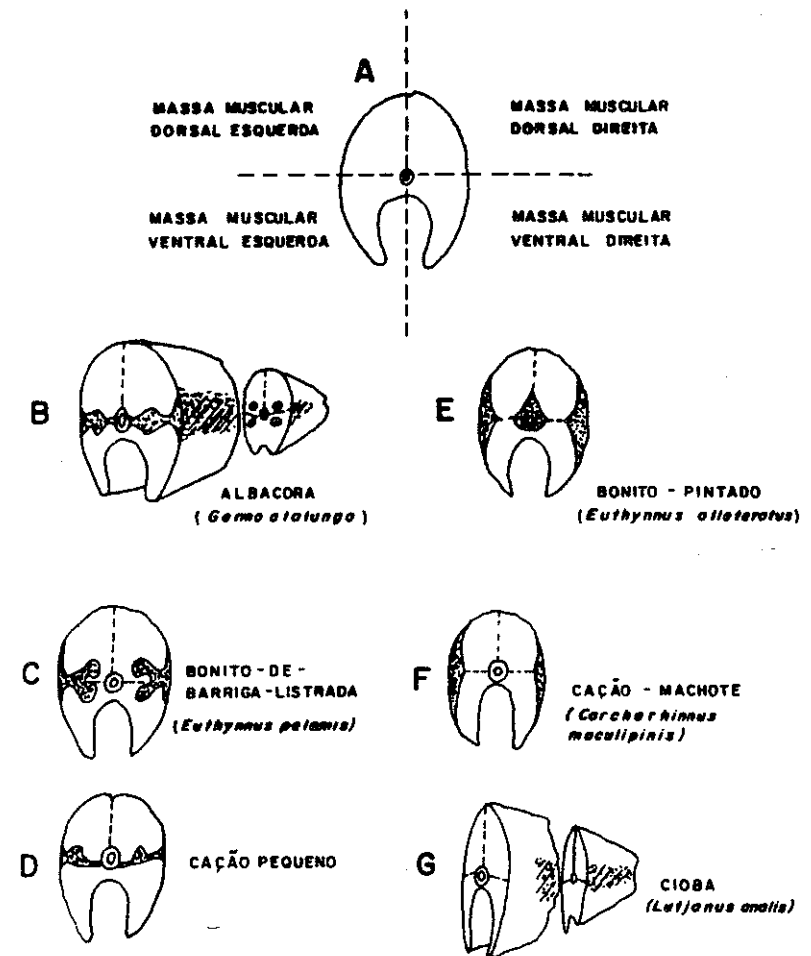


FIGURA 08 - Macroestrutura dos músculos de espécies de importância comercial mostrando as formas que assume a massa muscular vermelha.

TABELA 4 - Diferenças principais na fisiologia, morfologia e bioquímica dos músculos claros e vermelhos dos peixes.

	Características	Músculo Claro	Músculo Escuro
Características	resposta ao estímulo nervoso (*)	instantânea	lenta
	estrutura celular (*)	definida	pouco definida
Fisiológicas e	retículo sarcoplasmático (*)	desenvolvido	diminuído
	encolhimento no rigor (**)	menor	maior
Morfológicas	número de mitocôndrias (*)	menor	maior
	respiração predominante (*)	anaeróbica	aeróbica
	teor de lipídios (**)	menor	maior
Características	teor de fosfagênicos (**)	maior	menor
	teor de mioglobina (**)	menor	maior
Bioquímicas	capacidade-tampão (**)	alta	baixa
	teor de glicogênio (**)	menor	maior

(*) - Sanclivier, 1982.

(**) - Coletânea de conceitos gerais em livros e revistas.

3.3.2 - Segmentos Musculares (Figura 9)

Os músculos dos peixes correm no sentido do eixo principal, mas as fibras não apresentam continuidade desde a cabeça até a cauda, pois estão interrompidas (segmentadas) regularmente por divisórias de tecido conjuntivo chamadas de **miosepta**. Os segmentos são chamados **miômeros** ou **miotomas** e têm um comprimento em função do tamanho do peixe, visto que há tantos miotomas quanto vértebras.

Os miotomas podem ser observados após a remoção da pele e o desprendimento do **perimísio**, a membrana de fibras entrecruzadas que envolve ou forra os músculos, como é mostrado na figura 9.

Os miotomas têm a forma de **W** e vão desde a superfície até a coluna vertebral, inclinando-se de maneira típica de acordo com a classe do peixe. Devido à inclinação, ocorre uma superposição dos miotomas, permitindo a formação de cones visíveis como anéis concêntricos num corte transversal, particularmente nos peixes de tamanho grande como o atum. O ápice do cone, nos peixes teleósteos, é orientado para a cabeça.

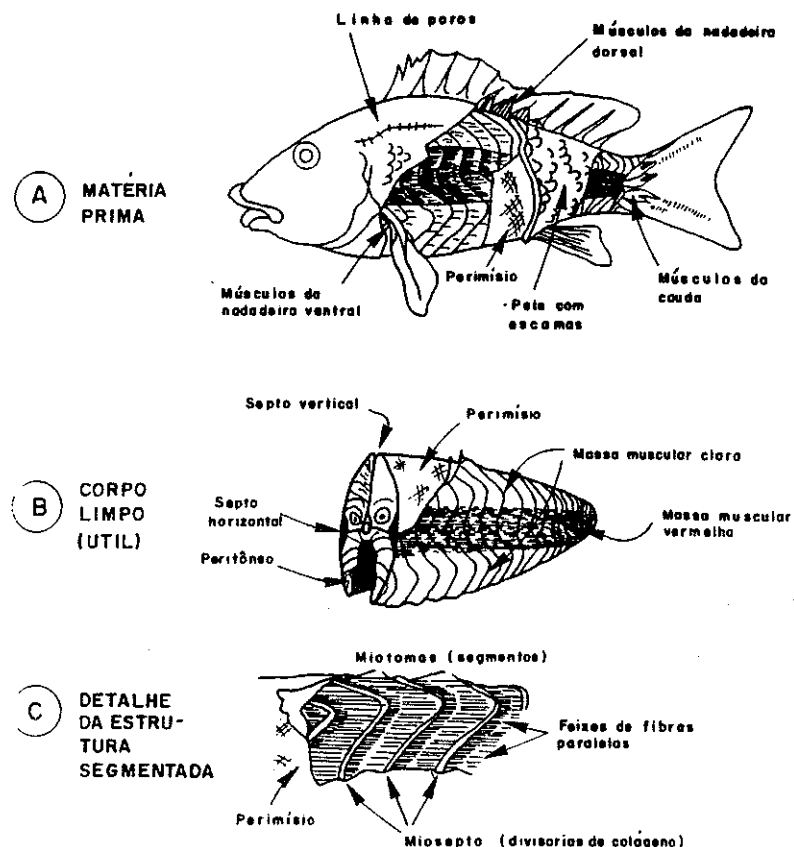


FIGURA 09 - Macroestrutura dos músculos de um peixe ósseo.

As divisórias ou mioseptas derivam-se do peritônio e vão até a coluna vertebral, ligando-se a ela ou aos tendões. Desta maneira, a contração muscular é transmitida desde a cabeça até a cauda.

Os elasmobrânquios e peixes não-craniados (classe Ciclostomata) têm também estrutura de septos. Nos primeiros, os miotomas têm mais vértices e nos não-craniados, os vértices são arredondados.

3.3.3 - Miotomas ou Miômeros

Os **miotomas** estão formados pelo agrupamento de fibras musculares paralelas, formando feixes, separados pelo miosepta, como é mostrado na figura 9. O comprimento dos segmentos é pequeno nos peixes miúdos (anchova, sardinha, etc.); porém, nos peixes de grande tamanho (atum, bacalhau, tubarões), o comprimento é maior, lembrando, após a cocção, a estrutura dos animais terrestres.

O tecido conjuntivo do miosepta é feito, principalmente, de colágeno que, na cocção, se transforma facilmente em gelatina, desaparecendo a ligação entre os segmentos. Para evitar a desintegração em flocos, a cocção deve ser mais branda que a da carne bovina. A resistência do miosepta à tração diminui com a redução do pH muscular, de modo que, quando o rigor-"mortis" é abrupto, pode haver desgarramento dos filés, fenômeno conhecido como *gapping* (Love, 1980).

3.3.4 - Microestrutura: a célula muscular

A fibra muscular, ou célula muscular, é o elemento-base do músculo. Na figura 10 A, é representado um esquema idealizado, baseado em várias informações da literatura. Pode ser descrita como um cilindro forrado externamente pelo **endomísio**, uma membrana de tecido conjuntivo derivada do miosepta. Sob o endomísio há uma camada de fibras reticuladas que precedem a membrana celular, chamada **sarcolema**. A membrana é um elemento muito ativo das funções celulares, regulando a entrada de nutrientes, a saída de resíduos catabólicos, além de estar envolvida na contração muscular pela via excitativa (Cassens, 1977). O sarcolema é formado por 4 ou mais subcamadas, das quais a última é a **membrana plasmática** (figura 10 B).

A composição química do sarcolema revela que as proteínas e lipídios são predominantes (67% e 16% respectivamente), existindo também polissacarídeos, nucleotídeos e minerais (Cassens, 1977).

O miolo do cilindro contém as proteínas características dos músculos animais: **miosina, actina, tropomiosina, troponina** e outras, abordadas com mais detalhes no capítulo 8. As proteínas estão

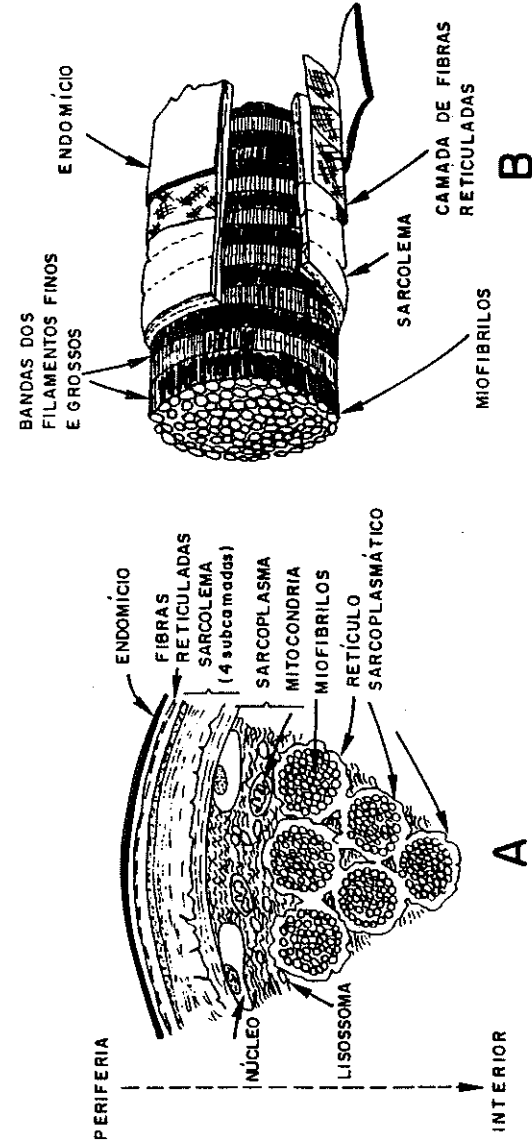


FIGURA 10 - Idealização gráfica da célula muscular com as camadas desmontadas (B), para permitir a observação das bandas de filamentos finos e grossos. Na figura "A", um corte transversal para visualizar os componentes desde a periferia para o interior.

organizadas em filamentos finos e grossos que formam pacotes chamados de **miofilamentos**. O arranjo dos miofilamentos finos e grossos produz a aparência estriada típica (faixas escuras e claras, alternadas), observada ao microscópio, própria dos músculos animais.

Os miofilamentos estão dispostos longitudinalmente ao eixo da fibra e não são contínuos, mas interceptados regularmente por divisórias, formando segmentos chamados **sarcômeros**. A divisória é uma estrutura densa, chamada de **faixa Z**, que une os sarcômeros entre si e conecta-os com a membrana externa (sarcolema).

O comprimento médio de um sarcômero é de 2 a 2,5 mm (Sainclivier, 1982). No capítulo 8, é abordada com mais detalhe a conformação dos sarcômeros.

O espaço entre a membrana plasmática e os miofibrilos e qualquer espaço interior é preenchido por um líquido viscoso chamado **sarcoplasma**, que carrega os vários núcleos da célula muscular. Os núcleos são periféricos e concentram-se perto da membrana plasmática, diferente da posição central, que comumente ocupa o núcleo em outras células. Flutuando no sarcoplasma, encontram-se os lisossomas, aparelho de golgi, mitocôndrias, grânulos de amido, gotículas de gordura e outras partículas.

Dissolvidas no sarcoplasma, há diversas proteínas e compostos orgânicos e inorgânicos de baixo peso molecular.

O retículo sarcoplasmático é uma estrutura membranosa formada por canais que correm paralelos aos miofibrilos. Trata-se de uma forma especializada de retículo endoplasmático. Os canais terminam em uma cisterna achatada que ocorre a cada sarcômero, como é mostrado na figura 11.

O retículo abriga as proteínas ligantes de íons, particularmente do Ca^{++} , que é removido ou liberado no sarcoplasma segundo o comando neurotransmissor. O **retículo sarcoplasmático** tem 60% de proteínas, constituídas majoritariamente por ATP-ase. A concentração de lipídios também é alta, encontrando-se majoritariamente como fosfolipídios, o que condiz com a função do retículo, que remove ou libera íons de Ca^{++} de maneira instantânea.

A perda da capacidade de manter o Ca^{++} ligado à matriz do retículo sarcoplasmático é um dos fatores que causa a aparição do rigor "mortis".

Os músculos dos moluscos, aparentemente, não apresentam

estrutura fibrosa, senão amorfa. De fato, a macroorganização dos tecidos é diferente da dos peixes e animais de corte, porém a estrutura fina é semelhante, formada por miofilamentos finos e grossos arranjados nos sarcômeros. A diferença básica está na orientação das camadas de fibras, que nos peixes e crustáceos correm paralelas ao eixo do músculo e, na lula, um dos poucos moluscos estudados, alternam-se em ângulos de 90° , resultando numa aparência não fibrilada (Sikorski et all. 1984).

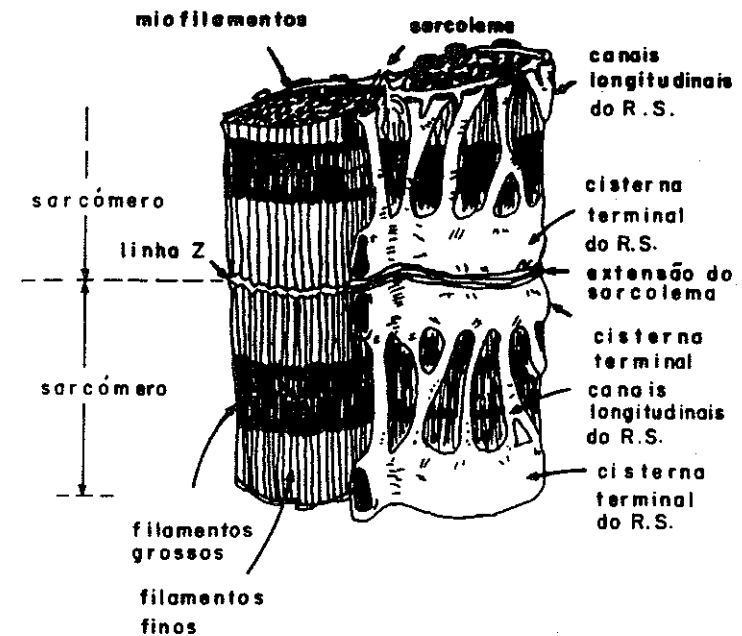


FIGURA 11 - Idealização gráfica de dois miofibrilos, um deles coberto pelo retículo sarcoplasmático (R.S.), e outro sem o R.S. para evidenciar a organização dos sarcômeros. A estrutura de cisternas e canais longitudinais abriga as proteínas e fosfolipídios que participam do controle do Ca^{++} .

3.5 Referências bibliográficas

- CASSENS, R.G. Muscle Biochemistry: The importance of Myofiber type. *Food Technol.* 31 (4): 76-81 (1977).
- LOVE, R.M. Biological Factors Affecting Processing and Utilization. In: *Advances in Fish Science and Technology*. Ed. J.J. Conell and Staff of Torry Research Station, Scotland, Fishing News Book Ltd., Farnham, Surrey, England, pp. 130-138 (1980).
- SAINCLIVER, M. L'Industrie Alimentaire Halieutique, Vol 1: Le Poisson Matière Première. *Bulletin Scientifique et Technique de L'École Nationale Supérieure Agronomique et du Centre de Recherches de Rennes*. Ed. Sciences Agronomiques, Rennes, France, pp. 6-18 (1983).
- SIKORSKI, Z.E., SCOTT, D.E. BUISSON, D.H. The role of collagen in the quality and processing of fish. In: *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Ed. T.E. Furia, CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA, pp. 301-343 (1984).

4 - Rendimentos de parte comestível

4.1 - Parte útil, tronco limpo e filés de pescados

A tabela 5 mostra o rendimento de 29 espécies marinhas e 13 fluviais, analisadas a nível de usina-piloto por vários pesquisadores brasileiros. Em todos os casos, as operações foram feitas manualmente.

A parte útil dos pescados, também denominada **corpo limpo** ou **carcaça**, é a parte do corpo pronta para cozinhar ou para industrialização. Trata-se do tronco, sem vísceras nem barbatanas, porém com a coluna vertebral e a pele (sem escamas).

O corpo limpo representa em média 62,6% do peso dos peixes marinhos e de água doce considerados em conjunto. A porcentagem do corpo limpo permite comparar as espécies, avaliar fatores críticos e visualizar o potencial para a industrialização.

Mais importante é conhecer o rendimento em filé com pele, que é um produto industrial (fresco ou congelado), pronto para cozinhar. O rendimento em filé com pele de espécies marinhas e de água doce encontra-se entre 32,8% e 59,8%, com uma média de 50,5%. Este valor é muito próximo do encontrado em espécies chilenas (IFOP, 1983), que é de 50,8%.

A retirada da pele para preparo do produto mais elaborado reduz o rendimento para 43,0%, onde a pele perfaz em média 7,5% do peso dos peixes ósseos.

Além da destreza manual do operário, ou da eficiência das máquinas filetadoras, o rendimento depende das seguintes características da matéria-prima:

Rendimento dos Filés

- a) Forma anatômica do corpo;
- b) Tamanho da cabeça;
- c) Peso das vísceras, pele e nadadeiras.

TABELA 5 - Percentagem de corpo limpo e filés de alguns peixes marinhos e de água doce brasileiros.

A - Peixes de origem marinha

Nome Vulgar	Nome Científico	Peso (kg)	Cabeça (%)	Corpo Limpo (%)	Filé com Pele (%)	Filé sem Pele (%)	Referências
Albacora	<i>Germo alialunga</i>	11,2 ± 2,9	18,3 ± 3,0	64,0 ± 3,3	55,0 ± 3,8	49,0 ± 3,3	FEA-UNICAMP (*)
Bagre-bandeira	<i>Bagre marinus</i>	5,9 ± 0,5	15,0 ± 2,9	64,0 ± 2,6	53,0 ± 3,6	43,0 ± 2,9	FEA-UNICAMP (*)
Bagre-amarelo	<i>Trachyrhynchus apaxii</i>	1,1 ± 0,1	15,0 ± 1,8	63,0 ± 2,1	51,0 ± 2,8	42,3 ± 2,6	FEA-UNICAMP (*)
Bagre	<i>Trachyrhynchus barbatus</i>	2,4	21,4	63,2	49,9	38,6	Mondelli, De Lencastre (1974)
Bonito-pintado	<i>Euthynnus alletteratus</i>	2,4 ± 0,3	16,7 ± 2,0	64,1 ± 3,6	54,0 ± 3,7	48,3 ± 2,7	FEA-UNICAMP (*)
Carapau	<i>Decapterus maculatus</i>	0,46 ± 0,03	23,3 ± 2,3	57,0 ± 2,0	43,0 ± 3,0	—	FEA-UNICAMP (*)
Carallinha	<i>Scomber scombrus</i>	0,29 ± 0,07	20,0 ± 1,6	57,0 ± 3,3	43,5 ± 3,4	—	FEA-UNICAMP (*)
Corvina	<i>Micropterus fourmieri</i>	1,53 ± 0,49	28,3 ± 1,6	48,5 ± 3,8	37,2 ± 4,2	32,0 ± 3,9	FEA-UNICAMP (*)
Corvina	<i>Micropterus opercularis</i>	0,47	32,6	66,4	47,4	35,3	Mondelli, De Lencastre (1974)
Corvina	<i>Micropterus fourmieri</i>	—	—	—	—	—	FEA-UNICAMP (*)
Enchova	<i>Pomatomus saltatrix</i>	1,5 ± 0,15	21,5 ± 2,2	61,6 ± 2,3	50,0 ± 2,9	44,4 ± 2,6	FEA-UNICAMP (*)
Linguado	<i>Paralichthys orbignyana</i>	0,39	12,1	76,0	59,0	48,3	Mondelli, De Lencastre (1974)
Linguado	<i>Paralichthys brasiliensis</i>	0,7 ± 0,08	12,4 ± 1,6	70,1 ± 2,1	51,5 ± 3,6	42,7 ± 2,6	FEA-UNICAMP (*)
Mamujaba	<i>Anchoa mitchilli</i>	0,03	14,0 ± 1,9	67,0 ± 2,7	57,5 ± 2,7	—	FEA-UNICAMP (*)
Nichole	<i>Diplacetrus radiata</i>	0,1	28,1	—	48,5	38,1	Mattos et al. (1992)
Olho-de-cão	<i>Prionace glauca</i>	0,10	28,0	—	44,0	34,3	Mattos et al. (1992)
Pargo	<i>Lutjanus purpuratus</i>	0,71 ± 0,07	26,3 ± 2,6	55,6 ± 2,3	43,5 ± 3,3	39,0 ± 2,3	FEA-UNICAMP (*)
Peixe-pauco	<i>Asteris monoceros</i>	0,65	19,5	—	49,8	38,6	Mattos et al. (1992)
Pescada-fogueira	<i>Macrurus ancylodon</i>	0,37 ± 0,03	15,4 ± 1,9	64,5 ± 2,3	54,2 ± 2,0	49,1 ± 2,5	FEA-UNICAMP (*)
Pescada-grota	<i>Cynoscion parurus</i>	0,11	20,0 ± 2,2	60,0 ± 2,9	46,8 ± 2,9	37,0 ± 3,0	FEA-UNICAMP (*)
Pescada-bicuda	<i>Sphyrna tiburo</i>	0,44 ± 0,07	17,9 ± 1,6	67,4 ± 2,3	54,7 ± 2,9	43,4 ± 2,7	FEA-UNICAMP (*)
Rocodão	<i>Conodon nobilis</i>	0,86	25,0	—	50,5	43,5	Mattos et al. (1992)
Sardinha	<i>Sardinella brasiliensis</i>	0,84	19,6 ± 2,3	63,6 ± 2,7	54,3 ± 3,8	—	FEA-UNICAMP (*)
Serra	<i>Sarda sarda</i>	1,1 ± 0,15	16,1 ± 2,0	62,3 ± 2,0	57,9 ± 3,2	50,0 ± 3,0	FEA-UNICAMP (*)
Sororoca	<i>Scomberomorus maculatus</i>	1,0 ± 0,2	15,2 ± 1,8	62,6 ± 2,6	54,0 ± 3,2	43,0 ± 3,0	FEA-UNICAMP (*)
Tainha	<i>Mugil brasiliensis</i>	0,92	14,8	61,1	50,5	41,9	Mondelli, De Lencastre (1974)
Tainha	<i>Mugil brasiliensis</i>	1,1 ± 0,18	18,4 ± 1,4	58,2 ± 2,8	48,4 ± 3,8	43,0 ± 3,0	FEA-UNICAMP (*)
Vermeelho	<i>Lutjanus eye</i>	0,93 ± 0,18	22,1 ± 1,9	57,3 ± 2,7	44,4 ± 2,9	39,0 ± 2,6	FEA-UNICAMP (*)
Xitarte	<i>Trachurus trachurus</i>	0,02	20,4 ± 1,5	57,3 ± 2,7	49,1 ± 2,6	—	FEA-UNICAMP (*)

B - Peixes de água doce

Nome Vulgar	Nome Científico	Peso (kg)	Cabeça (%)	Corpo Limpo (%)	Filé com Pele (%)	Filé sem Pele (%)	Referências
Apirari	<i>Astronotus ocellatus</i>	—	—	56,1	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Branquinha	<i>Curimata laticeps</i>	—	—	60,3	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Cangui	<i>Trachycorystes galeatus</i>	—	—	67,5	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Corimbati	<i>Prochilodus axrophi</i>	0,74 ± 0,07	13,7 ± 1,3	69,0 ± 3,1	59,0 ± 3,0	56,3 ± 2,8	FEA-UNICAMP (*)
Curimatã	<i>Prochilodus nigricans</i>	—	—	64,0	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Mandi	<i>Pimelodus clarias</i>	0,25 ± 0,05	22,0 ± 2,6	56,0 ± 2,5	46,9 ± 3,0	41,8 ± 2,6	FEA-UNICAMP (*)
Pacu	<i>Colossoma mitre</i>	3,0 ± 0,8	—	—	—	32,7 ± 2,4	Guacabara (1989)
Peixe-rei	<i>Basilichthys bonariensis</i>	0,41	15,9	72,6	62,1	52,8	Mondelli, De Lencastre (1974)
Pescada	<i>Plocheilichthys spp.</i>	—	—	64,0	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Sardinha	<i>Triportheus elongatus</i>	—	—	60,9	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Tilápia	<i>Sarotherodon niloticus</i>	0,53	19,1	—	—	32,2	Freitas et al. (1979)
Tilápia	<i>Sarotherodon niloticus</i>	—	—	56,1	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Traira	<i>Hoplias malabaricus</i>	0,63	18,1	68,0	58,6	47,5	Mondelli, De Lencastre (1974)
Traira	<i>Hoplias malabaricus</i>	—	—	59,6	—	—	Gargal, Freitas (1972)
Tucunaré	<i>Cichla temensis</i>	—	—	60,4	—	—	Gargal, Freitas (1972)

(*) - Dados obtidos durante vários anos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp - Campinas, SP - Brasil.

4.1.1 - Influência da forma externa

Os peixes com forma de torpedo apresentam rendimentos altos devido à massa muscular cilíndrica. Os atuns, bonitos, serras, sardinhas, corimbatis e outros fusiformes têm rendimento de filé com pele superior a 54%. Os fusiformes alongados, como a sororoca e a bicudinha, também dão rendimentos elevados; entretanto, peixes comprimidos como o cangulo, a corvina, o pargo, a ciova e a tilápia estão entre as espécies de rendimento mais baixo (inferiores a 42%).

4.1.2 - Influência do tamanho da cabeça

Esta parte geralmente acompanha a forma externa típica (achatada, espremida, comprimida), porém sua contribuição percentual depende de sua relação com o resto do corpo. Os peixes de cabeça grande e, ainda, comprimida dão rendimentos baixos; porém, se eles têm a cabeça pequena, como o linguado e o pacu, o rendimento atinge valores altos.

Na figura 12, é mostrado um gráfico de correlação entre a porcentagem da cabeça e os rendimentos de corpo limpo e filé com pele. Na mesma figura, aparece incluído um estudo com peixes Chilenos (IFOP, 1983) para filé com pele somente. A simples inspeção da figura 12 permite deduzir que, tanto nos peixes brasileiros quanto nos chilenos, existe uma relação inversa entre tamanho da cabeça e rendimento potencial.

A avaliação estatística dos dados da tabela 5 está registrada na tabela 6.

TABELA 6 - Valores médios e índice de correlação entre a percentagem da cabeça e o rendimento de filé com e sem pele em peixes brasileiros.

VARIÁVEIS	PEIXES MARINHOS		PEIXES DE ÁGUA DOCE	
	Valores médios	I. correlação (r)	Valores médios	I. correlação (r)
a) Cabeça (%)	19,65	—	17,76	—
b) Corpo Limpo (%)	62,48	0,85 (a x b)	62,72	0,84 (a x b)
c) Filé com Pele (%)	49,62	0,79 (a x c)	56,65	0,85 (a x c)
d) Filé sem Pele (%)	42,23	0,67 (a x d)	46,17	0,67 (a x d)

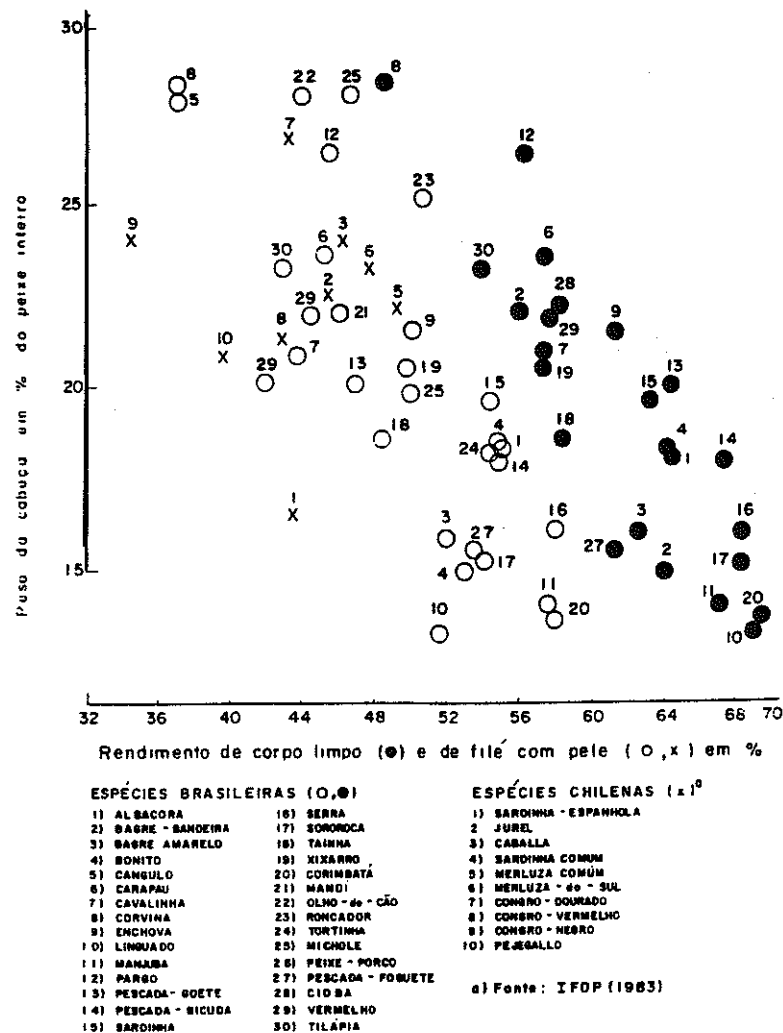


FIGURA 12 - Estudo de correlação entre a porcentagem da cabeça e o rendimento da parte comestível (corpo limpo) ou do filé com pele em espécies brasileiras e chilenas (ver comentários no texto).

Os dados da tabela 6 indicam que o peso da cabeça é um bom indicador do rendimento de corpo limpo ($r = 0,85$ e $0,84$). À medida que o tronco vai sendo manipulado, a correlação vai diminuindo, atingindo no filé sem pele apenas $0,67$. Certamente, o aprimoramento vai introduzindo fatores independentes do tamanho da cabeça, como espessura da pele e carne retida na coluna vertebral. Nesses casos, o formato do peixe permite uma idéia mais próxima do rendimento potencial de filés.

4.1.3 - Influência da porcentagem de resíduos

Além da cabeça, os resíduos estão formados pelas nadadeiras, pele e vísceras. Nos peixes ósseos chilenos (IFOP, 1983), estes resíduos representam em torno de 25% do peso dos peixes. A inclusão da cabeça aumenta os resíduos para 47%, uma porcentagem muito alta de materiais de qualidade nutricional razoavelmente boa que devem ser aproveitados como farinha, solúveis ou silagem para diminuir os custos e a poluição das áreas costeiras.

VÍSCERAS: Nos peixes ósseos, perfazem em torno de 11% do peso dos peixes inteiros, sendo comparativamente menos volumosas que as dos animais terrestres; porém, nos peixes elasmobrânquios, as vísceras perfazem entre 15 a 20%, principalmente devido ao maior tamanho do fígado. Nos tubarões de grande tamanho, como tintureira (*Galeocerdo cuvier*), marracho (*Lamna nasus*) e kitefin (*Dallatias licha*, *Bonnaterre*), o fígado perfaz, respectivamente, 17,5, 12,0 e 19,2% do peixe; já nos caçonetes, o fígado perfaz apenas 2,7% (Gordievskaya, 1971).

PELE: É importante, porque várias espécies são comercializadas sob a forma de filé com pele. Há um interesse crescente em aproveitá-la com matéria-prima de curtume e, devido ao seu alto teor de colágeno, gruda nos equipamentos ou dificulta a concentração dos líquidos da cocção e prensagem (**líquor de prensa**), para elaboração de solúveis de pescado ou de farinha integral.

A pele protege os peixes dos danos mecânicos e de infecções microbianas. A pele de algumas espécies secreta muco com

substâncias tóxicas para parasitas e bactérias; nestas espécies, a presença de muco é a garantia de frescor.

A pele pode ser grossa, como no pintado, congro, tubarões e outros peixes, ou fina e delicada, como na sardinha, atum, cavala, serra e bonito, o que resulta numa desvantagem para a manipulação a bordo e na indústria.

ESTRUTURA DA PELE: A figura 13 mostra um desenho esquemático da pele de um peixe escamoso. Está formada por uma camada externa ou **epiderme** e uma interna ou **derme**. A primeira é constituída por células epiteliais aplainadas, dispostas em várias subcamadas que contêm células produtoras de muco e de pigmentos (cromatóforos). A derme é formada por uma camada grossa de tecido conjuntivo, com numerosas células regeneradoras de tecido epitelial, incluindo as produtoras de escamas. Contém também vasos sanguíneos, nervos e cromatóforos (Lagler et al, 1978).

ESCAMAS: São os ossos superficiais incrustados na pele, cuja função é reforçar o papel protetor. As escamas grandes e duras são mais comuns em peixes de água doce. Existem vários tipos de escamas, e o encaixe na pele, geralmente, acompanha o espaçamento dos segmentos elementares (vértebras e miotomas).

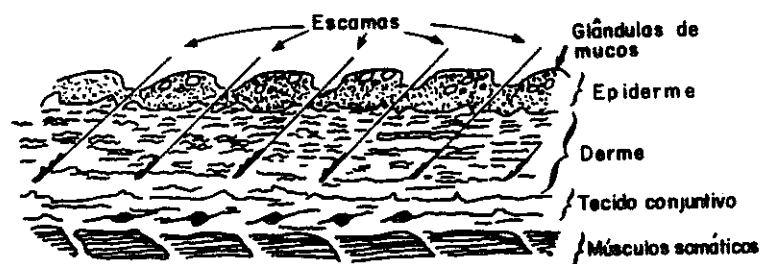


FIGURA 13 - Estrutura da pele de um peixe escamoso.

Alguns peixes não têm escamas, sendo chamados de **peixes de couro** (pintado, mandi, congro), outros têm escamas localizadas em zonas específicas ou sepultadas (enguias).

As escamas podem ser **placóides**, **ganóides**, **ciclóides**, **ctenóides** e de outras formas menos freqüentes. A mais comum dos peixes ósseos é do tipo ciclóide, que é um disco plano, e a placóide, que tem denticulos, sendo esta última típica da pele de tubarões (cação-lixia).

As escamas dos peixes são de queratina, provavelmente calcificadas, portanto, semelhantes às penas das aves, não sendo assimiladas pelo organismo animal e, por não sofrerem decomposição biológica, causam sérios problemas de entupimento no sistema de eliminação de efluentes.

As escamas e a pele de várias espécies carregam um pigmento sólido de aparência metálica, chamado **essência pérola**. Trata-se de polímeros da base púrica **guanina**, de estrutura cristalina iridescente.

4.2 - Parte útil de crustáceos e moluscos

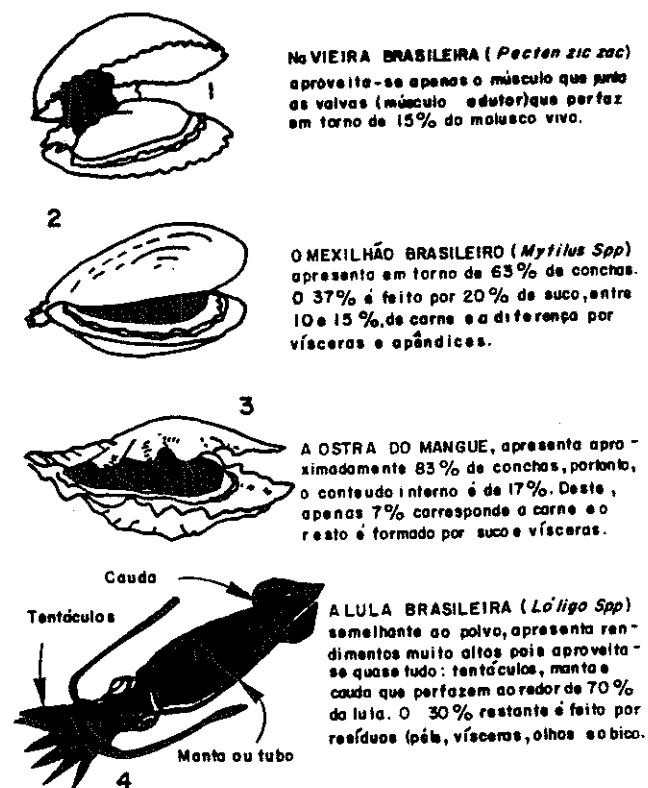
Com a notável exceção dos cefalópodos (lulas e polvos), os moluscos e crustáceos apresentam rendimentos mais baixos que os dos peixes. Os rendimentos de carne útil para industrialização (congelados, enlatados, salgados) são fortemente afetados pelo tipo de concha ou de carapaça que por sua vez varia de acordo com o "habitat" e os estados fisiológicos.

Em alguns moluscos, apenas é consumido o músculo adutor (que junta ou separa as duas valvas), como na vieira, ou então apenas as gônadas como nos ouriços. Dos caranguejos, só são aproveitados a carne das pinças e algo de carne do corpo. Para tirar a carne destes animais, é preciso pré-cozinhá-los; portanto, os rendimentos resultam na base de carne cozida. A forma e tamanho das pinças influem muito no rendimento dos caranguejos. Na espécie Rey (King crab), própria das águas subantárticas, o rendimento pode chegar até 30 % do animal, contra 15 % das espécies de clima temperado (IFOP, 1983).

As lulas e polvos são a grande exceção, pois é possível utilizar os tentáculos, a cauda e a manta ou tubo. Só se descartam os olhos, vísceras, o bico e, às vezes, a pele, cuja soma não ultrapassa 40 % do animal.

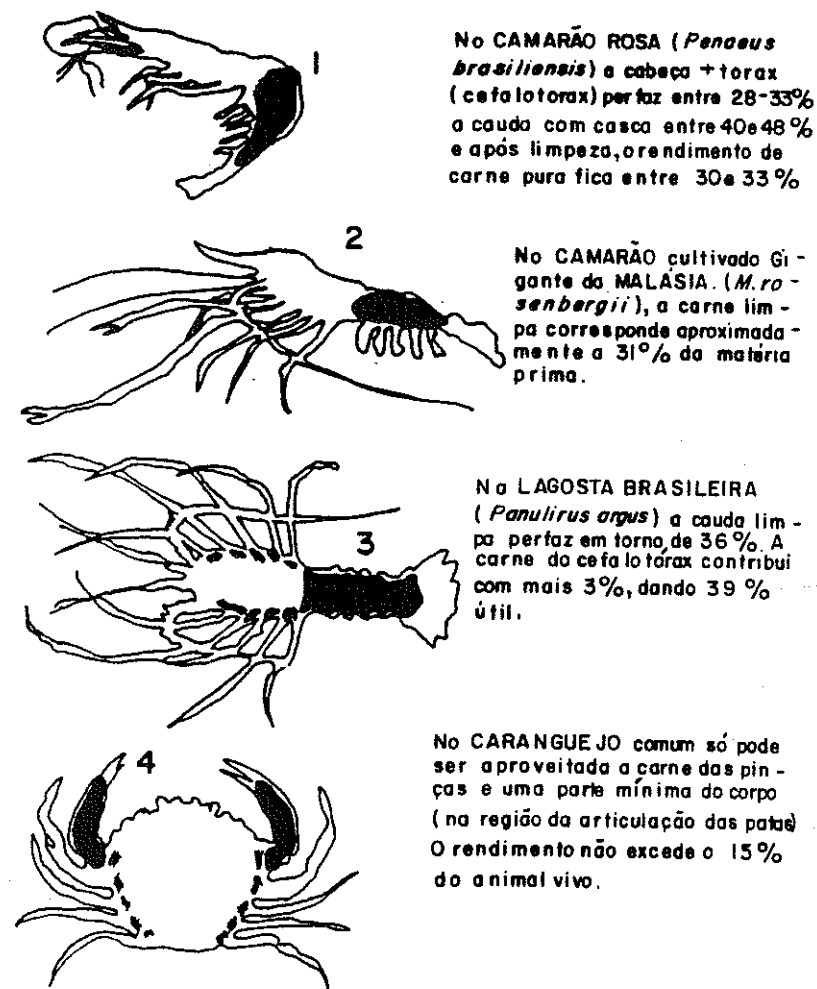
Nos camarões, o rendimento de carne é menos variável que o dos caranguejos e moluscos de concha. Grantham (1978) relata que o krill antártico (*Euphasia superba*), um camarão de apenas 3 cm de comprimento, tem em torno de 28% de rendimento de cauda limpa, um valor não muito inferior a 33% obtido com camarões de maior tamanho (Riviero-Chacon, 1976).

As figuras 14 e 15, incluídas a modo de ilustração, mostram os rendimentos de alguns moluscos e crustáceos brasileiros.



Fonte: 1) Anônimo (1975);
2, 3 e 4) FEA - UNICAMP.

FIGURA 14 - Parte aproveitável de alguns moluscos de importância comercial no Brasil (a parte útil é salientada em negro).



Fonte: 1) Riveiro - Chacón (1976);
2) Lobão e Torres (1985);
3) Silva das Chagas (1985);
4) FEA-UNICAMP.

FIGURA 15 - Parte aproveitável de alguns crustáceos de importância comercial no Brasil (a parte útil é salientada em negro).

4.3 - Referências bibliográficas

- ANÔNIMO Scallops e atum, novas opções da pesca. Revista Nacional da Pesca, v.143, p.5-6. (1975)
- SILVA, F. das C.H. Processamento tecnológico sanitário dos crustáceos. Alimentos e Tecnologia. v.1, n.5, p.4-18. 1985.
- FREITAS, J.F.V., GURGEL, J.J.S., MACHADO, Z. Estudo de alguns parâmetros biométricos e da composição química, inclusive variação sazonal da tilápia-do-Nilo (*Sarotherodon niloticus*) do açude público "Paulo Sarasate" (Rerictaba, CE - Brasil) durante os anos de 1978/79. Boletim Técnico DNOCS, v.37, n.2, p.135-51. 1979.
- GONÇALVES, S.M.M. Composição em nutrientes e caracterização das proteínas do filé de pacu (*Colossoma mitrei*, Berg 1895). Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 1989.
- GORDIEVSKAYA, V.S. Shark flesh in industry. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalém. 1973.
- GRANTHAM, G.J. The utilization of krill. FAO G/0/8077-3, Roma. 1977.
- GURGEL, J.J.S., FREITAS, J.V.F. Sobre a composição química de doze espécies de peixes de valor comercial dos açudes do nordeste brasileiro. Boletim Técnico do DNOCS, v.30, n.1, p.49-57. 1972.
- IFOP (Instituto de Fomento Pesquero). Catálogo tecnológico de las principales materias primas pesqueras CHILE. Corporación de Fomento y de la Producción y Instituto de Fomento Pesquero, Santiago. 1983.
- MANDELLI, M.Q., DE LEON, M.B. Dados tecnológicos sobre alguns peixes do Rio Grande do Sul. Boletim do IPEMAFLA, Pelotas, v.1, p.3-25. 1974.
- MORAES, C., MONTOVANI, D.M.B., CARVALHO, C.R.L. Rendimento cárneo e comparação química da ictiofauna acompanhante na captura de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*, Heller 1982). Coletânea do ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos), v.22, n.1, p.62-72. 1992.
- RIVEIRO-CHACÓN, L.C. Preparação de um extrato protéico com sabor e aroma de camarão. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 1976.

5 - Composição química de peixes, crustáceos e moluscos

A determinação da composição química dos pescados permite classificá-los nos grandes grupos de alimentos, de acordo com os teores de água, lipídios, proteínas e minerais. A disponibilidade desta informação auxilia na consecução dos objetivos seguintes:

- a) Padronização dos produtos alimentares na base de critérios nutricionais;
- b) Fornecimento de subsídios para decisões de caráter dietário;
- c) Acompanhamento de processos industriais e pesquisas através de mudanças nos componentes químicos;
- d) Seleção de equipamentos certos para otimização econômico-tecnológica.

A composição química percentual, também chamada centesimal, de pescados, comumente não inclui a determinação de carboidratos, visto que, nos peixes, o teor é menor que 1%. Porém, em alguns moluscos (ostra, mexilhão), o glicogênio pode atingir até 10% da matéria seca; portanto, nestes pescados, a determinação de carboidratos não deve ser ignorada.

Para a alimentação humana, o que interessa é a composição das partes comestíveis; portanto, o analista deve obter as amostras das zonas aproveitáveis e respeitar as condições em que elas são consumidas (com pele, com gordura, etc.).

Variações na composição química das espécies, causadas por estados fisiológicos ocasionais, são freqüentes e aceitas pelos

analistas. Inaceitáveis, porém, são as deficiências de amostragem que podem introduzir erros maiores que as flutuações naturais. Os fatores que afetam a composição química, aparecem resumidos na figura 16.

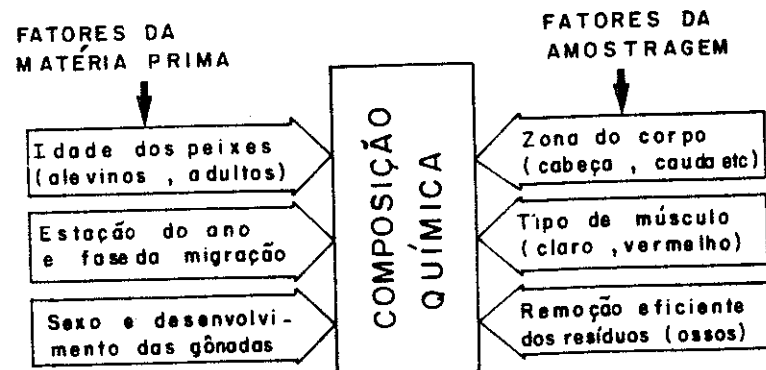


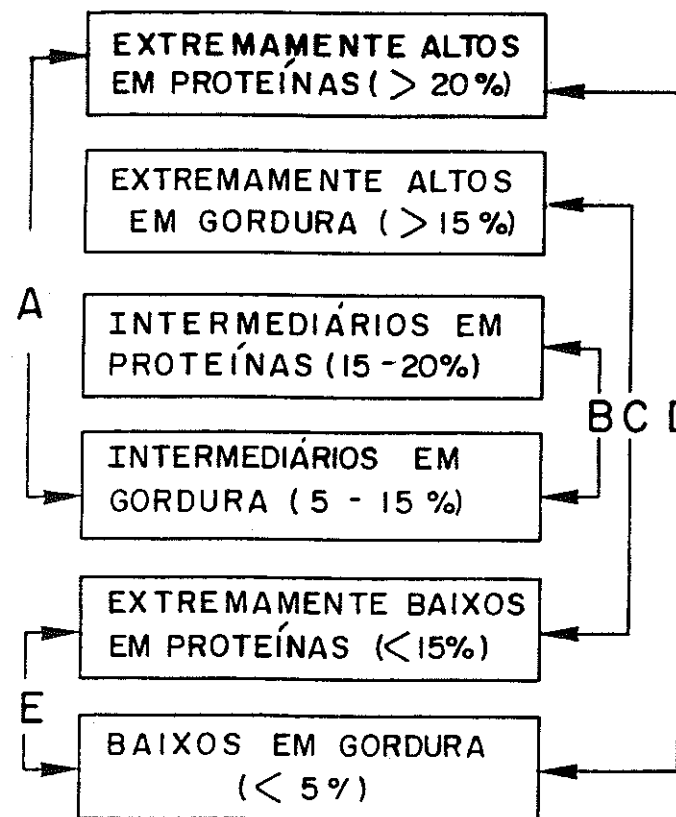
FIGURA 16 - Fatores intrínsecos e extrínsecos que influem na composição química dos pescados.

5.1 - Divisão das espécies na base da composição química

Há várias décadas, utiliza-se do teor de gordura como critério prático para comparações entre as espécies. Assim, fala-se em espécies gordas, semigordas e magras. A escolha do teor de gordura tem justificativa, visto que este composto influi decisivamente na performance produtiva, na vida útil dos produtos e na aceitação geral pelos consumidores. Jacquot (1961) descreve os seguintes intervalos do teor de gordura com fins classificatórios:

Tipo de Pescado	% de Gordura
Gordo	mínimo - 10,0%
Semigordo	entre 2,5 - 10,0%
Magro	máximo - 2,5%

Stansby (1965) propôs incluir, também, o teor de proteínas para categorizar os pescados e chamou de peixes gordos aqueles com mais de 15% de gordura. A combinação dos teores de gordura e de proteínas origina vários grupos (categorias) que aparecem esquematizadas na figura 17.



Fonte: Esquema baseado em Stansby (1965).

FIGURA 17 - Categorias de pescados (A, B, C, D, E) obtidas da combinação das porcentagens de proteínas e gorduras registradas em animais aquáticos.

5.2 - Composição química dos músculos claros e dos músculos vermelhos

A Tabela 7 mostra um estudo da porcentagem de músculo vermelho contido na parte comestível de várias espécies do litoral Centro-Sul.

TABELA 7 - Composição química dos músculos claros e escuros (vermelhos) de algumas espécies do litoral brasileiro.

ESPÉCIE*	TIPO DE MÚSCULO	MÚSCULOS (%) ^d	UMIDADE (%)	PROTEÍNA BRUTA (%)	GORDURA (%)	CINZAS (%)
Cação-machote ^b	claro	85,2 - 82,7	78,7 - 79,0	20,0 - 22,0	0,7 - 0,9	1,05 - 1,15
	vermelho	14,8 - 17,3	78,3 - 78,9	20,0 - 21,8	1,08 - 1,12	0,98 - 1,10
Serra ^c	claro	88,5 - 87,1	66,3 - 71,4	21,9 - 22,8	6,08 - 9,12	1,16 - 1,35
	vermelho	11,5 - 12,9	64,2 - 70,3	20,1 - 22,6	5,71 - 14,24	1,11 - 1,28
Albacora ^b	claro	84,0 - 82,0	69,0 - 71,3	24,2 - 25,8	3,49 - 3,52	1,30 - 1,33
	vermelho	16,0 - 18,0	68,1 - 69,7	22,1 - 22,9	5,48 - 7,51	1,23 - 1,25
Bonito ^c	claro	83,5 - 80,8	70,0 - 71,0	23,9 - 25,5	4,00 - 5,22	1,20 - 1,25
	vermelho	16,5 - 19,2	69,2 - 71,3	21,0 - 23,0	5,54 - 6,86	1,19 - 1,20
Cavaliinha ^c	claro	84,6 - 80,8	71,2 - 72,3	21,3 - 22,1	5,85 - 6,43	1,25 - 1,32
	vermelho	15,4 - 19,2	63,0 - 64,9	20,0 - 20,9	14,1 - 15,8	1,17 - 1,17
Bagre ^c	claro	≅ 94	66,5 - 68,9	15,0 - 15,9	14,7 - 16,4	0,78 - 0,85
	vermelho	≅ 6	65,0 - 66,2	14,0 - 14,8	16,8 - 17,9	0,74 - 0,83
Tainha ^c	claro	≅ 94	71,2 - 72,4	19,7 - 22,0	4,88 - 7,37	1,15 - 1,18
	vermelho	≅ 6	68,5 - 70,0	19,0 - 21,0	7,26 - 9,86	1,11 - 1,11

- (a) Os nomes científicos das espécies aparecem nas tabelas 11A e 11B.
 (b) Foram usados dois peixes (os valores da tabela correspondem ao máximo e mínimo).
 (c) Foram usados seis peixes (os valores da tabela correspondem aos máximos e mínimos).
 (d) A porcentagem é calculada na base da parte comestível (sem pele e sem ossos).

As diferenças de composição entre ambos os tipos de músculos aparecem sintetizadas no esquema seguinte e prevalecem tanto na base úmida quanto seca.

Umidade: maior no músculo claro, mas há algumas exceções.
Proteínas: ligeiramente maior no músculo claro.
Lipídios: nitidamente maior nos músculos vermelhos.
Cinzas: ligeiramente maior nos músculos claros.

O músculo vermelho é maior nos peixes pelágicos, particularmente nos da família **SCOMBRIDAE** (atum, bonito, serra, cavaliinha), que apresentam valores entre 11,2 e 19,2%. O cação-machote (*Carcharhinus maculipinnis*) tem, também, teores altos deste músculo (14,8-17,3%); porém, em cações nitidamente demersais, como o tollo (*Squalus acanthias*), têm sido relatados valores em torno de 7% (IFOP, 1983).

Nos bagres e na tainha, o músculo vermelho está mais espalhado na superfície lateral, e sua porcentagem é menor que 6%. Segundo Love (1970), as espécies de nado contínuo podem ter até 48% da massa muscular como músculo vermelho, enquanto que nos peixes demersais, de hábitos sedentários, este músculo é irrelevante.

5.3 - Variação da composição através do corpo

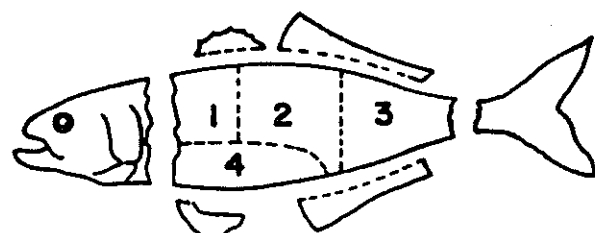
As figuras 18, 19 e 20 apresentam um mapeamento da composição química do corpo de espécies de importância comercial do litoral brasileiro.

As determinações foram feitas com peixes da região Centro-Sul do litoral (figura 5), utilizando-se entre 2 - 6 indivíduos.

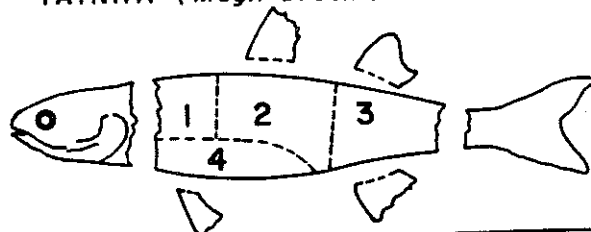
O mapeamento da composição química mostra as diferenças zonais, particularmente evidentes nos peixes gordos. Nos peixes semigordos, as diferenças zonais são ainda perceptíveis; porém, nas espécies magras, a composição zonal é relativamente homogênea. De um modo geral, a observação permite as seguintes conclusões:

Umidade: maior na zona caudal, menor na zona ventral.
Proteínas: maior na zona dorsal, menor na zona ventral.
Gordura: maior na zona ventral, menor na zona caudal.
Cinzas: menor na zona ventral; nas outras zonas, não há diferenças.

As diferenças de composição química zonal também ocorrem em alguns crustáceos e moluscos, como é ilustrado na Tabela 8.

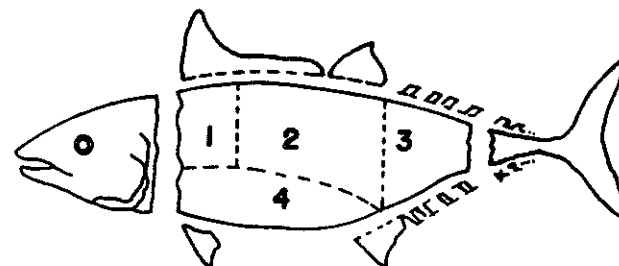
ENCHOVA (*Potomatus saltatrix*)

COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%)	ZONAS DO CORPO			
	1	2	3	4
Umidade	69,5	68,8	72,1	64,7
Proteína bruta	21,4	21,5	20,9	17,9
Lipídios totais	10,4	11,0	7,6	16,3

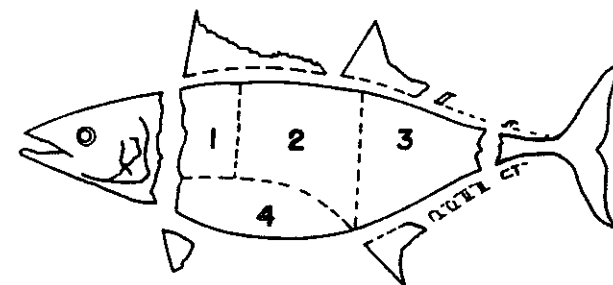
TAINHA (*Mugil brasiliensis*)

COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%)	ZONAS DO CORPO			
	1	2	3	4
Umidade	12,9	72,8	74,3	66,1
Proteína bruta	22,3	22,6	22,0	22,0
Lipídios totais	3,6	3,5	3,5	11,9
Cinzas	1,3	1,2	1,2	1,1

FIGURA 18 - Mapeamento da composição química do corpo da enchova e tainha.

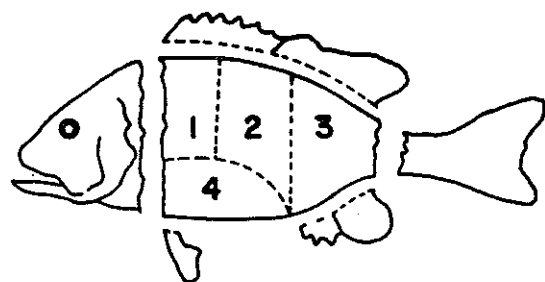
BONITO (*Euthynnus alleteratus*)

COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%)	ZONAS DO CORPO			
	1	2	3	4
Umidade	70,9	70,1	71,9	66,5
Proteína bruta	24,7	25,5	24,5	23,3
Lipídios totais	3,3	3,2	2,3	11,4
Cinzas	1,2	1,2	1,2	1,2

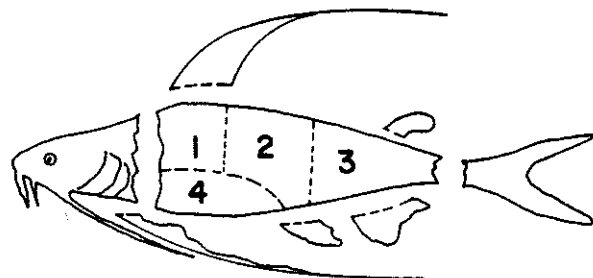
ALBACORA (*Gerres alalunga*)

COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%)	ZONAS DO CORPO			
	1	2	3	4
Umidade	69,2	69,6	71,6	71,1
Proteína bruta	24,4	25,8	25,3	22,8
Lipídios totais	5,5	4,0	2,1	6,9
Cinzas	1,2	1,3	1,2	1,1

FIGURA 19 - Mapeamento da composição química do corpo do Bonito e Albacora.

PARGO (*Lutjanus purpureus*)

COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%)	ZONAS DO CORPO			
	1	2	3	4
Umidade	77,4	77,2	77,9	77,2
Proteína bruta	19,9	19,9	19,9	18,7
Lipídios totais	1,7	1,5	1,2	1,9
Cinzas	1,4	1,4	1,3	1,2

BAGRE BANDEIRA (*Bagre marinus*)

COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%)	ZONAS DO CORPO			
	1	2	3	4
Umidade	71,0	70,0	72,9	61,1
Proteína bruta	14,4	14,6	19,1	12,4
Lipídios totais	12,9	13,6	7,2	24,3
Cinzas	0,8	0,8	0,9	0,7

FIGURA 20 - Mapeamento da composição química do corpo do Pargo e do Bagre-de-mar.

TABELA 8 - Composição dos músculos da Lula *Illex patagonicus* (Bykowsky et al., 1990)

COMPOSTOS QUÍMICOS (%)	TUBO (manta)	TENTÁCULOS
Massa Seca	22,13 ± 0,24	20,95 ± 0,20
Lipídios	2,00 ± 0,02	1,90 ± 0,02
Cinzas	1,42 ± 0,05	1,69 ± 0,12
Proteínas	17,81 ± 0,31	16,25 ± 0,13

5.4 - Variação da composição química com a idade e a estação do ano

Idade: Os peixes jovens, geralmente, têm mais água e menos gordura que os adultos. O fato de se encontrar na fase de crescimento, diminui a gordura disponível para reserva. Na tabela 9, é mostrada a variação do teor de gordura com o comprimento de anchoveta do Pacífico.

TABELA 9 - Teor de gordura de anchoveta (*Engraulis ringens*) nos estados juvenil e adulto (Contreras, 1976).

Porcentagem de gordura no ano de 1970:

ESTADO	TAMANHO	VERÃO	OUTONO	INVERNO	PRIMAVERA	MEDIA ANUAL
Juvenil	12 cm	4,23	3,37	2,77	4,35	3,68
Adulto	13 cm	5,08	4,33	3,07	5,50	4,50
Adulto	14 cm	5,60	4,97	2,90	5,08	4,64

Estação do ano: A influência deste fator é muito marcada nos peixes pelágicos, que aumentam ou diminuem o teor de gordura com a disponibilidade sazonal de alimento. A fertilidade do mar ocorre nos períodos de ressurgência e luz diurna maiores; portanto, na região subtropical, há maior abundância de peixes pelágicos na primavera e verão.

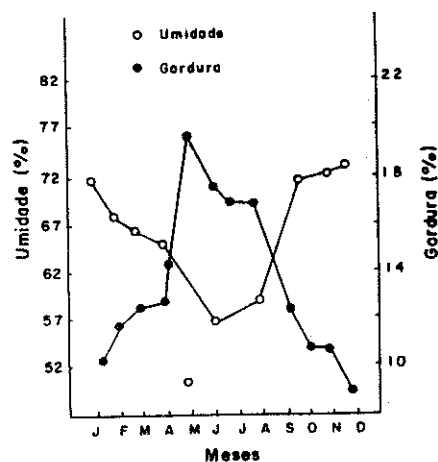
O conhecimento da variação sazonal da composição química é de maior importância tecnológica, pois afeta os rendimentos, o sabor, a textura e a estabilidade à oxidação da gordura, seja pelo aumento da insaturação ou pela variação dos antioxidantes naturais.

A sardinha, savelha, pescada, corvina, pargo e alguns peixes de açudes do Nordeste e da região Centro-Sul têm sido submetidos a estudos sazonais.

Um dos primeiros trabalhos sobre variação sazonal no Brasil foi realizado por Rios (1957) com várias espécies do Rio Grande do Sul. A pesquisa deste autor surpreende pelo pioneirismo, visto que esta classe de estudos não era comum nem em países com indústria pesqueira de grande porte.

Os estudos de variação sazonal se tornaram freqüentes a partir dos anos 60, quando a indústria de pescados incorporou estudos biológicos e bioquímicos para o planejamento da exploração pesqueira.

Um dos peixes pesquisados por Rios (1957) foi a savelha (*Brevoortia tyrannus*), o menhadem americano, que apresentou uma enorme flutuação da composição química, constituindo-se num exemplo convincente da inter-relação entre o teor da umidade e de gordura nos tecidos dos peixes, como pode ser observado na figura 21.

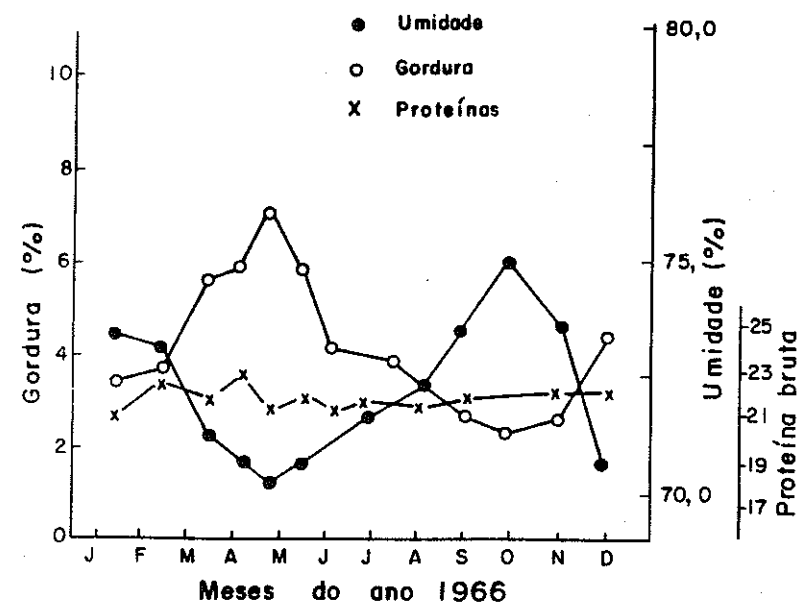


Fonte: Rios (1957).

FIGURA 21 - Variação sazonal da gordura e da umidade da savelha (*Brevoortia tyrannus*) no ano de 1954.

A variação sazonal da sardinha (*Sardinella brasiliensis*) do litoral do Estado de São Paulo, pesquisada por Itô et al. (1969), entre os anos de 1963 e 1966, constitui o trabalho mais completo deste tipo realizado no Brasil, tanto pela extensão do período quanto pelo número de compostos químicos pesquisados.

Na figura 22, mostra-se a variação sazonal das proteínas, gordura e água da sardinha no ano de 1966, um dos períodos examinados por Itô et al. (1969).



Fonte: Itô et al. (1969).

FIGURA 22 - Variação sazonal das percentagens de proteínas, gordura e umidade na sardinha (*Sardinella brasiliensis*) durante o ano de 1966.

A variação da água e da gordura é ampla, mostrando um máximo de gordura no outono e um mínimo na primavera; o teor de água comporta-se de maneira exatamente inversa; portanto, a soma das porcentagens da água e da gordura tende a dar um valor relativamente

constante, em torno de 77,4%. Este valor é menor que 80%, um valor considerado representativo de várias espécies por Stansby (1965). Este autor especula sobre uma eventual adequação fisiológica para esta quase constância da fase líquida (água + óleo) em relação ao teor de sólidos (proteínas, minerais e compostos orgânicos menores). Porém, também admite a possibilidade de ser apenas um artifício aritmético do ajuste a 100%. Assim, quando a gordura aumenta muito, a água, sendo o componente majoritário, refletiria mais fortemente a diminuição do novo ajuste a 100%. Os outros compostos também diminuiriam; porém, por serem minoritários, não seriam relevantes.

Com relação ao teor de proteínas, na figura 22, observa-se que estes compostos apresentam flutuações muito pequenas que não acompanham a tendência das gorduras ou da umidade. Um comportamento semelhante tem sido relatado para anchoveta (*Engraulis ringens*) [Contreras, 1976].

É interessante comparar a variação sazonal da sardinha brasileira (Atlântico) com a **anchoveta** da costa do Chile e Peru (Pacífico). Ambas as espécies habitam mais ou menos na mesma latitude, são pelágicas e têm enorme importância como peixe industrial.

As variações das percentagens de óleo da sardinha brasileira e anchoveta do norte do Chile, nos anos de 1964 e 1966, aparecem na figura 23.

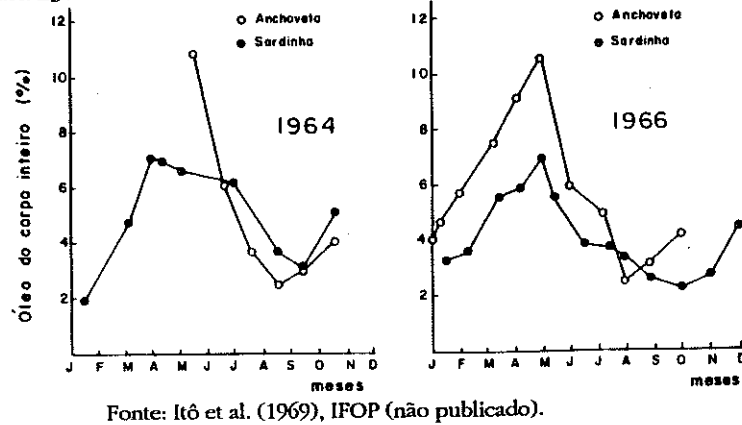


FIGURA 23 - Comparação entre a variação sazonal do teor de óleo da sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*) e da anchoveta do Pacífico Sul (*Engraulis ringens*) nos anos de 1964 e 1966.

As duas espécies apresentam máximos e mínimos no mesmo período, indicando que o fator sazonal é tão forte que se superpõe a outras influências locais. Percebe-se que a anchoveta é um peixe muito mais gordo que a sardinha brasileira, a qual apresentou uma média anual de 5,1% de gordura no ano de 1964 e 4,4% no ano de 1966 (Itô et al., 1969).

Comparada com outras espécies de sardinha (*pilchard, cerulea, acellata, melanostica, Sardinops sagax*), a espécie brasileira apresenta-se como uma das mais magras, com máximos de gordura que raramente superam 10%.

Estudos sazonais com espécies magras ou semigordas têm sido realizados por Itô e Watanabe (1968) com peixes do litoral do Rio Grande do Sul (pescada fogueite e corvina) e por Nunes et al. (1976), com peixes do Nordeste brasileiro (guaiúba, cavala, sororoca, ariacó, cioba e pargo). Por ter interesse quanto ao contraste com as espécies da região Centro-Sul apresenta-se, na figura 24, parte dos resultados da pesquisa de Nunes et al. (1976).

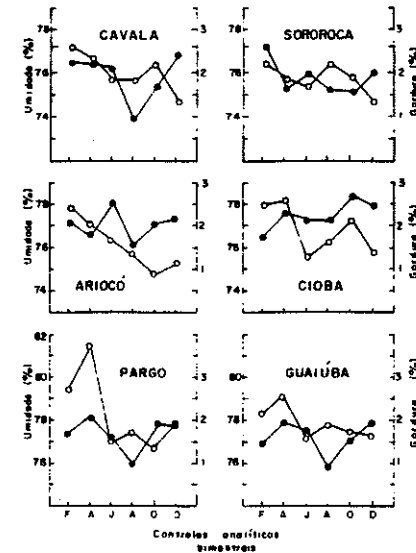


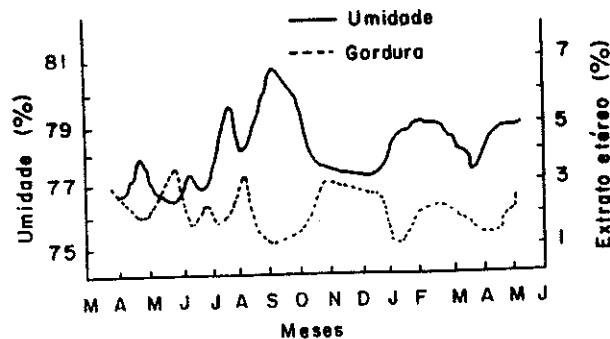
FIGURA 24 - Variação sazonal do teor da gordura (2) e da umidade (1) em seis espécies de peixes do litoral do Ceará.

Os dados bimestrais demonstram que, nestes peixes de "habitat" tropical, as variações sazonais são pequenas e não apresentam relação de complementação entre umidade e gordura. Provavelmente, a proximidade do Equador minimiza o efeito sazonal que, na região Sul, é muito marcante. Também deve ser levado em consideração que se trata de espécies magras, nas quais, o acúmulo de gordura é mais nítido no fígado. Ainda que não ocorra com todas as espécies, é possível distinguir uma tendência de maior umidade no 1º e 2º bimestres.

A variação sazonal ocorre tanto nos peixes marinhos quanto nos de água doce; certamente as mudanças da composição química são mais evidentes nas regiões com estações diferenciadas, como foi demonstrado num estudo de Sanchez et al. (1988).

Os autores estudaram a variação da composição química do **peixe-cadela** (*Galeocharax knerii*, Steindachner, 1879), uma espécie de pequeno tamanho, magra ou quase magra, povoando várias represas do Estado de São Paulo.

Na figura 25, mostra-se a flutuação anual do teor de gordura e de umidade. Percebe-se a típica queda no teor de gordura no fim do inverno e início da primavera. A estação gorda ocorre no fim da primavera, verão e outono. A porcentagem de umidade varia inversamente com a da gordura, dando uma soma muito próxima de 80%. Segundo os autores, a umidade e a gordura relacionam-se neste peixe, da maneira seguinte: % Umidade = $80,31 - 1,02 \times \% \text{gordura}$.

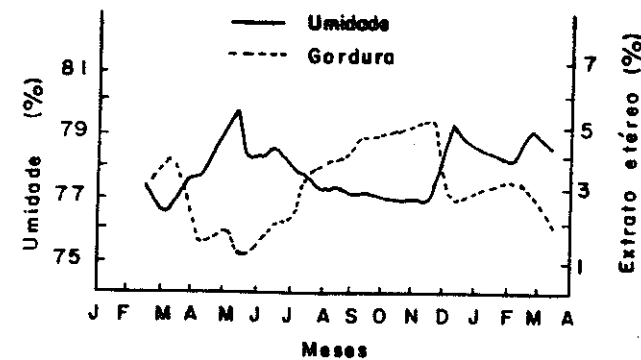


Fonte: Sanchez et al. (1988).

FIGURA 25 - Variação sazonal da gordura e da umidade do **peixe-cadela** (*Galeocharax knerii*), um peixe de água doce da região Centro-Sul do Brasil.

Quanto ao teor de proteínas, a variação foi bastante acentuada, porém sem correlação com as variações de umidade.

A figura 26 mostra outro estudo sazonal com espécies de água doce: trata-se do **sagüiru-prata** (*Curimatus elegans*, Steindachner), que foi estudado por Moraes et al. (1984). Os períodos de máxima gordura são semelhantes aos encontrados para o peixe-cadela (Sanchez et al., 1988), ocorrem na primavera e no outono, e o teor de umidade varia inversamente com a gordura, obedecendo à expressão seguinte: % Umidade = $79,5 - (0,49 \times \% \text{gordura})$.



Fonte: Moraes et al. (1984).

FIGURA 26 - Variação sazonal da gordura e da umidade do **sagüiru-prata** (*Curimatus elegans*), um peixe de água doce da região Centro-Sul do Brasil.

O teor de proteínas, tanto dos machos quanto das fêmeas, teve uma queda bem definida entre agosto e setembro, isto é, no período mais magro, o que poderia significar que as proteínas estivessem sendo utilizadas como energia (Moraes et al., 1984).

5.5 - Variação da composição em relação ao sexo e ao desenvolvimento gonadal

A diferença entre a composição das sardinhas fêmeas e machos foi pesquisada por Itô et al. (1969) que encontraram as médias anuais da tabela 10.

TABELA 10 - Valores médios dos componentes químicos de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fêmea e macho nos anos de 1964 e 1966.

ANO	UMIDADE (%)		PROTEÍNAS (%)		GORDURA (%)		CINZAS (%)	
	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho
1964	72.7 ± 1.8	72.2 ± 1.8	21.2 ± 1.9	22.1 ± 1.9	4.9 ± 1.9	5.2 ± 1.7	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.4
1966	72.1 ± 1.6	72.6 ± 1.3	22.1 ± 1.1	21.7 ± 1.1	4.6 ± 1.8	4.3 ± 1.2	1.6 ± 0.2	1.6 ± 0.03

Os dados da tabela 10 indicam que não há diferenças estatisticamente significativas entre os teores dos compostos químicos de machos e fêmeas. O fato de se tratar de médias anuais, elimina a possível influência dos tamanhos ou condições nutricionais diferentes.

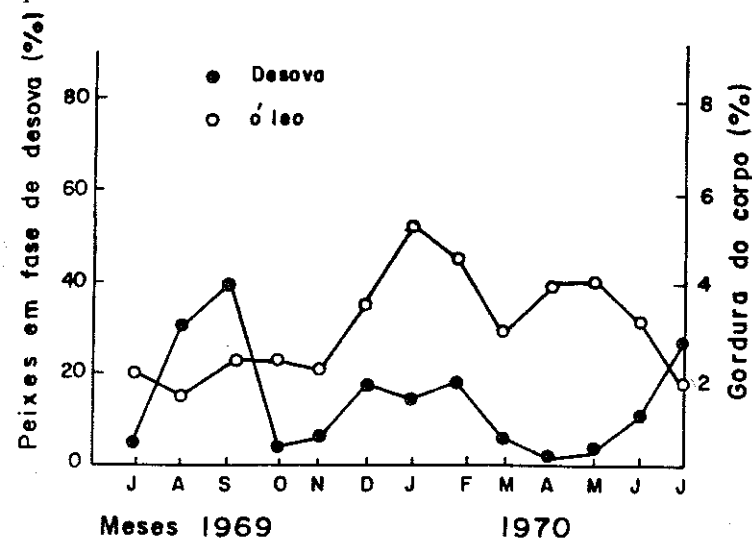
Quanto à influência da desova, está estabelecido que, nesta condição, há um dispêndio notável da gordura com um aumento proporcional da umidade. As proteínas também são consumidas, porém como recurso emergencial. As alterações intensas de composição química, neste período, causam vários problemas para o manuseio e processamento, além de afetar negativamente as propriedades organolépticas (textura e sabor).

A depleção das reservas na desova pode ser fatal para os peixes, especialmente se ela ocorre simultaneamente com a migração (salmão, enguia). Nestes casos, o estado fisiológico é tão ruim que leva, finalmente, à morte. Segundo Love (1970), o salmão, após a migração e desova, perde 92% dos lipídios, 72% das proteínas e 63% dos minerais.

A situação com outras espécies não é tão grave, pois a maioria suporta bem este fenômeno e pode desovar por muitos anos.

Na figura 27, é mostrada a relação entre o teor de gordura corporal e a percentagem de fêmeas em fase de desova e machos prontos para a fecundação (graus IV e V).

Os graus IV e V significam que é possível fazer fluir os ovos e o esperma por uma ligeira pressão da barriga. O grau VI representa os peixes desovados.



Fonte: Contreras et al. (1976).

FIGURA 27 - Relação entre o grau de maturidade sexual (machos e fêmeas em fase de fecundação) e o teor de óleo do corpo da anchoveta do Pacífico-Sul (*Engraulis ringens*).

Da figura 27, se deduz que, no período de desova, a gordura corporal é mais baixa, recuperando-se assim que a desova termina. De fato, neste novo ciclo, tanto a gordura corporal quanto a das gônadas aumentam simultaneamente nos períodos iniciais (Contreras et al., 1976).

5.6 - Tabela geral de composição química de pescados do Brasil

As tabelas 11A, 11B e 11C apresentam dados de composição de peixes marinhos (oceanódromos), de água doce (limnódromos) e de alguns invertebrados marinhos de importância comercial do Brasil.

As Tabelas foram montadas com base em informações de jornais científicos, congressos e outros eventos, comunicações pessoais e através de teses de pós-graduação que, mesmo sendo consideradas como material publicado, raramente chegam a ser difundidas para os interessados.

Os dados da tabela 11A permitem concluir que a grande maioria das espécies economicamente importantes cai na categoria de peixes magros ou semigordos, proposta por Jacquot (1961). A sardinha, o peixe mais pesquisado, cai na categoria de peixe semigordo, com algumas exceções relatadas no litoral de Santa Catarina (Beirão, 1979) e de São Paulo (Beraquet, 1985) que registraram teores de gordura acima de 10%.

Espécies eminentemente magras são os cações, linguado, cangulo, corvina, merluza, pargo, pescada-bicuda, sororoca e outras. Espécies geralmente gordas são a savelha, bagres, manjuba, enchova, cavalinha, etc., intermediárias, dependendo da estação, são a serra, pescadas (foguete, goete e olhuda) e outras.

Com relação às categorias de Stansby (1965), a maioria dos peixes marinhos cai na categoria B (peixes com teor de proteínas entre 15 e 20% e gordura, entre 5 e 15%). As grandes exceções são os atuns, bonito, serra e cavala, que ficam na categoria D (peixes muito altos em proteínas e baixos em gordura), e alguns cações, particularmente o cação azul que cai na categoria E (espécies baixas em proteínas e baixas em gordura).

A tabela 11B mostra que os peixes fluviáteis e lacustres têm tendência a ser mais gordos que os marinhos, alguns deles com teores ocasionais acima de 15% (corimbatá, pacu, mandi).

TABELA 11A - Composição química dos peixes do litoral brasileiro.

Nomes Vulgares	Nomes Científicos	UMIDADE (%)	PROTEÍNA BRUTA (%)	GORDURA (%)	CINZAS (%)	REFERÊNCIAS
Arcoz	<i>Lagodon rhomboides</i>	77,0	20,3	20,3	1,5	Nunes et al. (1976)
Albacora	<i>Germo albacora</i>	69,6 ± 2,0	25,8 ± 0,7	4,0 ± 1,1	1,3 ± 0,2	FEA-UNICAMP (*)
Bagre-bacalhau	<i>Bagre marinus</i>	69,9 ± 2,1	16,1 ± 1,6	13,6 ± 1,6	0,9 ± 0,3	FEA-UNICAMP (*)
Bagre-cantábria	<i>Trachyrhynchus azeite</i>	77,3 - 79,1	16,1 - 17,0	5,6 - 1,3	0,9 - 0,9	FEA-UNICAMP (*)
Bagre	<i>Trachyrhynchus barbatus</i> , <i>Lagodon</i>	71,6 - 78,0	17,0 - 21,6	10,6 - 12,9	0,9 - 1,4	Reguly et al. (1970)
Bagre	<i>Nilima barbatus</i>	76,0	17,0	7,0	—	Mandelli, De Leon (1974)
Bonito-pelado	<i>Euthynnus alletteratus</i>	71,5 ± 2,3	23,2 ± 0,9	4,0 ± 1,8	1,2 ± 0,2	FEA-UNICAMP (*)
Cabralia	<i>Prionace punctatus</i>	79,1	17,4	1,9	1,4	Morais et al. (1992)
Cacho-cachoeira	<i>Caranodon carcharus</i>	80,2	17,6	0,60	1,1	Torrão, Menezes (1977)
Cacho-suijo	<i>Squalina spumosa</i>	77,9	20,2	0,95	0,95	Hesse (1990)
Cacho-cambaze	<i>Sphyrna tiburo</i>	78,8	19,8	0,80	1,2	Torrão, Menezes (1977)
Cacho-machete	<i>Caranxinus maculipinnis</i>	79,4	18,4	1,1	1,4	Torrão, Menezes (1977)
Cacho-machete	<i>Caranxinus maculipinnis</i>	80,6	17,9	0,65	0,91	Reguly et al. (1970)
Cacho-saci	<i>Caranxinus maculipinnis</i>	78,1 ± 1,6	22,4 ± 1,5	0,8 ± 0,1	0,96 ± 0,1	Nunes et al. (1976)
Cacho-saci	<i>Prionace glauca</i>	83,0	15,0	0,80	0,80	Torrão, Menezes (1977)
Cangulo	<i>Prionace glauca</i>	85,4	13,3	0,29	1,1	Hesse (1990)
Cangulo	<i>Bellina vitella</i>	80,2	19,7	—	—	Victoria, Nunes (1986)
Castanha	<i>Umbretta coroides</i>	74,7 - 79,4	17,0 - 19,0	1,5 - 4,0	1,1 - 1,2	Reguly et al. (1970)
Cavala-verde-delta	<i>Scombrotoerus cavalla</i>	76,1	20,7	2,1	1,3	Nunes et al. (1976)
Cavala-verde	<i>Scombrotoerus cavalla</i>	76,8	22,1	1,5	1,2	FEA-UNICAMP (*)
Cavallinha	<i>Acanthocybium solandri</i>	71,8 ± 2,4	21,5 ± 1,0	7,5 ± 1,8	1,4	FEA-UNICAMP (*)
Cloba	<i>Scomber scomberus</i>	76,4	19,4	1,9	1,3	Nunes et al. (1976)
Cloba	<i>Lagodon macis</i>	76,4	19,4	1,9	1,3	Nunes et al. (1976)
Corvina	<i>Micropterus journaleri</i>	80,5 - 82,7	15,5 - 17,0	1,3 - 1,4	1,1 - 1,2	FEA-UNICAMP (*)
Corvina	<i>Micropterus journaleri</i>	76,0 - 80,8	18,8 - 20,4	1,8 - 2,3	1,1 - 1,2	Reguly et al. (1970)
Corvina	<i>Micropterus journaleri</i>	80,2 ± 1,2	17,8 ± 1,6	1,5 ± 0,9	1,1 ± 0,2	FEA-UNICAMP (*)
Corvina	<i>Micropterus journaleri</i>	80,5	17,6	0,64	0,9	Fujimura (198)
Corvina	<i>Micropterus journaleri</i>	80,0	17,0	2,0	—	Morais et al. (1992)
Corvina	<i>Pomadasys corvinus/journaleri</i>	77,0	18,7	3,0	1,27	Reguly et al. (1970)
Enchova	<i>Pomadasys salazars</i>	63,7 - 68,8	16,8 - 19,8	12,0 - 16,1	0,9 - 1,1	Morais et al. (1992)
Enchova	<i>Pomadasys salazars</i>	66,0 - 68,0	19,6 - 20,4	9,6 - 10,8	0,9 - 1,0	FEA-UNICAMP (*)
Guaiaba	<i>Caranx latus</i>	77,2	19,5	2,0	1,4	Nunes et al. (1976)
Linguado	<i>Pseudolithys orthogyna</i>	80,4	18,3	1,0	1,1	FEA-UNICAMP (*)
Linguado	<i>Pseudolithys orthogyna</i>	81,0	17,0	1,0	—	Mandelli, De Leon (1974)
Manjuba	<i>Achirocentrus nuda</i>	71,6	18,0	7,2	1,1	FEA-UNICAMP (*)

(*) dados obtidos durante vários anos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

TABELA 11C - Composição química de alguns crustáceos e moluscos brasileiros.

Nome Vulgar	Nome Científico	UMIDADE (%)	PROTEÍNA BRUTA (%)	GORDURA (%)	CINZAS (%)	REFERÊNCIAS
Camarão-sete-barbas	<i>Niphogenaeus kroyeri</i>	76,0 - 80,0	15,8 - 17,1	1,8 - 2,1	—	FEA-UNICAMP (*)
Camarão-legítimo	<i>Penaeus schmitti</i>	76,8 - 77,9	16,8 - 17,1	2,1 - 2,4	—	FEA-UNICAMP (*)
Camarão-gigante-da-malásia	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	78,3 - 80,9	16,2 - 16,9	1,1 - 1,3	—	FEA-UNICAMP (*)
Lagostim	<i>Hymenopaeus mulleri</i>	78,5 - 80,0	16,6 - 17,8	1,9 - 2,2	0,96	FEA-UNICAMP (*)
Lula	<i>Loligo spp.</i>	77,8 - 80,0	16,9 - 17,9	1,9 - 2,1	—	FEA-UNICAMP (*)
Mexilhão	<i>Mytilus spp.</i>	80,1 - 82,0	12,0 - 13,1	1,8 - 3,0	—	FEA-UNICAMP (*)
Polvo	<i>Octopus spp.</i>	82,8 - 84,3	13,0 - 14,0	1,4 - 1,5	0,43	FEA-UNICAMP (*)
Vineta	<i>Pecten spp.</i>	84,7 - 87,2	11,8 - 13,5	1,0 - 1,3	1,2 - 1,3	FEA-UNICAMP (*)

(*) dados obtidos durante vários anos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

Os invertebrados relacionados na tabela 11 C têm composições próximas das relatadas na literatura pertinente. As 3 espécies de crustáceos são magras e têm teores de proteínas inferiores aos dos peixes. A lula (*Loligo spp.*) apresenta uma composição próxima à dos camarões, o que não ocorre com o polvo, que apresenta valores muito baixos de proteínas, gordura e minerais. Caso as categorias de Stansby (1965) fossem aplicadas aos invertebrados, estes ficariam no grupo E (espécies baixas em gorduras e baixas em proteínas).

Os teores de cinzas dos peixes encontram-se na faixa de 0,80 - 1,4%. A sardinha, geralmente, excede 1,4% e pode chegar a 2,8, aumento devido aos espinhos intramusculares, típicos dos cupleídeos.

Os bagres e cações apresentaram os menores valores, geralmente abaixo de 1%. Os primeiros, por serem peixes eurialinos (suportam teores de sal variáveis), podem ter sido capturados em regiões de salinidade baixa (estuárias). Os cações utilizam compostos orgânicos (óxido de trimetilamina e uréia) para o ajuste osmótico dos fluidos musculares, provavelmente por esta causa, precisam de quantidades menores de íons inorgânicos.

Os teores de cinzas dos peixes de água doce apresentam flutuações maiores que vão desde 0,98 a 3,29 %. Os valores altos provavelmente se devem à inclusão de ossos no preparo do filé.

A tilápia é um dos peixes de água doce mais pesquisados, revelando ter 1,2% de cinzas, segundo Freitas et al. (1979), e 1,1% segundo Netto (1984).

5.7 - Referências bibliográficas

- ANDRADE, M.O. Preparo, Seleção, Armazenamento e Estudos Químicos e Sensoriais de conservas de Mandi (*Pimelodus clarias*, Bloch). Tese de mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil (1975).
- ARAÚJO, A.G. Qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) enlatada

Alex Augusto Gonçalves
Pesquisador

- elaborada a partir de matéria prima congelada. Tese de mestrado Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, (Brasil 1985).
- BEIRÃO, L.H. Parâmetros de avaliação da maturação de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) no processo de anchovagem. Tese de mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Brasil (1979).
- BERAQUET, N.J., LINDO, M.K.M. e VIEIRA, C.M. Métodos químicos na avaliação de qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca e processada termicamente, Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) **15**: 141-170 (1985).
- BYKOWSKY, P.J., ZALEWSKY, J. e GORA, A. Shell life of frozen squid (*Illex patagonicus*). In: Chilling and freezing of new Fish Products. Ed. International Institute of refrigeration, Paris, France, pp. 317-322 (1990).
- CONTRERAS, G.E., GUZMAN, L.H. e KARL, N. Variación estacional de la reactividad de los lípidios de anchoveta (*Engraulis ringens*). Publicación del Instituto de fomento pesquero (IFOP), Santiago, Chile (1976).
- FUJIMURA, C.Q., AMAYA, F.J. e CONTRERAS, G.E. Preservação da Corvina por salga e secagem rápida e seu balanceamento com arroz. Boletim da SBCTA **16** (2), 111 - 126, (1982).
- HENSE, H. Avaliação dos parâmetros termofísicos e cinética do congelamento de cação. Tese de mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade de Campinas, Brasil (1990).
- ITO, Y., SANCHEZ, L., DA SILVA, D.R. Seasonal Variation of the chemical composition of sardine. Contribuições Instituto Oceanográfico (Série Tecnológica) da Universidade de São Paulo, Brasil, 6: 1-3 (1969).
- ITO, Y., WATANABE, K. Variations in chemical Composition in the Fillet of Corvina and pescada fogueite. Contrib. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, Brasil, 5: 1-6 (1968).
- JACQUOT, R. Organic Constituents of fish and other aquatic foods. In: Fish and food Vol. I Ed. G. Borgstrom, Academic Press, New York, USA pp. 146-192 (1961).
- KLEBER, H. F. Estudo comparativo dos parâmetros termodinâmicos e da cinética de congelamento de filés de pescada (*Cynoscion petranus*) crua e cozida. Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de

- Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Brasil (1986).
- LESSI, E. Aspectos químico-bromatológicos do corimbatá (*Prochilodus scrofa*). Tese de Doutorado, Faculdade de Farmácia e Odontologia, UNESP, Araraquara, SP, Brasil (1965).
- LOVE, R.M. Toward a valid sampling technique A. chemistry and Anatomy. In: The chemical biology of fishes. Ed. Academic Press, London, England, pp. 1-59 (1970).
- MAIA, E.L., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. e AMAYA-FARFAN, J. Proximate fatty acid and amino acid composition of the brazilian freshwater fish *Prochilodus scrofa*. Food Chem. **12**: 275-286 (1983).
- MIRANDA, S.L.R., SCHNEIDER, I.S. e CONTRERAS, G.E. Utilização de sardinha (*Sardinella aurita*) como substituto parcial de carne bovina na elaboração de embutidos. Ciência e Cultura **27** (7): 487 (1975).
- MORAES, C. MONTOVANI, D.M.B., CARVALHO, C.R.L. Rendimento cárneo e composição química da ictiofauna acompanhante na captura de Camarão-Sete-Barbas (*Xyphopeneus kroyeri*, Heller, 1982). Coletânea do ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos) Vol. **22** nº 1: 62-72 (1992).
- MORAES, M.N., SANCHEZ, L., CEREDA, M.P., FERREIRA, A.E. e MARTINS, J.A. Variação da composição química do Sagüiru (*Curimatus elegans*, Steindachner) em relação a alguns parâmetros biológicos. Boletim do Instituto da Pesca, SP, Brasil, **11**: 81-91 (1984).
- NETTO, F.M. Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1984).
- NUNES, M.L., BESERRA, F.J. VIEIRA, G.H.F., ROCHA, C.A.S. e MENEZES, J.W.N. Composição química de alguns peixes marinhos do Nordeste brasileiro. Arq. Ciências do Mar **16** (1): 23-26 (1976).
- OELLERS, S.F. Aplicação de tecnologia a espécies de pescados de água doce visando atender à agroindústria rural. Tese de Mestrado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, Brasil (1987).
- REGULY, J.C., MUNDSTOK, A. e KOETZ, P.R. Avaliação qualitativa do pescado marinho de expressão industrial no sul do Brasil. Ed. Faculdade Federal de Engenharia Industrial da Universidade do Rio Grande, RS, Brasil (1970).

- RIOS, E. DE C. Variação estacional da composição química do pescado. Anais da Sociedade Brasileira de Química, Porto Alegre, Brasil, **16** (4): 97-112 (1957).
- ROCHA, Y.R., AGUIAR, J.P.L., MACHADO, H.A. e SHRIMPSON, R. Aspectos nutritivos de alguns peixes da Amazônia. Ata Amazônica **12**: 787-794 (1982).
- SANCHEZ, L. Estudos sobre a conservação de peixes de água doce por fermentação com quatro espécies brasileiras. Tese de mestrado, Faculdade de Engenharia de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil (1977).
- SANCHEZ, L. CEREDA, M.P. FERREIRA, A.E. e MORAES. A composição química do Peixe-Cadela (*Galeocharax kneri*, Steindachner 1879) em relação aos meses do ano. Boletim do Instituto da Pesca, SP, Brasil, **15**: 1-12 (1988).
- STANSBY, M.E. Proximate composition of fish. In: Fish in nutrition. Ed. E. Heen and R. Kreuzer, Fishing News Books Ltd., London, England, pp. 1-59 (1962).
- TORRANO, A.D.M. e MENEZES, H. DE C. Caracterização do cação como matéria-prima para processamento. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) **8**: 199-215 (1977).
- VIEIRA, G.H.F. e NUNES DA SILVA, M.C. Salga e secagem do Cangulo (*Balistes vetula*, Linnaeus, *Piscis Balistidae*) no Estado do Ceará. Boletim de Ciências do Mar, LABOMAR, Univ. Federal do Ceará, Brasil **43**: 1-8 (1986).

6. Elementos minerais

A determinação da composição centesimal, apresentada no capítulo 5, só tem valor como informação global. O conhecimento dos compostos individuais da proteína bruta, do extrato lipídico e das cinzas é indispensável para a avaliação da qualidade nutricional e performance tecnológica das espécies.

Vários elementos inorgânicos, metálicos e não-metálicos formam parte do resíduo de calcinação. As concentrações destes elementos apresentam uma grande variação, tornando inadequada a tipificação das espécies na base da composição mineral. Há, porém, algumas relações típicas entre os elementos que permitem caracterizar macroagrupamentos de espécies, principalmente para finalidades dietárias.

A qualificação do essencial, atribuída a alguns aminoácidos e ácidos graxos, é aplicável com maior ênfase para alguns minerais, visto que as espécies aquáticas dependem totalmente de fontes exógenas para sua satisfação (Gordon, 1986).

Para objetivos dietários rotineiros, as determinações abrangem macroelementos, como sódio, potássio, cálcio, fósforo, cloro e magnésio, e alguns microelementos, como cobre, ferro, zinco e iodo. Apenas ocasionalmente são determinados flúor, molibdênio, cobalto, bário, níquel, manganês e outros. Nas situações que envolvem riscos à saúde pública, são determinados mercúrio, chumbo, cádmio, arsênio e selênio.

Na tabela 12, são apresentados, à maneira de ilustração, dados da composição de minerais de espécies marinhas brasileiras, acompanhados de dados da literatura com fins comparativos.

Os dados da tabela 12 mostram que o K é o elemento mais abundante dos músculos dos peixes marinhos. Comparativamente, também é mais abundante que nos músculos de alguns animais terrestres (Figuroa et al., 1990).

Os peixes brasileiros pesquisados apresentam uma média de 358,5 mg de K%, praticamente igual à dos peixes do Pacífico Sul (Norte do Chile) e do Noroeste norte-americano, 356,6 e 351 mg %,

TABELA 12 - Macroelementos minerais, ferro e zinco de algumas espécies aquáticas brasileiras e de outros países. (expresso em mg/100g de carne)

ELEMENTOS	ORIGEM DAS ESPÉCIES						
	BRASIL ^a		CHILE ^b		PEIXES em água doce (Brasil) ^c		
	Média	Limites	Média	Limites	GERAL ^d	Média	
Na	119,3	70,3 - 224	167,1	104 - 246	52 ± 15	63	29,6
K	358,5	226 - 543	356,6	294 - 429	351 ± 41	600	121,5
Ca	30,8	12,9 - 49,5	18,8	1,03 - 40,7	9 ± 3	15	29,5
Mg	—	—	30,0	27,8 - 33,45	25 ± 4	25	23,4
P	—	—	174,4	109 - 218	—	200	—
Fe	1,6	0,52 - 3,10	—	—	0,31 ± 0,8	1,5	0,4
Zn	0,76	0,35 - 1,68	—	—	0,28 ± 0,04	0,5	0,9

(a) 5 espécies do litoral Centro-Sul do Brasil: peixe-porco, olho-de-cão, xixarro, tortinha e betara (Moraes et al., 1992);

(b) 6 espécies do litoral Norte do Chile: cabrilla, linguado, papaniagua, pejeperro, San Pedro e tollo (Figueroa et al., 1990);

(c) espécies de carne branca do litoral Oeste norte-americano (Gordon, Martin, 1982);

(d) valores médios de espécies marinhas (Stansby, 1962);

(e) pacu (*Colossoma mitrei*), média de amostragens sazonais (Gonçalves, 1989).

respectivamente. A única espécie de água doce da tabela 12, o pacu, tem 121,5 mg % de K e 29,6 mg % de Na, valores nitidamente menores que os das espécies marinhas. Por falta de dados, não é possível concluir se este comportamento é comum a outras espécies de água doce tropicais.

O teor de Na dos peixes brasileiros e chilenos (Hemisfério Sul) é muito maior que a média geral (Stansby, 1965) e que a média de peixes de carne clara do Pacífico Noroeste (Gordon e Martin, 1982).

Coincidentemente, os peixes da Nova Zelândia (Hughes et al., 1980) apresentam, também, teores altos de Na, na faixa dos dados sul-americanos, o que admite a hipótese de que os peixes do Hemisfério Sul tenham teores de Na mais elevados.

É interessante salientar que o K se encontra em grande parte nos fluidos, enquanto que o Na se encontra ligado às proteínas. Estudos de Cameron (1989) mostraram que, no caranguejo azul (*Callinectes sapidus*), o sangue tem 21,1 mg % de K contra 466,9 mg % no músculo. Com o Na, ocorre o inverso: o sangue tem 897 mg % e o músculo, 63,48 mg %.

Os teores de Ca das espécies brasileiras são maiores que os valores médios usados para comparação. Entretanto, os dados brasileiros são comparáveis com o teor de Ca de espécies da Nova Zelândia, 24,0 ± 4,2 mg % (Hughes et al., 1980), podendo indicar um fenômeno geográfico. Outra explicação poderia ser a inclusão na amostragem de peixes pequenos que, geralmente, têm teor maior de ossos intramusculares. Se assim for, os teores de Mg e P deveriam aumentar paralelamente com o Ca, fato que se torna evidente no teor elevado dos três elementos, obtidos na sardinha brasileira por Itô et al. (1969) que determinaram 303 mg % de P, 49,9 ± 2,7 mg % de Ca e, 76,1 ± 7,0 mg % de Mg, valores médios de vários anos.

É oportuno salientar que os dados de Gordon e Martin (1982) para Ca e Mg (9 ± 3 e 25 ± 4 mg %, respectivamente) correspondem a espécies de carne clara, adequadas para filetagem, que geralmente têm poucos espinhos intramusculares; portanto, estas quantidades representam o Ca e Mg de origem muscular efetivo.

A grande variação nos teores dos minerais não recomenda fazer comparações entre classes, porém quanto ao Ca, os elasmobrânquios têm teores consistentemente menores que os teleósteos. Para o caçonete tollo (*Mustelus mento*) da costa chilena, foi determinado 1,03 mg % (Figueroa et al., 1990) e para o grayfish (*Squalus acanthias*) 4,1 mg %

(Jhaveri e Constantinides, 1981). Especula-se que, nesta classe, o baixo teor de Ca, coincidente com teores mínimos ou ausência de vitamina D, estejam associados ao fenômeno da falta de osseificação dos peixes cartilagosos.

O teor de Fe das espécies brasileiras (1,6 mg %) coincide plenamente com a média geral (1,5 mg %); porém, na espécie de água doce, o teor é muito menor e aproxima-se dos dados para peixes marinhos de carne clara.

Os peixes pequenos são analisados sem separar o músculo vermelho, o que causa um aumento substancial de Fe. A sardinha brasileira teve um valor de $2,6 \pm 1,5$ mg % de Fe no ano de 1963 (Itô et al., 1969).

Causeret (1962) tem mencionado que, em geral, os peixes de carne escura têm um teor de Fe maior que os peixes de carne clara.

O teor de Zn das espécies de água marinha e de água doce (~ 0,8 mg %) é próximo da média geral de Stansby (1965) e de outras publicações nacionais (Rocha et al., 1982).

O teor de minerais dos moluscos e crustáceos tem sido pouco pesquisado no Brasil. Publicações estrangeiras (Figueroa et al., 1990) revelam que os moluscos apresentam mais Na e menos K que os peixes; nestes, a relação Na/K tem valores menores que 1, enquanto que, nos moluscos, a relação pode atingir 2 ou mais. Os teores de Ca e Mg são, também, maiores.

Um apanhado das informações de Thurston (1961), Gordon e Roberts (1977), Hughes et al. (1980), Anthony et al. (1983) e Figueroa et al. (1990) permite estabelecer relações de grandeza entre as categorias de animais aquáticos, que são mostradas na tabela 13.

TABELA 13 - Relações de grandeza quanto à concentração de alguns minerais importantes da parte comestível de peixes, crustáceos e moluscos.

ELEMENTO	RELAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO
Na	Moluscos > Crustáceos > Peixes
K	Peixes > Moluscos \cong Crustáceos
Ca	Crustáceos > Moluscos > Peixes
Mg	Moluscos \cong Crustáceos > Peixes
P	Peixes \cong Crustáceos > Moluscos
Fe	Moluscos > Peixes > Crustáceos
Zn	Moluscos > Peixes > Crustáceos

6.1 - Referências bibliográficas

- ANTHONY, J.E., HADGIS, R.S. HERZFELD, G.A., TAPER, L.J., RTICHEY, S.J. Yields, Proximate composition and mineral content of Finfish and Shellfish. *J. Food Sci.* **48** (1): 313-316 (1983).
- CAMERON, J.N. Intracellular buffering by dipeptides at high and low temperature in blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Exp. Biol.* **143**: 543-548 (1989).
- CAUSERET, J. Fish as source of mineral nutrition. In: Fish as food. Ed. G.F. Borgstrom, Vol. II, Academic Press, New York, pp. 205-234 (1962).
- FIGUEROA, T.L. LAU, G.M., SANHUEZA, Q.L. YONG, G.B. e ZEPEDA, V.J. Composición mineral de macronutrientes de alimentos típicos de la región de Tarapacá - Chile. *Alimentos* **15** (5): 15-21 (1990).
- GONÇALVES, M.S.M. Composição em nutrientes e caracterização das proteínas do filé do Pacu (*Colossoma mitrei*, Berg). Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1989).
- GORDON, D.T Minerals in seafood: Availability and interactions. In: Seafood quality determination. Ed. D.E. Kramer and J. Liston. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 517-542 (1987).

- GORDON, D.T., e MARTIN, R.E. Vitamins and minerals in seafood of the pacific nothwest. In: Chemistry and biochemistry of marine food products. Ed. R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. The avi Publishing Company Inc. Westport, Conn., pp.429 - 445 (1982).
- GORDON, D.T. e ROBERTS, G.L. Mineral and proximate composition of pacific coast fish. J.Agr. Food Chem. **25 (6)**: 1262-1268 (1977).
- HUGHES, J.T., CZOCHANSKA, Z., PICKSTON, L. e HOVE, E.L. The nutritional composition of some New Zealand marine fish and shellfish. New Zealand J. Sci. **23 (1)**: 43-51 (1980).
- ITO, Y., SANCHEZ, L. e DA SILVA, D.R. Seasonal variation on the chemical composition of sardine (*Sardinella aurita*, Cuvier e Valenc, 1874). Contribuições Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, Série Tecnológica **6**: 1-8 (1969).
- JHAVIERI, S.N. e CONSTANTINIDES, S.M. Chemical composition and shelf-life study of grayfish (*Squalus acanthias*). J. Food Sci. **47**: 188-192 (1981).
- MORAES, C., MONTOVANI, D.M.B. e CARVALHO, C.R.L. Rendimento cárneo e composição química da ictiofauna acompanhante na captura do camarão-sete-barbas (*Xyphopenaeus kroyeri*, Heller, 1982). Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) **Nº 1**: 67-72 (1992).
- ROCHA, Y.R., AGUIAR, J.P.L., MACHADO, H.P. e SHRIMPSON, R. Aspectos nutritivos de alguns peixes da Amazônia. Acta Amazônica **12**:787-94 (1982).
- STANSBY, M.E. Proximate composition of fish. In: Fish in nutrition. Ed. E. Heen and R. Kreuzer, Fishing News Books Ltd., London, pp. 55-60 (1962).
- THURSTON, C.E. Proximate composition and sodium and potassium contents of four species of commercial bottom fish. J. Food Sci. **26 (5)**: 415-498 (1961).

7. Compostos nitrogenados não protéicos (NNP)

A necessidade de esquematizar e simplificar o estudo da composição muscular (carne) tem levado a dividir o **nitrogênio total (NT)** em 2 grandes grupos: compostos **nitrogenados protéicos (NP)** e **não-protéicos (NNP)**. ①

Trata-se de uma divisão com fins analíticos, de modo que o parentesco bioquímico ou químico entre os membros do grupo pode ser grande, como no NP, ou pequeno, como nos componentes do NNP. Este extrato reúne compostos sem relação funcional ou estrutural, apenas compartilhando a grande solubilidade em água e em solventes hidrofílicos (álcoois, cetonas, etc).

Antigamente, era usado o termo **extrativos** para denominar tudo aquilo que podia ser extraído do músculo com água. Embora os compostos extraídos correspondessem, em sua maioria, às substâncias nitrogenadas não-protéicas, também havia proteínas solúveis, onde os termos **NNP** e **extrativos** não eram equivalentes.

Visto que as diferenças entre tamanhos moleculares dos compostos do NNP e do NP são suficientemente grandes, a separação pode ser realizada por ultrafiltração ou em peneiras moleculares. Porém, a extração com ácido tricloroacético (5-20%) continua a ser o procedimento-padrão para a determinação do NNP.

O estudo dos componentes do NNP tem recebido um grande impulso nas últimas 4 décadas, devido ao desenvolvimento da eletroforese e da cromatografia em todas as suas modalidades, particularmente na técnica líquida de alta resolução. Os avanços têm permitido identificar os compostos que perfazem entre 90 e 100% do NNP de peixes, baleia e invertebrados (Konosu e Yamaguchi, 1982), contribuindo para a compreensão das funções bioquímicas e fisiológicas destes compostos no músculo vivo e nas alterações "post-mortem". Por outra parte, a identificação dos solutos e o envolvimento deles na geração do aroma e sabor têm levado a aplicações práticas de grande ②

impacto na tecnologia de pescados, como, por exemplo, o desenvolvimento de fórmulas artificiais que imitam, com perfeição, o sabor de lagosta, caranguejo e outros pescados.

A participação dos solutos nitrogenados de baixo peso molecular (NNP) em aspectos científicos e técnicos tem demonstrado ser ampla, como é mostrado no esquema a seguir:

3

**NITROGÊNIO
NÃO-PROTÉICO
(NNP)**

Aplicação em estudos taxonômicos:

alguns solutos são específicos, ou existem em quantidades relativamente constantes em algumas espécies, sendo de utilidade para esclarecer dúvidas de classificação.

Emprego como critérios de frescor:

os solutos são os primeiros compostos a serem modificados ou utilizados por enzimas endógenas e microorganismos. O aumento de alguns metabólitos típicos permite acompanhar a evolução do frescor e interpretar os processos deteriorativos "post-mortem".

Influência nas propriedades sensoriais:

os solutos nitrogenados têm participação relevante na formação do aroma e sabor dos produtos cozidos. Algumas espécies contêm quantidades pequenas dos precursores; portanto, devem ser aproveitadas em produtos específicos.

Agentes de osmorregulação:

os solutos nitrogenados de baixo peso molecular formam parte do conjunto de moléculas orgânicas e inorgânicas que permitem aos peixes, crustáceos e moluscos se adaptarem a condições hipo e hipertônicas na migração para desova e crescimento.

7.1 - Teor de nitrogênio não-protéico (NNP), Protéico (NP) e total (NT) em alguns peixes e invertebrados brasileiros.

A distribuição do NT entre NP e NNP de várias espécies brasileiras aparece nas tabelas 14A, 14B e 14C correspondentes a peixes marinhos, de água doce e invertebrados, respectivamente.

No grupo I, estão as espécies com menos de 300 mg de NNP %, no II, entre 300 e 500 mg %, no III, entre 500 e 1000 mg % e, no IV, com mais de 1000 mg %.

A diferença NT - NNP corresponde ao NP que, multiplicado por 6,25, fica expressado como proteínas, cujos valores não seguem, necessariamente, a ordenação crescente. As proteínas serão comentadas no capítulo 8.

A observação dos dados da tabela 14 permite concluir que o teor de NNP varia notoriamente entre os 6 grupos pesquisados. Certamente, as diferenças representam fenômenos de adaptação para sobreviver no "habitat" específico de cada espécie.

No grupo I, a maioria das espécies é demersal típica, tem carne clara e quantidades reduzidas de músculo vermelho. A maioria, embora não todas, são magras. Certamente, estão faltando espécies muito importantes como robalo, namorado, garoupa, cherne, congro, miragaia e outras não disponíveis na ocasião das análises. Levando em consideração informações locais esparsas e dados da literatura internacional, estas espécies ficariam classificadas no grupo I. Neste grupo, o NNP representa em torno de 9,3% do NT (-264 mg %).

O grupo II é constituído por espécies misturadas. Em maior número, aparecem as de hábitos pelágicos ou pseudopelágicos e, em menor número, as demersais (pargo, cioba e vermelho). As pelágicas têm carne escura (não confundir com músculo vermelho) e, geralmente, têm sabor mais intenso e diferenciado que as de carne clara. Estas características sensoriais estão relacionadas com o teor maior e a composição do NNP, particularmente do tipo de aminoácido predominante, assunto que é abordado em itens posteriores deste capítulo.

TABELA 14 - Distribuição do nitrogênio em músculos de peixes marinhos brasileiros*.

14A - Peixes marinhos*

ESPECIES E GRUPO	N - Total (NT) (mg %)	N-Não-Proteico (NNP) (mg %)	NNP/NT x 100	PROTEÍNAS ^c (g/100 g)
I ^b				
Pescadinha	2875	238	8,3	16,5
Bagre-amarelo	2672	239	8,9	15,2
Bagre-marinho	2567	251	9,8	14,5
Pescada-foguete	2642	255	9,7	14,9
Linguado	2926	279	9,6	16,5
Corvina	2848	283	9,9	16,6
Pescada-bicuda	3453	300	8,7	19,7
II ^b				
Manjuba	2880	317	11,0	16,0
Vermelho	3230	359	11,0	17,9
Carapau	3312	364	13,0	18,4
Pargo	3125	405	12,5	17,0
Cioba	3291	412	11,1	18,0
Enchova	3267	413	12,6	18,0
Tainha	3624	442	12,2	19,9
Sardinha	3296	471	14,3	17,7
Xixarro	3507	471	13,4	19,0
Cavalinha	3308	474	14,3	17,7
Sororoca	3254	490	15,1	17,3
III ^b				
Cavala-verdadeira	3312	510	17,5	17,5
Cavala-wahoo	3530	563	18,5	18,5
Serra	3784	596	19,9	19,9
Bonito-pintado	3792	712	19,3	19,3
Albacora	4126	744	21,1	21,1
Bonito-de-barriga-listrada	3968	783	19,9	19,9
IV ^b				
Rain	3423	1203	35,1	17,9
Cação-azul	3295	1208	36,7	13,0
Cação-machote	3904	1432	36,7	15,5

(a) todos os dados foram obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, envolvendo, no mínimo, 3 amostragens em épocas diferentes entre 1988 e 1990;

(b) os nomes científicos aparecem nas tabelas 11A, 11B e 11C;

(c) proteína real: $(NT - NNP) \times 6,25$.

TABELA 14B - Distribuição do nitrogênio em músculos de peixes de água doce brasileiros*.

ESPECIES E GRUPO	N - Total (NT) (mg %)	N-Não-Proteico (NNP) - (mg %)	NNP/NT x 100	PROTEÍNAS ^c (g/100 g)
V ^b				
Mendi	2552	210	8,22	14,6
Corimbatá	2880	253	8,80	16,4
Tilápia	3256	343	10,50	18,2
Pacu	3052	327	10,70	17,0
Carpa	2949	330	11,20	16,4
Tambaqui	2923	332	11,30	16,2

TABELA 14C - Distribuição do nitrogênio em moluscos e crustáceos brasileiros*.

ESPECIES E GRUPO	N - Total (NT) (mg %)	N-Não-Proteico (NNP) - (mg %)	NNP/NT x 100	PROTEÍNAS ^c (g/100 g)
VI ^b				
Camarão-sete-barbas	2762	690	25,0	13,0
Camarão-legítimo	2903	840	28,9	12,9
Camarão-gigante-da-malásia	2694	515	19,1	13,6
Legostim	2892	869	30,0	12,7
Lula	2810	702	25,0	13,2
Polvo	2310	278	12,0	12,7

(a) todos os dados foram obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, envolvendo, no mínimo, 3 amostragens em épocas diferentes entre 1988 e 1990;

(b) os nomes científicos aparecem nas tabelas 11A, 11B e 11C;

(c) proteína real: $(NT - NNP) \times 6,25$.

O grupo inclui diversas espécies gordas e semigordas, com exceção das 3 espécies demersais (lutjanídeas) que são magras. O NNP deste grupo representa, em média, 12,8% do NT, e os valores oscilam entre 317 e 490 mg %.

O grupo III está formado só por espécies de família *Escombrídea*, da qual os atuns e bonitos têm sido largamente estudados, tanto em relação ao NNP global quanto às substâncias individuais que o formam (Konosu e Yamaguchi, 1982, Suyama e Yoshizawa, 1973).

A combinação específica de solutos musculares das espécies escombrídeas fazem delas as preferidas, particularmente quando enlatadas. Todos os membros da família apresentam teores altos de NNP; os atuns e bonitos atingem o topo, com teores acima de 700 mg%. O NNP deste grupo representa em torno de 17,3% do NT.

As porcentagens de NNP dos grupos I, II e III (9,3, 12,8, e 17,3) encaixam-se dentro dos limites de 9 a 18% recopilados por Simidu (1961) para peixes ósseos de diversas procedências.

O grupo IV é formado por peixes elasmobrânquios (cartilagosos), cuja necessidade de solutos orgânicos para regulação osmótica é preenchida, em grande parte, por uréia e óxido de trimetilamina (OTMA) [Simidu, 1961, Suyama e Suzuki, 1975, Sakaguchi e Simidu, 1964]. Estes dois compostos não só se encontram em quantidades elevadas, mas também, devido ao seu baixo peso molecular, contêm porcentagens de N maiores que as dos aminoácidos, resultando em teores de NNP altíssimos, da ordem de 36% do NT (~1280 mg%). Estes valores são muito semelhantes aos recopilados por Konosu e Yamaguchi (1982) e caem nos limites relatados por Tarr (1958).

Há, porém, uma grande diferença de qualidade entre o NNP dos escombrídeos e o dos elasmobrânquios. Nestes últimos, os solutos uréia e OTMA depreciam o aroma e o sabor e respondem pela menor aceitação da carne de cação e arraias.

Quanto ao grupo V, formado por peixes de água doce, verifica-se que o NNP constitui em torno de 9,8% do NT, um valor muito próximo de 10%, relatado por Moorgany et al. (1960) para 4 espécies de água doce da Índia. Este valor parece ser um patamar comum a várias espécies de água doce, suficiente para manter isotonia com o meio circundante. Deve ser lembrado, porém, que os solutos nitrogenados atuam em combinação com íons inorgânicos e com flutuações da água muscular para ajuste da osmolaridade (Lagler et al., 1977).

O grupo VI é formado por alguns moluscos e crustáceos capturados no litoral Centro-Sul. Faz exceção o camarão-gigante-damalásia, uma espécie de água doce aclimatada no Nordeste e na região do Rio de Janeiro, com excelentes resultados.

De um modo geral, os moluscos e crustáceos acumulam, principalmente, aminoácidos, resultando em teores de NNP ao redor de 30% do NT (~800 mg%), valor mais alto que o dos escombrídeos e apenas ligeiramente inferior ao dos elasmobrânquios. O acúmulo de

certos aminoácidos típicos contribui para o sabor delicado e único dos crustáceos, que diminui drasticamente com a lixiviação do NNP na armazenagem com gelo. Esta prática industrial afeta mais as espécies de tamanho pequeno (camarão-sete-barbas), o que explica os dados discrepantes encontrados na literatura quanto à variação do NNP ou aminoácidos livres durante a armazenagem com gelo.

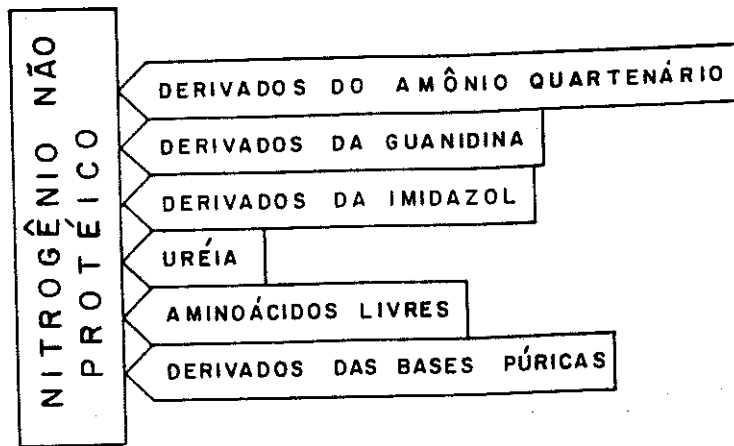
No camarão *Macrobrachium rosebergii* absolutamente fresco, o NNP somente atinge 20% do NT (~500 mg%), mostrando mais uma vez o efeito da adaptação osmótica. Esta espécie tem sido qualificada como menos saborosa que os camarões marinhos, o que diminui seu valor comercial. Pesquisas para intensificar o sabor e melhorar a textura estão sendo realizadas atualmente.

Hujita et al. (1972) relataram teores de NNP de 820 e 846 mg% para lagosta (*Panilurus japonicus*) e camarão (*Penaeus japonicus*), respectivamente. Em duas espécies de lula, foram determinados teores de 728 e 884% (Endo et al., 1962). Recentemente, um valor de $860 \pm 0,06$ mg% de N não-protéico foi relatado por Bykowsky et al. (1990) para a lula *Illex patagonicus*. Os teores de NNP dos crustáceos brasileiros e da lula encaixam-se perfeitamente nas concentrações acima citadas. Quanto ao polvo, o valor baixo (278 mg%) foi obtido com uma amostragem só e merece confirmação. Entretanto, tem sido relatado que os polvos tem teores menores de NNP que os caranguejos e que as lagostas (Rubertson e Cowey, 1992).

O NNP dos músculos vermelhos dos peixes é menor que o dos músculos claros (ordinários). A explicação para este fenômeno não está esclarecida, mas certamente está relacionada com funções fisiológicas, possivelmente com a menor capacidade-tampão do músculo vermelho.

7.2 - Componentes individuais do nitrogênio não-protéico

Têm sido sugeridos vários esquemas para organizar racionalmente a enorme variedade de compostos do NNP. Uma das mais abrangentes foi proposta por Simidu (1961), que divide o NNP em 6 grupos aparentados quimicamente. A figura 28 mantém este critério, com pequenas alterações para facilitar a exposição.



Fonte: Conceitos de Simidú (1961).

FIGURA 28 - Divisão das substâncias que formam a fração nitrogenada não-protéica (NNP) dos pescados em 6 grupos quimicamente aparentados.

7.2.1 - Derivados do amônio quartenário

O trimetilamônio $[(CH_3)_3N^+]$ forma parte de várias substâncias de grande importância para a adaptação de plantas e animais ao meio marinho. As substâncias contendo amônio quartenário que têm sido encontradas e identificadas em músculos de peixes, crustáceos e moluscos, aparecem na figura 29.

ÓXIDO DE TRIMETILAMINA: É uma substância típica de animais e plantas marinhas que, desde há várias décadas, tem atraído a atenção dos pesquisadores a fim de esclarecer sua origem e funções fisiológicas. Recentemente, o interesse pelo OTMA tem aumentado, face ao desenvolvimento de métodos alternativos para a avaliação da população microbiana. A redução do OTMA para TMA livre em meios microaerofílicos causa mudança da condutância, que podem ser

extrapoladas para estimar o número de microorganismos. O método é automatizado e demora muito menos que o método convencional (Easter et al., 1982, Gibson et al., 1984).

ÓXIDO DE TRIMETILAMINA	$(CH_3)_3\overset{+}{N}-O^-$	TÍPICO DE ANIMAIS E PLANTAS MARINHAS, AUSENTE NOS DE ÁGUA DOCE.
COLINA	$(CH_3)_3\overset{+}{N}-CH_2-CH_2-OH$	EXISTE EM ANIMAIS E PLANTAS DE ÁGUA DOCE E MARINHAS.
BETAÍNAS	$(CH_3)_3\overset{+}{N}-CH_2-COO^-$ (glicino betaína)	EXISTEM VÁRIAS BETAÍNAS NAS PLANTAS HALÓFITAS E INVERTEBRADOS MARINHOS.
CARNITINA	$(CH_3)_3\overset{+}{N}-CHOH-CH_2-COO^-$	PRÓPRIA DE MAMÍFEROS E PEIXES, CARREGA ÁCIDOS GRAXOS NO PLASMA.
ATRININA	$(CH_3)_3\overset{+}{N}-CH_2-\overset{COO^-}{\underset{ }{CH}}-CH_2-OH$	EXISTE EM CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS.

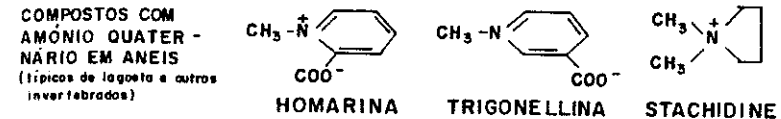


FIGURA 29 - Compostos de amônio quartenário de peixes e invertebrados marinhos.

As teorias para explicar a origem do OTMA podem ser sintetizadas da maneira seguinte:

Origem exógena: Está comprovado que as algas marrons, verdes e vermelhas sintetizam OTMA em quantidades variadas, ocasionalmente excedendo 1% da matéria seca (Fujiwara, Arasaki e Mino, 1972). Os animais do zooplâncton e peixes herbívoros consumiriam e armazenariam o OTMA em quantidades fisiologicamente necessárias mediante reabsorção nos túbulos renais, excretando o sobranço (Cohen et al., 1958).

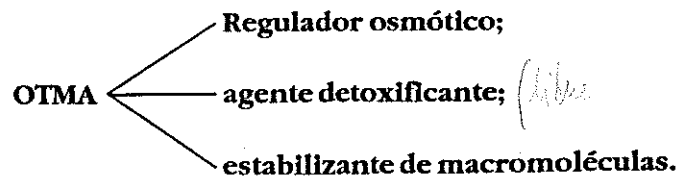
A dinâmica da cadeia alimentar transferiria este composto de elo em elo, reservando cada elo a quantidade adequada para a espécie. Esta adequação explicaria as diferenças no teor de OTMA entre as várias espécies.

Origem endógena: Vários experimentos têm demonstrado que, quando os peixes marinhos são transferidos para meios de salinidade baixa, excretam OTMA e, se retornados para a água salgada, voltam a apresentar OTMA no músculo, mesmo que sejam matados em jejum ou alimentados com dietas livres de OTMA. Certamente, existem mecanismos celulares que dispensam as fontes externas (Forster e Goldstein, 1976).

Origem mista exógena/endógena: Os peixes possuiriam mecanismos mistos a fim de manter um patamar mínimo, característico das espécies, o qual atuaria, eliminando o excedente de OTMA dietário ou sintetizando-o nos períodos de carência (Ogilvie e Warren, 1957).

Estudos de alimentação da enguia (*Anguilla anguilla*), realizados por Daikoku e Sakaguchi (1992) demonstraram que quando a dieta era adicionada de TMA, após 4 semanas o músculo apresentava 2,7 a 22,9 mg/100 g de TMA e OTMA respectivamente. Enquanto que as enguias alimentadas com dieta sem adição só tinham 0,5 mg de TMA e 1,7 mg/100 g de OTMA. Isto é, a TMA em excesso era estocada como TMAO.

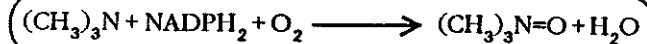
Funções do OTMA: 3 funções têm sido sugeridas para explicar por que os peixes marinhos consomem, armazenam e sintetizam este composto:



Regulador osmótico: Esta propriedade é amplamente aceita, particularmente naquelas espécies com teores elevados (elasmobrânquios), cujos níveis vão muito além do que seria normal para funções catalíticas. A excreção imediata do OTMA nos peixes marinhos, transferidos para meios de menor salinidade, demonstra o papel regulador dos solutos que permite ajustar a concentração via produtos celulares (OTMA, uréia, aminoácidos livres, íons inorgânicos) até torná-la isosmótica com o meio atual.

Agente detoxificante: Esta função foi postulada por Yamada (1967), que sugere que a síntese de OTMA seja um mecanismo para se liberar do excesso de trimetilamina (TMA), formada da degradação da colina, metionina e betaínas. O produto da oxidação da TMA (OTMA) é neutro, sendo, em alguns casos, preservado para contrabalançar a elevada pressão osmótica da água do mar ou eliminado, se a dieta contiver OTMA. Ainda segundo Yamada (1967), nos peixes de água doce, haveria também formação de TMA derivada das bases de amônio quartenário, porém a amina livre seria eliminada sem conversão para OTMA, visto que as espécies de água doce não precisam acumular solutos. Por esta razão, o OTMA não seria detectado nos peixes de água doce.

A oxidação de TMA é catalizada pela TMA monooxigenase (Strøm et al., 1979). Deste modo, a amina alcalina é convertida num produto inócuo, ligeiramente ácido.



Função estabilizante de proteínas: Este interessante papel do OTMA tem sido pesquisado por Yancey (1979). A uréia alcança uma concentração de 0,4 M em cações e raias, valor que é suficientemente alto para causar desarranjos na conformação das enzimas celulares. Este perigo poderia ser contornado por agentes osmóticos neutros como OTMA, betaínas e sarcosina que, não por acaso, acompanhariam a uréia nos elasmobrânquios. Seria uma adaptação evolutiva dos cações e raias para suportar altas concentrações de solutos, indispensáveis para a sobrevivência na água salgada, sem causar perturbações dos sistemas macromoleculares. O OTMA demonstrou diminuir a desnaturação térmica e preservar a atividade dos agrupamentos tiol de várias enzimas quando testada na presença de uréia sob condições desnaturantes.

A concentração de OTMA, em espécies brasileiras marinhas e de água doce, é detalhada nas tabelas 15A, 15B e 15C. Os dados da tabela são bastante próximos dos relatados por Harada (1975), que ordenou o OTMA por famílias biológicas, permitindo uma visão mais abrangente das funções deste composto.

Ainda que muito incompleta, a tabela nº 15 permite organizar as famílias brasileiras num esquema na base das concentrações crescentes do OTMA:

**TEOR
DE
OTMA**

AUSENTE: peixes de água doce típicos (pacu, tambaqui, carpa).

BAIXO (< 25 mg%): Escombrídeos (atum, bonito), bagrídeos e mugilídeos (bagres, tainha).

INTERMEDIÁRIOS (25 - 100 mg%): Cupleídeos (sardinha), engraulídeos (manjuba), escombrídeos menos típicos (cavala, sororoca), peixes de água doce de comportamento atípico (tilápia), crustáceos eurilianos (camarão-gigante-da-malásia).

ALTO (100 - 300 mg%): Pleuronectídeos (linguado), trichurídeos (carapau, xixarro); sciaenídeos (corvina, pescadas); a maior parte dos crustáceos peneídeos e os moluscos cefalópodos.

MUITO ALTO (>300 mg%): Gadídeos (merluza), elasmobrânquios (cações e raias).

Varição do teor de OTMA nas diferentes zonas do corpo:
Várias espécies brasileiras foram examinadas em zonas diferentes do

corpo e também na massa muscular clara (ordinária) e na vermelha, obtendo-se os resultados da tabela 16.

TABELA 15 - Teor de óxido de Trimetilamina (OTMA) em pescados brasileiros*.

TABELA 15A - Peixes marinhos

Espécies ^b	OTMA (mg %)	N - OTMA/NNP x 100
Albacora	8,5 - 11,2	0,21 - 0,28
Bagre-bandeira	0,0 - 4,7	0,0 - 0,35
Bagre-amarelo	0,0	0,0
Bonito-de-barriga-listrada	15,6	0,37
Bonito-pintado	18,0 - 23,3	0,45 - 0,61
Cação-machote	1048 - 1309	13,7 - 17,1
Carapau	168 - 186	8,6 - 9,6
Cavala-verdadeira	87,2 - 90,3	3,2 - 3,3
Cavalinha	30,0 - 45,3	1,2 - 1,8
Cavala-wahoo	19,5	0,65
Corvina	315 - 363	20,8 - 24,0
Linguado	194 - 215	13,0 - 14,6
Manjuba	97 - 118	5,7 - 7,0
Pargo	177 - 206	8,2 - 9,5
Pescada-goete	239 - 268	19,5 - 21,9
Pescada-bicuda	215 - 246	13,4 - 15,3
Sardinha-brasileira ^c	67,5 ± 30	—
Sardinha-brasileira	54,6 ± 10	2,2
Sardinha-brasileira ^d	37,5 - 58,9	—
Serra	33,0 - 46	1,0 - 1,4
Sororoca	78,4	3,0
Tainha	0 - 4,4	0,2
Xixarro	211 - 232	8,4 - 9,2

(a) dados obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, envolvendo valores máximos e mínimos de 3 ou mais amostragens, exceto nas espécies com um dado, que correspondem a uma amostragem durante o período de 1988 a 1990;

(b) os nomes científicos aparecem nas tabelas 11A, 11B e 11C;

(c) média e desvio padrão de 3 anos (Itô et al., 1969);

(d) Beraquet et al. (1985).

TABELA 15B - Teor de óxido de trimetilamina (OTMA) em alguns peixes de água doce brasileiros*.

Espécies ^b	OTMA (mg %)	N - OTMA/NNP x 100
Carpa	0,0	0,0
Corimbatá	0,0 - 2,6	0,0 - 0,15
Mandi	0,0	0,0
Pacu	0,0	0,0
Tambaqui	0,0	0,0
Tilápia	50 - 62	2,7 - 3,4

TABELA 15C - Teor de óxido de trimetilamina (OTMA) em alguns moluscos e crustáceos brasileiros*.

Espécies ^b	OTMA (mg %)	N - OTMA/NNP x 100
Camarão-sete-barbas	180 - 211,5	4,9 - 5,7
Camarão-legítimo	205 - 248	4,6 - 5,5
Camarão-gigante-da-malásia	29,2 - 36,8	1,1 - 1,3
Lagostim	192,7	4,1
Lula	223,9	6,0
Polvo	82,31	5,5

(a) dados obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, envolvendo valores máximos e mínimos de 3 ou mais amostragens, exceto nas espécies com um dado, que correspondem a uma amostragem durante o período de 1988 a 1990;

(b) os nomes científicos aparecem nas tabelas 11A, 11B e 11C;

(c) média e desvio padrão de 3 anos (Itô et al., 1969);

(d) Beraquet et al. (1985).

Os resultados da tabela 16 mostram que o músculo vermelho tem teores maiores de OTMA, particularmente nas espécies escombrídeas típicas. Esta ordem está invertida no cação-machote e aparentemente parece ser um fato constante nos elasmobrânquios, como tem sido notado em algumas publicações (Suyama, 1960).

TABELA 16 - Teor de OTMA (mg%) do músculo vermelho e do músculo ordinário como um todo, ou dividido por zonas*.

Espécies ^b	TIPO DE MÚSCULO		ZONAS DO MÚSCULO ORDINÁRIO			
	vermelho	ordinário	cabeça	dorsal	caudal	ventral
Albacora	89,6	10,2	11,6	6,4	5,9	19,3
Bonito-pintado	64,2	13,6	23,9	13,7	8,5	21,2
Bagre-bandeira	1,2	0,0	4,6	1,2	0,0	0,0
Tainha	6,8	6,2	0,0	4,4	14,6	1,7
Cação-machote	944	1158	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
Cavallinha	42,0	33,3	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.
Serra	43,0	33,0	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.

(a) dados obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP. Valor médio de 2 peixes;

(b) os nomes científicos aparecem na tabela 11A;

N.d. - não determinado.

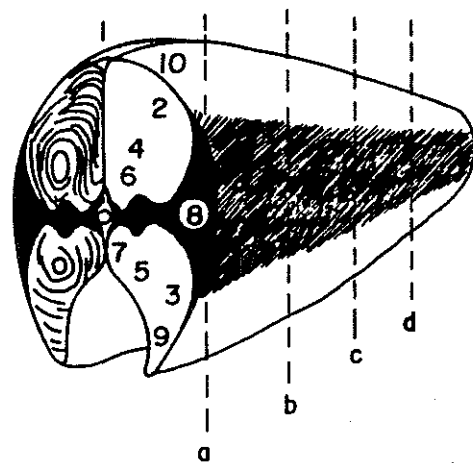
No músculo ordinário de atum e bonito, a concentração do OTMA diminui da cabeça para a cauda e é, consistentemente, mais alta no ventre.

Estudos aprimorados sobre distribuição do OTMA em atum têm sido realizados por Yamagata et al. (1969), com o intuito de explicar o fenômeno de esverdeamento de carne que, ocasionalmente, causa perda total da matéria-prima. Visto o interesse prático deste assunto, reproduzimos, na figura 30, os resultados de Yamagata et al. (1969), permitindo-nos uma readaptação do desenho para torná-lo mais explícito.

Há mais OTMA nas zonas superficiais que nas interiores, e na zona próxima da cabeça, seja no lombo ou no ventre, é mais concentrado do que na cauda. Teores incomumente elevados de OTMA causam esverdeamento, porém há ainda outros fatores catalíticos que contribuam para a referida ocorrência.

Variação sazonal do OTMA: A pesquisa de Itô et al. (1969), mostrada na tabela 17, contém um estudo detalhado da variação do OTMA em sardinha brasileira em 1964 e 1966. O teor de OTMA foi máximo no verão, diminuindo gradualmente para valores muito baixos no inverno. Pode-se aceitar a idéia de que esta variação acompanha os

períodos de abundância e escassez de fitoplâncton; porém, as causas reais têm sido pouco pesquisadas.



POSIÇÃO ANALIZADA	N - OTMA (mg %)			
	a	b	c	d
Superficial (2,3)	—	1,4	0,8	0,4
Interior (4,5)	0,6	0,3	0,6	0,8
Profunda (6,7)	—	0,1	0,4	0,8
Dorsal Sup. (10)	2,1	0,7	1,6	1,8
Ventral (9)	11,9	5,5	2,1	2,0
M. Vermelho (8)	7,4	7,0	11,2	—
M. Nadadeira (1)	—	—	6,5	—

Fonte: Yamagata et al. (1969).

FIGURA 30 - Distribuição do óxido de trimetilamina (OTMA) nas zonas superficiais, intermediárias e profundas do corpo do albacora (*Thunnus albacares*).

Smith et al. (1980) estudaram o comportamento do OTMA em arenque, um cupléideu como a sardinha, registrando um ciclo de variação com máximos no outono e inverno (46,7 e 36,9 mg de N -

OTMA %). As causas prováveis desta discrepância podem provir do diferente hábito alimentar, pois o arenque tem uma dieta básica de copépodos, e a sardinha, de algas e eufasídeos (Ackman, 1982) que são mais abundantes no verão.

TABELA 17 - Variação anual do teor de OTMA (mg%) da sardinha (*Sardinella brasiliensis*) em 1966 (Itô et al., 1969).

Estação	Macho	Fêmea
Verão	73,39 ± 60	93,21 ± 71,29
Outono	36,68 ± 25,18	33,21 ± 27,32
Inverno	18,21 ± 21,43	18,21 ± 21,96
Primavera	60,53 ± 21,96	45,54 ± 27,32
Média Anual	45 ± 10,71	46,61 ± 8,57

BETAÍNAS: constituem o grupo de maior importância quantitativa do NNP dos moluscos. Mesmo que sua presença já fosse conhecida na década do 50, foi agora, com a utilização da cromatografia líquida de alta resolução (CLAE), que se tornou possível estudá-las sistematicamente, concluindo-se que são compostos ubíquos dos músculos de pescados, particularmente dos invertebrados.

Konosu et al. (1986) pesquisaram as betaínas em salmão e no molusco Fan-mussel, encontrando que o molusco apresentava glicinabetaína (620 mg%), β-alanina betaína (106 mg%) e γ-butirotbetaína (15 mg%). O salmão, entretanto, só tinha glicinabetaína (11 mg%).

Pesquisas anteriores também indicavam que os valores elevados eram próprios de moluscos e crustáceos. Na lula (várias espécies), Konosu e Yamaguchi (1982) encontraram um valor médio de 816 mg % e, no camarão (várias espécies), havia uma média de 600 mg %, todos os valores expressos como glicina betaína.

O polvo mostrou o teor extremamente elevado de 1434 mg % (Konosu e Yamaguchi, 1982).

Nos peixes marinhos, têm sido relatados valores baixos, em torno de 100 mg % nos teleosteos, entre 70 e 260 mg % nos elasmobrânquios e apenas entre 10 e 14 mg nos peixes de água doce (Shewan, 1951).

Funções das betaínas: O papel destas bases de amônio quartenário está se revelando pouco a pouco. De um modo geral, sua presença está associada à resistência ao sal, como um mecanismo para atenuar a toxicidade do NaCl. As funções seriam semelhantes em plantas, animais e microorganismos. Storey e Jones (1977) estudaram a resistência ao sal, de plantas halófitas e glicófitas, demonstrando que, no primeiro grupo, as plantas tinham teores mais altos de betaínas, aproximadamente em proporção à sua resistência ao sal. Pela quantidade que se acumula e pela facilidade de doar metilos, as betaínas não parecem ser apenas um resíduo metabólico (Bowman e Rohringer, 1970).

Nos moluscos (lula, polvo, vieira, etc), encontram-se simultaneamente betaínas e OTMA, sugerindo uma associação de compostos inertes para contrabalançar o efeito desestabilizante da arginina livre que, pela sua abundância, teria condições de perturbar as estruturas das enzimas (Bowlous e Sómero, 1979) pela dissociação de interações iônicas.

Nas rações para alimentação de *Macrobrachium rosenbergii* e outros crustáceos, a glicinabetaína tem mostrado propriedades de quimioatratador. No salmão, truta e articharr, a incorporação de betaína nas rações aumentou significativamente a sobrevivência e crescimento após a transferência para água de mar (Erkki, 1992).

7.2.2 - Derivados da guanidina

A figura 31 relaciona os compostos que possuem estrutura básica da guanidina (imino-uréia).

CREATINA: Devido à sua procedência muscular, este composto tem sido adotado como critério de identidade para extrato de carne bovina (meat-extract). Nos peixes, a faixa de ocorrência está entre 160 - 720 mg% (Ikeda, 1980).

O teor de creatina de alguns peixes marinhos e de água doce brasileiros aparece na tabela 18. Os moluscos e crustáceos examinados (lula, polvo, camarões) não apresentaram creatina, confirmando as informações da literatura [Jacquot (1961), Sainclivier (1982)].

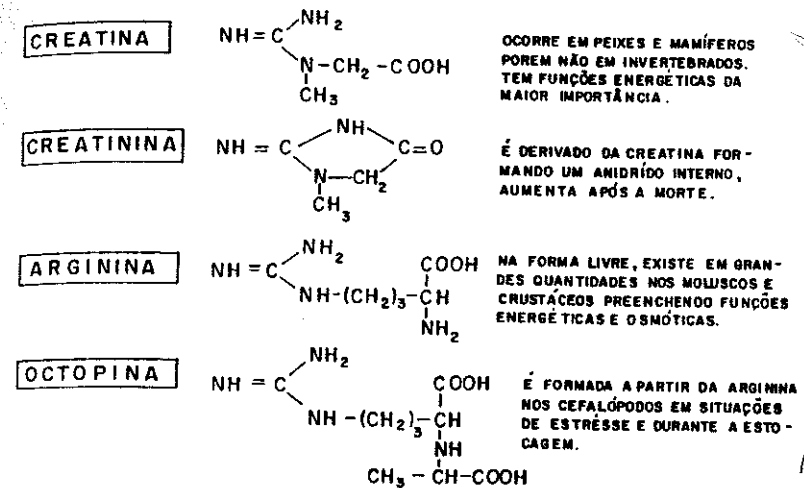


FIGURA 31 - Compostos derivados da guanidina presentes em músculos de peixes, crustáceos e moluscos.

Os dados da tabela 18 caem na faixa de valores tradicionais, porém não foram obtidos dados tão extremos quanto os citados por Ikeda (1980). As concentrações dos peixes marinhos e de água doce ficaram próximas, 397 ± 85 mg% e 412 ± 105 , respectivamente, indicando que a creatina é tão essencial no metabolismo muscular, que o "habitat" das espécies não chega a distorcer o patamar para as funções fisiológicas.

A participação percentual do N da creatina no NNP é maior nos peixes de água doce que nos marinhos ($44,1 \pm 7,5$ contra $32 \pm 9,4$ %), fato compreensível, pois as espécies marinhas têm mais compostos de amônio quaternário e aminoácidos livres que contribuem com NNP.

No grupo dos peixes marinhos, há algumas espécies com quantidades freqüentemente baixas, como as da família Sciaenidae (corvina, pescada, castanha) que apresentou $249 \pm 31,5$ mg% de creatina. Teores freqüentemente altos são encontrados em escombrídeos (atum, bonito, cavalinha, serra), que deram $474 \pm 43,3$ mg%. A única espécie cartilaginosa (cação-machote) deu $533,1$ mg%, valor praticamente igual ao citado por Konosu e Yamaguchi (1982) para a soma creatina + creatinina de espécies próximas.

TABELA 18 - Teor de creatina de peixes marinhos brasileiros^a.

TABELA 18A - Peixes marinhos

Espécie ^b	Creatina (mg %) ^{c,d}	N-Creatina/NNP x 100 ^e
Albacora	490 - 527	21.3
Bagre-bandeira	400 - 423	52.0
Bagre-amarelo	369 - 402	53.3
Bonito-pintado	420 - 432	19.2
Cação-machote	522 - 563	11.9
Carapau	368 - 380	32.4
Cavalinha	438 - 470	24.9
Cioba	382 - 400	29.7
Corvina ^f	293 ± 18	28,7 ± 2.9
Enchova	396	30.8
Linguado	309 - 329	36.6
Manjuba	368 - 372	38.2
Pargo ^f	493 ± 27	38,9 ± 2.7
Pescada-foguete	256 - 280	34.9
Pescada-goete	212 - 231	29.1
Pescada-bicuda	367	39.3
Sardinha-brasileira	461 ± 37	31.4 ± 2.7
Serra	524 - 546	28.2
Vermelho	329 - 360	29.4
Tainha	424 - 430	30.7
Xixarro	451	30.8
Média Geral	397.3 ± 85.3	31.98 ± 9.43

TABELA 18B - Teor de creatina de peixes de água doce brasileiros^a.

Espécie ^b	Creatina (mg %) ^{c,d}	N-Creatina/NNP x 100 ^e
Carpa	383	37.2
Corimbatá	384	48.8
Mandi	264	40.3
Pacu	462	45.2
Tambaqui	581	56.2
Tilápia	396	37.0
Média Geral	411.7 ± 104.7	44.11 ± 7.5

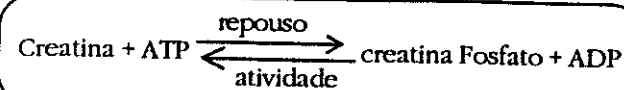
(a) dados do Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP;

(b) os nomes científicos aparecem nas tabelas 11A e 11B;

(c) inclui também creatinina;

(d) valores máximos e mínimos de 2 amostragens formadas por 4 e 6 peixes cada uma, exceto o albacora, em que cada amostragem foi formada por um peixe;

Os valores acima mencionados concordam com o conceito de que as espécies sedentárias têm menos creatina que as espécies de nado rápido (Sainclivier, 1982), que precisariam de mais creatina para carregar o fosfato necessário para a repleção do ATP.



Nas espécies cartilaginosas, parte da creatina é hidrolisada para formar sarcosina e uréia (Sainclivier, 1982), compostos que, nestas espécies, são importantes para contrabalançar a pressão osmótica da água salgada.

CREATININA: é um derivado da desidratação e ciclização da creatina. A conversão ocorre em pequena escala no músculo vivo. Baseado em dados de Konosu e Yamaguchi (1982), 9 teleósteos deram uma média de $14,3 \pm 5,4$ mg % de creatinina, que representa em torno de 3% da soma creatina + creatinina. Uma pequena quantidade forma-se no processamento térmico (Aitken e Connell, 1979) e na armazenagem (Field, 1981).

Na tabela 19, são apresentados dados da distribuição da creatina nos músculos de alguns peixes brasileiros.

A dependência entre o teor de creatina e as funções musculares é sugerida fortemente pelos resultados da tabela 19. No músculo vermelho, há $315,6 \pm 19,1$ mg % contra $430 \pm 38,2$ mg % no músculo ordinário, um resultado que concorda com o conceito geral de que os músculos para fornecimento de energia gradual (vermelhos), precisam de menos creatina que os músculos para fornecimento instantâneo (ordinários). O mesmo raciocínio pode ser aplicado para explicar o baixo teor de creatina nos músculos ventrais ($305,6 \pm 40$ mg %), que de fato são menos utilizados para movimentos repentinos, na fuga dos predadores ou na caça do alimento. Pelo contrário, na cabeça, dorso e cauda, os teores são sempre maiores e muito semelhantes ($430 \pm 32,8$, $423 \pm 43,1$ e $431 \pm 39,3$ mg %, respectivamente).

TABELA 19 - Teores de creatina dos músculos vermelho e ordinário, total e por zonas, em alguns peixes marinhos do litoral brasileiro *.

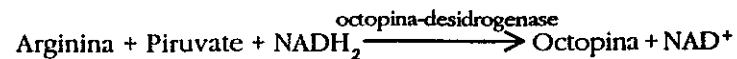
Espécie ^b	CREATINA (mg %) ^{c,d}					
	TIPO DE MÚSCULO		ZONAS DO MÚSCULO ORDINÁRIO			
	vermelho	ordinário	cabeça	dorsal	caudal	ventral
Bonito	315	427	426	427	424	269
Albacora	303	494	488	496	499	367
Bagre-bandeira	312	406	406	397	414	327
Enchova	300	396	414	371	398	282
Tainha	348	427	420	427	420	283

- (a) dados obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP;
 (b) os nomes científicos aparecem na tabela 11A;
 (c) inclui também a creatinina;
 (d) resultados de uma amostragem formada por 4 a 6 peixes, exceto no albacora, que corresponde a um peixe.

ARGININA: Este aminoácido, comum na maioria das proteínas, existe na forma livre em grandes quantidades, em crustáceos e moluscos, aparentemente preenchendo algumas funções da creatina, como o fornecimento de fosfato para repleção do ATP. A função de fosfagênico nos moluscos e crustáceos não está restrita unicamente à arginina, mas também à hipotaurocianina, taurocianina e outros que formam a reserva de fosfato para ATP na contração muscular dos invertebrados.

A arginina teria, também, uma função energética "per se", sendo convertida em ornitina e prolina, que é logo oxidada (Hird et al., 1986).

OCTOPINA: é um derivado da arginina, formado mediante a octopina-desidrogenase. A reação tem sido demonstrada em vieira (Grieshaver e Gaede, 1977) e outros moluscos (Hochachika et al., 1977).



Nos cefalópodos (polvo, calamar, lula), a octopina acumula-se após o exercício físico e coincide com o desaparecimento da arginina fosfato (Gaede, 1976).

7.2.3 - Derivados do imidazol

O agrupamento imidazol forma parte da molécula de várias substâncias de grande importância do tecido muscular, algumas das quais são mostradas na figura 32.

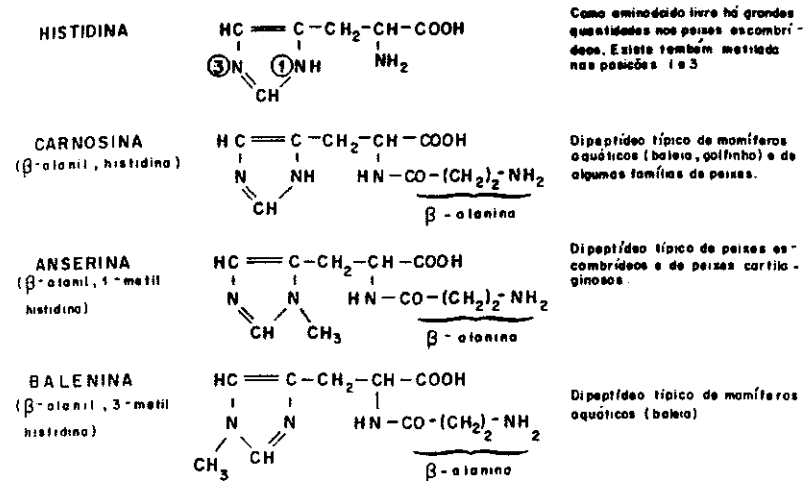


FIGURA 32 - Compostos musculares não-protéicos contendo imidazol.

HISTIDINA: Os peixes são uns dos raros animais que acumulam histidina livre nos fluidos musculares. O acúmulo, porém, não é propriedade de todas as famílias, como pode ser apreciado no esquema seguinte, montado com espécies de interesse comercial, na base de dados de Konosu e Yamaguchi (1982), e Suyama e Yoshimura (1977):

**HISTIDINA
LIVRE**

teores baixos
(< 10 mg%)

carne clara
Sparídea (pargo, sargo),
Pleuronectídea (linguado),
Sciaenídea (merluza),
crustáceos e moluscos.

teores médios
(100 - 500 mg%)

carne escura
Clupeídea (sardinha),
Engraulídea (manjuba),
Trichurídea (xixarro),
Mugilídea (tainha),
Belonídea (peixe-voador).

teores altos
(> 500 mg%)

carne vermelha
Escombrídea (atum, bonito),
Carangídea (olhete,
olho-de-boi).

As espécies com teores baixos são, geralmente, demersais, de carne clara, com pouca massa muscular vermelha. As espécies com teores médios e altos são pelágicas, de carne escura e sabor intenso.

O teor de histidina é maior nos músculos ordinários que nos vermelhos. Sakaguchi et al. (1982) encontraram no "Yellowtail", um parente do Olhete (Brasil) e da Cojinova (Chile e Peru), 1160 mg de histidina livre no músculo ordinário e apenas 28 mg na massa vermelha; porém, este músculo tinha 1150 mg% de taurina. Esse acúmulo incomum de taurina é um dos aspectos menos conhecidos do metabolismo dos músculos vermelhos. Supõe-se que este músculo tenha a capacidade de converter aerobicamente a metionina em taurina (Sakaguchi et al., 1982).

Quanto ao acúmulo de histidina no músculo ordinário, acredita-se que tenha função tamponante, para neutralizar o ácido láctico produzido da glicose sob condições anaeróbicas, em situações de exercício violento (Abe et al., 1985, Sharp and Pirages, 1978). A concentração alta de histidina e creatina, nas espécies escombrídeas, parece confirmar uma inter-relação entre peixes de grande atividade muscular e teores elevados destes compostos. Porém, a histidina está

envolvida em outras funções, demonstrando que a evolução selecionou moléculas versáteis que os peixes utilizam para contornar várias situações adversas:

**FUNÇÕES DA
HISTIDINA**

- Manutenção do pH celular em situações de atividade muscular intensa.
- Contribuição para regulação da pressão osmótica junto com outros solutos musculares.
- Material energético em situações de privação alimentar (migração para desova, Wood, 1958).

Degradação da histidina: A descarboxilação da histidina, por enzimas bacterianas, resulta em **histamina**, uma amina com propriedades tóxicas, que é um dos maiores riscos da manipulação incorreta dos escombrídeos.

Além da descarboxilação, a histidina pode ser desaminada por mecanismos endógenos que conduzem à formação de **ácido urocânico** (Mackie et al., 1977). Nos mamíferos, a enzima envolvida é a histidina amônia-liase ou histidase. O urocânico é modificado pela urocânase e outras enzimas, terminando em ácido glutâmico (Rawn, 1989).

A figura 33 mostra os dois caminhos de degradação da histidina.

Recentemente, a histamina tem sido relacionada com a doença de aves de corte, chamada vulgarmente de **vômito negro**, que causa graves prejuízos econômicos à indústria avícola (Osuna, 1984). Trata-se da aparição de ulcerações da moela em aves alimentadas com farinha de peixe feita com sardinha, resíduos de atum, bonito e cavala (Horaguchi et al., 1980, Okasaki et al., 1983).

Acredita-se que a secagem catalisa uma reação entre lisina e histidina, gerando uma toxina chamada **Gizzerosine** (moelosina).

↳ taurina a desova

Tem sido sugerido que a toxina estimula a secreção de suco gástrico (HCL) no proventrículo da moela, destruindo a camada de coilina (Itakura et al., 1981).

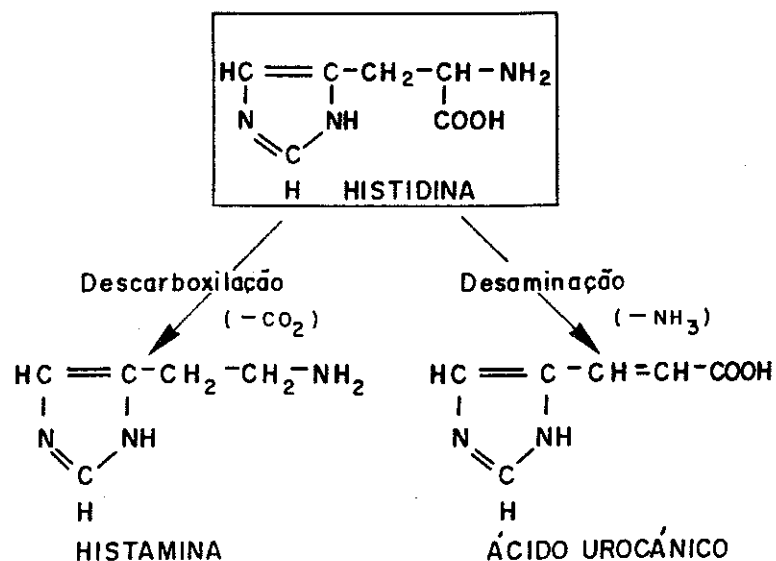


FIGURA 33 - Vias de degradação da histidina: a histidina é produzida por bactérias e o ácido urocânico pela via endógena (histidase).

O mecanismo de reação está sendo intensamente pesquisado para determinar se a formação da **Gizzerosine** precisa de histamina ou histidina e, também, para dilucidar se há fatores catalíticos nas matérias-primas ou nos processamentos.

O composto tem sido obtido por síntese por Mori et al. (1983).

A figura 34 mostra a fórmula da **Gizzerosine** e os precursores mais prováveis.

CARNOSINA: É um dos dipeptídeos contendo histidina. Apesar de que há quantidades elevadas em mamíferos terrestres e

aquáticos, suas funções não têm sido claramente estabelecidas. Saintcliver (1982) mencionou que ela participava do transporte de fosfato durante a contração muscular. Outra teoria relaciona este dipeptídeo com o aumento da capacidade-tampão do músculo. Os peixes que contêm mais carnosina são a enguia, espadarte, marlim e bonito-de-barriga-listrada; está ausente ou é encontrada só ocasionalmente nos elasmobrânquios, moluscos e crustáceos. Nas espécies típicas de água doce, a carnosina não tem sido detectada (Ikeda, 1980, Konosu e Yamaguchi, 1982).

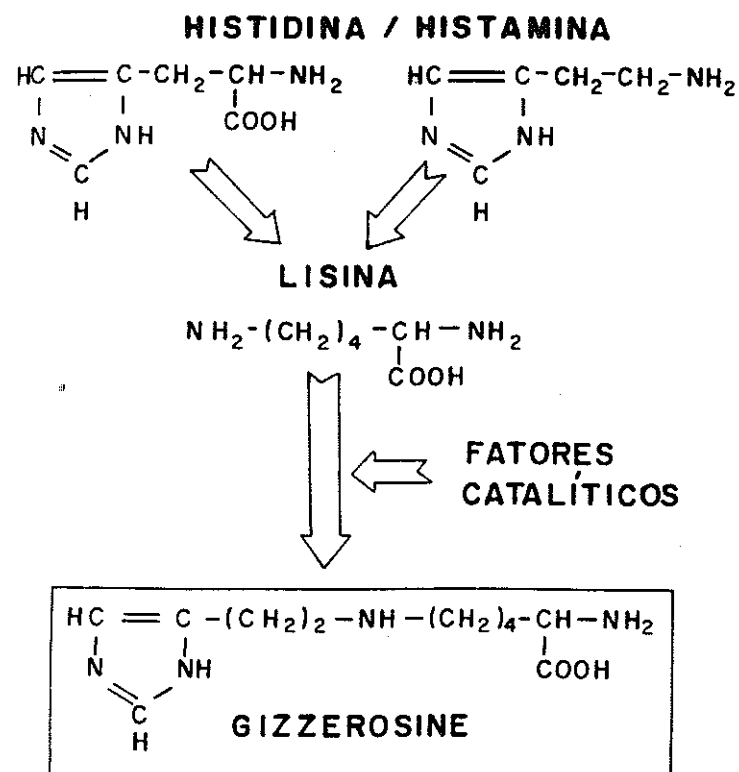


FIGURA 34 - Compostos químicos que têm sido envolvidos na formação da toxina GIZZEROSINE, que causa a doença "Vômito negro" em frangos de corte.

ANSERINA: É típica de peixes marinhos, apresentando-se mais concentrada nos escombrídeos e elasmobrânquios, naquelas espécies que têm menos carnosina. Aparentemente, a presença de um dipeptídeo exclui o outro. Os crustáceos e moluscos têm quantidades pequenas de carnosina ou anserina (Suyama et al., 1965, 1970).

BALENINA: Este dipeptídeo está restrito quase exclusivamente aos músculos de baleia (Konosu e Yamaguchi, 1982). Na elaboração de solúveis de baleia, um produto do tipo "extrato de carne", a balenina parece ter um papel importante no desenvolvimento do sabor via reação de maillard (Suyama et al., 1970 B).

7.2.4 - Uréia

A amônia do catabolismo dos aminoácidos é eliminada de várias maneiras nas diversas espécies animais. Os peixes, anfíbios, nematodos e protozoa, geralmente, excretam a amônia diretamente na atmosfera ou na água e, por isso, são chamados de organismos "amoniotéticos".

Outras espécies convertem a amônia em ácido úrico, sendo chamados de "uricotéticos".

Nos vertebrados, incluindo os peixes, o excesso de amônia é convertido em uréia mediante ácido da uréia, sendo chamados de "urotéticos" (Rawn, 1989). A uréia e parte da amônia são eliminadas prontamente com outros resíduos metabólicos (ornitina, creatinina, OTMA, etc.) através das brânquias e da urina.

Nos elasmobrânquios, após síntese pelo ciclo da ornitina-uréia, a uréia e outros solutos são reabsorvidos nos túbulos renais junto com a maior parte do líquido, resultando numa excreção de água e solutos muito pequena (Lagler et al., 1977). Mediante esta reciclagem, os elasmobrânquios mantêm um teor de uréia entre 1,0 e 2,1 g% (Simidu e Oishi, 1951), presente nos músculos, sangue, pele e vísceras.

A acumulação de uréia e outros solutos produz uma depressão de -2°C no ponto de congelação dos fluidos, valor que é ligeiramente maior que o da água do mar. Entre 42 e 55% desta hipertonicidade é devida aos compostos nitrogenados, e o resto é preenchido por íons inorgânicos, principalmente cloretos.

Da contribuição dos compostos nitrogenados (42 - 55%), entre 7 e 12% é devida ao OTMA e a diferença à uréia (Lagler et al., 1977).

Foi comentado que a uréia é o maior empecilho para a aceitação de carne de cação que, quando fresca, é ligeiramente ácida e, após alguns dias, torna-se alcalina (amoniacal). Por esta causa, os produtos de tubarão salgado sempre tiveram maior aceitação, devido à lixiviação da uréia na salmoura e na reidratação doméstica. Atualmente, a aceitação de cação fresco é muito maior, devido à melhor manipulação a bordo e na indústria.

Waller (1980) pesquisou a distribuição de uréia e amônia em várias zonas de carcaça do tubarão *Galeorhinus australis*, obtendo os resultados da figura 35.

A conclusão da figura referida é que o teor de uréia é maior e bastante uniforme nas zonas interiores dos músculos. Na superfície, a diminuição da uréia coincide com o aumento da amônia. Seja nas regiões internas ou nas superficiais, a concentração de amônia aumenta da cabeça para a cauda.

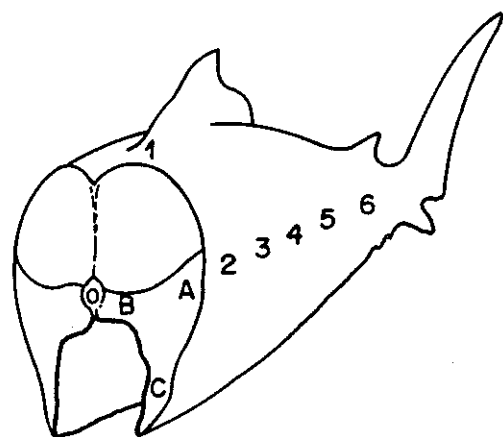
Determinações realizadas no laboratório da FEA-UNICAMP mostram que o cação-machote tem teores de uréia maiores no músculo ordinário que no vermelho (1609 contra 1330 mg%, respectivamente).

Na tabela 20, aparece uma relação dos teores de uréia em peixes brasileiros.

Os dados da tabela 20 mostram que a uréia existe em quantidades reduzidas no músculo dos peixes teleósteos, não apresenta uma grande flutuação por espécie e tem praticamente os mesmos valores médios para os peixes marinhos e de água doce: $12,7 \pm 5,4$ e $12,1 \pm 1,4$ mg%, respectivamente.

Estes dados estão na faixa de valores citada por Konosu e Yamaguchi (1982), que estabelecem como máximo 50 mg, porém são superiores aos valores citados por Ikeda (1980).

A uréia dos 3 cações deu uma média de 1428,6 mg%, valor que é próximo dos determinados por Waller, porém algo baixos em comparação com os dados de Gordievskaya (1972), que obteve para 8 tubarões do Pacífico Noroeste (raposa, pinto, corta-garoupa, azul, martelo, tintureira, anjo e viola) um valor de 2000 ± 188 mg%.



ZONA	URÉIA (%)	AMÔNIA (mg %)
A 1	—	140,0
A 2	1,15	22,1
A 3	1,30	14,4
A 4	1,30	20,6
A 5	1,50	28,8
A 6	1,70	32,0
B 1	—	—
B 2	—	12,8
B 3	1,70	12,8
B 4	1,80	16,0
B 5	1,70	19,2
B 6	1,70	24,0

Fonte: Waller (1980).

FIGURA 35 - Concentração de uréia e amônia nas diversas zonas do tubarão (*Galeorhinus australis*) armazenado 8 dias em gelo.

TABELA 20 - Teor de uréia em peixes brasileiros*.

TABELA 20A - Peixes marinhos

Espécies ^b	Uréia (mg %) ^c	N - Uréia/NNP x 100
Bagre-bandeira	6,7	1,3
Bagre-amarelo	7,6	1,5
Cação-machote	1609	54,0
Cação-azul	1252	52,7
Cação-anjo	1425	50,8
Cavalinha	20,7	2,0
Corvina	9,4	1,6
Linguado	19,6	3,3
Manjuba	6,7	1,0
Pargo	11,3	1,3
Pescada-goete	15,8	2,3
Pescada-bicuda	7,9	1,2
Sardinha	11,4	1,1
Serra	20,6	1,6
Tainha	14,7	1,6

TABELA 20B - Peixes de água doce

Espécies ^b	Uréia (mg %) ^c	N - Uréia/NNP x 100
Carpa	12,8	1,8
Côrimbatá	14,6	2,7
Mandi	10,9	2,4
Pacu	11,9	1,7
Tambaqui	10,8	1,4
Tilápia	11,8	1,8

(a) dados obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP;

(b) os nomes científicos aparecem nas tabelas 11A e 11B;

(c) método da urease: a amostra foi formada por 4 a 6 peixes, exceto nos cações, que tiveram só 2 exemplares por amostra.

7.1.5. Aminoácidos livres dos músculos de pescados

Os dados sobre a concentração de aminoácidos livres (AAL) permitem organizar as espécies em categorias, de acordo com os teores crescentes destes compostos. Uma síntese da informação da literatura sobre o assunto permite formar 4 grupos de famílias, como é mostrado no esquema a seguir:

a) teores baixos (150 - 350 mg %): Prochilodontidae (corimbatá, sagüiru), Pimelodidae (mandi e bagres de água doce), Sciaenidae (pescada, corvina, castanha), Pleuronectidae (linguado), Gadidae (merluza, abrótea), Ariidae (bagre-bandeira, bagre-amarelo), Serranidae (garoupa, namorado), a maioria dos cações e raias.

b) teores médios (350 - 600 mg %): Cichlidae (tilápia), Carangidae (carapau, olhete, olho-de-boi), Trichuridae (espada, xixarro), Scombridae (cavalinha, cavala, serra), Characidae (pacu, tambaqui), Clupeidae (sardinha, savelha), Lutjanidae (pargo, cioba, vermelho), algumas espécies de cações e raias.

c) teores altos (600 - 1500 mg%): Scombridae (atum, bonito), Xiphiidae (espadarte), Ictiophoridae (marlim), algumas espécies carangídeas.

d) teores muito altos (> 1500 mg %): Quase todas as famílias de crustáceos e moluscos. Nestes últimos, porém, há exceções notáveis (ostra, polvo).

Quanto às espécies brasileiras, a tabela 21 apresenta dados de peixes, crustáceos e moluscos. Percebe-se que os dados se encaixam razoavelmente bem no esquema geral, com teores de AAL elevados para invertebrados e escombrídeos, e níveis decrescentes até chegar aos peixes de carne clara, geralmente demersais, que apresentam os teores mais baixos. É importante salientar que o teor

livres da carne têm influência no sabor; portanto, quantidades baixas, geralmente estão associadas a peixes de sabor suave e às vezes insípidos. A inter-relação entre AAL e sabor é abordada no fim deste capítulo.

Funções dos aminoácidos livres (AAL):

Os AAL dos músculos de peixes encontram-se dissolvidos no sarcoplasma e são formados por aminoácidos **essenciais e não-essenciais**, sendo os últimos ligeiramente predominantes. Os aminogramas mostram que a proporção em que um aminoácido entra no conjunto dos AAL, é completamente diferente da proporção em que ele se encontra nas moléculas protéicas do músculo do mesmo peixe.

A origem dos aminoácidos livres representaria um balanço entre o total ingerido na dieta na forma de proteínas e a porção utilizada para síntese de novas proteínas e para energia (Robertson e Cowey, 1992).

Os AAL dos invertebrados são majoritariamente **não-essenciais** e ainda têm taurina, um aminoácido que não participa de proteínas. Estas características indicam que suas funções não estão relacionadas com a essencialidade convencional, mas sim com a manutenção de condições associadas ao "habitat". Um apanhado das informações da literatura permite citar as seguintes funções dos AAL:

FUNÇÕES DOS AAL

a) Solutos sarcoplasmáticos e hemolinfáticos para manutenção do equilíbrio osmótico.

b) Combustível celular para situações de privação alimentar.

c) Complementação do sistema tampão da célula, particularmente no músculo claro que opera anaerobicamente.

d) Funções reguladoras em músculos específicos (taurina no músculo vermelho, arginina fosfato nos crustáceos e moluscos).

TABELA 21 - Teor de aminoácidos livres (AAL) do músculo ordinário de alguns peixes, crustáceos e moluscos brasileiros^a.

Espécies ^b	AMINOÁCIDOS	
	(mM de N - AAL/100 g) ^c	(mg %) ^c
Albacora	12,64	1961
Bonito-pintado	11,44	1765
Xixarro	5,45	596
Sardinha	5,30	580
Carapau	3,85	421
Manjuba	3,47	380
Pargo	3,45	377
Linguado	2,06	225
Corvina	2,01	217
Pescada-goete	1,80	197
Cação	1,80	196
Tilápia	3,35	388
Pacu	3,49	382
Tambaqui	3,18	348
Mandi	2,23	244
Corimbatá	2,04	223
Camarão-sete-barbas	22,35	2140
Camarão-rosa	28,39	2719
Camarão-legítimo	29,29	2805
Camarão-gigante-da-malásia	17,68	1642
Lula (manta)	26,31	2519
Polvo (tentáculos)	3,90	373
Ostra-do-mangue	8,26	791

(a) dados obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP;

(b) nome científico nas tabelas 11A, 11B e 11C;

(c) calculados com padrões específicos P₁, P₂ e P₃:

P₁ - padrão para escombrídeos: 62 mg Hist. + 28 mg Carnosina + 10 mg Gli (9,8 mg N amino/100mg AA em 100 ml);

P₂ - padrão geral para outros peixes: 20 mg de cada um: Gli, Al, His, Lis e Tau (12,63 mg N amino/100mg AA em 100 ml);

P₃ - padrão para invertebrados: 62 mg Gli + 38 mg Ar (Cobb III, Vanderzalt, 1974) (14,62 mg N amino/100mg AA em 100 ml);

P₁ e P₂: reação com ácido trinitro-benzeno-sulfônico (TNBS) (Adler, 1979).

a) **Função osmótica:** Mesmo que a contribuição dos AAL no ajuste da pressão osmótica ocorra em todos os pescados, sua participação é muito mais relevante nos invertebrados. Schoffenils (1970) comenta que os AAL aportam 50% da pressão osmótica intracelular, de modo que eles sozinhos causam uma depressão da temperatura de congelamento de -0,95°C. Os íons inorgânicos contribuem com um valor igual, resultando numa depressão de -1,9°C que é típica de moluscos e crustáceos marinhos e semelhante à da água do mar.

Nos camarões e outros animais eurialinos, o comportamento dos AAL tem sido amplamente pesquisado em função do interesse pelo cultivo artificial de crustáceos e da influência do sabor na aceitação dos produtos.

Papadopoulos e Finne (1985) pesquisaram a aclimação do camarão-marrom (*Penaeus aztecus*) em diversas salinidades, constatando que o teor de aminoácidos acompanha a variação do teor de sal, como é evidenciado na tabela 22.

TABELA 22 - Concentração de AAL (mM N-AAL/100 g) no camarão-marrom (*Penaeus aztecus*), submetido a aclimação em diversas salinidades (Papadopoulos e Finne, 1985).

SALINIDADE (g/l)	TEMPO (dias)				
	1	3	5	7	9
10	17,57	18,34	20,13	19,96	20,71
30	20,46	22,87	23,83	23,51	22,60
50	26,05	31,73	31,06	31,06	29,96

Os valores de mM de N podem ser convertidos em mg % de uma maneira aproximada, multiplicando por 88, de onde se conclui que, na salinidade de 50 g/l (maior que a da água do mar), estes camarões chegam a acumular 2900 mg de AAL por 100 g de carne. Se considerarmos que a proteína bruta está em torno de 17 g/100 g, pode-se aceitar que 17% da proteína deste crustáceo existe na forma de AAL.

Os dados de Papadopoulos e Finne (1985) coincidem com dados de Mc Coid et al. (1984), que encontraram, para o *Penaeus vannamei* aclimatado em água salgada, um valor de 28,71 mM de N-AAL/100 g, sugerindo que o mecanismo de ajuste osmótico deve ser semelhante nas duas espécies.

As funções mais dramáticas da concentração de AAL ocorrem quando os camarões são transferidos desde salinidades baixas para altas (estresse hiperosmótico). Na pesquisa de Mc Coid et al. (1984), o aumento de salinidade de 40, 50 e 60 ppt causou acréscimo de 5,7, 11,4 e 31,1 % dos AAL, enquanto que a diminuição da salinidade desde 35 ppt (própria da água do mar) para 30, 20 e 10 ppt, só apresentou decréscimos de 0,54, 5,2 e 9,9 %.

Em soluções de 10 ppt ou menores, o *Penaeus vannamei* apresentou um patamar em torno de 22 mM de N-AAL (~1925 mg %), provavelmente o valor basal da espécie.

Nos vegetais submetidos a estresse hiperosmótico, também há um aumento notável dos AAL, que se acumulam em concentrações algo diferentes na folhagem, caule e raiz (Storey e Jones, 1977).

A origem dos AAL tem sido bastante pesquisada (Siebert et al., 1972, Siebert, 1974 e Gilles, 1977), concluindo-se que, nos caranguejos, os AAL provêm da hidrólise das proteínas da hemolinfa, desde onde são transferidos para o sarcoplasma das células musculares. A mesma origem parecem ter os AAL do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii*, que apresentou decréscimo das proteínas da hemolinfa quando colocado em água salgada, embora os aminoácidos não tenham sido encontrados nos fluidos plasmáticos, supondo-se que foram rapidamente absorvidos pelos tecidos (Tang e Choong, 1981).

b) Funções como combustível celular: Certos AAL são catabolizados de maneira preferencial em situações de privação alimentar, enquanto que outros são preservados.

Dall e Smith (1987) pesquisaram os efeitos do jejum prolongado do *Penaeus esculentus*, demonstrando que só a taurina e a alanina não mudaram; a prolina foi praticamente reduzida a zero durante 15 dias, diminuindo também a treonina, valina e lisina em menor proporção.

Outros aminoácidos aumentaram sua participação percentual, como a glicina, arginina, hidroxiprolina e ácidos glutâmico e aspártico.

O papel da prolina parece ser da maior importância no fornecimento de energia, como tem sido documentado por Hochachka e Fields (1982) e Hochachka et al. (1983), que observaram uma intensa oxidação da prolina em cefalópodos. O desaparecimento da prolina é

substituído para fins osmóticos, pelo aumento da glicina, que compensa com folga a diminuição da prolina.

A diminuição da arginina é pequena e sugere que ela seja preservada para manutenção do importante fosfagênio arginina-fosfato (Dall e Smith, 1981) e não convertida em ornitina e prolina, como sugerido em algumas pesquisas anteriores.

No *Penaeus esculentus*, os AAL para repleção durante o jejum prolongado, provêm da hidrólise do músculo abdominal, visto que não há carboidratos nem lipídios de origem externa, e as proteínas da hemolinfa só podem ser exauridas até um certo limite. O teor de proteínas do músculo diminui, porém sua composição de aminoácidos é mantida intata durante o período de jejum (Dall e Smith, 1987).

c) Coadjuvante do sistema-tampão da célula muscular: Já foi mencionado que o alto teor de histidina nos peixes escombrídeos tem, entre outras, a função de tampão muscular.

Os dipeptídeos da histidina (carnosina, anserina) e a histidina livre são os únicos a possuir um pK na zona neutra, portanto, adequados para neutralizar o ácido láctico excessivo, mantendo o pH próximo da neutralidade. Outros AA, suficientemente abundantes para exercer funções tamponantes, como a glicina, prolina e alanina, têm valores de pK longe da zona neutra e, aparentemente, têm mais importância como agentes osmóticos.

d) Funções reguladoras pouco conhecidas: A taurina ($\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SO}_3\text{H}$) é um aminoácido de estrutura simples em que o grupo carboxila é substituído pelo grupo sulfônico. Existe em teores baixos no músculo claro dos peixes e algo mais concentrada no músculo vermelho. Na maioria dos invertebrados, porém, a taurina é um dos AAL mais concentrados.

Além da sua participação nos ácido biliares (Taurocólico), outras funções deste aminoácido permanecem ainda obscuras.

O músculo vermelho dos peixes, à semelhança do tecido do fígado dos mamíferos, é capaz de converter a cistina em taurina (Awapara, 1976), porém, a causa pela qual este composto é conservado, às vezes em níveis muito altos (> 1000 mg% no músculo vermelho do yellowtail), é desconhecida. O interesse tem sido reavivado pela descoberta de que a taurina e os ácidos graxos polinsaturados eram

eficientes na prevenção da arteriosclerose (Ehira e Uchiyama, 1986). O músculo do coração, de vários animais, apresenta níveis altos, especulando-se que a taurina tenha alguma função na regulação do ritmo cardíaco (Payen, 1981). Outras pesquisas relacionam a taurina com os mecanismos de termorregulação e estabilização de membranas (Smith et al., 1987), e devido à sua alta concentração no tecido nervoso, parece ter funções neurotransmissoras e neuroinibidoras (Sturman, 1982).

Nos invertebrados, sua função é, sem dúvida, como agente osmótico, pois os moluscos de água têm pouca ou nada de taurina, e nos bivalvos eurialinos, a concentração está diretamente relacionada com a salinidade do meio (Allen, 1961, Allen e Garret, 1971). No camarão-gigante-da-malásia (água doce), a taurina acompanha o comportamento geral dos crustáceos e flutua de acordo com a salinidade do "habitat" (Nelson et al., 1978).

A tabela 23 compila dados sobre a ocorrência de taurina em peixes e invertebrados.

TABELA 23 - Teor de Taurina em músculos de peixes e invertebrados.

Espécie	TAURINA (mg %)	Referências
Albacora-de-lage	26	Suyama, Yoshinawa (1973)
Albacora-cachorra	21	Suyama, Yoshinawa (1973)
Bonito-de-barriga-lustrada	50	Suyama, Yoshinawa (1973)
Cação (<i>Mustelus manazo</i>)	28,0	Sakaguchi, Simidu (1964)
Yellowtail (<i>Seriola quinqueridata</i>)	51,0	Suyama, Yoshinawa (1973)
Camarão-indiano (<i>Metapenaeus dobsoni</i>)	237,9	Rangaswang et al. (1970)
Camarão-marrom (<i>Penaeus aztecus</i>)	292,1	Papadopoulos, Finne (1985)
<i>Penaeus vannamei</i>	30,88	Mc Coid et al. (1984)
Camarão-tigre (<i>Penaeus esculentus</i>)	262,18	Dall, Smith (1987)
Camarão-kuruma (<i>Penaeus japonicus</i>)	83,0	Matsumoto, Yamanaka (1990)
<i>Palaemon serratus</i>	500,0	Richard (1980)
Camarão-gigante-da-malásia (<i>M. rosenbergii</i>)	154,0	Smith et al. (1987)
Caranguejo-azul (<i>Callinectes sapidus</i>)	233	Cameron (1989)
Caranguejo (<i>Carcinus maenas</i>)	625	Payen et al. (1981)
Krill (<i>Euphasia superba</i>)	391	Rehbein (1980)
Krill (<i>Euphasia superba</i>)	206	Suyama et al. (1965)
Lula (<i>Sepia esculenta</i>)	480	Endo et al. (1962)
Lula (<i>Loligo chinensis</i>)	248	Endo et al. (1962)
Vieira (<i>Pecten</i> spp.)	1497	Cameron (1989)
Abalone (<i>Nordotis discus</i>)	946	Konosu (1973)

Composição de aminoácidos livres de camarões marinhos e de água doce.

Face às excelentes condições para o cultivo do camarão-gigante-da-malásia no Brasil, esta espécie tem sido escolhida como alvo de pesquisas biológicas e bioquímicas. Malvino (1993) tem determinado a variação do teor de Cl⁻, OTMA, NNP e propriedades sensoriais deste crustáceo, mantido em salinidades diferentes por vários períodos. A composição dos AAL do *Macrobrachium rosenbergii* mantido em água doce aparece na Tabela 24, acompanhada de dados de outras espécies com fins comparativos.

A Tabela 24 permite estabelecer que, nos camarões marinhos, a composição de AAL é bastante homogênea, com a característica marcante de que apenas um aminoácido, a glicina, perfaz 52,3 ± 76,75% dos AAL. A soma dos 5 aminoácidos mais abundantes (glicina, prolina, arginina, alanina e taurina), todos não essenciais, perfaz 88,62 ± 8,24% dos AAL totais, de modo que o teor de aminoácidos essenciais é irrelevante, perfazendo menos de 10% dos AAL totais.

O camarão de água doce compartilha em termos gerais a composição das suas contrapartes marinhas, porém apresenta algumas peculiaridades: a glicina, mesmo sendo o aminoácido mais abundante, constitui só cerca de 20% dos AAL. Sua diminuição é preenchida por alanina, arginina e pelos aminoácidos hidroxilados. Os aminoácidos essenciais perfazem em torno de 20% dos totais, com destaque para lisina, metionina, leucina, isoleucina e histidina.

Influência dos AAL no desenvolvimento do aroma e sabor típicos de crustáceos, moluscos e peixes: Roham (1970) cita dois tipos básicos de aroma: um de origem natural, como o das frutas frescas, e outro produzido por tratamentos diversos, geralmente térmicos. O cozimento nos produtos de origem animal catalisa a reação entre certos compostos existentes no músculo cru, formando um conjunto de substâncias novas, com aroma e sabor característicos. Os aminoácidos livres, açúcares, nucleotídeos, ácidos orgânicos e íons inorgânicos participam da geração de aroma e sabor, sendo chamados de precursores. Os AAL que existem em grande quantidade, como a histidina dos escombrídeos e a glicina dos camarões, participam de maneira independente, com seus próprios

atributos sensoriais, sem necessidade de mudanças químicas (Jones, 1969).

TABELA 24 - Composição de aminoácidos livres (AAL), expressos em moles/100 moles, de camarões brasileiros e estrangeiros.

Aminoácido	<i>M. rosenbergii</i> ^a (Brasil)	<i>P. Schmitti</i> ^b (Brasil)	<i>M. rosenbergii</i> ^c	<i>Penaeus japonicus</i> ^d	<i>Penaeus esculentus</i> ^e	<i>Penaeus vannamei</i> ^f
Glicina	24,7	46,96	17,41	57,78	58,62	46,13
Prolina	8,08	13,95	8,68	18,58	9,22	21,33
Arginina	31,02	6,90	17,25	13,56	15,22	13,79
Alanina	5,46	9,19	11,34	3,80	1,80	6,57
Ác. Glutâmico	0,74	1,46	11,69	2,60	0,80	0,98
Taurina	N.d.	N.d.	N.d.	1,65	7,93	1,09
Histidina	3,87	1,12	0,78	0,14	0,22	0,45
Lisina	2,33	1,70	3,10	0,17	0,27	0,86
Ác. Aspártico	1,59	0,54	4,94	0,32	0,27	0,10
Valina	1,94	1,94	3,53	0,21	0,34	0,54
Metionina	1,37	1,02	2,15	—	0,15	0,35
Isoleucina	1,48	1,02	1,64	0,08	0,18	0,33
Leucina	2,16	1,70	2,79	0,23	0,26	0,81
Tirosina	0,74	0,92	0,70	0,22	0,18	0,27
Ser. + Treon.	7,92	0,58	8,59	0,23	2,10	6,23
Ornitina	—	—	—	—	—	0,17
Asp. - NH ₂	—	—	—	0,32	—	—
Fenilalanina	0,91	0,93	—	0,06	0,10	0,17
Cistina	—	—	—	—	0,13	—
Triptofano	—	—	—	—	0,13	—
Hidroxiprolina	—	—	—	—	2,00	—

(a,b) Malvino, R.M. Comunicação pessoal: Pesquisa sobre o melhoramento da textura e sabor do camarão-gigante-da-malásia, Brasil, 1993.

(c) Tan e Choong (1981).

(d) Dall e Smith (1987).

(e) Matsumoto e Yamanaka (1990).

(f) Mc Coid et al. (1984).

N.d.: não determinado.

-: ausente.

A histidina seria responsável pelo sabor cárnico (Simidu et al., 1953a e b) e a glicina, pelo sabor adocicado (Amano e Bito, 1951, Hashimoto, 1964). No caso da histidina, as opiniões não são muito unânimes, pois mesmo que a palatabilidade correlacione bem com o teor de aminoácidos dos atuns e bonitos (Simidu et al., 1953), nenhum melhoramento foi conseguido pela adição de histidina na carne dos peixes pouco saborosos (Hughes, 1964). Konosu (1979) trabalhou com misturas de compostos puros, procurando imitar o tempero tradicional de bonito seco (Katsuwobushi), constatando que a histidina, mesmo sendo 80% dos AAL, não contribuía apreciavelmente com o sabor.

Quanto à participação da glicina no aroma e sabor dos camarões, não há dúvidas de que é imprescindível. Cobb III et al. (1973) eram de opinião que os 4 AAL principais (glicina, prolina, arginina e taurina) eram indispensáveis e que qualquer diminuição por lixiviação ou outros fatores podia resultar em sabor amargo atípico. Rangswang et al. (1970) classificaram o grau de importância dos AAL na geração do aroma e sabor do camarão, conferindo à glicina o maior; a arginina também influi, porém não substitui o sabor adocicado da glicina; a prolina e o ácido glutâmico apenas conferem um sabor agradável; e a taurina produz um "aftertaste" incomum. Confirmando estes resultados, Hayashi et al. (1981) dão pouco valor à prolina e à taurina na formação do aroma e sabor típicos de crustáceos, enfatizando o papel da glicina, arginina e ácido glutâmico, cuja ausência afeta a doçura e "unami" (sabor cárneo pleno).

Alterações dos AAL com a muda (molting): O fenômeno de molting consiste na eliminação periódica da carapaça velha para substituí-la por outra maior que se acomode ao desenvolvimento corporal. Ocorre em camarões, caranguejos e outros invertebrados. O fenômeno causa alterações da fisiologia do animal devido à necessidade de sintetizar quitina, escleroproteína e outros materiais da carapaça de maneira cíclica, que causa alterações extremas do teor global e da composição dos AAL.

Richard (1980) acompanhou as mudanças de concentração de AAL no ciclo do camarão, descrevendo as seguintes situações:

Mudança da carapaça:

FASE PRÓXIMA:	Grande acúmulo dos AAL essenciais na hemolinfa e nos músculos.
FASE IMEDIATA-MENTE ANTERIOR	Diminuição abrupta dos AAL essenciais e logo, com alguma defasagem, dos não-essenciais.
FASE IMEDIATA-MENTE POSTERIOR	Aumento abrupto dos AAL essenciais e logo, com alguma defasagem, dos não-essenciais.
FASE ENTRE DOIS CICLOS	Estabilização dos AAL essenciais e não-essenciais no patamar dito " normal " da espécie.

O ciclo da muda tem importância na qualidade sensorial dos crustáceos não apenas pela aparência pouco atraente dos animais com a cutícula mole, senão também porque a carne destes animais se torna quebradiça e pouco elástica.

Um fato pouco pesquisado é a relação entre a aparição da **mancha preta** e a situação de muda. É interessante elocubrar que ambas as reações estão relacionadas com a atividade da o-difenol oxidase sobre difenóis como a di-hidroxifenilalanina (DOPA).

Se a síntese da nova cutícula ocorrer nos crustáceos como nos insetos, a tirosina seria o composto inicial que se torna em difenol (DOPA), muito mais ativo que a tirosina na formação de melaninas. A DOPA seria descarboxilada para dopamina, que após acetilação e oxidação, terminaria em dopaquinona. Tanto este composto quanto os difenóis reagem com a escleroproteína para formar o material curtido que, junto com a quitina e o cálcio, estruturam a nova carapaça.

As enzimas que aceleram a formação das melaninas seriam muito abundantes no período que antecede à muda, tornando o animal muito susceptível a formar a mancha preta. Este fenômeno não ocorre com os camarões em fase de muda senão com animais cujo ciclo está numa etapa anterior (Cobb III, 1980).

7.2.6 - Derivados das purinas e pirimidinas

O N destes compostos contribui com uma porcentagem relativamente baixa no NNP, porém sua importância é relevante em dois aspectos: monitoramento do frescor via degradação dos nucleotídeos e influência de alguns intermediários no sabor dos pescados (intensificação ou deterioração).

As bases púricas mais importantes são a **adenina** e a **guanina**, e as pirimídicas são a **citossina**, **timina** e **uracila**. A combinação destas bases com pentoses ou desoxipentoses mediante um enlace N-glicosídico dá lugar a "**ribonucleosídeos**" (adenosina, guanosina, citidina e uridina) e desoxinucleosídeos (desoxiadenosina, desoxiguanosina, desoxicitidina e desoxitimidina). Normalmente, existem grupos fosfato-esterificados em hidroxilas da ribose (pentose), formando "**nucleotídeos**", dos quais o ATP, ADP, AMP, INO e Hx são os mais conhecidos. Visto que quase os 90% dos nucleotídeos correspondem a derivados da adenina; a maioria das pesquisas em pescados aborda apenas nucleotídeos desta base.

As estruturas químicas das bases e compostos em que elas participam, aparecem na figura 36.

Konosu e Yamaguchi (1982) coletaram valores de nucleotídeos de várias classes de pescados, encontrando nos peixes marinhos ósseos uma média de 282 mg%, nos peixes cartilagosos, 306 mg%, nos moluscos e crustáceos (só caranguejos) 164 mg% e nos peixes de água doce, 328 mg%.

Os valores de 3 classes de peixes são muito próximos, com uma média geral de 306 mg% de nucleotídeos. A molécula da adenina tem 5 átomos de N, de modo que sua participação no NNP pode tornar-se importante nas espécies de NNP baixo (peixes de carne branca, marinhos ou de água doce).

Os valores mais baixos nos crustáceos podem ser devido à insuficiência de amostras, visto que a faixa relatada por Konosu e Yamaguchi (1982) vai desde 88 a 383 mg%. Provavelmente, um valor de 300 mg% seria mais representativo.

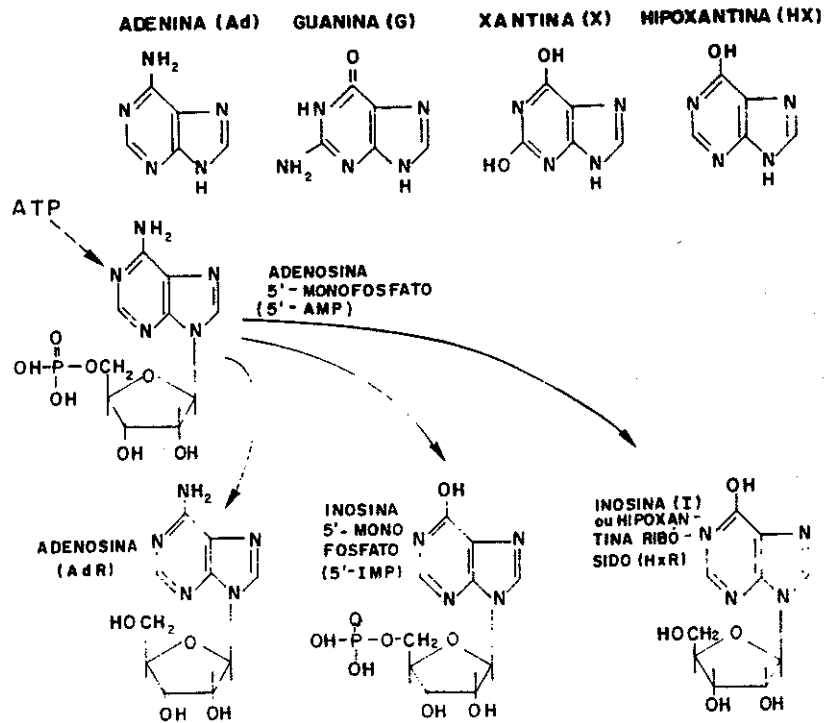


FIGURA 36 - Estruturas químicas de bases púricas (parte superior), e compostos importantes do metabolismo muscular derivados da adenina (parte inferior), utilizados para acompanhamento do frescor de pescados (Capítulo 11).

A evolução do ATP nos músculos "post-mortem" é um capítulo da maior importância para interpretar as relações entre as propriedades físicas e sensoriais dos músculos e transformações bioquímicas dos nucleotídeos.

7.3 - Referências Bibliográficas

- ABE, H., DOBSON, G.P., HOEGER, V., PARKHOUSE, W.S. Role of histidina - Related compounds to intracellular buffering in fish skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* **249**:R449-R454 (1985).
- ACKMAN, R.G. Fatty acid composition of fish oils. In: Nutritional evaluation of long-chain fatty acids in fish oils. Ed. S.M. Barlow and M.E. Stansby, Academic Press, London, New York, 1982.
- ADLER, N.J. Determination of the degree of hydrolysis of food protein in hydrolysates by trinitrobenzene sulfonic acid. *J. Agr. Food. Chem.* **27**(6):1256-62 (1979).
- AITKEN, A., CONNELL, J.J. Chemical and physical effects of heating on fishstuffs: fish. Ed. R.J. Priestley Applied Science Publishers Ltd., London, p.417, 1979.
- ALLEN, J.A., GARRET, M.R. Taurine in marine invertebrates. *Adv. Mar. Biol.* **9**: 205 (1971).
- ALLEN, K. The effect of salinity on the aminoacid concentration in *Rangia cuneata* (Pelecypoda). *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole* **121**:419-24 (1961).
- AMANO, K., BITO, M. Consequence of free aminoacids generated from decomposing fish muscle. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* **16**:10-6 (1951).
- AWAPARA, J. The metabolism of taurina in the animal. In: Taurine. Ed. Huxtable, R., Barbeau, A., p.1, Raven Press, New York (1976).
- BERAQUET, N.J., LINDO, M.M.K., VIEIRA, M.do C. Métodos químicos na avaliação de qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca e processada termicamente. *Coletânea ITAL* **15**:141-70 (1985), Campinas, SP.
- BOWLUS, R.D., SOMERO, G.N. *J. Exp. Zool.* **208**:137-152 (1979).
- BYKOWSKY, P.J., ZALEWSKI, J., GORA, A. Shelf life of frozen squid (*Illex patagonicus*). In: Réfrigération et congélation des nouveaux produits à la base de poissons, pp.317-22. Ed. Institut International du Froid, Paris (1990).
- CAMERON, J.N. Intracellular buffering by dipeptides at high and low temperature in the blue crab *Callinectes sapidus*. *J. Exp. Biol.* **143**:543-8 (1989).
- COBB III, B.F., VANDERZANT, C., HYDER, K. Effect of ice storage upon the free aminoacids contents of tails of white shrimp. *J. Agr. Food Chem.* **22**(6):1052-5 (1974).

- COBB III, B.F. Biochemistry and physiology of shrimp: Effect on use as food. Tropical Product Institute (TPI) Conference p. 405-11 (1980).
- COHEN, J.J., KRUPP, M.A., CHIDSEY III, C.A. Renal conservation of trimethylamine oxid by the spiny dogfish *Squalus acanthias*. Am. J. Physiol. **194**(2):229-35 (1958).
- DAIKOW, T., SAKAGUCHI, M. Effect of dietary trimethylamine on concentration of trimethylamine oxide and trimethylamine in some tissues of young eel. Nippon Suisan Gakkagashi, **58**(4):799, 1992.
- DALL, W., SMITH, D.M. Changes in protein bound and free aminoacids in the muscle of tiger prawn *Penaeus esculentus* during starvation. Mar. Biol. **95**:509-20 (1987).
- EHIRA, S., UCHIYAMA, H. Determination of fish freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. In: Seafood quality determination. p.185-207. Ed. by Kramer, D.E. and Liston, J. Published by Elsevier Science Publ., Amsterdam (1986).
- ENDO, K., HUIJITA, M., SIMIDU, W. Muscle of aquatic animals XXX: Free aminoacids, Trimethylamine oxide and betaine in squids. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **28**:833-6 (1962).
- ERKKI, V. Betaine supplementation enhances the seawater adaptation of salmonids. Resumenes do V International Symposium on Fish Nutrition and Feeding p.40. Santiago de Chile 7/10/1992.
- FIELD, C. Enzymatic processes to preserve fresh fish. PhD Thesis, University of Rhode Island, Kingston, R.I., U.S.A. (1981).
- FORSTER, R.P., GOLDSTEIN, L. Intracellular osmoregulatory role of aminoacids and urea in marine elasmobranchs. Am. J. Physiol. **230**:925-31 (1976).
- FUJIWARA-ARASAKI, T., MINO, N. The distribution of trimethylamine and trimethylamine oxide in marine alga. Proc. 7th Int. Seaweed Symp., Japan Univ. of Tokyo Press: 506-10 (1971).
- GAEDE, G. Octopine dehydrogenase in the cocle *Cardium edulis*. Biochem. Soc. Trans. **4**:433-6 (1976).
- GIBSON, D.M., ODGEN, I.D., HOBBS, G. Estimation of the bacteriological quality of fish by automated conductance measurements. Int. J. Food Microbiol. **1**:127-34 (1984).
- GILLES, R. Effect of osmotic stress on the protein concentration and pattern of *Eriocheir sinensis* blood. Comp. Biochem. Physiol. **56A**:109-14 (1977).

- GORDIEWSKAYA, V.S. Shark flesh in the food industry. Ed. I.V. Kizevetter, Vladivostock, Russia (1971) translated from the Russian by the Israel Program of Scientific Translations, Jerusalem, 1973.
- GRIESHABER, M., GAEDE, G. Energy supply and the formation of octopine in the adductor muscle of the scallop *Pecten jacobaeus* (Lamarck). Comp. Biochem. Physiol. **58**:249-52 (1977).
- HARADA, K. Enzyme system catalysing the formation of formaldehyde and dimethylamine in tissues of fish and shellfish. J. Shimonoseki Univ. Fish **23**:163-241 (1975).
- HASHIMOTO, Y. Taste producing substances in marine products. F.A.O. Symposium on the Significance of Fundamental Research in the Utilization of Fish, Husum, Germany. Paper no. **WP/11/6** (1964).
- HAYASHI, T., YAMAGUCHI, K., KONOSU, S. Sensory analysis of taste active compounds in the extract of boiled snow crab meat. J. Food Sci. **46**(2):479-83 (1981).
- HIRD, F.J., CIANCIOSI, S.C., MCLEAN, R.M. Investigations on the origin and metabolism of the carvon skeleton of ornithine, arginine and proline in selected animals. Comp. Biochem. Physiol. **83B**:175-84 (1986).
- HOCHACHKA, P.W., HARTLINE, P.H., FIELDS, J.H.A. Octopine as an end product of anaerobic glycolysis in chambered nautilus. Science **195**:72-4 (1977).
- HOCHACHKA, P.W., FIELDS, J.H.A. Arginine, glutamine and proline as substrates for oxidation and for glycogenesis in cephalopods tissues. Pa. Sci. **36**:317-23 (1979).
- HOCHACHKA, P.W., MOMMSEN, T.P., STOREY, J., STOREY, K.B., JOHANSEN, K., FRENCH, C.J. The relationship between arginina and prolina metabolism in cephalopods. Mar. Biol. Lett. **4**:1-21 (1983).
- HORAGUCHI, H., MASAMURA, T., HORIKAWA, H., SUGAHARA, M. Gizzard erosion and ulceration in broiler chicks. 2. Effect of fish meal. Jpn. Poult. Sci. **17**:351-7 (1980).
- HUGHES, R.B. Chemical studies on the herring (*Clupea harengus*) X: Histidina and free sugars in the herring flesh. J. Sci. Food Agr. **15**:293-9 (1964).
- HUIJITA, M., ENDO, K., SIMIDU, W. Studies on muscle of aquatic animals XXXXVI: Free aminoacids, trimethylamine oxide and betaine in shrimp muscle. Mem. Fac. Agric. Kinki Univ. Kinki

- Daigaku Nogakubu Kiyō **5**:61-7 (1972).
- IKEDA, S. Other organic components and inorganic components. In: *Advances in Fish Science and Technology*. Ed. by J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Published by Fishing News Books Ltd., Farnham Surrey, England, 1980.
- ITAKURA, C., HAKOTANI, Y., GOTO, M., SAITO, T., ISHII, K. Histopathology of gizzard erosion in young broiler chickens due to fishmeal in the diets. *Jpn. J. Vet. Sci.* **43**:677-87 (1981).
- ITO, Y., SANCHES, L., DA SILVA, P.R. Seasonal variation of the chemical composition of sardine (*Sardinella aurita*, Cuvier e Valenc, 1874). *Contribuições Inst. Oceanográfico da Univ. de São Paulo, Série Tecnológica* **(6)**:1-8 (1969).
- JACQUOT, R. Organic constituents of fish and other aquatic animal food. In: *Fish as food*. Ed. by G. Borgstrom, Academic Press, New York. Vol. 1:145-92 (1961).
- JONES, N.R. Fish flavors. In: Schultz, H.V. Ed. *Symposium on Food. The Chemistry and Physiology of Flavors*. Westport, Avi, pp.267-95 (1967).
- JONES, N.R. Meat and fish flavors. Significance of ribonucleotides and their metabolites. *J. Agric. Food Chem.* **17**(4):712-6 (1969).
- KONOSU, S. Tastes of fish and shellfish with special reference to taste-producing substances. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* **20**:432-9 (1973).
- KONOSU, S. The taste of fish and shellfish. In: *Food Taste Chemistry*, ed. by J.C. Boudreau. ACS Symp. ser. **115**:185-203 (1979).
- KONOSU, S., HAYASHI, T. Determination of β -alanine betaine and glycine betaine in some marine invertebrates. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **41**:743-6 (1975).
- KONOSU, S., SHINAGAWA, A., YAMAGUCHI, K. Determination of ω -betaines in aquatic animals by high performance liquid chromatography. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **52**(5):869-73 (1985).
- KONOSU, S., YAMAGUCHI, K. The flavor components in fish and shellfish. In: *Chemistry & biochemistry of marine food products*. Ed. R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. Avi Publ. Company, Connecticut (1982).
- LAGLER, K.F., BARDACH, J.E., MILLER, R.R., MAY PASSINO, D.R. *Ichthyology*. published by John Wiley & Sons, USA (1977).
- LANGE, R. The osmotic function of aminoacids and taurine in the mussel

- (*Mytilus edulis*). *Comp. Biochem. Physiol.* **10**:173-9 (1961).
- MACKIE, L.M. et al. Histidine metabolism in fish. Urocanic acid in mackerel (*Scomber scombrus*). *J. Sci. Food Agric.* **28**(10):935-40 (1977).
- MATSUMOTO, M., YAMANAKA, H. Changes in contents of glycolytic metabolites and free aminoacids in the muscle of kuruma prawn during storage. *Nippon Suisan Gakkaishi* **56**(a):1515-20 (1990).
- MC COID, V., MIGET, R., FINNE, G. Effect of environmental salinity on the free aminoacid composition in the penaeid shrimp. *J. Food Sci.* **49**:327-55 (1984).
- MORI, K., OKASAKI, T., NOGUCHI, T., NAITO, H. Synthesis of gizzerosine, an inducer of gizzard erosion in broilers chicks. *Agr. Biol. Chem.* **47**:2131-2 (1983).
- NELSON, S.G., LI, H.W., KNIGHT, A.W. Calorie, carbon and nitrogen metabolism of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* with regard to trophic position. *Comp. Biochem. Physiol.* **58A**:319-27 (1977).
- OGILVIE, J.M.C., WARREN, A.A. The occurrence of trimethylamine oxide in *Fundulus heteroclitus*. *Can. J. Zool.* **35**:735-45 (1977).
- OKASAKI, T., NOGUCHI, T., IGARASHI, K., SAKAGAMI, Y., SETO, H., MORI, K. Gizzerosine, a new toxic substance in fishmeal causes severe gizzard erosion in chicks. *Agr. Biol. Chem.* **47**:2949-52 (1983).
- OSUNA, O. Toxicología aviar: vómito negro - La histidina y la mollerossina en la harina de pescado. *Avicultura Profesional* **2**(3):111-15 (1984).
- PAPADOPOULOS, S.L., FINNE, G. Effect of gradual and acute changes in salinity, on the moisture salt and free aminoacid content in the tail of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). *J. Food Agr. Chem.* **33**:1174-7.
- PAYEN, G.G., POCHON-MASSON, J., PORTEMER, C., CHATAGNER, F. Effects of eyestalk ablation on the concentration of taurine in various organs of the shore crab (*Carcinus maenas*). *J. Biochem. Physiol.* **69A**:571-4 (1981).
- RANGASWAMY, J.R., SURYANARAYANA, S.V., LAHIRY, N.L. Free aminoacid pattern in indian shrimp (*Metapenaeus dobsonii*). *J. Agr. Food Chem.* **18**(2):869-73 (1970).
- RAWN, J.D. *Biochemistry*. Ed. Neil Patterson Pub of Carolina Biological Supply Company, Burlington, North Carolina, USA (1989).

- REHBEIN, H. Composition and properties of krill fingers. In: Advances in fish science and technology. Ed. J.J. Connel and Staff of Torry Research Station, published by Fishing News Books Ltd, Farnham, Surrey, England, p. 152 (1980).
- RICHARD, P. Le métabolisme des acides aminés de *Penaeus serratus*: Variations des acides aminés libres du muscle et de l'hépatopancréas au cours du cycle de la mue. Comp. Biochem. Physiol. **67A**:553-60 (1980).
- ROBERTSON, J.D., COWEY, C.B. The free aminoacids in muscle of three invertebrates *Nephtys norvegicus*, *Limulus polyensis* and *Eledone cirrhosa*. Comp. Biochem. Physiol., **101A(3)**:545-8. 1992.
- ROHAM, T.A. Food flavor volatiles and their precursors. Food Tech. **24(11)**:1217-20 (1970).
- SAINCLIVIER, M. L'industrie alimentaire halieutique. Vol. I: Le poisson matière première. Éd. Sciences agronomiques, Rennes, p.263 (1983).
- SAKAGUCHI, M., MURATA, M., KAWAI, A. Changes in the free aminoacids and creatina contents in yellowtail (*Seriola quinqueridata*) muscle during storage. J. Food Sci. **4**:1662-6 (1982).
- SAKAGUCHI, M., SIMIDU, W. Muscle of aquatic animals XLIV: Aminoacids, trimethylamine oxide, creatina, creatinina and nucleotides in fish muscle extractives. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **30**:1003-7 (1964).
- SCHOFFENIELS, E. In: Review on osmoregulation: Adaptations with respect to salinity. Biochem. Soc. Symp. **41**:179-204 (1970).
- SHARP, G.D., PIRAGES, S. The distribution of red and white swimming muscle, their biochemistry and the biochemical phylogeny of selected scombroid fishes. In: The physiological ecology of tunas. Ed. Sharp, G.D. and Dizon, E., p.41, Academic Press, New York (1978).
- SHEWAN, J.I.M. The chemistry and metabolism of the nitrogenous extratives in fish. Biochem. Soc. Symposia n°. **6**:28-48, Biochemical Society of London (1951).
- SIEBERS, D. Mechanisms of intracellular isosmotic regulation fate of ¹⁴C labeled serum proteins in the shore crab (*Carcinus maenas*) after changed salinity. Helgoländer Wiss Meeresunters **20**:357-81 (1974).
- SIEBERS, D., LUCU, C., SPERLING, K.R., EBERLEIN, K. Kinetics of osmoregulation in the crab *Carcinus maenas*. Mar Biol. **17**:291-303

- (1972).
- SIMIDU, W. Nonprotein nitrogenous compounds. In: Fish as food. Ed. G. Borgstrom, Academic Press, New York and London, Vol.1, pp.353-84 (1961).
- SIMIDU, W., HIBIKI, S., SIBATA, S., TAKEDA, K. Studies on muscle of aquatic animals XVI: Distribution of extractive nitrogen in muscle of several kinds of gastropoda. Bull. Japan Soc. Sci. Fish **19**:871-81 (1953).
- SIMIDU, W., KUOKOWA, Y., IKEDA, S. Studies on muscle of aquatic animals XVII: Imidazole compounds in fish muscle with special reference to the taste of red muscle fishes. Bull. Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ. **12**:40-8 (1953).
- SMITH, J.G.M., HARDY, R., MC FONALD, I., TEMPLETON, J. The storage of herring (*Clupea harengus*) in ice, refrigerated sea water and ambient temperature. Chemical and sensory assesment. J. Sci. Food Agric. **31**:375-85 (1980).
- SMITH, R.B., MILLER, G.C., MEAD, R.W. Taurine tissue and salinity effect on taurine in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). Comp. Biochem. Physiol. vol. **87A**, n°. 4:907-9 (1987).
- SMITH, R.B., MILLER, G.C., MEAD, R.W., TAYLOR, R.E.L. Biosynthesis of asparagine and taurine in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). Comp. Biochem. Physiol. vol. **87B(A)**:827-31 (1987).
- STOREY, R., JONES, W.R.G. Quaternary ammonium compounds in plants in relation to salt resistance. Phytochemistry **16**:447-53 (1977).
- STROM, A.R., OLAFSEN, J.A., LARSEN, H. Trimethylamine oxide: A terminal electron acceptor in anaerobic respiration of bacteria. J. Gen. Microbiol. **112**:315-20 (1979).
- SUYAMA, M., KOIKE, J., SUZUKI, K. Studies on glycolysis and formation of amonia in muscle and blood of elasmobranchs. Tokyo Univ. Fisheries **46**:51-65 (1960).
- SUYAMA, M., NAKAJIMA, K., NONAKA, J. Nitrogenous constituents of *Euphastia*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **31(4)**:302-6 (1965).
- SUYAMA, M., SUZUKI, H. Nitrogenous constituents in the muscle extracts of marine elasmobranchs. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **41**:787-90 (1975).
- SUYAMA, M., YOSHIZAWA, U. Free aminoacid composition of skeletal

- muscle of migratory fish. Bull Jpn. Soc. Sci. Fish **39**:1339-43 (1973).
- TAN, C.H., CHOONG, K.I. Effect of hyperosmotic stress on the hemolymph protein, muscle ninhydrin-positive substances and free aminoacids in *Macrobrachium rosenbergii*. Comp. Biochem. Physiol. **707**:485-9 (1958).
- TAR, H.L.A. Biochemistry of fishes. Ann. Rev. Biochem. **27**:223-44 (1958).
- THURTON, J.H., HAUBART, R.E., DIRGO, J.A. Taurine: A role in osmoregulation of mammalian brain and possibly clinical significance. Life Sci. **26**:1561-8 (1980).
- WALLER, P.E. Spoilage and spoilage indicators in shark held in ice. Food Technol. Aust. **32**:161-6 (1980).
- YAMADA, K. Occurrence and origin of trimethylamine oxide in fishes and marine invertebrates. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **33**:591-603 (1967).
- YAMAGATA, M., HORIMOTO, K., NAGAOKA, C. Assesment of green tuna: Determining trimethylamine oxide and its distribution in tuna muscles. J. Food Sci. **34**:156-9 (1969).
- YANCEY, P.H., SOMERO, G.N. Counteraction of urea destabilization protein structure by methylamine ósmoregulatory compounds of elasmobranch fishes. Biochem. J. **183**:317-23 (1979).

8 - Nitrogênio protéico (proteínas)

Os dados da literatura geralmente correspondem à proteína bruta (NT x 6,25), que sobrestima o teor de proteína. A quantificação de proteína real pode ser obtida, determinando o NNP e efetuando a diferença NT - NNP, que, multiplicada pelo fator de conversão 6,25, dará um teor mais próximo da realidade. Pode-se discutir se é lícito descontar o NNP dos escombrídeos, moluscos e crustáceos, que é feito maiormente por aminoácidos livres, porém, não há discussão sobre a necessidade de descontar o NNP nos peixes cartilagosos.

A fim de ilustrar as diferenças entre proteína bruta e real, foram extraídos dados da tabela 14, formando 6 grupos, com espécies mais ou menos próximas, que são apresentados na tabela 25.

Entre os peixes, os grupos I e IV apresentam teores praticamente iguais de proteína real, mesmo que o grupo I seja composto por peixes marinhos e o IV por peixes de água doce. Em ambos, a proteína real perfaz em torno de 89% da proteína bruta.

Os peixes do grupo III (escombrídeos típicos) apresentam o teor mais alto de proteína real e de proteína bruta, um resultado condizente com a opinião geral de que os atuns e bonitos são os peixes mais protéicos da fauna marinha.

TABELA 25 - Valores médios de proteína bruta e real de grupos de espécies brasileiras.

Grupo	Prot. Bruta (% NT) x 6,25	Prot. Real (%) (NT - NNP) x 6,25	P. R./P. B. x 100	Espécies que formam o grupo
I Peixes de carne clara	18,69 ± 1,45	16,77 ± 1,04	89,7	pescada-foguete e goete, linguado, pargo, corvina, cioba
II Peixes de carne escura	21,0 ± 0,94	18,29 ± 0,90	87,1	sardinha, tainha, suxarro, carapau, enchova, sororoca, cavalinha
III Peixes escombrídeos típicos	23,50 ± 1,84	19,37 ± 1,25	82,4	albacora, serra, bonito-pimado e de- barriga-lisurada, cavala-verdadeira e wahoo
IV Peixes de água doce	18,34 ± 1,44	16,47 ± 1,17	89,0	mandi, corimbata, pacu, carpa, tambaqui, tilapia
V Peixes elasmobrânquios	22,13 ± 2,0	14,13 ± 1,27	73,9	cação-azul e machote, arraus
VI Moluscos e crustáceos	17,58 ± 0,55	13,08 ± 0,34	74,4	Camarão-sete-barbas e legítimo, lula, lagostim, camarão-gigante-da- malásia

Os peixes do grupo V (cartilagosos), quando avaliados pela proteína bruta, parecem conter teores muito altos, porém o erro se desfaz quando verificada a proteína real, que resulta ser mais baixa que a de peixes teleosteos, praticamente beirando o teor dos crustáceos e moluscos, considerados como espécies tipicamente baixas em proteínas.

O grupo II (peixes de carne escura) contém altos teores de proteína real, apenas inferiores aos peixes escombrídeos típicos, que, por sinal, também têm carne escura. A correlação entre teores altos de proteínas e carne de cor escura é encontrada freqüentemente nos peixes pelágicos, exceto nas épocas gordas de algumas espécies (anchova, arenque, anchoveta), em que o teor de proteínas diminui ligeiramente.

Em termos de proteína, 100 g de carne de peixe fornecem aproximadamente a mesma quantidade que a carne de mamíferos e aves, porém as proteínas dos peixes apresentam uma digestibilidade de 90 a 100%, valores que são ligeiramente maiores que os da carne bovina e de frango.

Esta vantagem tem sido atribuída à maior contribuição da fração miofibrilar, cuja digestibilidade é superior à das proteínas do tecido conjuntivo. Outro fator citado é o menor comprimento da fibra muscular dos pescados, que se manifesta por uma maior área de ataque pelas enzimas digestivas (Stillings e Thompson, 1971). Há, porém, fatos inerentes à própria constituição das moléculas de miosina e colágeno, que apresentam propriedades bioquímicas algo diferentes das de bovino e aves, como é discutido no decorrer deste capítulo.

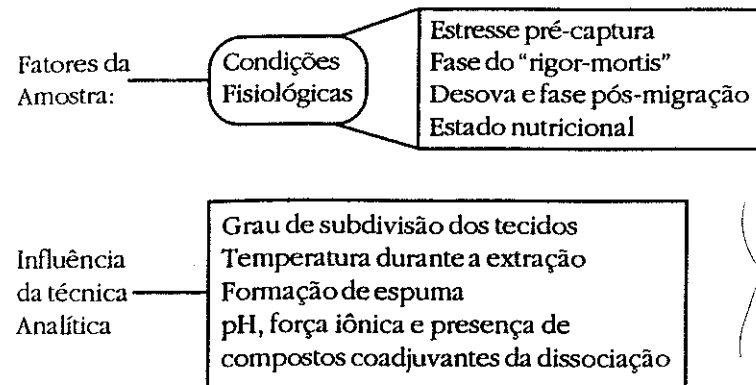
O estudo das proteínas musculares dos pescados, como componentes alimentares, pode ser abordado desde os seguintes ângulos:

- a) Comportamento das proteínas musculares em soluções de pH e concentração iônica variáveis, com o objetivo de otimizar a extratibilidade e separar frações de proteínas de acordo com a sua solubilidade;
- b) Caracterização das proteínas individuais quanto às propriedades físico-químicas, biológicas e nutricionais;
- c) Estudo da organização das proteínas em estruturas supramoleculares para a realização das funções fisiológicas dos músculos somáticos.

8.1 - Estudos de solubilidade

O estudo da solubilidade das proteínas musculares de animais tem-se tornado um instrumento de primeira importância como ferramenta analítica e como índice de deterioração das propriedades funcionais causadas pela armazenagem congelada. Sua importância aumentou com o advento dos processos para a elaboração de carne desintegrada (polpa de peixe, surimi) que utilizam a congelação como método de preservação de estoques de carne desintegrada para prover matéria-prima semiprocessada a inúmeras indústrias que a reprocessam em produtos diversos.

As proteínas dos tecidos somáticos encontram-se formando feixos de fibras que é preciso desagregar e solubilizar como condição primeira para a caracterização dos componentes individuais. O sucesso da solubilização depende da técnica analítica e de fatores próprios da amostra que aparecem esquematizados a seguir:



Se considerarmos que este conjunto de parâmetros é difícil de padronizar, pode-se compreender a causa da grande variabilidade das percentagens de solubilização publicadas por vários autores para uma mesma espécie biológica.

O estudo da solubilidade das proteínas tem também grande importância industrial, visto que a utilização de peixes e crustáceos produz mais de 50% de resíduos com proteínas de boa qualidade. Tenuta

Filho e Zucas (1981, 1985) têm pesquisado amplamente as condições ótimas para a recuperação das proteínas do cefalotórax de camarão-rosa e a influência dos métodos de extração e precipitação na composição de aminoácidos, no valor biológico e nas propriedades funcionais. Os seus resultados contribuem para a montagem de uma estratégia acessível para exploração de organismos zooplânctófagos, um dos grandes desafios tecnológicos atuais.

A figura 37 reúne curvas de solubilidade de vários extratos protéicos de pescados para ilustrar o seu comportamento em função do pH.

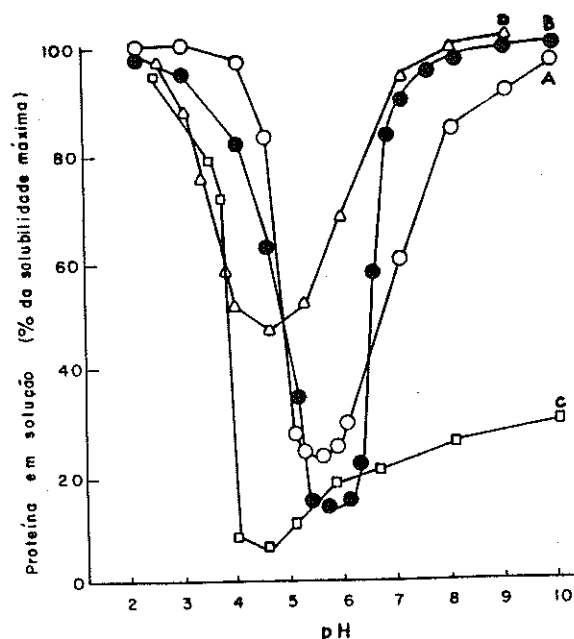


FIGURA 37 - Variação da solubilidade de proteínas de peixes e Krill em função do pH.

- (2) Extrato protéico de resíduos de Krill (*Ephasia superba*) obtido com NaOH (Romo e Anderson, 1979);
- (1) Extrato protéico de carne de castanha (*Umbrina spp.*) obtido com NaOH;
- (○) Só proteínas miofibrilares (Lorient, 1982);
- (□) Extrato protéico de farinha de anchoveta solubilizada com pepsina (Silva e Contreras, 1967).

As curvas A e B demonstram que a solubilidade mínima ocorre nos extratos completos, numa faixa de pH entre 5 e 6, que corresponde ao ponto isoelétrico médio das proteínas participantes. Quando o estudo é feito com a fração miofibrilar isolada, que contém principalmente miosina e actina (curva C), o ponto de solubilidade mínima desloca-se quase uma unidade de pH para o lado ácido, provavelmente por efeito do maior teor de ácido glutâmico e aspártico da miosina em relação às proteínas. Um comportamento semelhante é observado na curva D, que corresponde à solubilidade de peptídios e polipeptídios derivados das proteínas musculares da anchoveta por efeito da pepsina. Os polipeptídios, aparentemente, mantêm as propriedades anfotéricas da miosina de onde se formaram.

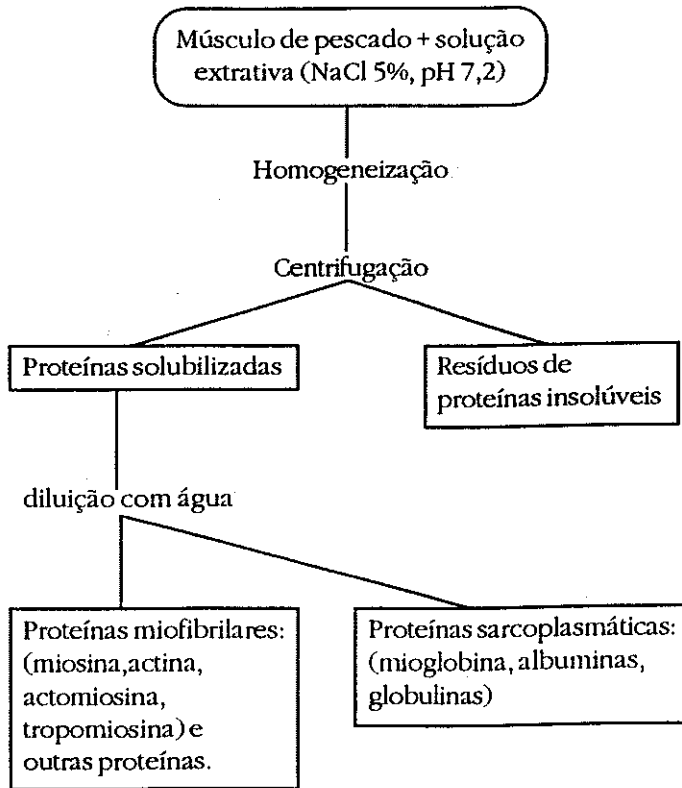
Em termos práticos, a otimização da extração pode ser conseguida, trabalhando na zona ácida abaixo de pH 4,0 ou no lado alcalino, acima de 6,0. A extração na faixa neutra é preferida, pois causa menos danos estruturais, particularmente quando as proteínas serão usadas para estudos bioquímicos. Visto que, em pH 7,0, a solubilidade ainda não atinge o máximo (100%), é preciso adicionar íons (KCl, NaCl) que aumentam a solubilidade. Deste modo, uma solução de pH 7,0 e força iônica 0,5 poderá ter o mesmo efeito solubilizante que uma solução de pH 10,0 e força iônica 0,05.

Este princípio foi usado por Dyer et al. (1950) em seu transcendente trabalho sobre extração e separação das proteínas musculares de pescado. Esta pesquisa teve o mérito de estabelecer uma técnica padronizada para abordagem de estudos sobre composição de proteínas nas diferentes espécies de pescados e acompanhar as mudanças deletérias causadas pela congelação e outros processamentos.

O método consiste na extração da carne homogeneizada com solução de NaCl entre 3 a 5% e pH ajustado entre 7,0 e 9,0. O resíduo não extraído corresponde ao estroma (tecido conjuntivo), e o material solubilizado contém as proteínas que formam miofilamentos (miofibrilares) e as não-fibrilares (sarcoplasmáticas) que estão dissolvidas no sarcoplasma.

A separação entre as proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas é realizada por diluição do extrato em NaCl com água destilada na relação 1:10. A diluição causa a insolubilização das proteínas miofibrilares, deixando o grupo das sarcoplasmáticas em

solução. A seqüência de separação de Dyer et al. (1950) pode ser esquematizada da maneira seguinte:



As condições recomendadas por Dyer et al. (1950) têm sido confirmadas por Toom et al. (1982), usando eletroforese em gel de poliácridamida (PAGE) e focalização isoeletrica (FI). Os resultados mostraram que em pH 7,0 e força iônica 0,6 a quantidade de proteína extraída e o número de componentes protéicos atingiram o valor máximo.

A seqüência recomendada por Dyer et al. (1950) tem sido modificada por vários autores, invertendo a ordem da extração. Primeiramente, são extraídas as proteínas sarcoplasmáticas com água

destilada ou com soluções diluídas ($m = 0,1$) de pH 7,0 - 7,2 e logo as proteínas miofibrilares com NaCl entre 0,5 e 0,6 M e pH 7,0 - 7,2.

Os métodos de separação e identificação das proteínas individuais contidas nas frações miofibrilar e sarcoplasmática têm demonstrado que a composição das frações é suscetível de mudar de acordo com a seqüência das operações. A miosina e a actomiosina encontram-se sempre na fração miofibrilar, porém a tropomiosina, as diversas troponinas e outras proteínas que formam parte das estruturas fibrosas, podem aparecer, também, na fração sarcoplasmática que, por definição, deveria conter só proteínas solúveis do sarcoplasma. Por esta causa, a porcentagem das frações miofibrilares e sarcoplasmáticas é atualmente considerada como uma referência e não como um parâmetro absoluto.

O resíduo não extraível com NaCl contém tecido conjuntivo, principalmente colágeno do músculo, porém também inclui as proteínas desnaturadas por diversas causas (armazenagem inadequada, manipulação analítica imprópria, etc.).

A tabela 26 mostra as porcentagens de proteínas miofibrilares, sarcoplasmáticas e estroma de peixes brasileiros e alguns dados de pesquisas estrangeiras com fins de comparação.

Os dados da tabela 26 indicam que as espécies marinhas de carne branca têm os teores de proteínas sarcoplasmáticas em torno de 20% e miofibrilares em torno de 75%. A sardinha e o krill apresentam teores acima de 30% de proteínas sarcoplasmáticas, teores normais de estroma e baixos e muito variáveis de proteínas miofibrilares, provavelmente devidas à extrema suscetibilidade à desnaturação, visto que o resíduo não-extraível é comumente maior na sardinha e no krill que em outras espécies. Segundo Leinot e Cheftel (1990), na sardinha, o resíduo contém miosina pesada e actina, e não contém proteínas sarcoplasmáticas.

Os 3 peixes de água doce são de "habitat" tropical e, mesmo com alguma restrição, podem ser equiparados com os peixes de carne branca.

De um modo geral, os músculos de peixes têm teores de proteínas miofibrilares maiores que os de bovino, coelho e frango (Matsumoto, 1980; Jebson, 1962).

O teor de estroma dos músculos de peixes ósseos é inferior a 3%, enquanto que o da carne bovina atinge 15% ou mais. Os peixes

elasmobrânquios, porém, contêm teores de proteínas estromáticas beirando 10% das totais.

TABELA 26 - Composição percentual dos grupos típicos de proteínas de várias espécies de peixes.

Espécies	PROTEÍNAS (%)			Referências
	Sarcoplasmáticas	Miofibrilares	Estroma	
Bacalhau	21,0	76	3,0	Dyer, French (1950)
Sea bass	17,4	74,5	8,1	Nishoka et al. (1990)
Linguado	18,0 - 24,0	73,0 - 79,0	3,0	Matsumoto (1958)
Corvina (<i>Micropogon furnieri</i>) ^a	20,0 - 23,0	70,8 - 74,8	6,7 ^b	FEA-UNICAMP (*)
Sardinha (<i>S. melanostica</i>)	32,8	61,3	1,3	Matsumoto et al. (1979)
Sardinha (<i>S. pilchardus</i>) ^a	30,3 - 38,6	39,7 - 51,3	18,4 - 21,5 ^b	Leinot, Cheffel (1990)
Sardinha (<i>S. brasiliensis</i>)	30,9	43,3	17,6 ^b	FEA-UNICAMP (*)
Tilápia (<i>Tilapia niloticus</i>) ^a	19,4	71,6	6,7 ^b	FEA-UNICAMP (*)
Pacu (<i>Colossoma mitrei</i>) ^a	25,0	64,3	8,0 ^b	Gonçalves (1989)
Carpa (3 espécies indianas)	21,4	78,3	N.d.	Perigreen et al. (1990)
Krill (abdômem) (<i>E. superba</i>)	34,1	54,0	2,5	Kolanowski (1989)
Peixe antártico (<i>N. rossii</i>)	20,9	70,6	2,6	Kolanowski (1989)

(a) em % do N protéico;

(b) corresponde a resíduo insolúvel em NaCl e não ao estroma;

(c) dados do Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP.

8.2. Separação das proteínas contidas nos extratos miofibrilares e sarcoplasmáticos

As proteínas de pescado têm sido analisadas por ultracentrifugação, cromatografia de troca iônica e eletroforese. Este último método tem se tornado o preferido, face à sua adequação para o estudo de macromoléculas anfóteras e ao contínuo melhoramento da performance separatória.

Connell (1953) obteve os primeiros esquemas de proteínas musculares, usando a técnica de **eletroforese livre** (método de Tiselius) e vislumbrou o seu potencial como método de identificação de espécies.

Thomson (1960) usou a **eletroforese em gel de amido**, conseguindo melhorar a resolução dos componentes. Posteriormente, o **gel de poliacrilamida (PAGE)** veio a fornecer um meio gelificado de porosidade padronizada, alta resolução e facilidade para a avaliação densitométrica.

O método de **focalização isoeletrica** em gel de poliacrilamida, verificado em tubos ou em camada delgada (FI-PAGE), é, por enquanto, o mais resolutivo, seja para a identificação de espécies ou para pesquisar desarranjos estruturais que afetam as propriedades texturais de peixes e crustáceos. Tem sido usado, entre outros autores, por Ludstrom (1977, 1980) e Huang et al. (1990).

O método de **eletroforese em fitas de acetato de celulose** foi desenvolvido na mesma época que o PAGE, porém caiu em desuso após alguns anos devido ao seu menor poder resolutivo.

A separação e a identificação das proteínas por eletroforese simples em gel de poliacrilamida (PAGE), eletroforese com dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE) e focalização isoeletrica em camada delgada (TLC-FI-PAG) têm sido usadas para atingir uma grande variedade de objetivos, alguns eminentemente científicos e outros claramente aplicados no controle de qualidade, desenvolvimento de novos produtos, identificação de espécies, etc.

O tratamento com SDS, uréia ou 2-mercapto etanol é muito eficiente para dissociar agregados moleculares, permitindo um extrato de proteínas monoméricas. Até as proteínas desnaturadas do resíduo não-extraível podem ser solubilizadas em grande proporção com este tratamento.

Uma das aplicações mais simples é a separação das proteínas solúveis em água destilada (ou em tampões de pH em torno de 7,0 e $\mu \leq 0,15$). Os tecidos frescos de peixe são homogeneizados completamente com água, centrifugados e uma alíquota do sobrenadante é submetida a eletroforese em gel de poliacrilamida. As proteínas aquissolúveis separam-se de acordo com a sua carga neta e, após tingidas, são visualizados esquemas típicos de acordo com a espécie.

Entretanto, a separação das proteínas sarcoplasmáticas por PAGE não é possível nos produtos que tenham sofrido tratamentos térmicos, moderados ou severos (enlatados). Nestes casos é preciso dissolver (resolubilizar) as proteínas coaguladas com auxílio de agentes dissociadores de agregações moleculares (SDS, uréia, etc.). Os extratos assim obtidos contêm todas as proteínas musculares capazes de dissolver-se e não apenas as sarcoplasmáticas. Dada sua complexidade, o PAGE simples não permite separações adequadas, portanto é preciso usar o método de focalização isoeétrica em tubos ou em placas de camada delgada de gel de poliacrilamida. Com esta técnica, é possível separar proteínas que se diferenciem em apenas 0,02 unidades de pH (Huang, 1990).

Draetta et al. (1985) e Levy et al. (1989), no Brasil, têm utilizado estes métodos para identificar espécies que foram processadas por esterilização, particularmente naqueles peixes que possam ser objeto de fraudes, como o atum e o bonito.

A técnica precisa de grande habilidade para conseguir eletroferogramas nítidos e deixar em evidência, de maneira inquestionável, as bandas típicas, que nas separações deficientes tendem a ficar mascaradas pelas proteínas miofibrilares, de pouco valor como elementos de identificação.

O sucesso apenas parcial, obtido com amostras autoclavadas, tem direcionado as aplicações para a identificação de produtos crus, que podem ser examinadas tanto por PAGE simples, SDS-PAGE ou focalização isoeétrica (Lundson, 1980).

Freqüentemente, os objetivos não visam à pesquisa de fraudes, mas a estudos abrangentes sobre alterações moleculares das proteínas sejam por efeito dos processos ou de manipulações genéticas, etc.. Nessas situações, os métodos PAGE, SDS-PAGE, FI-PAG e TLC-PAG são apenas peças de um grande esquema analítico.

A tabela 27 reúne aplicações específicas dos métodos eletroforéticos em gel de poliacrilamida e salienta a amplitude de situações que podem ser resolvidas com estas técnicas, na problemática da ciência e tecnologia dos pescados.

TABELA 27 - Aplicações da eletroforese das proteínas musculares em pesquisas e problemas tecnológicos.

Método de Análise	FRAÇÃO PROTEICA PESQUISADA		
	Sarcoplasmática	Miofibrilar	Resíduo não extraível
PAGE	Investigação de fraudes de rotulação em produtos crus comercializados em estado fresco ou congelado (filés, blocos, porções e produtos de peixe desintegrado).	Estudo das modificações dos diagramas em PAGE de produtos refrigerados ou congelados. Inter-relação entre modificações do esquema PAGE e mudanças texturais.	Não pode ser analisado, pois é insolúvel.
SDS PAGE	A) Investigações de fraudes de rotulação em produtos aquecidos moderadamente (tirinhas, bolinhos e almôndegas pré-fritas, etc.). B) Detecção do comprometimento das proteínas sarcoplasmáticas na desnaturação pela cocção e ou armazenagem sob congelação.	A) Identificação das proteínas envolvidas na formação de agregados insolúveis causados pelo tratamento térmico e ou arma-zenamento sob congela-ção. Avaliação da correlação entre o escore sensorial e as mudanças estruturais a nível molecular. B) Caracterização das sub-unidades das proteínas quanto ao peso molecular e comportamento eletroforético.	Confirmação dos tipos de proteínas que se envolvem nos resíduos desnaturados por efeito do calor ou da congelação. Os resíduos são resolubilizados com SDS/uréia e analisados como proteínas dissolúveis.
TLC FI PAG	A) Identificação dos tipos de espécies usadas em misturas de músculo desintegrado para produção de surimi. B) Determinação de relação taxonômica em espécies de classificação duvidosa. C) Avaliação dos efeitos da seleção genética na composição das proteínas sarcoplasmáticas de peixes e crustáceos para aquicultura	A) Avaliação dos efeitos do jejum prolongado na composição das proteínas musculares de peixes e crustáceos. B) Caracterização das mudanças da composição das proteínas em estados fisiológicos especiais (migração, desova, muda de carapaça, etc.). C) Idem item c das sarcoplasmáticas.	Confirmação dos resultados obtidos com as outras frações proteicas, através da resolubilização dos resíduos e separação dos constituintes por focalização isoeétrica.

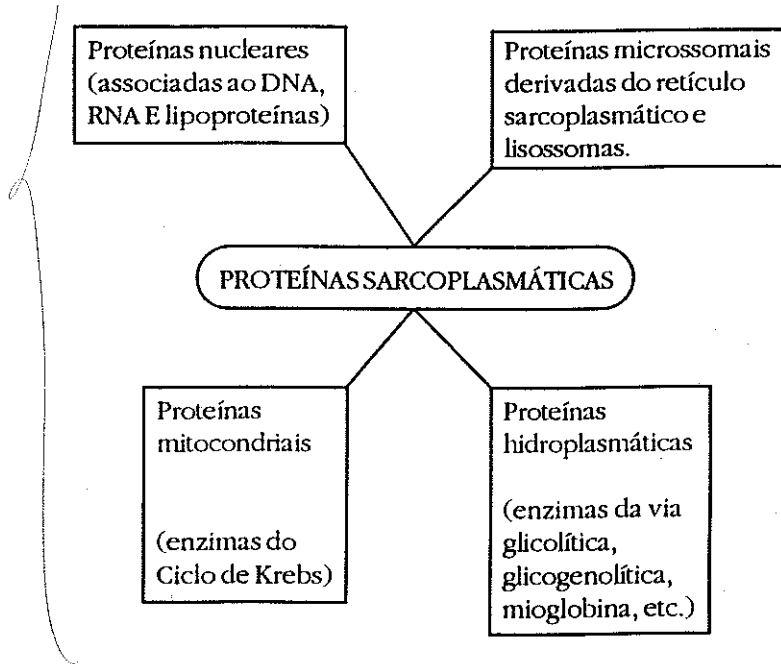
PAGE = Eletroforese em gel de poliacrilamida;

SDS-PAGE = Eletroforese em gel de poliacrilamida com tratamento da amostra e do gel com dodecilsulfato de sódio (SDS);

TLC-FI-PAG = Focalização isoeétrica em placas de cromatografia em camada delgada de gel de poliacrilamida. Inclui também tratamentos do gel e da amostra com SDS, 2-mercapto etanol e ou uréia.

8.2.1. Componentes das proteínas sarcoplasmáticas

De acordo com Sainclivier (1982), as proteínas sarcoplasmáticas podem ser divididas em 4 subgrupos:



O fator comum a todas estas proteínas é possuírem estrutura globular, pesos moleculares relativamente baixos e, mesmo sendo ricas em grupos carregados, terem um momento dipolar pequeno (Jebsen, 1961). Mackie (1980) salienta que o peso molecular, entre 20.000 e 60.000, faz com que elas tenham o tamanho ideal para serem separadas em gel de amido ou poliacríamida.

Devido à pequena variação com o sexo, idade, estação e condições fisiológicas, uma mesma espécie apresenta um esquema relativamente constante de proteínas sarcoplasmáticas, o que tem sido

aproveitado como critério de identidade (Tsuyuki, 1966; Cowie, 1968; Cowie, 1969).

O Food and Drug Administration dos Estados Unidos foi uma das primeiras organizações a aplicar a técnica eletroforética como índice objetivo para a identificação de peixes. Em 1960, Thomson publicou seu método em gel de amido, que foi adotado em 1962, e tem sido usado desde então, assimilando as modificações da eletroforese quanto aos suportes e aparelhagem.

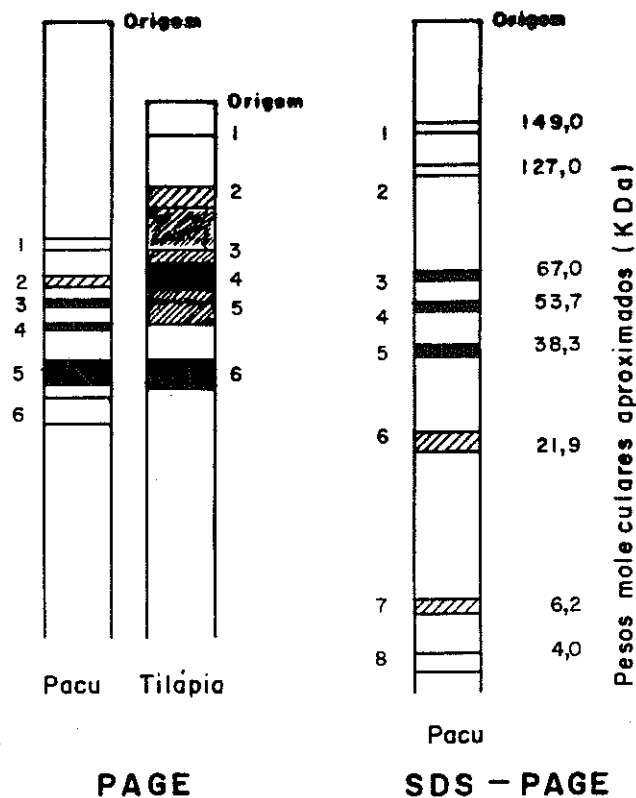
As proteínas sarcoplasmáticas ou miogênicas mencionadas no esquema superior não formam parte do mecanismo contrátil, porém os extratos sarcoplasmáticos geralmente contêm actina, troponina e tropomiosina que formam os miofilamentos porque, após desmontadas do complexo miofibrilar e despolimerizadas, apresentam pesos moleculares na faixa das proteínas solúveis, além de que, no estado de monômeros, têm estrutura globular ou pseudoglobular, com a exceção da tropomiosina. Nos esquemas, são facilmente reconhecíveis pelo comportamento eletroforético mais ou menos regular, a despeito da espécie.

As pesquisas com peixes de água doce são relativamente esparsas. Netto (1984) obteve 6 componentes sarcoplasmáticos da tilápia nilótica, analisada através da estocagem no gelo por 22 dias. Gonçalves (1989) verificou que a fração aquissolúvel do pacu (*Colossoma mitrei*) apresentava também 6 componentes por PAGE simples e 8 componentes por SDS-PAGE. A figura 38 reúne estas pesquisas. No pacu, o componente 3 coincide com a posição que teria a tropomiosina não-desagregada (PM = 68.000) e os componentes 5 e 6 coincidem com as posições das troponinas T e I. O número relativamente pequeno de entidades em SDS-PAGE pode ser interpretado como uma dissociação incompleta no tratamento com SDS. Os compostos de baixo peso molecular seriam protaminas ou produtos da autólise.

Mesmo sem ter sido analisadas simultaneamente, as condições das pesquisas de Netto (1984) e Gonçalves (1989) foram quase que semelhantes, podendo-se aceitar que esquemas de separação de tilápia e pacu permitiriam diferenciá-los em caso de conflito.

Estudos aprimorados das proteínas sarcoplasmáticas de salmão realizadas pro French (1987) mostraram que esta fração apresentava entre 16 - 18 compostos que tinham pesos moleculares entre

18 e 47 kDa. Aparentemente havia actina, α e β -tropomiosina e troponina T acompanhando as outras proteínas típicas do sarcoplasma.



Fonte: Pacu (Gonçalves, 1989);
Tilápia (Netto, 1984).

FIGURA 38 - Separação das proteínas sarcoplasmáticas de pacu e tilápia por eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE), simples e com SDS (só pacu), os pesos moleculares foram calculados com padrões de albumina bovina, ovoalbumina, pepsina e inibidor de tripsina.

Mackie (1980) relata que os extratos aquissolúveis do bacalhau mostram, como máximo, 20 compostos em SDS-PAGE; porém, quando analisados por focalização isoeletrica, é possível visualizar até 40 bandas de proteínas.

O número de entidades protéicas na fração sarcoplasmática poderá aumentar com o avanço das técnicas de separação; porém, para fins práticos (identificação de espécies), a técnica de SDS-PAGE é suficiente para observar as bandas características da espécie em zonas livres de interferentes.

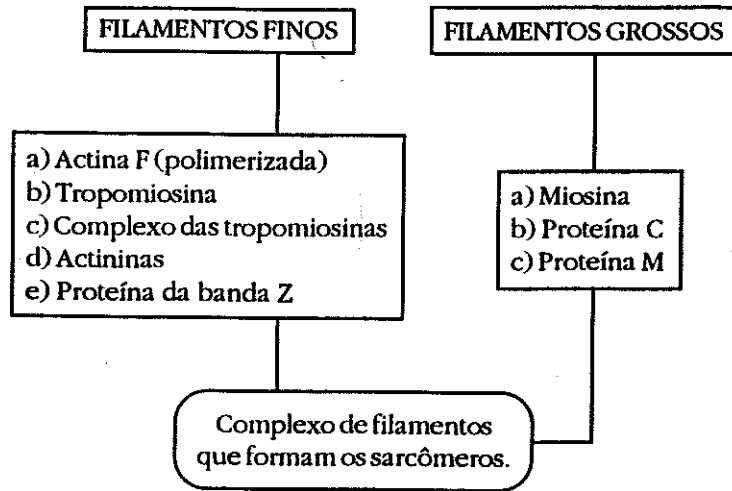
8.2.2. Componentes das proteínas miofibrilares

São obtidas com soluções de força iônica $\sim 0,3$ (normalmente NaCl ou KCl 0,6 M) e pH 7,0 a 7,2 e correspondem, no mínimo, a 8 proteínas, algumas das quais podem ser desagregadas em subunidades. Na célula, estão organizadas em filamentos finos e grossos, cuja interação desencadeia e transmite a contração ao longo dos sarcômeros.

Os componentes miofibrilares têm sido identificados e isolados por vários métodos; porém, foi através da SDS-PAGE e FI-PAGE que se tornou possível ter uma visão simultânea de todos os indivíduos e detectar mudanças de qualquer ordem nos animais e nos produtos deles derivados.

A análise da fração miofibrilar por PAGE simples, como usada com a fração sarcoplasmática fornece esquemas pouco nítidos, porque a dissociação do complexo de filamentos finos e grossos e a despolimerização dos filamentos individuais é apenas parcial. A dissociação incompleta produz inúmeros produtos intermediários nem sempre reproduzíveis, que formam um fundo contínuo, diminuindo a nitidez das bandas principais. O tratamento com SDS, uréia e 2-mercaptoetanol reduz os polímeros ao estado de monômeros, permitindo uma regularização dos esquemas eletroforéticos.

DISTRIBUIÇÃO DAS PROTEÍNAS MIOFIBRILARES



French (1987) demonstrou que os componentes miofibrilares do Alaska Pollack, um peixe de águas frias, analisado por SDS-PAGE, apresentava, no mínimo, 18 componentes, dos quais 9 foram identificados com padrões autênticos de miosina, actina, actinina, α e β -tropomiosina e as troponinas T, I e C.

O resíduo que não solubilizou em NaCl 0,6 M, porém, que foi solubilizado por aquecimento com SDS, mostrou estar formado principalmente por actina e miosina, porém também apresentou pequenas quantidades de actinina, β -tropomiosina e traços de cadeias leves de miosina.

Um apanhado geral do conhecimento sobre proteínas miofibrilares deduzido de estudos em SDS-PAGE, ultracentrifugação, filtração molecular e outros métodos permitem organizar um esquema compreensivo sobre o peso molecular e características estruturais das proteínas miofibrilares, de peixes e outros animais, que é mostrado na tabela 28.

TABELA 28 - Pesos moleculares das proteínas e das subunidades polipeptídicas da fração miofibrilar dos músculos de peixes e animais de sangue quente.

PROTEÍNAS	SUBUNIDADES POLIPEPTÍDICAS	PESO MOLECULAR DAS SUBUNIDADES (kDa)	PESO MOLECULAR DO COMPLEXO (kDa)
Miosina	2 cadeias pesadas iguais	200 ^a - 200 ^a	
	2 cadeias leves P ₁ e P ₂ iguais	20 ^a - 25 ^b	
	1 cadeia leve alcali A ₁	16 ^a - 17,5 ^b	480 ^a - 480 ^c - (470 - 500) ^c
	1 cadeia leve alcali A ₂	16 ^a - 16 ^b	
Actina G	Não tem sido demonstradas		42 ^a - 43 ^d - 47 ^e
Tropomiosina	1 cadeia α -tropomiosina	34,0 ^c	
	1 cadeia β -tropomiosina	36,0 ^c	68 ^c - 70 ^a - 68 ^f
Troponina	Troponina C	18 ^a - 18 ^c	
	Troponina I	24 ^a - 21 ^c	70 ^a
	Troponina T	37 ^a - 37 ^c	
α -Actinina	1 cadeia α_1 -actinina		
	1 cadeia α_2 -actinina		102 ^c
	1 cadeia α_3 -actinina		
β -Actinina	1 cadeia β_1 -actinina	37,0 ^c	
	1 cadeia β_2 -actinina	37,0 ^c	70 ^c
Proteína C	Não tem sido demonstrada		140 - 135 ^c
Proteína M α	Não tem sido demonstrada		193 ^c
Proteína M β	Não tem sido demonstrada		182 ^c

- a) Rawn (199);
 b) Takashi et al. (1974);
 c) Susuki (1982);
 d) Sakakibara e Yagi (1970);
 e) Sainclivier (1982), citando Chichester (1980);
 f) Woods et al. (1963);
 g) Rees e Young (1967).

8.2.2.1 Características e funções das proteínas individuais

a) Miosina: A molécula de miosina é um oligômero composto por duas cadeias polipeptídicas iguais, cada uma possuindo região reta (vareta) com estrutura de α -hélice que termina numa região globular (cabeça).

Na cabeça, há duas cadeias polipeptídicas diferentes (a e b) localizadas especificamente. A molécula forma-se pela torção das duas cadeias polipeptídicas na zona reta, formando uma dupla α -hélice que termina com duas cabeças, como é mostrado no desenho esquemático da figura 39.

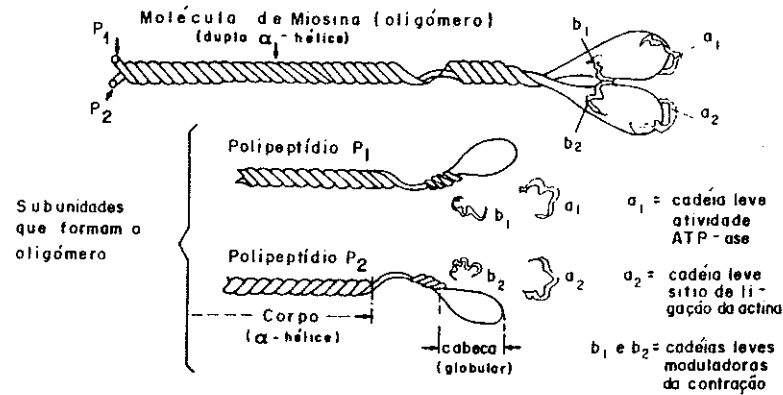
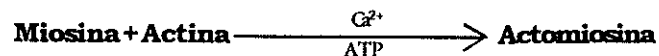


FIGURA 39 - Idealização gráfica da molécula de miosina. Pesos moleculares das subunidades aparecem no texto.

Os polipeptídeos pequenos b₁ e b₂ são iguais e, aparentemente, têm a ver com a regulação da resposta contrátil (Weeds et al., 1971). O polipeptídeo a₁, chamado de cadeia álcali a₁, possui atividade de ATP-ase, ligando tanto o ATP quanto o ADP:



O polipeptídeo a₂ é o sítio de ligação da miosina com a actina:



A parte reta da molécula (vareta), aparentemente, serve como eixo transmissão da contração, estando desprovida de funções enzimáticas.

Quando a miosina é tratada com agentes dissociantes (SDS, uréia, mercapto etanol), os polipeptídeos b₁ e b₂ e a₁ e a₂ separam-se

das cabeças e a dupla α -hélice se desfaz, liberando os dois polipeptídeos pesados, formados pela vareta e pela cabeça que, por terem sido desprovidos das cadeias leves a e b, apresentam um peso molecular de 200 kDa cada um. O esquema eletroforético da miosina mostrará 4 bandas: uma na zona de 200 kDa, outra na de 20 kDa (b₁ + b₂) e duas na zona de 16 - 17 kDa, pois a₁ e a₂ são diferentes.

Tem sido relatado que a miosina do músculo vermelho e do coração, tratada com SDS, só mostra 3 bandas eletroforéticas. Esses músculos, tipicamente aeróbicos, apresentam também diferenças nas propriedades enzimáticas de ATP-ase, insinuando-se uma adaptação da molécula de miosina para funções específicas (Weeds et al., 1971).

Ainda que a miosina dos peixes seja semelhante à dos mamíferos terrestres quanto às subunidades estruturais, peso molecular e composição de aminoácidos, existem algumas diferenças sutis que sugerem adaptações genéticas das espécies para otimizar sua performance no tipo de "habitats" em que se desenvolvem. A este respeito, a tabela 29 reúne as semelhanças e diferenças das miosinas de alguns animais de sangue quente e de peixes (sangue frio).

As comparações da tabela 29 permitem concluir que a miosina de alguns peixes é de um modo geral mais lábil que a de coelho; porém, há exceções notáveis, como a miosina de atum e bonito-de-barriga-listrada (Brown, 1986; Chung et al., 1967), e a miosina de alguns peixes tropicais que são quase tão estáveis quanto a miosina de coelho.

Com referência à miosina de lagosta, Tomoioka et al. (1975) concluíram que apresentava propriedades muito próximas das dos animais de sangue quente. As informações sobre miosina de crustáceos e moluscos são esparsas e, face ao desenvolvimento da carcinocultura e da aceitação crescente da carne de lula, a necessidade de pesquisa nesta área torna-se mais importante.

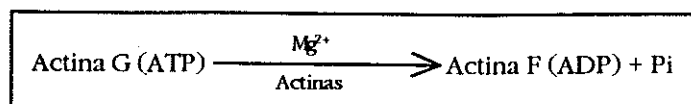
b) Actina: Perfaz entre 20 e 25% das proteínas miofibrilares e junto com a miosina (55 - 60%) constituem o maior conglomerado de proteínas dos miofibrilos.

Na forma monômera (actina G), tem estrutura globular e liga ATP ou ADP como grupo prostético, na relação 1:1 (nucleotídeo:proteína).

TABELA 29 - Comparação entre miosinas de animais terrestres e de peixes.

PROPRIEDADES	COMPORTAMENTO
Atividade de ATP-ase (Hidrólise de ATP)	É menor na maioria dos peixes, com a notável exceção dos atuns e bonito-de-barriga-listrada, que têm valores semelhantes aos dos mamíferos terrestres (Takashi, 1973; Susuki, 1981).
Ativação da ATP-ase por Ca^{2+} e inibição por Mg^{2+}	Aparentemente não há diferenças entre peixes e animais de sangue quente. Porém falta testar um maior número de peixes (Takashi, 1973).
Estabilidade térmica da miosina, avaliada pela diminuição da atividade da ATP-ase	O tratamento térmico afeta mais severamente a miosina de peixes que a de coelho. Entre os peixes, os de "habitat" mais frios sofrem maior desnaturação (Hasein et al., 1976; Arai et al., 1976; Yabe et al., 1978; Susuki, 1981).
Velocidade de agregação da miosina em solução a 0°C	A formação de dímeros e polímeros é mais rápida nos peixes magros de carne branca que nos peixes gordos; de qualquer modo, as miosinas de bovino, coelho e galinha agregam-se mais lentamente que as dos peixes (Connell, 1960).
Digestão por proteases	É mais rápida na miosina dos peixes (Connell, 1960 e 1961).
Efeito de agentes desnaturantes como uréia, guanidina e outros	A desnaturação é mais severa nas miosinas de peixes, afetando a atividade da ATP-ase, número de SH livres, rotação específica e outros parâmetros (Connell, 1961).
Solubilidade em NaCl ou em tampão fosfato	A miosina e actomiosina dos peixes solubilizam-se em solução de força iônica ligeiramente mais baixa que a necessária para as proteínas de coelho ($m = 0,25$ para miosina de peixes e $0,30$ para coelho). Dyer e Dingle (1961).
Composição de aminoácidos e números de resíduos SH	Aparentemente não há diferenças nestes aspectos, porém há dados discrepantes (Kielly e Harrington, 1960; Woods et al., 1963; Buttus, 1964; Kimura et al., 1965; Takashi, 1973; Susuki, 1981).

A transformação em actina polímera (actina F) ocorre pela adição de vários centos de actina G, sendo catalisada por Mg^{+2} e outros fatores não exatamente esclarecidos:



O Mg^{+2} atua como ponte, ligando as moléculas de actina no sítio do ATP. O filamento fino de actina forma-se pela torção de duas actinas F, formando uma α -hélice.

Polter et al. (1985) usaram métodos calorimétricos (Differential Scanning Calorimetry) para avaliar a estabilidade térmica da actina extraída de bacalhau, siganus e tilápia, não encontrando diferenças entre as 3 espécies, concluindo que o "habitat" não influia no comportamento da actina. A variação da solubilidade acompanhou os resultados dos testes calorimétricos.

Sainclivier (1982) cita que a actina de bacalhau e de coelho eram semelhantes quanto ao peso molecular, comportamento de ATP-ase e composição de aminoácidos.

c) Actomiosina: É um complexo de actina e miosina que, provavelmente, existe pré-formado na própria célula em quantidades variáveis. Durante a extração das proteínas miofibrilares com NaCl ($\mu \approx 0,6$ M), actina e miosina continuam a reagir, formando soluções de actomiosina que podem ser gelificadas por diluição do NaCl até $\mu \approx 0,15$ M. No estado de gel, a adição de ATP causa violenta floculação, chamada de **superprecipitação**, uma reação que poderia representar algo próximo do que acontece na contração. A actomiosina em solução é capaz de hidrolisar ATP com a conseqüente liberação das duas proteínas.

Uma relação 2:1 entre actina e miosina (A:M) produz a máxima atividade de ATP-ase (Bodwell e Mc Clain, 1971). Nos extratos musculares, as relações A:M são muito dependentes do método de preparação, além de que contêm algo de tropomiosina e troponina. O comportamento bioquímico da actomiosina natural é algo diferente do da actomiosina preparada em laboratório (proteína pura). A actomiosina tem pesos moleculares de vários milhões, ficando excluída do gel de poliacrilamida, que só admite moléculas com peso molecular inferior a 200 kDa. O tratamento com SDS dissocia a actomiosina nas unidades polipeptídicas elementares, permitindo conhecer os teores de actina e miosina.

d) Tropomiosina: É uma proteína filamentosa, formada por duas cadeias polipeptídicas enroladas rigidamente como α -hélice.

Os teores baixos de aminoácidos aromáticos e a quase ausência de prolina (Cummings e Perry, 1974) permitem que as cadeias individuais tenham praticamente 100% de α -hélice e apresentem uma estabilidade térmica maior que as outras proteínas, facilitando sua purificação. Susuki (1981) salienta que as composições de aminoácidos das tropomiosinas de carpa, bacalhau, lampréia, tubarão, raia, espada e vieira são praticamente semelhantes.

e) Troponinas: As 3 formas moleculares (C, I e T) atuam organizadas num complexo, no qual, a troponina I tem a função de ligar-se com a tropomiosina, a troponina T inibe a atividade de ATP-ase da actomiosina

M+A
b
AOM

e a troponina C é o sítio de ligação do Ca^{+2} (Rawn, 1989).

As 3 troponinas têm pesos moleculares diferentes que estão bem estabelecidos para mamíferos, embora haja diferenças relativamente grandes com alguns valores publicados para peixes, particularmente se confrontadas com a grande semelhança observada para actina e tropomiosina de mamíferos e peixes. É provável que a obtenção e o método de determinação do peso molecular afetem mais as troponinas do que as outras proteínas.

f) Actininas: São proteínas globulares de composição aminoacídica próxima da actina, com a qual se ligam, provavelmente, através de enlaces cruzados na vizinhança da linha Z (Gall et al., 1969). A função reguladora tem sido demonstrada na aceleração da polimerização da actina G para actina F (Price e Schweigert, 1971).

g) Proteína M: Tem sido isolada da região central dos filamentos grossos. A função reguladora parece ser a aceleração da associação lateral das miosinas para formar os filamentos grossos (Masaki et al., 1968).

h) Proteína C: Existe associada à estrutura helicoidal da miosina e da actina F, como um elemento de amarração dos componentes individuais da hélice (Chichester, 1980; Sainclivier, 1982).

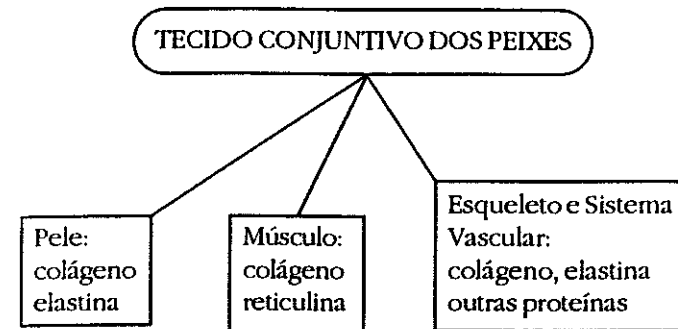
O arranjo das proteínas miofibrilares em filamentos finos e grossos e o mecanismo de contração parece ser, nos peixes, semelhante ao dos mamíferos; portanto, este assunto tem sido abordado amplamente em textos sobre ciência da carne e bioquímica geral.

8.2.3. Componentes das proteínas estromáticas

O estroma é formado pelas membranas separatórias externas (miosepta, perimísio e endomísio), pelas fibras elásticas dentro da célula e pelos fragmentos de artérias e ligamentos que poderiam acompanhar o tecido muscular.

A quantidade e as propriedades químicas e físicas do estroma têm uma importância dramática na resistência ao manuseio antes do processamento e estão associadas ao fenômeno de desgarramento (gapping) e murchamento (mushiness). A cocção excessiva dos peixes, causa a desintegração da carne em flocos, depreciando a textura.

O tecido conjuntivo dos peixes encontra-se distribuído em várias partes do corpo, sendo formado principalmente por colágeno.



Colágeno da pele e bexiga: A pele tem um teor elevado de colágeno que, no bacalhau, atinge 2,8 g de N-colágeno por 100 g de pele (Nasedkina e Pakhomova, 1972). Face a que a pele tem em média 5,11 g de N-total; 55% de N-total correspondem ao colágeno. Valores semelhantes ao bacalhau foram encontrados na merluza, alaska pollock, miragaia e outros peixes.

A bexiga natatória é feita de um colágeno característico chamado **Ictiocoll**, com propriedades muito próximas do protocógeno dos animais terrestres (Jacquot, 1961). Este material teve aplicações importantes no passado como clarificante de bebidas fermentadas.

O teor de colágeno de carne bovina pode ser obtido sem grande erro, multiplicando a percentagem do OHPro pelo fator 8. Este fator resulta da divisão $100,0:12,5$ onde o denominador é a percentagem média de OHPro do colágeno purificado. Nos peixes não é correto utilizar o fator 8, pois a percentagem de OHPro é menor, e o fator deveria ser maior.

Nesta situação, é recomendável considerar como base a percentagem de OHPro, sem aplicar o fator de conversão como é

mostrado na tabela 30 que inclui também outros compostos de interesse na caracterização de colágenos de bovinos e peixes.

TABELA 30 - Teores de hidroxiprolina (OHPro) e triptofano (Trp) na pele, bexiga natatória e músculo de peixes brasileiros (resultados expressos em base seca).

AMOSTRAS	PROTEÍNA		OHPro (g/100 g Prot.)	Trp (g/100 g Prot.)	Colágeno/100 g Prot. (OHPro x 8)
	(N x 6,25)	(N x 5,55)			
Pele de pescadinha	102.2	90.7	7.15	0.094	—
Pele de merluza	103.4	91.9	6.54	0.094	—
Pele de pacu	100.0	88.8	8.93	0.088	—
Pele de tilápia	101.3	90.0	8.60	0.091	—
Bexiga de pacu	92.40	82.05	6.54	0.38	—
Bexiga de merluza	90.21	80.11	6.29	0.41	—
Filé de pescadinha	87.9	—	0.24	1.17	—
Filé de merluza	91.3	—	0.23	1.06	—
Filé de tilápia	87.2	—	—	1.15	—
Colágeno bovino**	103.3	91.69	11.58	0.093	92.64
Músculo bovino**	85.3	—	0.46	1.13	3.68

Fonte: Laboratório de Pescados FEA/UNICAMP.

* - A pele, bexiga e colágeno bovino foram picados e lavados com NaCl 0,6N por 12 horas e logo enxaguados com água destilada e desidratados e desengordurados com acetona.

** - Obtidas do contra-filé (Psoas Major), a camada externa conhecida como bainha, serviu de fonte de colágeno.

Os resultados da tabela 30, ainda que sem valor estatístico, estão de acordo, no geral, com os dados da literatura que relatam teores menores de OHPro no colágeno dos peixes marinhos que no do bovino. Um pouco diferente foi o resultado com peixes de água doce tropicais que mostraram mais OHPro que os marinhos, porém ainda inferiores ao valor do colágeno bovino (11,58%). Quanto à percentagem de OHPro dos filés de peixe (carne), o teor de OHPro é muito baixo (0,24% B.S.), de acordo com a maciez típica dos peixes e de algumas carnes bovinas.

Tem sido relatado que os peixes e crustáceos marinhos apresentam colágenos mais ricos em triptofano, o que é nutricionalmente muito importante (Nasedkina e Pakhomova, 1972). No caso do colágeno da pele, nenhum dos peixes apresentou teores razoavelmente altos, ficando apenas na faixa de 0,09%, exatamente igual ao valor do colágeno bovino (0,09%). Porém, o colágeno da bexiga apresentou

percentagens de triptofano relativamente altas, em torno de 0,4%. Este fato sugere que possam existir colágenos com teores altos em outras partes do corpo que não a pele.

Nos crustáceos marinhos, o papel do triptofano no colágeno parece estar associado à maior solubilidade em água quente e à menor temperatura de gelatinização. O aumento de triptofano ocorre concomitante com uma diminuição da prolina e hidroxiprolina, permitindo admitir que essa substituição poderia afetar a estrutura helicoidal do colágeno e dali, suas propriedades de solubilidade e resistência (Thompson e Thompson, 1968).

Colágeno nos músculos: Nasedkina e Pakhomova (1972) determinaram o teor de colágeno em 20 espécies de peixes, constatando que 2,6% das proteínas totais (ou 0,44% do músculo) eram colágeno.

A **conectina** é o principal componente da estrutura do estroma. Encontra-se formando parte das fibras elásticas dos músculos vermelhos e dos claros. Na sardinha (*Sardinella melanostica*), foram determinados 0,9 e 2,0% de conectina para cada tipo de músculo, respectivamente (Hashimoto et al., 1979).

A **reticulina** é a proteína do retículo sarcoplasmático. Não está esclarecido se ela é semelhante ao colágeno, pois, mesmo que ambas as proteínas tenham resíduos de carboidratos ligados à hidroxiprolina, a reticulina apresenta-se associada a lipídios altos em ácido mirístico e tem fibras mais curtas (Sainclivier, 1982).

Uma das características do colágeno é sua tendência ao encolhimento quando aquecido moderadamente, tornando-se solúvel em temperaturas próximas da ebulição. A temperatura de encolhimento parece estar relacionada com o "habitat". Assim, a pele de tubarões de águas tropicais (cação azul, mako e raposa) encolhe-se entre 52 e 53°C, a de tubarões de águas temperadas (cação-bagre), a 43°C e a de animais de águas frias, a 35°C (Takahashi e Yokoyama, 1954). Este fenômeno de adaptação ficou também patente em estudos sobre estabilidade térmica de colágeno de siganus, tilápia e bacalhau, onde a espécie de "habitat" mais quente (tilápia) mostrou maior estabilidade (Poulter et al., 1985).

Elastina: É pouco relevante nas características do músculo de peixes como alimento, já que representa apenas 1/10 do teor de colágeno (Sainclivier, 1982), isto é, em torno de 0,25% das proteínas totais. Nos tratamentos com calor úmido, apenas se hidrata sem formar gelatina, característica típica do colágeno.

8.2.4. Composição de aminoácidos dos músculos de peixes, crustáceos e moluscos

A carne dos peixes tem uma composição excelente de aminoácidos que espelha a composição da miosina, a principal proteína dos músculos animais.

Na figura 40A, aparecem desenhados no plano horizontal os aminoácidos da miosina de bacalhau (Connell e Howgate, 1959), um peixe gadídeo típico. No plano vertical, aparece a composição média do músculo de vários peixes gadídeos (FAO, 1982). Pretende-se, com este tipo de gráfico, visualizar rapidamente se ambas as composições são próximas ou distantes. A simetria perfeita indica semelhança total. Na figura 40A, a simetria não é perfeita, porém é muito próxima, indicando que as proteínas da carne refletem a composição da miosina que é rica em ácido glutâmico (22,5%), ácido aspártico, lisina e leucina que, juntos, perfazem em torno de 55% dos aminoácidos totais.

Em comparação com a miosina, a actina e actininas têm teores maiores de aminoácidos aromáticos e prolina e menores aminoácidos ácidos e básicos. A proteína miofibrilar mais incomum quanto à composição de aminoácidos, é a tropomiosina que quase não tem prolina e teores elevados de ácido glutâmico e aspártico não contrabalançados com aminoácidos básicos.

Na figura 40B, são confrontadas as composições de aminoácidos do colágeno intramuscular e da miosina, ambas as proteínas extraídas de bacalhau.

Resulta evidente que a falta de simetria da figura se deve não apenas às grandes diferenças quantitativas nos teores de glicina, ácido glutâmico, ácido aspártico, prolina, treonina, fenilalanina e outros aminoácidos, senão à presença de hidroxiprolina e hidroxilisina de maneira exclusiva no colágeno.

A composição de aminoácidos do colágeno de vários peixes sugere que eles devam possuir um valor biológico maior que o dos bovinos, pois contém 43% a mais de aminoácidos essenciais (Sikorski, 1984). Também existem diferenças entre o colágeno dos peixes e o dos crustáceos, o qual contém menos prolina, alanina, glicina e lisina, e teores semelhantes de OHPro e OHLis. O teor de glicina é apenas 50% do valor dos peixes, porém tem muito mais Trp, um aminoácido de maior valor, normalmente excasso na maioria dos alimentos protéicos.

Nipet al. (1981) comentam que a estabilidade da triplíce α -hélice do colágeno é devida ao elevado teor de Gli (33%) que ocorre a cada 3 resíduos na cadeia e também aos teores relativamente altos de OHPro e OHLis, que permitem a fibrinogênese e as ligações inter e intramoleculares. Após analisar o colágeno do *Macrobrachium rosenbergii*, os autores concluem que uma estrutura como a do colágeno bovino é incompatível com a composição de aminoácidos deste crustáceo. Esta conclusão pode ser generalizada para o colágeno de crustáceos marinhos que também contém Trp, provavelmente substituindo a OHPro e OHLis. O enrolamento da hélice de maneira diversa, provavelmente, reflete-se na maior solubilidade do colágeno marinho e na menor propensão ao envelhecimento.

Mesmo que o colágeno marinho apresente mais aminoácidos essenciais que o de bovino, no filé completo é a miosina que fornece teores altos de lisina, metionina e outros aminoácidos críticos para o balanceamento de dietas de cereais, como é demonstrado na figura 40B.

A diferença de composição de aminoácidos entre miosina e colágeno é marcante, de modo que a prevaência de uma ou de outra, num tecido, define o padrão de aminoácidos do mesmo. Entretanto, o colágeno só é abundante na pele; no músculo, é menos relevante.

O colágeno é mais alto em Gli (21%), Ar (9,2%), Pro (9,0%), OHPro (4,8%), OHLis (1,2%), enquanto que a miosina é mais alta em ácido Glu (21,3%), Lis (10,5%), ácido Asp (11,3%), Leu (10,1%), Ileu (4,6%) e Tre (4,3%).

A tabela 31 apresenta a composição de aminoácidos do músculo de 2 espécies nativas de água doce e uma aclimatada, 2 espécies marinhas típicas e os valores médios para carne bovina e peixes, recompilados pela FAO (1981).

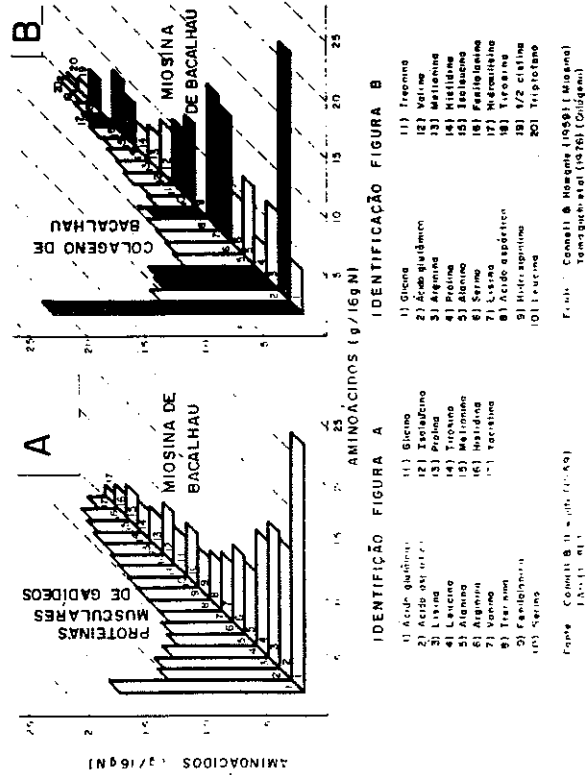
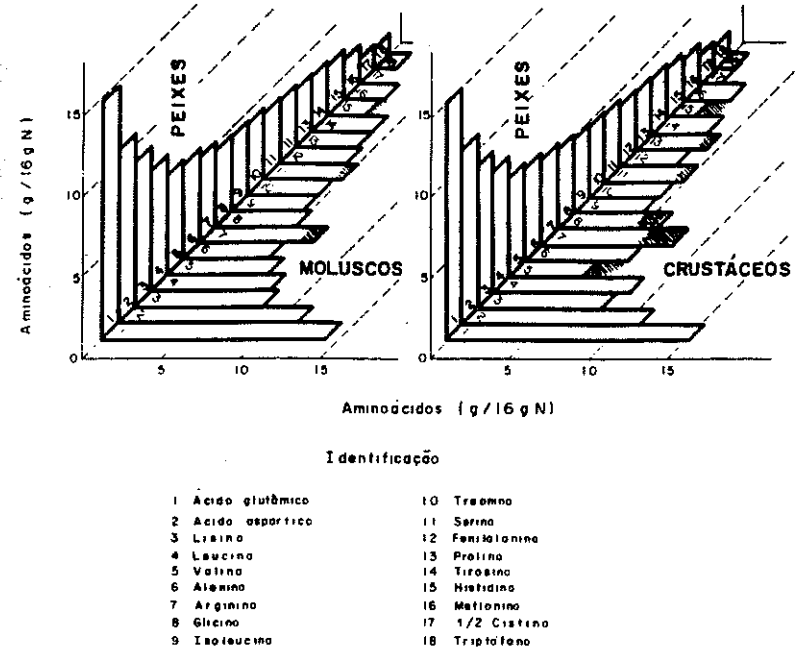


FIGURA 40 - Comparação entre a composição de aminoácidos de proteínas para salientar o grau de semelhança entre elas. Quanto maior a simetria, maior é o grau de proximidade composicional, entre proteínas. O gráfico A é quase simétrico, porém o B é completamente assimétrico. As diferenças são salientadas em preto.



Fonte: figura montada com dados da F.A.O. (1981).

FIGURA 41 - Comparação entre a composição de aminoácidos de músculo de pescados. O arranjo dos amino-ácidos dos pares: Peixe Molusco e Peixe/Crustáceo resultam em figuras de grande simetria, apenas quebrada porque os invertebrados tem teores algo maiores de arginina e serina e menores de histidina (áreas sombreadas).

8.3. Referências Bibliográficas

- ACTON, J.C., RUDD, L.C.H. Protein quality methods for seafoods. In: Seafood quality determination. Ed. D.E. Kramer and J. Liston. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.453-496 (1987).
- AN, H., MARSHALL, M.R., OTWELL, W.S., WEI, C.I. Species identifications of raw and cooked shrimp by a urea gel isoelectric focussing technique. *J. Food Sci.* **54**:233 (1989).
- ARAI, K., HASNAIN, A., TAKANO, Y. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **42**:687-95 (1976).
- BODWELL, C.E., McCLAIN, P.E. Chemistry of animal tissues: proteins. In: The science of meat and meat products. Ed. J.F. Price and B.S. Schweigert, W.H. Freeman and Company, San Francisco, USA, pp.78-133 (1971).
- BROWN, W.D. Fish muscle as food. In: Muscle as food. Ed. P.J. Bechtel, Academic Press Inc., Orlando, USA, pp.405-51 (1986).
- BUTTKUS, H. *J. Fish Res. Bd. Can.* **24**:1607-12 (1964).
- BYROWSKY, P., KOLDZIEJSKI, W., PIELICHOWSKI, J., KARNICKI, Z. Preliminary estimates on the quality and shelf life of krill meat. In: Advances in fish science and technology. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Scotland, Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, England, pp.308-11 (1980).
- CHICHESTER, C.O. Advances in food research. Ed. Academic Press, New York (1980).
- CHUNG, C.S., RICHARDS, E.G., OLCOTT, H.S. Purification and properties of tuna myosin. *Biochemistry.* **6**:3154-61 (1967).
- CONNELL, J.J. Studies on the protein of skeletal muscle. Eletrophoretic analysis of low ionic strength extracts of several species of fish. *Biochem. J.* **55**:378-88 (1953).
- CONNELL, J.J. *Biochem. J.* **75**:530-8 (1960).
- CONNELL, J.J. The stabilities of the skeletal muscle proteins of some animals. *Biochem. J.* **80**:503-9 (1961).
- CONNELL, J.J., HOWGATE, P.F. Studies on the proteins of fish skeletal muscle. 6: Aminoacid composition of cod myofibrillar proteins. *Biochem. J.* **71**:83-6 (1959).
- COWIE, W.P. Identification of fish species by thin-slab polyacrilamide gel electrophoresis of the muscle myogens. *J. Sci. Food Agric.* **19**:226-9 (1968).
- CUMMINS, P., PERRY, S.V. *Biochem. J.* **141**:43-9 (1974).
- DALL, W., SMITH, D.M. Changes in protein bound and free aminoacids in the muscle of tiger prawn (*Penaeus esculentus*) during starvation. *Marine Biology* **95**:509-20 (1987).
- DRAETTA, I. dos S., IADEROZA, M., BALDINI, V.L.S., LOBO FILHO, M. Padrões eletroforéticos na identificação de espécies de peixes. *Coletânea ITAL, Campinas, Brasil* **15**:141-70 (1985).
- DYER, W.J., DINGLE, J.R. Fish proteins with special reference to freezing. In: Fish as food. Ed. B. Borgstrom, Academic Press, New York, Vol.1, pp.275-327 (1961).
- DYER, W.J., FRENCH, H.V., SNOW, J.M. Protein in fish muscle. I: Extraction of proteins fractions in fresh fish. *J. Fish Res. Bd. Can.* **7** (10): (1950).
- F.A.O. Conteúdo de aminoácidos dos alimentos e dados biológicos sobre proteínas. 3ª ed. (1981).
- FRENCH, J.S. Postmortem changes in muscle proteins structures as fish quality indices. In: Seafood quality determination. Ed. D.E. Kramer and J. Liston, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.137-52 (1987).
- GOLL, D.E., MOMMAERTS, H.M., KEEDY, M.K., SERAYDARION, K. Studies on α -actinin-like proteins liberated during trypsin digestion of α -actinin and myofibrils. *Biochem. Biophys. Acta* **175**:174 (1969).
- GONÇALVES, M.S.M. Composição em nutrientes e caracterização das proteínas do filé do pacu (*Colossoma mitrei* Berg, 1895). Tese de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1989).
- HAMILTON, W.D. Fish species identification by thin layer agarose isoelectric focussing and densitometric scanning. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **65**:119 (1982).
- HASHIMOTO, K., YAMAGUCHI, K., WATANABE, S. Developing technology of utilization of small pelagic fish. Fisheries Agency Japan, pp.63-81 (1979).
- HASNAIN, A., TAMURA, H., ARAI, K. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **42**:783-91 (1976).
- HUANG, T., CHEN, J.S., MARSHALL, M.R., WEI, C.H. Quantification of shrimp in shrimp-surimi mixtures using urea isoelectric focussing. *J. Food Sci.* **55**(6):1206-9 (1990).

- INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP). Catálogo tecnológico de las principales materias primas pesqueras. Chile. Ed. IFOP-CORFO, Santiago de Chile, 1983, 165p.
- JACQUOT, R. Organic constituents of fish and other aquatic animal foods. I. In: Fish as food. Vol. I, Ed. G. Borgstrom, Academic Press, New York (1961).
- JEBSEN, J.W. Proteins in fish muscle. In: Fish in nutrition. Ed. E. Heen and R. Kreutzer, Fishing News Books Ltd., London, pp.69-72 (1962).
- KIELEY, W.W. The biochemistry of muscle. Ann. Rev. Biochem. **33**:403 (1964).
- KIMURA, S., NAGAOKA, Y., KUBOKA, A. Studies on marine invertebrate collagen: 1. Some collagen from crustaceans and molluscs. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **35**:743 (1965).
- KOLANOWSKY, E. Comparison of krill and antarctic fish with regard to protein stability. Z. Lebens Unters Forsch **188**:419-25 (1989).
- LEVY, J.A., CORRADI, C.E., SANTO, M.E., QUINTINO, L.A. Identificação de enlatados de atuns e bonitos através de padrões de eletrofoque. Boletim SBCTA, **23**:115-24, Campinas Brasil (1989).
- LORIENT, D. Les propriétés des protéines animales. In: Protéines Animales. Coordonateurs C.M. Bourgeois et P. Le Roux, Technique et Documentation Lavoisier, Paris, pp.8-36 (1982).
- LEINOT, A., CHEFTEL, J.C. Influence of fishing season and of chilled or frozen storage of sardine on the solubility and gelling properties of myofibrillar proteins. In: Chilling and freezing of new fish products. Ed. International Institute of refrigeration, Paris, France, pp.37-51 (1990).
- LUNDSTRON, R.C. Fish species identification by thin layer polyacrilamide gel isoelectric focussing collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **63**:69 (1980).
- LUNDSTRON, R.C. Identification of fish species by thin layer polyacrilamide gel isoelectric focussing. Fish Bull. **75**:571-6 (1977).
- MACKIE, I.M. A review of some recent applications of electrophoresis and isoelectric focussing in the identification of fish in fish and fish products. In: Advances in fish science and technology. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Scotland. Fishing news Books Ltd., Farnham, Surrey, England, pp.444-50 (1980).
- MACKIE, I.M. Identification of fish species by a modified polyacrilamide disc. electrophoresis technique. J. Ass. Publ. Anal. **7**:83-7 (1969).

- MAI, J., SHELTY, J.K., KAN, T.M., KINSELLA, J.E. Protein and aminoacid composition of selected freshwater fish. J. Agric. Food Chem. **28**:884-95 (1980).
- MAIA, E.L., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., AMAYA, F.J. Proximate fatty acid and aminoacid composition of the brazilian freshwater fish *Prochilodus Scrofa*. Food Chem. **12**:275-86 (1983).
- MASAKI, T., TAKAITI, O., EBASHI, S. M-substance, a new protein constituting the M-line of myofibrils. J. Biochem. (Tokyo) **64**:909 (1968).
- MATSUMOTO, J.J. Bull. Tokai Reg. Fish Res. Lab. **20**:65-75 (1958).
- MATSUMOTO, J.J. In: Chemical determination of proteins. Ed. J.R. Whitaker and M. Fujimaki. Am. Chem. Soc. Wash. DC, pp.95-124 (1980).
- MEINKE, W.W., RAHMAN, M.A., MATTIL, K.F. Some factors influencing the production of protein isolates from whole fish. J. Food Sci. **37**:195-8 (1972).
- MILLER, E.J., MARTIN, G.R., PIEZ, K.A. The utilization of lysine in the biosynthesis of elastin crosslinks. Biochem. Biophys. Res. Commun. **17**:248 (1964).
- NASEDKINA, E.A., PAKHOMOVA, T.V. O soderzhanii oksiprolina; triptofana w myase nekotorykh ryb. Rybnoe Khozyaistovo **10**:69 (1972).
- NIP, W.K., ZEIDAM, M.K., MOY, J.H. Aminoacid profile of insoluble collagen isolated from freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. Food Sci. **46**:1633-4 (1981).
- NISHOKA, F., TOKUNAGA, T., FUJIWARA, T., YOSHIOKA, S. Development of new leaching technology and a system to manufacture high quality frozen surimi. In: Chilling and freezing of new fish products. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France, pp.123-30 (1990).
- PERIGREEN, J.J., SURENDRAN, P.K., GOPAKUMAR, K. Ice storage characteristic of cultured major carps of india. In: Chilling and freezing of new fish products. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France, pp.147-59 (1990).
- POULTER, R.G., LEDWARD, D.A., GODBER, S., HALL, G., ROWLANDS, B. Heat stability of fish muscle proteins. J. Food Tech. **20**:205-17 (1985).
- RAWN, J.D. The structure of biological membranes. In: Biochemistry,

- pp.209-32 (Chapter 9). Neil Patterson Publishers, Caroline Biological Supply Company, Burlington, North Caroline, USA (1989).
- REES, M.K., YOUNG, M. Studies on the isolation and molecular properties of homogeneous globular actin. Evidence for a single polypeptide chain structure. *J. Biol. Chem.* **242**:4449 (1967).
- ROMO, C.R., ANDERSON, C.S. Determination of optimum parameters for protein isolation from krill (*E. superba*) waste products. *J. Food Sci.* **44**:1425 (1979).
- SAINCLIVIER, M. In: *L'industrie alimentaire halieutique*. Ed. Sciences Agronomiques, Rennes, France (1983).
- SAKAKIBARA, I., YAGI, K. *Biochem. Biophys. Acta* **207**:178-83 (1970).
- SIKORSKI, Z.E. The role of collagen in the quality and processing of fish. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **20(4)**:301-43 (1984).
- SILVA, C., CONTRERAS, E. The nature of heat damage in anchovy meals. *Fishing News International*, August:44-50 (1967).
- STILLINGS, B.R., THOMPSON, M.H. Dietary role of fish and shellfish. In: *Our changing fisheries*. Ed. S. Shapiro, US Government Printing Office, Washington, pp.40-55 (1971).
- SUZUKI, T. Characteristics of fish and fish protein. In: *Fish and krill protein*. Ed. Applied Science Publishers Ltd., London, pp.1-56 (1981).
- TAKAHASHI, Y., YOKOYAMA, W. Physicochemical studies on the skin and leather of marine animals. XII - The content of hydroxyproline in collagens of different fish skins. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Food* **20**:525 (1954).
- TAKASHI, R. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **39**:197-205 (1973).
- TAKASHI, R., MUROZUKA, T., ARAI, K. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **40**:1063-9 (1974).
- TENUTA FILHO, A., ZUCAS, S.M. Cefalotórax de camarão rosa. I - Valor nutricional da proteína e sua farinha. *Bol. Inst. Oceanogr. São Paulo* **30(1)**:41-7, 1981a.
- TENUTA FILHO, A., ZUCAS, S.M. Cefalotórax de camarão rosa. III - Valor nutricional da proteína isolada. *Bol. Inst. Oceanogr. São Paulo* **30(1)**:53-5, 1981b.
- TENUTA FILHO, A., ZUCAS, S.M. Cefalotórax de camarão rosa. V - Valor nutricional e funcional da proteína recuperada. *Ciência e Tec. de Alim.* **5(2)**:86-93 (1985).

- THOMSON, P.R. Species identification by starch gel zona electrophoresis of protein extracts. *J. Ass. of Agric. Chem.* **43**:763 (1960).
- THOMPSON, H.C., THOMPSON, N.H. Isolation and amino acid composition of white shrimp (*Penaeus setiferus*). *Comp. Biol. Physiol.* **27**:127 (1968).
- TAMIOKA, H., YAMAGUCHI, K., HASHIMOTO, K., MATSUURA, F. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **41**:51-8 (1975).
- TOOM, P.M., WARD, C.F., WEBER, J.R. Identification of fish marine species by isoelectric focussing. In: *Chemistry and biochemistry of marine food products*. Ed. R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward, Avi Publishing Company, Westport, Conn., USA, pp.51-64 (1982).
- TSUCHIYA, T., MATSUMOTO, J.J. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **41**:1319-26 (1975).
- TSUYUKI, H., UTHE, J.F., ROBERTS, E., CLARKE, L.W. Comparative electropherograms of *Coregonis chupeiformis*, *Salvelinus namaycush*, *S. alpinus*, *S. malma* and *S. fontinalis* from the family Salmonidae. *J. Fish Res. Bd. Can.* **23(10)**:1599-1606 (1966).
- WEI, C.I., AN, H., CHEN, J., MARSHALL, M.R. Use of a modified urea gel isoelectric focussing method for species identification of raw and boiled white, pink and rock shrimp. *J. Food Biochem.* **14**:91 (1990).
- WEEDS, A.G. et al. Chemical studies on light chains from cardiac and skeletal muscle myosins. *Nature* **234**:85-8 (1971).
- WOODS, E.F. Molecular weight and subunit structure of tropomyosin B. *J. Biol. Chem.* **242**:2859 (1967).
- WOODS, E.F., HIMMELFARB, S., HARRINGTON, W.F. *J. Biol. Chem.* **238**:2374-85 (1963).
- YABE, K., NAKAMURA, K., SUZUKI, M., YTO, Y. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **44**:1345-50 (1978).
- YAMAGUCHI, K., LAVETY, J., LOVE, R.M. The connective tissues of fish. VIII - Comparative studies of hake, cod and cat-fish collagens. *J. Food Technol.* **11**:389-99 (1976).

9 - Enzimas proteolíticas endógenas dos peixes, crustáceos e moluscos

Nos capítulos anteriores, temos mencionado diversas enzimas que, de alguma maneira, afetam a qualidade (redutase do OTMA, descarboxilases, desaminases, etc.).

Este capítulo aborda as mudanças das proteínas musculares produzidas por sistemas endógenos, entendendo como tais as enzimas localizadas nos músculos ou nos órgãos digestivos. As enzimas exógenas (origem microbiana) certamente influem nos processos deteriorativos e tornam-se mais importantes no decorrer da armazenagem, porém sua influência até o início do **pós-rigor** é ainda pouco relevante.

A terminação do **rigor "mortis"** é caracterizada pela descontração e recuperação da elasticidade muscular, além de um acréscimo notável da solubilidade das proteínas. Não se trata de uma autólise no sentido convencional em que as proteínas são hidrolisadas largamente, pois, nesta fase, não há um incremento de oligopeptídeos e aminoácidos que justifique as mudanças dramáticas da textura (Rowland et al, 1980).

Provavelmente, existem outros mecanismos capazes de produzir um grande efeito com a quebra de umas poucas ligações específicas.

Há o convencimento de que o fenômeno de relaxamento e amolecimento envolve vários sistemas proteolíticos interligados que atuam através do ciclo completo, desde o **pré-rigor** até o final do **rigor "mortis"**, após o qual a influência das proteases microbianas torna-se definitivamente mais importante.

O amolecimento por hidrólise não é sempre indesejável. Alguns produtos tradicionais como os anchovados, os molhos orientais e a silagem são obtidos justamente permitindo que as enzimas proteolíticas atuem sob condições controladas de atividade de água e pH, conseguindo produzir mudanças profundas na textura, sabor e

odor, sem permitir um desenvolvimento comprometedor dos microrganismos.

É oportuno mencionar que as enzimas de peixes têm sido testadas com sucesso em vários processos industriais como a obtenção de concentrados protéicos líquidos e outros produtos.

Haard (1992) salienta que a boa atividade sobre o músculo de pescado e o fato de serem ativas, ainda em temperaturas próximas de 0°C, são vantagens intrínsecas das enzimas de pescados que poderiam torná-las interessantes em processos alimentares, particularmente se as enzimas fossem produzidas em maior escala através da bioengenharia.

As proteases endógenas existem em órgãos e músculos e podem ser agrupadas da maneira mostrada na tabela 33.

TABELA 33 - Enzimas potencialmente importantes no amolecimento dos músculos de pescados.

GRUPO	ENZIMAS	FUNÇÕES
	Catepsina D e E	Degradam macromoléculas para polipeptídeos.
I. Proteases ácidas de origem muscular	Catepsina A e B	Degradam polipeptídeos para peptídeos.
	Catepsina C Dipeptidases	Degradam peptídeos para oligopeptídeos e aminoácidos livres.
II. Proteases neutras de origem muscular	Proteases sarcoplasmáticas ativadas pelo Ca ²⁺	Atuam a nível dos sarcômeros, desmontando a estrutura multimolecular dos miofibrilos.
III. Proteases alcalinas de origem muscular	Proteases alcalinas ativadas pelo calor	Degradam proteínas miofibrilares, particularmente miosina, em temperaturas altas (50-60°C).
	Enzimas tipo tripsina das vísceras	Degradam proteínas miofibrilares, sendo menos ativas com as sarcoplasmáticas.
IV. Proteases alcalinas do aparelho digestivo	Enzimas dos cecos pilóricos e do pâncreas	Degradam proteínas, dando peptídeos num comportamento próximo ao da tripsina.
	Enzimas do hepatopâncreas de camarão de água doce	Degradam colágeno do miósepto num comportamento próximo ao da colagenase.

9.1 - Proteases ácidas de origem muscular

Siebert (1958) e Siebert e Schmitt (1965) relataram a existência de sistemas proteolíticos musculares muito ativos nos músculos de bacalhau, arenque, linguado e outros peixes, salientando

que sua atividade era quase 10 vezes maior que a de mamíferos terrestres (coelho, rato, porco, boi). As proteases também existiam nas vísceras, particularmente no fígado, onde as preparações de peixes eram quase 50 vezes mais ativas que as de mamíferos.

Ainda que as pesquisas posteriores (Caldwel, 1970 e Wojtowicz e Odense, 1972) tenham demonstrado que as diferenças entre peixes e mamíferos não são tão grandes, os trabalhos pioneiros de Siebert (1958) incentivaram o interesse pelos estudos das catepsinas (proteases musculares) e de sua participação nos fenômenos de amolecimento da carne.

Diversas pesquisas têm evidenciado que as catepsinas e outras hidrolases estão localizadas nos lisossomos presentes na estrutura sarcotubular da célula (Bird et al., 1965; Canónico e Bird, 1970; Reedi et al., 1972).

Após a morte, a diminuição do pH debilitaria a membrana lisossômica, liberando as hidrolases no sarcoplasma. A **catepsina D** tem sido a protease muscular mais pesquisada, por ser a mais abundante e estar presente na maioria dos peixes e crustáceos (Huang e Tappel, 1971). Sua atividade tem sido avaliada em extratos não purificados e em preparações com diversos níveis de purificação.

A tabela 34 e as figuras 42 e 43 reúnem dados sobre as características bioquímicas de várias catepsinas de peixes e crustáceos.

TABELA 34 - Propriedades bioquímicas da catepsina D de várias espécies marinhas e de água doce.

ORIGEM	Grau de Purificação	Condições Ótimas		PM	Atividade sobre Substratos			Referências
		pH	T (°C)		Hemoglobina	Caseína	Músculo	
Linguado	Extrato de Lisossomas	4,0	37*	32.000	alta	N.d.	média ^S	Reedi et al (1972)
Sole (solha)	Extrato aquoso cru	3,0 - 3,5	45	N.d.	alta	N.d.	N.d.	Geist e Crawford (1974)
Albacora	Extrato aquoso cru	2,4 - 2,5	42	N.d.	alta	N.d.	inativa	Groninger (1964)
Carpa	Purificada	2,8 - 3,0	50	N.d.	alta	média	alta ^M	Makinodan e Ikeda (1969)
Tilápia	Purificada	2,8	50	38.000	alta	N.d.	alta ^S	Doke et al. (1980)
Camarão	Extrato aquoso cru	3,3	40	N.d.	alta	inativa	alta ^S	Eitenmiller (1974)

* - temperatura do teste, não é temperatura ótima;

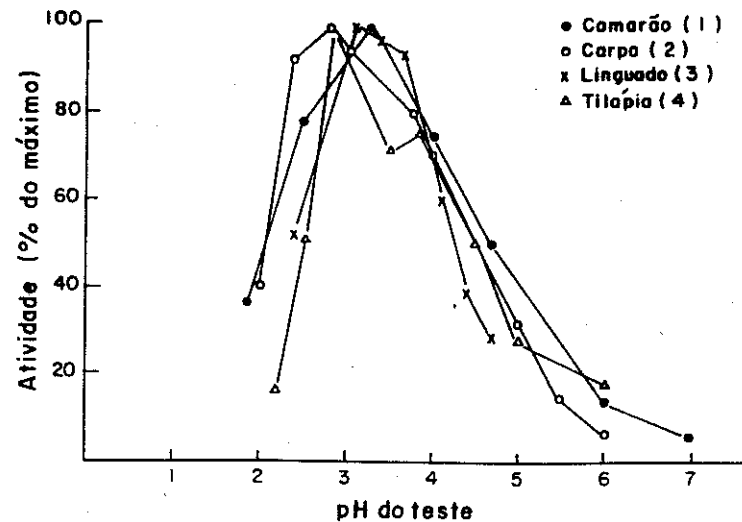
N.d. - não determinado;

S - proteínas sarcoplasmáticas;

M - proteínas miofibrilares;

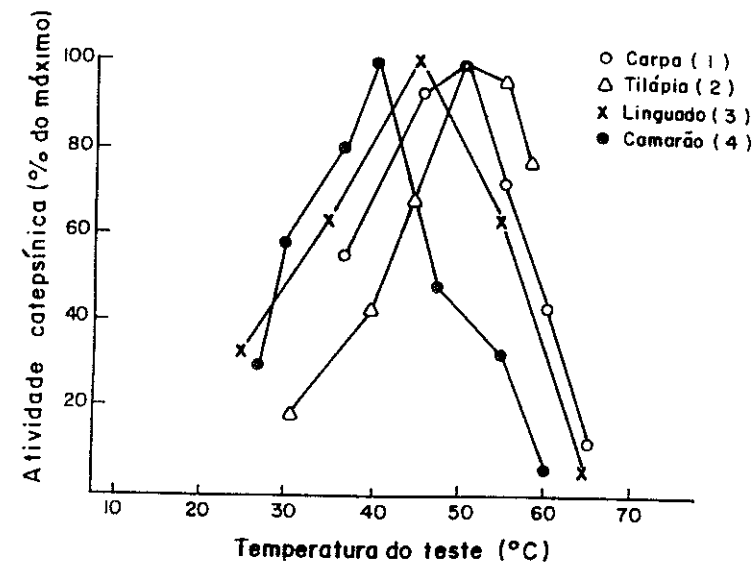
C - substrato: colágeno bovino.

Os dados da tabela 34 permitem concluir que as catepsinas do tipo D são muito semelhantes nas diversas espécies, particularmente quanto ao pH ótimo e preferência pela hemoglobina. A temperatura ótima das catepsinas da carpa e da tilápia (água doce) parece ser algo mais alta (50°C) que as marinhas (45°C), o que não é estranho, se considerarmos que o "habitat" mais quente destas espécies de água doce teria propiciado a adaptação dos seus sistemas biológicos.



Fonte: (1) Eitenmiller (1974);
 (2) Makinodan e Ikeda (1969);
 (3) Geist e Crawford (1974);
 (4) Doke et al. (1980).

FIGURA 42 - pH ótimo para atividade das proteases ácidas (catepsinas) de músculos de peixes e crustáceos.



Fonte: (1) Makinodan e Ikeda (1969);
 (2) Doke et al (1980);
 (3) Geist e Crawford (1974);
 (4) Eitenmiller (1974).

FIGURA 43 - Temperatura ótima de algumas proteases ácidas (catepsinas) demonstrada em músculos de peixes e crustáceos.

A atividade sobre proteínas miofibrilares é algo menor que com hemoglobina; provavelmente, o fato de usar extratos mais complexos cause alguma inibição, semelhante à observada com algumas proteases alcalinas (Dayton et al., 1975 e Makinodan e Ikeda, 1969).

Os pesos moleculares, relativamente baixos, são próprios das proteases ácidas, das quais a pepsina (PM = 36.000) é a mais típica.

Um fato tecnologicamente importante é o deslocamento do pH ótimo para valores menos ácidos, quando a hemoglobina é substituída por proteínas musculares. Na tilápia, o pH ótimo muda de

2,8 para 5,0 e, no linguado, mesmo não havendo mudança do ótimo (4,0), a atividade mantém-se alta em pH 5,0. Os pesquisadores admitem que outras catepsinas (A e B), com ótimos mais próximos da neutralidade, possam estar incluídas nos extratos. A atividade alta em pH 5,0, ou cerca deste valor, poderia causar problemas de amolecimento no período de **rigor "mortis"**. O amolecimento da carne é desejável nos bovinos, mas não o é nos peixes, que comumente têm estrutura muscular pouco firme.

As catepsinas C, B e A têm sido detectadas apenas em algumas espécies (Rodger et al, 1984), sempre em quantidades inferiores às da catepsina D.

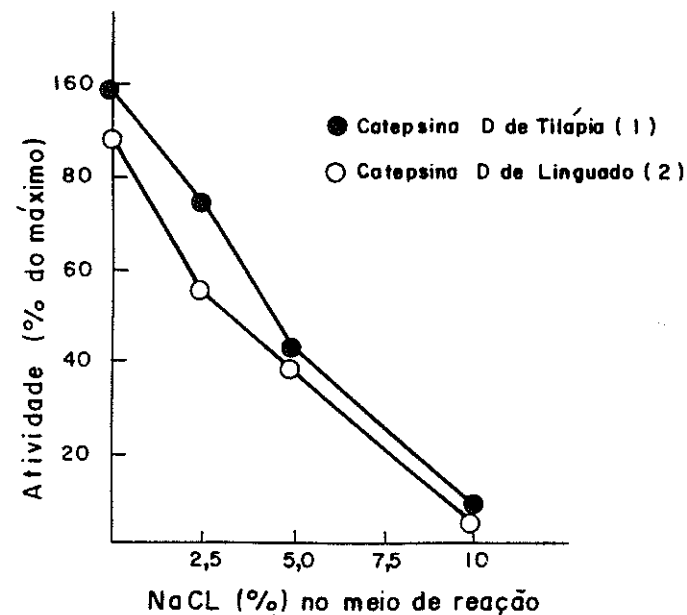
A degradação seqüenciada das proteínas iniciar-se-ia com catepsina D, que produziria substratos para as catepsinas A e B, cujos produtos de hidrólise serviriam como substrato para catepsina C e as dipeptidases (Cofeey e De Duve, 1968 e Tappel, 1969).

Nas etapas de **pré-rigor** e **rigor**, o pH permanece em torno de 6,0, e como a temperatura é mantida próxima de 0°C (gelo), não há condições favoráveis para atividade da catepsina D, limitando-se, simultaneamente, a ação das outras catepsinas por falta de substratos específicos.

Tem sido especulado que, na célula, poderia haver regiões de pH baixo devidas ao acúmulo localizado de ácido láctico (Reedi et al, 1972), nos quais ocorreria uma ativação da catepsina D. Outra hipótese admite a possibilidade de que as proteases tivessem no tecido intato um pH ótimo diferente do observado com extratos homogeneizados ou proteínas purificadas, possibilitando a hidrólise já na etapa do **rigor "mortis"** (Hjelmeland e Raa, 1980).

Um comportamento de interesse para a preservação de pescados é a inibição da catepsina D pelo NaCl em concentrações baixas (<5%), independentemente de o peixe ser de origem marinha ou de água doce (figura 44). Na indústria de peixe salgado, são usados teores de sal muito maiores (~15 a 26%), que provavelmente inibem a catepsina D já no primeiro dia de salga, evitando a hidrólise, que depreciaria a textura e causaria perda de material protéico solúvel. Contrariamente, algumas proteases alcalinas parecem ser ativadas pelo NaCl em concentrações abaixo de 5%, visto que a protease tipo tripsina do hepatopâncreas de lagosta aumenta sua atividade com 3%

de NaCl (Vieira et al., 1987b). A protease alcalina do fígado de cangulo (*Balistes vetula*), pelo contrário, não foi afetada pelo NaCl.



Fonte: (1) Doko et al (1980);
(2) Reddi et al (1972).

FIGURA 44 - Inibição da atividade da catepsina D "in vitro" por NaCl.

9.2 - Proteases alcalinas de origem muscular

Estas proteases precisam de ativação pelo calor, portanto não devem ter influência na etapa de armazenagem com gelo e sim nos processamentos que empregam calor (pré-cocção, pré-fritura, escaldamento).

Na tabela 35, são mostradas algumas características de proteases alcalinas de músculo de pescados.

TABELA 35 - Características de várias proteases alcalinas de alguns pescados.

ORIGEM	Grau de Purificação	Condições Ótimas		PM	Atividade sobre Substratos			Referências
		pH	T (°C)		Hemoglobina	Caseína	Músculo	
Carpa	Purificada	8,0	60 - 65	elevado	alta	alta	baixa	Makinodan e Ikeda (1969)
Sargo	Parcial, origem S	7,0	60	77.000	N.d.	N.d.	alta	Toyohara et al. (1990) e Kinoshita et al. (1990)
Lula	Extrato cru	7,5	60	N.d.	alta	mativa	alta ^S	Eisenmuller (1974)

N.d. - não determinado;
S - sarcoplasmática.

Desde que Makinodan e Ikeda (1969) encontraram uma protease alcalina no músculo de carpa, que só era evidente após choque térmico (~60°C), várias pesquisas têm sido feitas para procurar a enzima em outros peixes e compreender sua participação nas mudanças reológicas dos géis de pescado (**kamaboko**), visto que o processamento deste alimento oriental é feito em condições de pH e temperaturas adequadas para a atuação das proteases alcalinas.

A ação destas enzimas resultaria no fenômeno **Modori**, que consiste na perda de elasticidade e aumento da fragilidade no **kamaboko**. A atividade enzimática seria crítica, porém não a única causa do aparecimento do **modori** (Shimizu e Kaguri, 1986).

As enzimas que causam este efeito têm sido detectadas tanto no sarcoplasma quanto associadas aos miofibrilos. Ambos os grupos são proteases alcalinas, porém com pH ótimo, temperatura ótima e peso molecular diferente (Kinoshita et al., 1990).

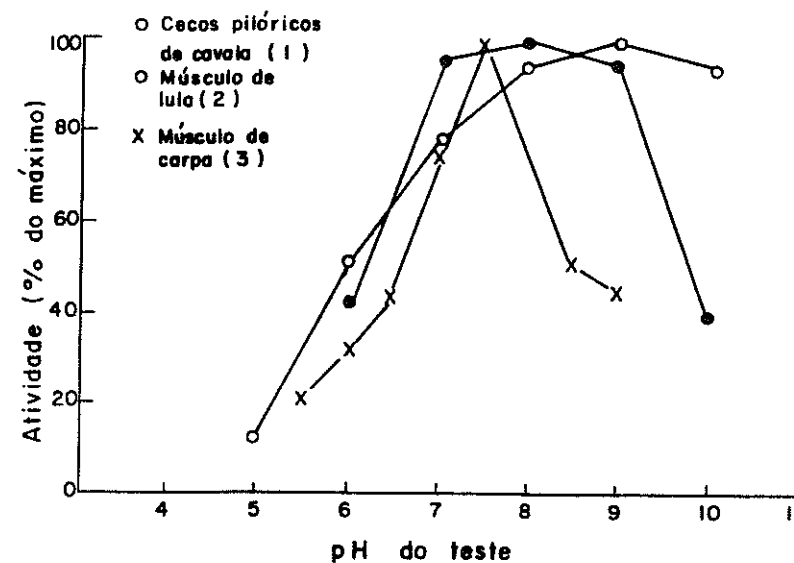
A característica comum a todas as proteases que induzem **modori** é que são do tipo tripsina, sendo inibidas pelos reagentes típicos para serina no sítio ativo da tripsina.

Na lula (*Loligo forbesi*), Rodger et al. (1984) encontraram uma enzima que também causa **modori** com atividade ótima, praticamente nas mesmas condições que a enzima do sargo. Uma diferença relevante é que a enzima da lula é ativa a 20°C, enquanto

que a dos peixes só é ativa acima de 36°C (Makinodan e Ikeda, 1969; Hiroshita et al., 1990).

O substrato (carne de peixe) precisa ser triturado ou disperso, pois no músculo intato não há mudanças, indicando uma provável compartimentalização da enzima ou necessidade de cofatores acessíveis após a homogeneização.

A figura 45 reúne 3 curvas de estudos sobre pH ótimo de proteases alcalinas.



Fonte: (1) Ooshiro (1971);
(2) Rodger et al. (1984);
(3) Makinodan e Ikeda (1969).

FIGURA 45 - Valores de pH ótimos para atividade de proteases alcalinas dos músculos e vísceras.

9.3 - Proteases neutras de origem muscular

Tem sido relatada a presença de uma substância com atividade proteolítica, localizada aparentemente na divisória intersarcomérica dos miofibrilos ou linha Z (Rowland et al., 1980). Esta substância teria capacidade de produzir alterações morfológicas compatíveis com as observadas no fenômeno de amolecimento no final do **rigor "mortis"**.

Este composto foi chamado de **protease ativada por Ca^{+2}** ou **fator sarcoplasmático ativado por Ca^{+2}** . Várias de suas propriedades têm sido relatadas por Bush et al. (1972), Suzuki e Gold (1974), Vidalenc et al. (1983), Ducastaing et al. (1985), Croall e De Martino (1991), Dransfield (1993), Koohmaraie (1994) e outros.

Ao que tudo indica, a ação destas proteases levaria ao desmantelamento da estrutura multimolecular dos sarcômeros, que traria como conseqüência o relaxamento dos músculos. Estas enzimas quebrariam certas ligações críticas, cujo impacto no amolecimento da carne seria muito mais relevante que a hidrólise com produção de fragmentos de pequeno peso molecular.

O sistema é formado por duas proteases neutras, a **m-calpaína** e a **μ -calpaína** e também por um inibidor chamado **calpastina**. A **m-calpaína** é ativada com altas concentrações de Ca^{2+} , atingindo a máxima atividade com 100 μM , enquanto que a **μ -calpaína** requer em torno de 10 μM de Ca^{2+} para sua máxima atividade (Dransfield, 1992).

O aumento do cálcio no sarcoplasma ocorre logo no início do rigor-"mortis", devido a incapacidade do retículo sarcoplasmático e das mitocôndrias para reter os íons de cálcio. Sua presença estimula as calpaínas e a ATP-ase com a conseqüente quebra do ATP e queda do pH. A **μ -calpaína** teria sua máxima atividade em pH ao redor de 6,8 e a **m-calpaína**, próximo de 5,8.

O amolecimento (tenderization) da carne ocorre rapidamente devido a que o sistema enzimático das **calpaínas** localiza-se na linha Z, sobre a banda M ou em outras zonas dos sarcômeros amplamente banhadas pelo sarcoplasma que carrega o Cálcio livre. Trata-se de uma situação diferente das catepsinas que se encontram no interior dos lisossomos.

A ativação das **calpaínas** pelo Cálcio causaria os seguintes eventos, (Koohmaraie, 1994):

- a) remoção total ou parcial da linha Z;
- b) degradação das ligações cruzadas (transversais) das miofibrilas;
- c) degradação das estruturas de amarração dos feixes de miosina;
- d) desaparecimento da troponina-T com formação simultânea de polipeptídeos de peso molecular ao redor de 25 a 32 kDa.

Tem sido salientado que as calpaínas não atuam sobre a miosina nem actina, em grande contraste com as outras proteases endógenas. Koohmaraie (1994) enfatiza que o resultado da ação das calpaínas é a fragmentação dos miofibrilos com o aumento conseqüente da ternura da carne.

As calpaínas tem sido detetadas nos músculos de bovinos, ovinos, coelhos, porcos e aves. Nos pescados tem sido feitas poucas pesquisas porém em face da similaridade de funções biológicas dos músculos de animais, sua presença pode ser dada como certa.

A presença das calpaínas poderia estar relacionada com o fenômeno de murchamento (mushiness) do camarão-de-água-doce *Macrobrachium rosenbergii* pois segundo Kye et al. (1985), após 3 dias no gelo, a banda da α -actinina (103 kDa) foi completamente dissolvida dando lugar a dois polipeptídeos com 25 e 31 kDa, fato que coincidiu com a perda rápida da textura observada ocasionalmente nestes crustáceos.

Toyohara et al. (1990) relatam que, na truta armazenada a 4°C, aparecem, imediatamente após a morte, dois novos componentes de 38.000 e 20.000 daltons. A mudança textural esteve relacionada com a desintegração de um componente situado na zona de ligação da membrana das miofibrilas com a matriz externa. O componente com peso molecular de 40.000 daltons deu origem aos dois novos compostos acima mencionados. O autor aventava a possibilidade de que a degradação tenha ocorrido por proteases de células do tipo macrófagos.

9.4 - Proteases alcalinas do aparelho digestivo

Experimentos realizados a bordo dos barcos pesqueiros para avaliar a influência da evisceração na vida útil dos pescados mostraram resultados duvidosos sobre a utilidade desta operação (Asenjo, 1972; Pezoa et al., 1976); porém, ensaios semelhantes, a nível de laboratório, sempre mostraram uma vida útil consistentemente maior nos peixes eviscerados. A discrepância parece ocorrer pela evisceração incompleta e lavagem insuficiente nas operações realizadas a bordo.

A remoção das vísceras evita a difusão de suas enzimas através do peritônio, diminuindo a deterioração localizada no ventre, que é muito comum na maioria dos peixes. Na sardinha, é freqüente observar peixes com a barriga estourada, mesmo que a condição geral do músculo corresponda à de peixe fresco. O fenômeno ocorre quando o peixe é capturado em fase de alimentação e, provavelmente, o próprio alimento contribui com proteases adicionais. Trata-se de depreciação da qualidade por efeito de proteases viscerais.

Certamente, a pepsina não tem condições de atuar no pH muscular e, além do mais, os músculos do saco estomacal são mais resistentes ao maltrato físico que os tecidos dos cecos pilóricos e outros órgãos do aparelho digestivo; portanto, o amolecimento da zona ventral parece ser causado por enzimas não-pepsínicas.

A degradação das zonas vizinhas ao aparelho é, também, um problema comum no camarão, onde as vísceras estão localizadas no cefalotórax, justo na zona divisória entre a parte comestível (cauda) e os resíduos. Nos camarões grandes, particularmente se destinados à industrialização, a cabeça ou cefalotórax é removida a bordo. Nas espécies pequenas (sete-barbas, krill) isto é impraticável, causando uma depreciação mais rápida em termos de textura e conservação geral.

Tem sido relatado que quase 95% da atividade proteolítica do krill está localizada no cefalotórax e apenas 5% no músculo caudal (Konagaya, 1980; Romo, 1987). As enzimas digestivas não-pepsínicas do krill e outros crustáceos apresentam máximos de atividade na zona de pH entre 6,5 e 9,0 (Yamasi, 1971; Noguchi et al., 1976).

Na lagosta do Nordeste brasileiro, *Palinurus whitei*, Vieira et al. (1987a) relataram que as enzimas do hepatopâncreas apresentavam

contrário, são ativas no lado ácido, sendo lógico descartá-las como agentes responsáveis pelo estouro da barriga da sardinha e da cavalinha.

O estudo das enzimas tripsínicas tem revelado diferenças notáveis entre as diversas espécies. Haard (1992) comenta que as tripsinas ou pseudo-tripsinas dos peixes herbívoros sem estômago (tainha, crunner, crayfish), devem ser diferentes das respectivas enzimas dos carnívoros com estômago, pois as primeiras são capazes de hidrolisar proteínas globulares sem ter havido preliminarmente uma liberação da tripsina a partir do tripsinogênio pela pepsina estomacal, como ocorre nos animais com estômago.

Hjelmeland e Raa (1980) demonstraram que a tripsina de capelin (*Mallotus villosus*), em extratos com ou sem purificação, era muito ativa com proteínas miofibrilares, menos ativa com hemoglobina e quase inativa com proteínas sarcoplasmáticas. A mistura destas últimas com as miofibrilares ou a hemoglobina inibia completamente a hidrólise por tripsina. A inibição parece não ser tão eficiente nos músculos intactos, pois os ventrais se degradam com facilidade na maioria das espécies. A inibição da tripsina por compostos do sarcoplasma é um fenômeno que merece ser mais pesquisado.

A tripsina parece ser o centro dos fenômenos proteolíticos em ambiente neutro ou levemente alcalino, visto que as enzimas viscerais e musculares compartilham das propriedades bioquímicas da tripsina (Kinoshita et al., 1990).

No extrato de hepatopâncreas de camarão-gigante-da-malásia (*Macrobrachium rosenbergii*) e em outros camarões, tem sido observada uma forte atividade de colagenase (Baranowski et al., 1984).

A proteólise do colágeno poderia estar relacionada com a **murchidão** e desgarro de sarcômeros, que ocorre com grande rapidez no camarão-gigante-da-malásia e que deprecia sua qualidade textural.

As pessoas que manipulam camarões marinhos conhecem o efeito corrosivo dos fluidos do camarão, que ataca a pele dos dedos (colágeno). Tal efeito é particularmente forte no processamento de caudas de camarão cru, exigindo o uso de luvas.

9.5 - Interligação entre degradação protéica e desenvolvimento de microrganismos

A atividade das proteases endógenas, gerando peptídeos e aminoácidos, além dos já existentes no sarcoplasma, cria um meio rico em nutrientes para os microrganismos. A multiplicação processa-se primeiro vagarosamente, limitada pelas condições de armazenagem com gelo. Porém, o caráter psicrófilico de algumas linhagens e a maior aptidão para utilizar diversos compostos do nitrogênio não-protéico permitem que estes microrganismos atinjam antecipadamente uma população crítica, capaz de gerar suas próprias proteases e auto-abastecer-se de peptídeos e aminoácidos. Por este caminho, a população de microrganismos proteolíticos assume logo o predomínio total da flora. Nos períodos finais, porém, o excedente dos produtos da hidrólise permite que os microrganismos não-proteolíticos se incorporarem ao ciclo reprodutor, causando a completa degradação dos aminoácidos.

A figura 47 mostra um esquema da interligação entre autólise e desenvolvimento microbiano (figura baseada em conceitos de Venugopal, 1990).

9.6 Referências Bibliográficas

- ASENJO, C.I. Evaluación de la frescura en la merluza empleando los métodos del panel organoléptico, la trimetilamina y el recuento bacteriano. Memoria, Escuela de Pesqueías y Alimentos de la Univ. Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile (1971).
- BARANOWSKI, E.S., NIP, W.K., MOY, J.H. Partial characterization of a crude enzyme extract from the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. Food Sci. **49**:1494-5 (1984).
- BIRD, J.W.C., BERG, T., MILANESI, A., STAUBER, W.T. Distribution and particle properties of muscle lysosomes of the goldfishes. Comp. Biochem. Physiol. **30**:457 (1969).
- BUSH, W.A., STROMER, M.H., GOLL, D.E., SUZUKI, A. Ca⁺⁺ specific removal of the Z-lines from rabbit skeletal muscle. J. Cell. Biol. **52**:367 (1972).

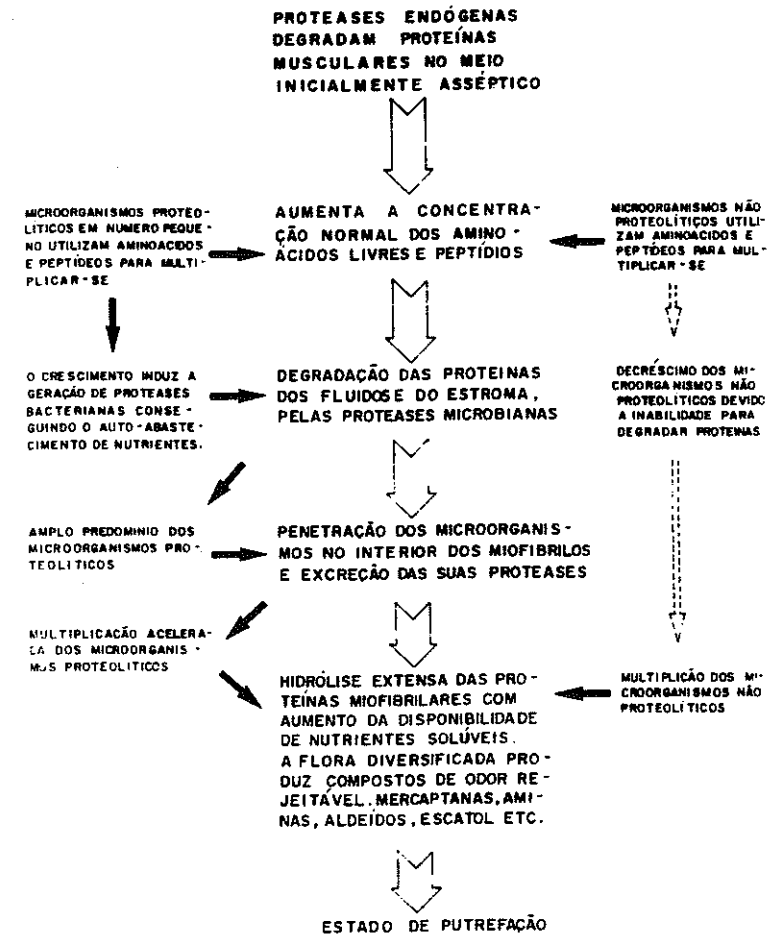


FIGURA 47 - Efeito somatório da atividade proteolítica endógena com a das proteases microbianas na decomposição dos pescados (esquema baseado em conceitos de Venugopal, 1990).

- CALDWELL, K.A., Autolytic activity in aqueous extracts of chicken skeletal muscle. *J. Agr. Food Chem.* **18**:276 (1970).
- CANONICO, P.G., BIRD, J.W.C. *J. Cell. Biol.* **45**:321 (1970).
- COFFEY, J.W., De DUVE, C. Digestive activity of lysosomes. I - The digestion of proteins by rat liver lysosomes. *J. Biol. Chem.* **243**:3255 (1968).
- CROALL, D.E., De MARTINO, G.N. Calcium activated neutral protease (Calpain) system. Structure function and regulation. *Physiol. Rev.* **71**:813-47 (1991).
- DOKE, S.N., NINJOOR, V., NADKARNI, G.B. Characterization of cathepsin D from skeletal muscle of freshwater fish *Tilapia mossambica*. *Agric. Biol. Chem.* **44**(7):1521-8 (1980).
- DRANSFIELD, E. Modelling post-"mortem" tenderization - IV: Role of calpain and calpastatin in conditioning. *Meat Sci.* **34**:217-34 (1993)
- DUCASTAING, A., VALIN, C., SHOLLMAYER, J., CROSS, R. Effects of electric stimulation on post-"mortem" change in the activities of two Ca dependent neutral proteinases and their inhibitor in beef muscle. *Meat Sci.* **15**:193-202 (1985).
- EITENMILLER, R.R. Cathepsin activity of *Pennaues saliferus* muscle. *J. Food. Sci.* **39**:6-9 (1974).
- GEIST, G.M., CRAWFORD, D.L. Muscle cathepsins in three species of pacific sole. *J. Food Sci.* **39**:548-51 (1974).
- GRANTHAM, G.J. The utilization of krill. *Publicação F.A.O. G/0/8077-3*, Roma (1977).
- GRONINGER, H.S. Partial purification and some properties of a proteinase from albacore (*Germo alalunga*) muscle. *Arch. Biochem. Biophys.* **108**:175 (1964).
- HAARD, N.F. A review of proteolytic enzymes from marine organism and their application in the food industries. *J. Aquatic. Food. Product. Technology* **1**(1):17-35 (1992).
- HJELMELAND, K., RAA, J. Fish tissue degradation by trypsin type enzymes. In: *Advances in fish science and technology*. Ed. J.J. Connell and staff of Torry Research Station, Scotland. Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, England, pp.456-9 (1980).
- HUANG, F.L., TAPPEL, A.L. Action of cathepsin C and D in protein hydrolises. *Biochem. Biophys. Acta* **236**:739 (1971).
- KINOSHITA, M., TOYOHARA, H., SHIMIZU, Y. Proteolytic degra-

- ation of fish gel (modori-phenomenon) during heating process. In: *Chilling and freezing of new fish products*. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France. pp.61-7 (1990).
- KINOSHITA, M., TOYOHARA, H., SHIMIZU, Y. Purification and properties of a novel latent proteinase showing myosin heavy chain degrading activity from threadfin bream muscle. *J. Biochem.* **107**:587-91 (1990).
- KOOHMARIE, M. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Sci.* **36**:93-104 (1994).
- KYE, H.M., NIP, W.K., MOY, J.H. Changes of myofibrillar proteins and texture in freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* during ice storage. *Mar. Fish. Rev.* **50**(1):53-6 (1988).
- MAKINODAN, Y., IKEDA, S. Studies on fish muscle protease II. Purification and properties of a proteinase active in slightly alkaline pH range. *Bull. Jpn. Soc. Fish* **35**(8):749-57 (1969).
- MAKINODAN, Y., IKEDA, S. Studies on fish muscle protease III. Purification and properties of a proteinase active in acid pH range. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **35**(8):758-66 (1969).
- NOGUCHI, A. et al Purification of some proteases of *E. superba*. *J. Agric. Chem. Japan* **50**(9):415 (1976).
- OOSHIRO, Z. Studies on proteinase in the pyloric caeca of fishes. II. Some properties of proteinase purified from the pyloric caeca of mackerel. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **37**(2):145-8 (1971).
- PEZOA, G.V., SALAS, M.M. Obtenção de um concentrado de proteínas de pescado para alimentos, pelo método enzimático, utilizando as próprias enzimas do pescado. *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul e Fundação Univ. do Rio Grande, R.S., Brasil* (1979).
- REEDI, P.K., CONSTANTINIDES, S.M., DYMSA, H.A. Catheptic activity of fish muscle. *J. Food Sci.* **37**:643-8 (1972).
- RODGER, G., WEDDLE, R.B., CRAIG, P., HASTINGS, R. Effect of alkaline protease activity on some properties of comminuted squid. *J. Food Sci.* **49**:117-23 (1984).
- ROMO, C.R., ANDERSON, C.S. Determination of optimum parameters for protein isolation from krill (*E. superba*) waste products. *J. Food Sci.* **44**:1425 (1979).
- ROWLAND, B., FINNE, G., TILLMAN, R. A morphological study of muscle proteolysis in the tails of *Macrobrachium rosenbergii*. *Proc. Annual Tropical and sub-tropical fish technology conference.*

- pp.105-11 (1980).
- SHIMIZU, Y., KAGURI, A. Influence of death condition and freshness on the gel forming property of fish. *Nippon Suisan Gakkaishi* **52**:1837-41 (1986).
- SIMPSON, B.K., SIMPSON, M.V., HAARD, N.F. On the mechanism of enzyme action: digestive proteases from selected marine organisms. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **11**:226 (1989).
- TAPPEL, A.L. In: *Lysosomes in biology and pathology* vol. 2. Ed. J.J. Dingle and H.B. Fell, North Holland Publishing Company, Amsterdam, p.207 (1969).
- TOYOHARA, H., KINOSHITA, M., SHIMIZU, Y. Proteolytic degradation of the Threadfin-bream meat gel. *J. Food Sci.* **55**:259-60 (1990).
- VENUGOPAL, V. Extracellular proteases of contaminant bacteria in fish spoilage. *J. Food Protection* **53**:341-50 (1990).
- YANASE, M. Chemical composition of the antarctic krill (*E. superba*) by raw freezing and pre-cooked. *Bull. Tokai Reg. Fish Res. Lab.* **77**:97 (1974).
- VIDALENC, P., COTTIN, P., MERDACI, N., DUCASTING, A. Stability of two Ca²⁺-dependant neutral proteinases and their specific inhibitor during post-"mortem" storage of rabbit skeletal muscle. *J. Sci. Food Agric.* **34**:1241-50 (1993).
- VIEIRA, G.H.F., SAMPAIO, A.H., SAKER-SAMPAIO, S., THEOPHILO, G.N.P., VIEIRA, R.H. Proteases de organismos marinhos. II. Purificação das proteases pelo sulfato de amônia. Resumos do X Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, SP, p.2 (1987a).
- VIEIRA, G.H.F., SAMPAIO, A.H., SAKER-SAMPAIO, S., THEOPHILO, G.N.P., VIEIRA, R.H. Proteases de organismos marinhos. II. Comparação da atividade proteolítica com outras proteases comerciais e a ação de compostos orgânicos sobre sua atividade. Resumos do X Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, SP p.3 (1987b).

10 - Fenômenos bioquímicos no rigor-"mortis"

O estado de **rigor-"mortis"** é definido como a perda da plasticidade e extensibilidade dos músculos como resultado da alteração dos ciclos de contração e relaxamento. O rigor instala-se pelo decréscimo de ATP, que se torna insuficiente para dissociar os complexos de actomiosina, que induzem a contração (Partman, 1965). Este evento ocorre na célula viva pelo acoplamento e desacoplamento dos filamentos finos sobre os filamentos grossos, o que produz a contração e o relaxamento dos sarcômeros. A força propulsora desta ação é o ATP, cuja hidrólise pela ATP-ase, a própria miosina, produz a energia para contração. A queda do ATP em ADP e fosfato inorgânico (Pi) só ocorre quando os filamentos finos e grossos estão interdigitados e o íon Ca⁺² ligado à troponina ligante de cálcio.

Após a morte do animal, perde-se o controle do mecanismo de acoplamento e desacoplamento, prevalecendo a contração. Esta desorganização ocorre por várias causas:

- a) o Ca⁺² não está mais submetido ao controle neurotransmissor;
- b) o ATP que, na célula viva, é abundante, após a morte é hidrolisado de maneira contínua, até esgotar-se, causando um aumento cada vez maior dos complexos de actomiosina não dissociados.

Nos pescados, é possível dividir os eventos que seguem a morte em 3 etapas:

- 1) Fase pré-**rigor-"mortis"**;
- 2) Fase **rigor-"mortis"** pleno;
- 3) Fase pós-**rigor-"mortis"** (relaxamento).

No transcurso destas etapas, ocorrem várias reações, visto que os sistemas enzimáticos permanecem ativos após a morte e, se houver substratos e cofatores suficientes, continuarão a produzir metabólitos que se acumularão no decorrer da armazenagem. A velocidade destas reações pode ser diminuída grandemente com a refrigeração ou detida por longos períodos pela congelação.

As reações "**post-mortem**" podem ser classificadas de várias formas de acordo com os efeitos que elas causam:

- a) modificações das propriedades físicas dos músculos;
- b) degradação dos carboidratos (evolução do glicogênio);
- c) degradação dos nucleotídeos (evolução do ATP);
- d) alterações das proteínas (desnaturação, autólise, etc.).

No decorrer do capítulo 10, serão examinadas, primeiramente, diversas mudanças físicas que ocorrem nas fases de pré-rigor, rigor-pleno e pós-rigor, para logo abordar os eventos bioquímicos que se relacionam com a degradação dos carboidratos, proteínas e nucleotídeos.

10.1 - Modificações das propriedades físicas dos músculos

10.1.1 - Características da fase de pré-rigor-"mortis"

Algumas características físicas do músculo fresco, próximas das que existiam na célula viva, estão resumidas na tabela 37. Estas propriedades servem como base de comparação para as modificações que ocorrem nos estágios mais avançados do **rigor-"mortis"**.

A duração da fase de pré-rigor depende das reservas do ATP e glicogênio no momento da morte. Qualquer situação que as tiver reduzido, diminuirá o período de pré-rigor, que afetará

proporcionalmente a duração do período de **rigor-"mortis"** pleno (full rigor).

TABELA 37 - Propriedades físicas do músculo na etapa do pré-rigor-"mortis".

Propriedade	Situação no Pré-rigor
pH muscular	Encontra-se em torno de 7.0 na maioria das espécies.
Retenção de água	Tem um valor de 100% (não há exsudação com a pressão)
Extensibilidade	Pode ser esticado até 15% além do seu comprimento
Resistência elétrica	A resistência é máxima (condutância mínima)
Extração das proteínas	Atinge o valor máximo em torno de 90%
Resposta ao estímulo	Os músculos contraem-se ao estímulo elétrico

Uma fase de pré-rigor dilatada corresponderá a um rigor pleno prolongado, o que é muito conveniente, pois, nesta fase, os animais têm suas defesas naturais ainda intatas (pele, mucus superficial, membranas), apresentam um pH ligeiramente ácido, inibitório para muitos microrganismos e enzimas endógenas e, o que é mais importante, têm uma estrutura muscular fechada (contraída) que impede a disseminação de enzimas e microrganismos.

Por causa do sistema de pesca, algumas espécies sofrem um grande desgaste que pode exaurir o glicogênio, completamente, antes da captura, o que resulta na ausência da fase de pré-rigor e num rigor pleno curto sem diminuição do pH, chamado de **rigor "mortis" alcalino**. Tais pescados apresentam estragos na textura, e sua vida útil é muito breve.

Na figura 48, estão recompiladas várias situações que afetam o tempo de pré-rigor-"mortis".

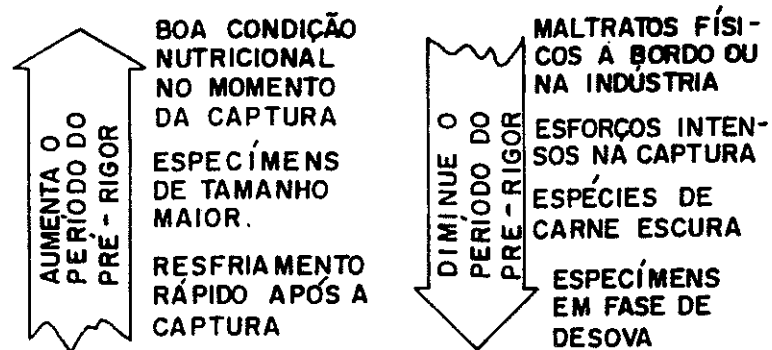


FIGURA 48 - Situações práticas que influem na duração do período de pré-rigor-"mortis".

10.1.2 - Características do rigor-"mortis" pleno

O início do rigor pode ser evidenciado pela ausência de reação ao estímulo elétrico, pelo tato, registrando diferenças da dureza em diferentes partes do corpo, ou pela avaliação da rigidez com aparelhos. Toyohara et al. (1990) usaram a medição da curvatura do peixe para obter um índice de rigor como é mostrado na figura 49.

Face à importância da duração do rigor na conservação dos pescados, várias pesquisas atuais abordam a influência dos métodos de abate e tratamentos imediatos após a morte, na duração do **rigor-"mortis"** pleno (Magnussen, 1990). Os peixes de criação, certamente, apresentam boas condições para estes estudos; porém, os peixes de origem marinha são capturados sob técnicas específicas que não podem ser mudadas facilmente. O resfriamento a bordo imediato é o melhor meio para produzir um **rigor-"mortis"** prolongado nos peixes marinhos.

A figura 50 ilustra várias situações em que o **rigor-"mortis"** influencia nos processos tecnológicos.

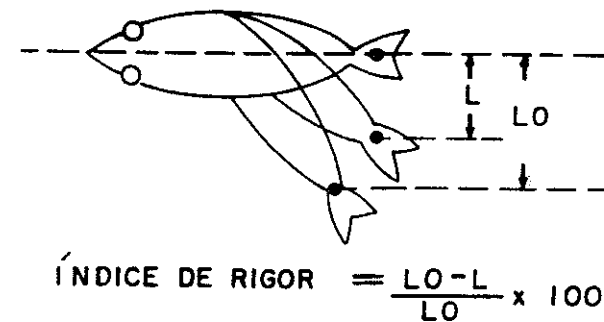


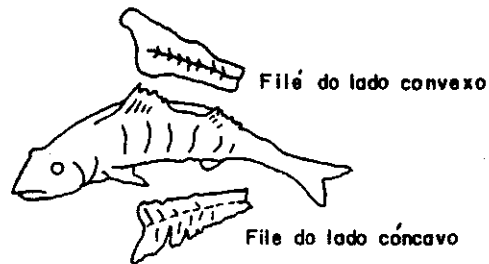
FIGURA 49 - Avaliação do grau de rigor-"mortis" de peixes através da medição do curvamento (Toyohara et al., 1990).

Enfraquecimento do tecido conjuntivo: Às vezes, por razões operacionais, as indústrias precisam filetar os peixes no estado de rigor. Nesta situação, a operação é mais demorada e, se fossem usados equipamentos, seriam obtidos rendimentos baixos, pois haveria uma porcentagem alta de filés desagregados. Este fenômeno, chamado **gapping**, consiste na separação dos miotomas nas divisórias do tecido conjuntivo (miotomata), debilitado pelo esticamento da contração.

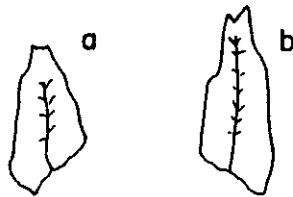
Love (1972) tem chamado a atenção para a extraordinária suscetibilidade do tecido conjuntivo dos peixes a pequenas mudanças de pH, demonstrando que a resistência mecânica do miocomata a pH 7,1 é 4 vezes maior que a pH 6,2, um valor comum em peixes na fase de **rigor-"mortis"**. O mesmo autor (Love, 1980) salienta que a incidência de gapping ocorre com maior frequência nos peixes bem nutridos, que têm suficiente glicogênio para causar uma diminuição abrupta do pH, que resulta numa contração mais intensa. A resistência do tecido conjuntivo é recuperada quando o pH volta a subir na fase pós-rigor.



O rigor "mortis" nos peixes começa na cabeça e avança para a cauda



Os peixes tendem a curvar-se pela contração do rigor "mortis"; se filetados nessa condição, o filete do lado côncavo pode desgarrar



Os filés separados do esqueleto antes do peixe entrar em rigor "mortis", (a), encolhem mais do que os deixados com a coluna vertebral (b)

FIGURA 50 - Eventos físicos durante o rigor-"mortis" que tem importância nos processos de industrialização.

Relação entre pH e início do rigor-"mortis": Em termos gerais, não há um pH constante para o músculo tornar-se rígido, porém é freqüente observar que o músculo entra em rigor quando o pH atinge o mínimo. Nos casos em que não há variação de pH (rigor alcalino), a rigidez é difícil de ser percebida e termina rapidamente.

Efeito da temperatura no tempo de entrada no rigor-"mortis": Nos peixes resfriados com gelo logo após a captura, o rigor inicia-se entre 1 e 7 horas (Amlacher, 1961). Visto que, em condições práticas, os peixes são armazenados entre 0 e 5°C, poucas pesquisas têm sido realizadas em temperaturas mais altas. Jones et al. (1965) relatam que, no bacalhau, a entrada em rigor-"mortis" ocorre em velocidade moderada, porém, progressiva, desde 0°C até 17°C. A partir deste valor, nota-se uma grande aceleração para pequenos aumentos da temperatura.

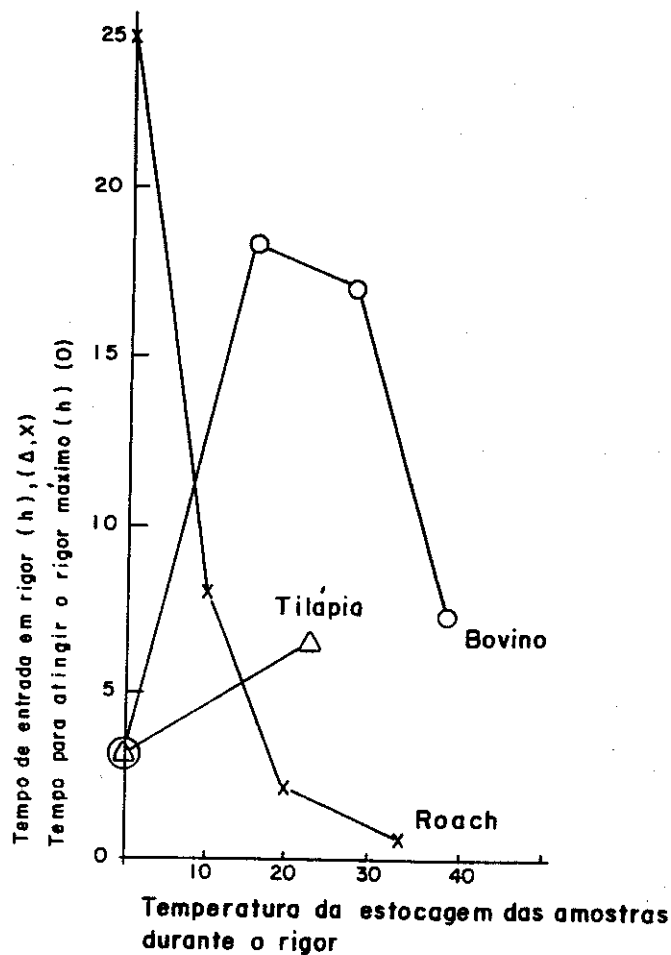
Um fato semelhante ocorre com o roach (*Leuciscus rutilus*) (Amlacher, 1961), no qual, a velocidade de entrada em rigor aumenta quase 4 vezes nos peixes armazenados a 10°C, comparados com os peixes a 0°C.

Este comportamento difere do observado com músculos de bovino cuja velocidade de entrada em rigor é muito maior a 0°C que à temperatura ambiente (15 - 25°C) (Honikel et al., 1983), embora acima desta temperatura a velocidade de entrada em rigor aumenta de novo.

Tanto o bacalhau quanto o roach são peixes de "habitat" frio, enquanto que os bovinos convivem a 37°C. Experimentos com tilápia, um peixe típico de "habitat" quente (~28°C), têm mostrado um comportamento do rigor-"mortis" com a temperatura mais próxima dos animais de sangue quente do que os seus congêneres de "habitat" frio.

A figura 51 reúne os 3 exemplos acima comentados.

A estimulação do rigor-"mortis", em temperaturas baixas, parece estar relacionada com a incapacidade de reabsorção do Ca^{++} pelo retículo sarcoplasmático nos animais que moram em "habitat" quente. Essa incapacidade permite que o Ca^{++} permaneça no sarcoplasma, mantendo ligado o mecanismo de contração muscular, com o esgotamento consequente do ATP e aumento contínuo do encolhimento (rigor-"mortis").



Fonte: Poulter et al. (1981) - tilápia
Amlacher (1961) - roach
Honikel et al. (1983) - bovino

FIGURA 51 - Comportamento do **rigor-*mortis*** em função da temperatura na tilápia, roach e bovino.

A possibilidade de esticar o tempo de pré-rigor na tilápia, apenas evitando o resfriamento imediato após a morte, pode trazer alguns benefícios tecnológicos como economia de gelo, menor perda de peso, possibilidade de filetagem, etc.. Embora, é importante conhecer outros aspectos porque, após um pré-rigor prolongado, poderia ocorrer um **rigor-*mortis*** súbito, com efeitos devastadores para a textura e a suculência.

Nair et al. (1974) comentaram que as diferenças de espécie para espécie e também nos tamanhos não afetavam significativamente o comportamento durante a armazenagem, e que a demora na aplicação do gelo, mesmo feita depois da resolução do **rigor-*mortis***, não causava problemas de qualidade senão apenas da vida de prateleira.

Muita pesquisa é necessária em relação aos melhores métodos de abate, sobre as condições ótimas de armazenagem após a morte e vários outros fatores que facilitam os processos e melhoram a qualidade geral dos peixes de água doce tropicais.

Alguns fatores de matéria-prima que afetam as características do **rigor-*mortis***, aparecem na tabela 38.

TABELA 38 - Influência das matérias-primas na duração e intensidade do **rigor-*mortis***.

Característica	Duração e Intensidade do Rigor- <i>mortis</i>
Idade	é mais breve nos peixes jovens
Classe de peixes	é mais curto nos elasmobrânquios que nos teleósteos
Tipo de músculo	é mais rápido e dura menos nas espécies de carne escura
Famílias de peixes	é mais prolongado nas espécies planas (linguado)

10.1.3 - Características da fase de pós-rigor-*mortis*

Após um período variável de rigidez, o músculo torna-se macio e recupera muitas das propriedades que tinha no pré-rigor, como é mostrado na tabela 39.

TABELA 39 - Propriedades físicas do músculo na fase de pós-rigor-"mortis".

Propriedade	Situação no Pós-rigor
pH	aumenta e atinge valores ligeiramente inferiores ao pré-rigor.
Retenção de água	aumenta e estabiliza-se num valor ligeiramente inferior ao pré-rigor.
Extensibilidade	é maior que no músculo em rigor e muito próxima do pré-rigor.
Extratibilidade de proteínas	recupera quase 100% do valor do pré-rigor.
Resposta ao estímulo	não responde ao estímulo.
Resistência elétrica	é menor que o valor no pré-rigor.

Os fenômenos que conduzem à resolução do rigor "mortis" não estão claramente explicados. Acredita-se que a liberação das catepsinas tenha alguma importância na quebra de ligações estratégicas, porém essa relação é difícil de ser provada. A presença de proteases ativadas pelo Ca^{2+} tem ganho lugar nos últimos anos, pois seu modo de ação parece adequado para explicar a magnitude das mudanças que caracterizam a passagem do estado de rigor pleno para a fase de relaxamento.

A relação entre endopeptidases e mudanças texturais é abordada no capítulo 9.

10.2 - Modificações dos carboidratos

O glicogênio é o carboidrato de estoque dos músculos de animais de sangue quente e dos pescados. Sua degradação produz energia (ATP) através de uma seqüência de reações enzimáticas que podem ser do tipo aeróbico ou anaeróbico como é mostrado na figura 52.

A diminuição do suprimento de O_2 , após a morte, direciona a glicólise para o mecanismo anaeróbico. No músculo ordinário "in vivo", o mecanismo é praticamente anaeróbico, por isso

os seus sistemas-tampões estão adaptados para neutralizar aumentos súbitos de ácido láctico.

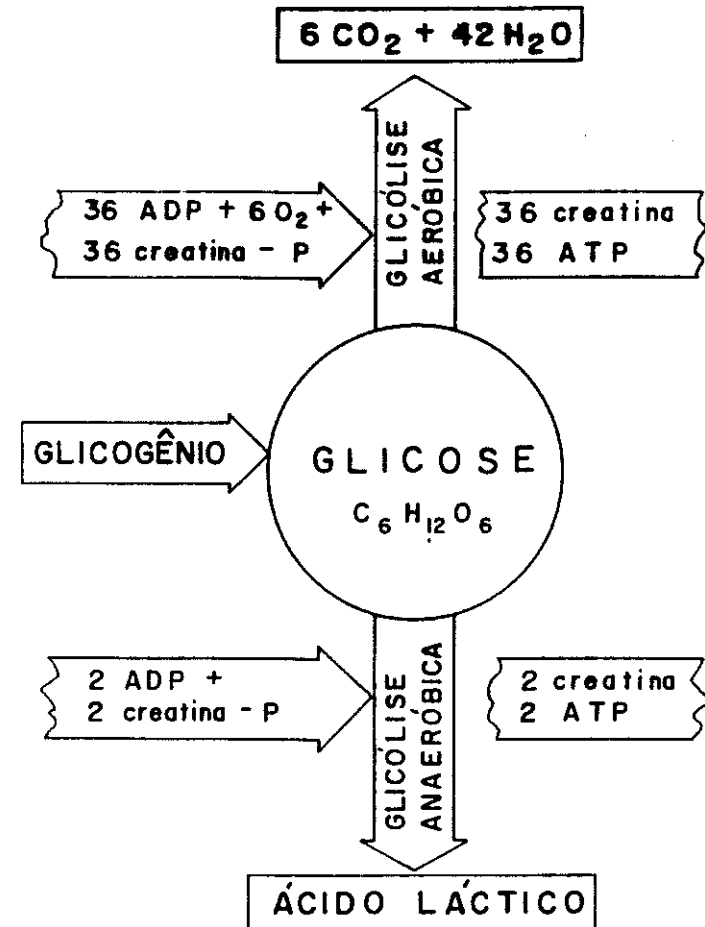


FIGURA 52 - Glicólise aeróbica e anaeróbica em músculos animais.

No músculo vermelho, a taxa menor de histidina livre reduz a sua capacidade para absorver grandes quantidades de ácido, o que, junto a um teor de glicogênio maior, causa decréscimos notáveis do pH. O pH baixo é responsável pelo encolhimento maior do músculo vermelho e a degradação mais rápida dos nucleotídeos (Sainclivier, 1982; Buttkus, 1963; Dyer et al., 1966; Partman, 1965).

A queda de concentração de creatina fosfato em animais terrestres ocorre rapidamente, sobrando, no início do rigor, apenas 30% do valor no músculo vivo (Bendall, 1951). Nos peixes, quase toda a creatina já está livre antes da resolução do rigor. Nazer e Magar (1963) encontraram teores de creatina fosfato entre 4 e 16 mg/100 g, valores muito pequenos em comparação ao teor de creatina total (~300 mg % em peixes de carne clara).

10.2.1 - Teor de glicogênio e produtos de sua degradação no músculo de pescado

Nos peixes de captura comercial, o teor de glicogênio dá valores entre 100 e 400 mg % (Thomlinson et al., 1962). Este valor é inferior aos teores registrados em animais de sangue quente que variam entre 500 e 1.000 mg % (Hamoir et al., 1960). Para obter valores mais realísticos, é preciso trabalhar com peixes, crustáceos e moluscos mantidos vivos até o momento da amostragem. Nesta situação, os valores aproximam-se dos mamíferos e chegam a ser iguais nos peixes de carne escura (~1.000 mg %) (Ikeda, 1980).

Na tabela 40, aparece uma recopilación sobre o valor de glicogênio em músculos de pescados analisados antes de entrar em rigor.

A dispersão dos dados indica a dificuldade de se conhecer a concentração real de glicogênio no animal vivo. Pequenas demoras da amostragem, após a morte, reduzem drasticamente o teor de glicogênio, particularmente no camarão, no qual, é possível encontrar uma variedade de produtos metabólicos do glicogênio imediatamente após a morte (Matsumoto e Yamanaka, 1990). Os moluscos de concha apresentam, geralmente, teores elevados de glicogênio que, provavelmente, funcionam como combustível de reserva, ao invés da gordura que, nestas espécies, raramente excede 2 %.

pelo frio. A desidrogenase é desativada em pH 5,4-5,5 (Ikeda, 1980), o que explicaria a ausência de ácido láctico nas vieiras e outros moluscos (Shibata, 1977) que deveria ser formado do ácido pirúvico nas últimas etapas da glicólise pela via de Embden-Meyerhof-Parnas, como mostra a figura 54.

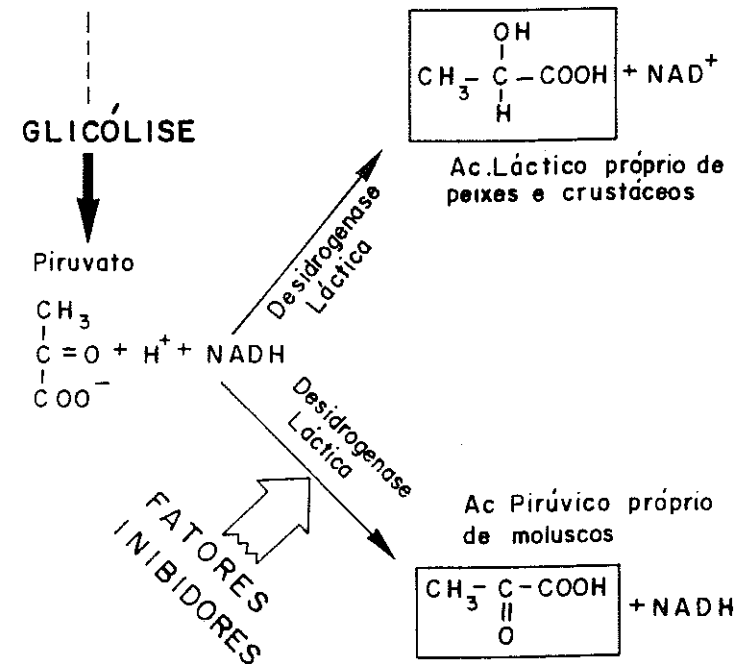


FIGURA 54 - Inibição das etapas finais da glicólise nos músculos, causando acúmulo de ácido pirúvico ao invés de láctico.

O comportamento das espécies da tabela 41 tem sido confirmado em ensaios com outras espécies, sugerindo que o glicogênio é, de fato, degradado de maneira diferente pelos peixes, moluscos e crustáceos.

A ribose, ribose-1-fosfato e ribose-5-fosfato têm sido encontradas, frequentemente, em espécies pouco frescas, acreditando-se que se originem da hidrólise da inosina durante a formação de hipoxantina (Shewan e Jones, 1957; Jones e Murray, 1962; Tarr e Leroux, 1962).

A diminuição do glicogênio na armazenagem é função das espécies e da temperatura. No camarão *Penaeus japonicus*, a evolução é lenta (Matsumoto e Yamanaka, 1990). Na tilápia, bacalhau e outros peixes, a evolução é rápida, existindo uma boa correlação entre desaparecimento do glicogênio e concentração de ácido láctico. Na truta e no salmão, o ácido láctico continua a subir, mesmo que o glicogênio tenha se esgotado (Nazir e Magar, 1963; Tomlinson et al., 1961).

O teor de ácido láctico máximo, determinado em alguns pescados, aparece na tabela 42.

TABELA 42 - Teor de ácido láctico em alguns peixes e crustáceos.

Espécie	Ácido Láctico (mg %)	Referências
Tilápia	360 - 562	Disney et al. (1969)
Truta	239 - 290	Azam, Mackie (1990)
Truta	600 - 700	Tomlinson et al. (1961)
Bacalhau	300 - 400	Jones et al. (1965)
Miragaia (Groupier)	510	Nazir, Magar (1963)
Capelin	375	Shaw, Botta (1975)
Albacora	1200 - 1400	Tomlinson et al. (1961)
Bonito-de-barriga-listrada	1170	Tsuchiya, Kumii (1960)
Salmão (sockeye)	800 - 1000	Tomlinson et al. (1961)
Camarão (<i>P. aztecus</i>)	370	Flick, Lowell (1972)
Camarão (<i>P. japonicus</i>)	55	Matsumoto, Yamanaka (1990)

(*) ainda estava subindo após 72 horas.

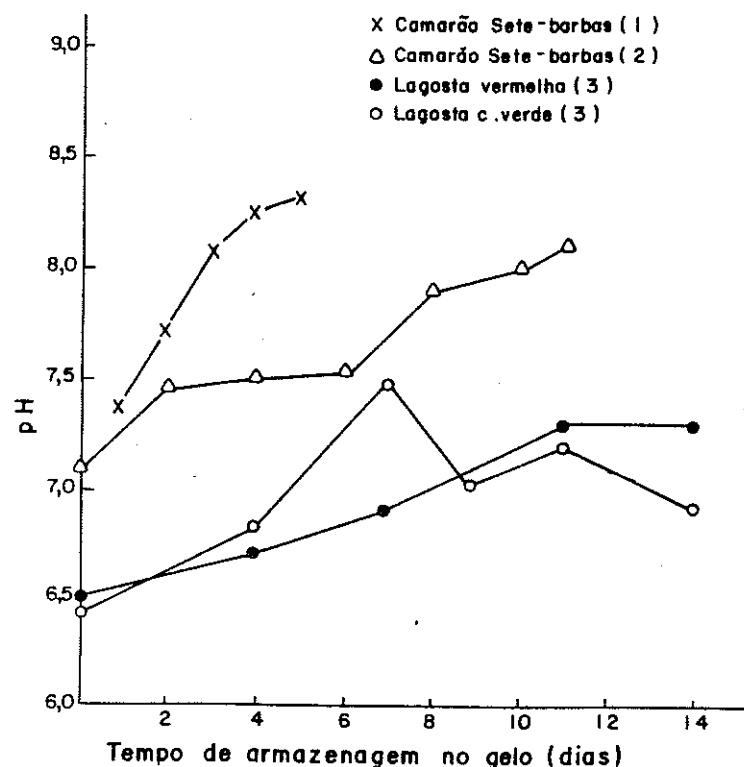
Os dados da tabela permitem concluir que o teor de ácido láctico não é tão variável quanto o de glicogênio, ficando entre 300 e 552 mg % para os peixes de carne clara. Nos escombrídeos e outros peixes de carne escura, o teor está acima de 1.000 mg %, dentro da faixa determinada em animais de sangue quente.

A consequência imediata do acúmulo de ácido láctico é a queda do pH, que se manifesta, na maioria dos peixes, após 24 horas de captura e mantém-se baixo por 6 a 10 dias. Na tilápia, Netto (1984) determinou valores em torno de 6,2 por 10 dias. Nas cavalas de tamanho grande, o pH pode descer até 5,8 (Danidã, 1982), e no atum e hipoglossos (peixe plano de águas frias), o pH pode chegar até a 5,4 (Tomlinson et al., 1963).

O aumento do pH coincide com o fim do **rigor-mortis**, porém nem sempre há uma correlação alta entre estes eventos. O período em que o pH se mantém baixo, praticamente define a vida útil dos pescados, com a notável exceção dos peixes de água doce, que permanecem em condição aceitável por 3 e até 4 semanas (Netto, 1984; Disney, 1969).

A figura 55 mostra, de maneira comparativa, a evolução do pH em alguns crustáceos brasileiros. As duas lagostas tinham pH inicial praticamente na faixa dos peixes marinhos (6,2 - 6,6) e aumentaram moderadamente sem chegar a atingir os valores típicos dos camarões. O camarão-sete-barbas é a espécie mais pesquisada no Brasil, devido ao seu grande volume de captura. Na figura 55, as duas experiências registraram regime de acréscimo algo diferentes. Mesmo assim, a faixa de variação do pH das duas curvas situa-se dentro do intervalo relatado na literatura (pH entre 7,0 e 8,5) (Flores e Crawford, 1973; Flick e Lowell, 1972).

O acúmulo de amônia, produzido por enzimas endógenas no camarão (Chia-Ping et al., 1978; Finne, 1982), contribui para a elevação do pH. Na tilápia, o pH permanece num patamar baixo, enquanto que na pescada-foguete, há um aumento contínuo desde o terceiro dia da captura, porém sem atingir os níveis dos crustáceos, mesmo após a rejeição sensorial (oitavo dia no gelo).



Fonte: (1) Britto de Castro et al., 1973;
 (2) Draetta et al., 1986;
 (3) Ogawa et al., 1970A e B.

FIGURA 55 - Mudanças do pH em crustáceos brasileiros armazenados em gelo.

10.2.2 - Comparação entre o rigor-"mortis" de animais de sangue quente e de peixes

Nos animais de sangue quente, o rigor processa-se com velocidade diferente da dos peixes. Em alguns casos, devido à

dificuldade de resfriar rapidamente carcaças de grande tamanho e, em outros, por características intrínsecas das espécies. A tabela 43 reúne dados sobre **rigor-"mortis"** em vários vertebrados.

TABELA 43 - Características do **rigor-"mortis"** em alguns animais criados ou capturados para a produção de carne.

Animal	T (°C)	Tempo para atingir		Referências
		pH mínimo (h)	pH final	
Bovino	5	36 - 40	5,6	Honikel, Hamm (1985)
Baleia	ambiente	18	5,5	March (1952)
Jacaré	5 - 7	50	5,6	Romanelli (1991)*
Coelho	5 - 7	27	5,5	Romanelli (1991)*
Frango	20 - 25	8	5,5	Khan (1974)

(*) comunicação pessoal: Pesquisas sobre a utilização da carne de jacaré.

Mesmo que o pH mínimo e duração do **rigor-"mortis"** sejam diferentes entre animais de sangue quente e peixes, há um certo paralelismo no efeito de algumas situações de pré-abate (ou pré-captura). Estes fenômenos têm sido estudados desde há muito tempo em animais de abate, pela importância que têm nas propriedades sensoriais da carne.

O estresse "ante-mortem" produz, nos suínos, o fenômeno chamado de "P.S.E." (Pale, soft, Exsudative meat), que se caracteriza por produzir carnes com baixa capacidade de retenção de água e aparência e cor anormais (Hoffman, 1988; Honikel et al., 1980). A coexistência de pH baixo e temperaturas altas parece ser a causa desta desnaturação severa das proteínas miofibrilares.

Os peixes de captura comercial, certamente, sofrem grande estresse, porém sua temperatura corporal é relativamente baixa (com exceção dos escombrídeos) e o pH não diminui tanto, de modo que o efeito da combinação de pH baixo/temperatura alta parece ser menos severa que nos animais de sangue quente. Além do mais, o tamanho relativamente pequeno dos peixes permite o resfriamento com maior eficiência. Porém, há fatores que intensificam

as alterações texturais, entre os quais o mais importante é a suscetibilidade à desnaturação das proteínas marinhas (capítulo 8).

Outra situação registrada com animais estressados, porém sacrificados após um certo período de recuperação, é a ocorrência de carnes com pH inicialmente elevado que não diminui durante o **rigor-*mortis***. Tais carnes têm grande capacidade de retenção de água, consistência pegajosa e cor escura, sendo, por isso, referidas como carnes D.F.D. (Dark, Firm and Dry) (Forest et al., 1979; Tarrant, 1987). O grande consumo de glicogênio pelo estresse e a remoção simultânea do ácido láctico pelo sistema circulatório, no animal vivo, deixá-lo-iam sem reserva de glicogênio, de modo que, após a morte, o **rigor-*mortis*** se processaria sem produção de ácido láctico, com o pH mantendo-se elevado no período completo.

Uma situação semelhante tem sido relatada em peixes, sendo chamada de "**rigor-*mortis* alcalino**" que produz músculo com alta capacidade de retenção de água, porém com maior suscetibilidade ao ataque microbiano.

10.3 - Modificações nos nucleotídeos

A degradação dos nucleotídeos ocorre de maneira concomitante e interligada com a evolução do glicogênio. O pH baixo influi, inibindo ou catalisando algumas enzimas, de modo que as mudanças nos músculos acontecem de maneira simultânea, influenciando-se mutuamente.

Nos músculos de pescado, os nucleotídeos de adenina (5-8 micromol/g) perfazem mais de 90% dos totais, correspondendo ao ATP a contribuição maior (Patman, 1965). A tabela 44 reúne dados sobre a concentração de ATP em pescados. Os dados foram obtidos de animais conservados em aquário ou analisados bem logo após a morte.

O decréscimo do ATP celular induz o estado de **rigor-*mortis*** (Partman, 1965) que se manifesta, normalmente, quando a concentração de ATP está diminuindo e não quando é máxima. Segundo Yamanaka et al. (1978), a intensidade do **rigor-*mortis*** no

bonito-de-barriga-listrada depende da quantidade de ATP decomposto por unidade de tempo. A decomposição, às vezes, tem comportamentos erráticos, como por exemplo, em alguns moluscos, em que a queda de ATP é maior em temperaturas abaixo de 0°C, o que tem sido explicado pela liberação súbita do Ca⁺⁺ dos reservatórios do retículo sarcoplasmático, pela destruição de suas estruturas por causa da congelação.

De qualquer modo, a relação entre ATP e **rigor-*mortis***, como salientaram Jones et al. (1965), não é direta. Eles constataram que, no bacalhau, o rigor se iniciava com quantidades de ATP extremamente variáveis, dependendo da condição fisiológica das espécies. Nos peixes exercitados, por exemplo, o início do rigor podia ocorrer com 0,82 micromoles/g de ATP e, nos peixes descansados e bem nutridos, com 2,25 micromoles/g. A relação entre o ácido láctico e o **rigor-*mortis*** foi clara e regular, existindo uma faixa de concentração (300 - 400 mg/100 g) para o início do rigor.

10.3.1 - Degradação de nucleotídeos derivados do ATP

Têm sido propostos dois mecanismos de degradação de nucleotídeos em peixes. O primeiro envolve a formação de inosina monofosfato (Tarr, 1966; Eskin et al., 1971), e o segundo mecanismo considera uma seqüência de desfosforilações até adenosina (Araí, 1966; Sakaguchi et al., 1990). Ambos os mecanismos aparecem na figura 56.

A seqüência degradativa nos dois mecanismos inicia-se com a perda do fosfato terminal do ATP até formar o 5'-AMP. A seguir, os metabólitos que se acumulam em cada etapa dependem, no esquema "A", da presença da enzima **5'-AMP-aminohidrolase** (EC 3546) e, no esquema "B", da enzima **adenosina-aminohidrolase** (EC 3544). A primeira enzima ("A") é de origem mitocondrial e apresenta a atividade ótima em pH 6,6 (Stone, 1970). No camarão, tem sido demonstrado que a desaminação de 5'-AMP predomina a 19°C, enquanto que a -6°C predomina a desaminação da AdR.

TABELA 44 - Concentração de ATP em peixes, crustáceos e moluscos.

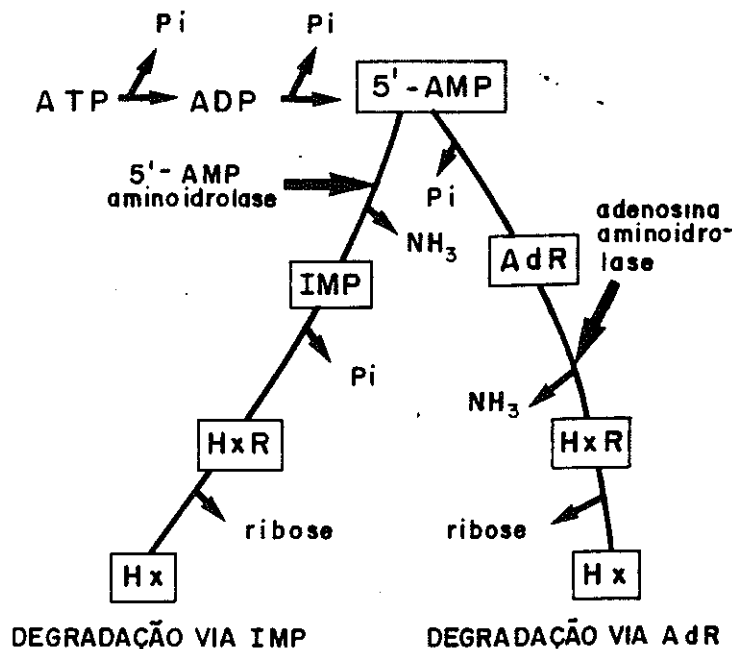
Pescados	ATP (μ moles/g)	Referências
Bacalhau	5,0 - 8,0	Tarr (1966)
Bacalhau	5,4	Jones, Murray (1961)
Bacalhau	5,2	Fraser et al. (1961)
Tilápia	6,5	Disney et al. (1969)
Truta	3,9	Azam, Mackie (1990)
Plaice (peixe plano)*	5,0	Fujii et al. (1966)
Camarão (<i>P. aztecus</i>)	6,1	Flick, Lovell (1972)
Camarão (<i>P. japonicus</i>)	3,0 - 5,0	Nakayima et al. (1961)
Camarão (<i>P. japonicus</i>)	6,4	Matsumoto, Yamanaka (1990)
Caranguejo (king crab)	3,8	Porter (1968)
Ostra (<i>Crassostrea gigas</i>)	1,8	Sakaguchi, Yamashita (1990)

(*) ATP + ADP.

A reação $ATP \Rightarrow IMP$ é rápida e pode ocorrer antes que o pH do músculo alcance um nível constante. A reação $IMP \Rightarrow HxR \Rightarrow Hx$ é mais lenta, varia consideravelmente de espécie para espécie e depende das condições de estocagem (Tarr, 1955).

Dingle e Hines (1975) mencionam que a enzima IMP-desfosforilase (IMP fosfohidrolase) tem uma atividade muito alta nos peixes de carne vermelha (bonito, atum) e em várias espécies de linguados como no Winter Flounder (Jones et al., 1964) e no Plaice (Ehira e Uchiyama, 1973). Nestes peixes, produz-se um aumento de HxR em pouco tempo. No bacalhau e na maioria dos peixes demersais de carne branca, a atividade da IMP-desfosforilase é moderada, o que pode causar um acúmulo inicial, dependendo da atividade das enzimas subsequentes. No Halibut (peixe plano de águas frias), a IMP-desfosforilase é pouco ativa, permitindo um acúmulo de IMP ao invés de HxR. Esta enzima, junto com a Hxr riboidrolase, tem atividade máxima em pH acima de 7,0 (segundo Tarr, 1966), pelo qual, nos peixes de músculo ácido como cavala (Fraser et al., 1972) e espadarte (Dyer et al., 1966), a conversão $IMP \Rightarrow Hx$ é muito demorada. As duas espécies ácidas duram, aproximadamente, 19 dias em gelo contra 12

- 14 dias das espécies brancas (Reay e Shewan, 1949). Entretanto, no espadarte, apenas a massa muscular ordinária tem baixa atividade enzimática; no músculo vermelho, a degradação dos nucleotídeos procede rapidamente (7 dias), de modo semelhante à dos peixes de carne escura típicos (Dyer et al., 1966).



IMP = Inosina 5' - monofosfato

HxR = Inosina ou Hipoxantina ribósido

Hx = Hipoxantina

5'-AMP = Adenosina - 5' - monofosfato

As formulas químicas aparecem no capítulo 7

FIGURA 56 - Caminhos da degradação do 5'-AMP em peixes (Referências no texto).

A tabela 45 apresenta uma recopilação de dados sobre a ocorrência das enzimas que desaminam 5'-AMP e adenosina (AdR) dos mecanismos "A" e "B".

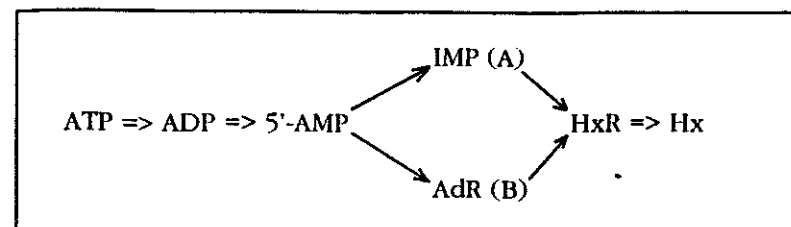
TABELA 45 - Enzimas degradantes do 5'-AMP e Adenosina em alguns pescados.

Espécies	Aminoidrolases		Referências
	5'-AMP	AdR	
Salmão	+	+	Stone (1970)
Bacalhau	+	+	Tarr (1955)
Cavala	+	+	Fraser et al. (1972)
Camarão (<i>P. aztecus</i> e outros)	+	+	Cheuk et al. (1979)
Camarão (<i>P. japonicus</i>)	+	+	Matsumoto, Yamanaka (1990)
Lagosta	+	±	Dingle et al. (1968)
Caranguejo (king crab e outros)	-	+	Stone (1970)
Vieira (músculo adutor)	-	+	Stone (1970)
Ostra (completa)	±	+	Dingle et al. (1968)

(+) presente (-) ausente (+-) atividade fraca

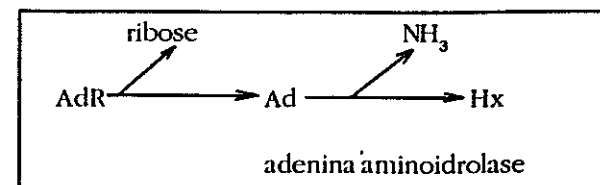
Os peixes e crustáceos têm as duas enzimas, portanto poderiam formar IMP ou AdR, dependendo provavelmente das condições de armazenagem. Cheuk et al. (1979) relataram que, nos camarões rosa e marrom, a AdR é muito mais ativa e mais estável na estocagem.

Arai (1966) tem sugerido que a ausência de IMP com o acúmulo de 5'-AMP indica prevalência do caminho "B" nos invertebrados marinhos. Recentemente, porém, Sakaguchi et al. (1990) encontraram um comportamento bioquímico duplo na ostra gigante: no músculo adutor existiam duas enzimas, já que o IMP se formava após alguns dias concomitantemente com um decréscimo de 5'-AMP. Na ostra total (manto + músculo adutor), a formação de IMP era irrelevante e a do 5'-AMP era alta e mantinha-se assim durante a estocagem. Os autores sugerem que, neste molusco, o mecanismo de formação da hipoxantina (Hx) procedia da seguinte maneira:



Estas pesquisas parecem restringir, por exemplo a exclusividade do mecanismo "B" em alguns moluscos.

Stone (1970) pesquisou a existência de um caminho alternativo para a formação da hipoxantina através da adenosina em salmão e caranguejo:



Este caminho parece não ocorrer, pois não foi produzida amônia em nenhum dos extratos testados em várias condições de pH e força iônica.

Kassemsarm et al. (1963) encontraram quantidades moderadas de guanina no plaice (peixe plano) armazenado com gelo e, ocasionalmente, no bacalhau congelado por períodos longos.

Nucleotídeos não-derivados do ATP têm sido pouco pesquisados, porém conhece-se que há nucleotídeos de NAD⁺, NADH, NADP⁺ e NADPH que aparecem mais concentrados no músculo vermelho que no ordinário. Ikeda (1980) salienta que pouco se conhece do significado tecnológico dos nucleotídeos da nicotinamida.

Hipoxantina (Hx): Desde que Jones et al. (1964) publicaram um método para a determinação enzimática da Hx em pescados, este composto tornou-se o derivado do ATP mais pesquisado tanto nos aspectos bioquímicos quanto biológicos. Sua maior aplicação é a

avaliação do frescor em pescados "in natura", congelados, irradiados e até enlatados (Spinelli et al., 1964; Jones, 1965; Huges e Jones, 1966; Fujii et al., 1966; Fujii, 1968; Morga, 1976; Beraquet et al., 1986).

Este método veio ampliar as opções analíticas para a avaliação do frescor através da determinação da Hx formada da HxR e AdR nas últimas etapas da degradação do ATP. Esta etapa é muito mais variável que as que a precederam (Kennish e Kramer, 1987).

Em algumas espécies, a HxR desaparece rapidamente, causando um acúmulo de Hx, como ocorre na solha (Kassemsarm et al., 1963), no vermelho (Fraser et al., 1968) e outros peixes. Em outras espécies, a HxR é modificada lentamente, permanecendo sem alteração por vários dias, como no salmão (Kennish e Kramer, 1987), na tilápia (Disney et al., 1969) e outros peixes de água doce (Dugal, 1967).

Ehira e Uchiyama (1973, 1987) pesquisaram o tipo de degradação numa grande variedade de espécies e ordenaram-nas em três grupos, de acordo com o valor da relação HxR:Hx em termos molares, como mostra o esquema seguinte:

GRUPO A - Espécies que apresentam $HxR:Hx \geq 5:1$;

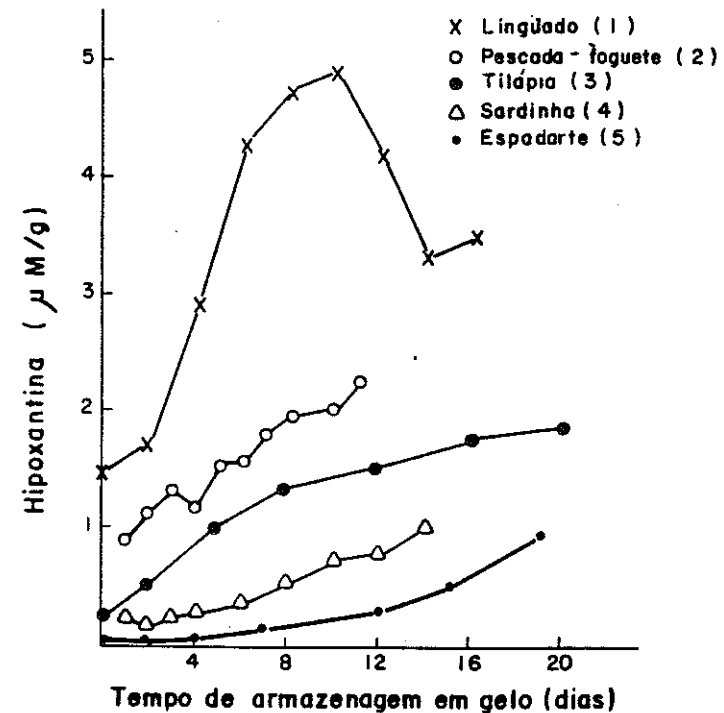
GRUPO B - Espécies que apresentam $HxR:Hx$ entre 5:1 e 1:5;

GRUPO C - Espécies que apresentam $HxR:Hx \leq 1:5$.

Os autores classificaram 29 espécies no grupo A, 36 no grupo B e 30 no grupo C. No grupo A, aparecem o espadarte, carapau, cavala, sororoca, quase todos os atuns, bonito-de-barriga-listrada, pargo e outros. No grupo B, estão a corvina comum, congro, pescadas, cações, brótula, polvo e outros. No grupo C, encontram-se a garoupa, linguado, solha e quase todos os peixes planos, corvina branca, olhete e outros.

De uma maneira geral, o valor de Hx tem correlação alta com o frescor sensorial de peixes crus ou cozidos do grupo C, apenas moderada com os do grupo B e definitivamente baixa com os do grupo A.

A figura 57 mostra a evolução de Hx da sardinha (*Sardinella brasiliensis*) e da pescada-foguete (*Macrodon anslodon*), acompanhada da curva típica de um peixe do grupo A ($HxR:Hx \geq 5:1$) e do grupo C ($HxR:Hx \leq 1:5$).



Fonte: (1) Jonhs et al. (1976); (2) Morga (1976);
 (3) Geromel (1984)*; (4) Beraquet et al. (1985);
 (5) Dyer et al. (1966). * - Comunicação pessoal

FIGURA 57 - Evolução da hipoxantina (Hx) em 3 espécies brasileiras, comparadas com o linguado ("Winter Flounder"), uma espécie que forma Hx com taxa alta e com o espadarte ("Swordfish"), uma espécie de taxa tipicamente baixa.

Na corvina, o limite de aceitabilidade sensorial encontra-se com um teor de Hx em torno de 2 micromol/g. Na sardinha, a rejeição sensorial ocorreu com um valor em torno de 0,5 micromol/g. As espécies pequenas são mais afetadas pelo maltrato físico, e sua maior área as torna mais suscetíveis à contaminação microbiológica.

Antes da Hx tornar-se usual como teste de frescor, Saito et al. (1959) tinham proposto uma nova maneira de avaliar o frescor mediante a medição da absorvância à 250 nm de um extrato de nucleotídeos tratado e não tratado em amberlite IRA-400. A absorvância do extrato purificado na resina correspondia a HxR + Hx e o não tratado, aos nucleotídeos totais. Ambos os valores relacionavam-se pela expressão K:

$$K = \frac{\text{Abs}_{250} (\text{HxR} + \text{Hx})}{\text{Abs}_{250} (\text{nucleotídeos totais})} \times 100$$

O valor K indica a porcentagem de derivados do ATP que foram convertidos em HxR e Hx. Considerando que o catabolismo do ATP é semelhante nas espécies, o valor K permitiria avaliar a velocidade com que os nucleotídeos são decompostos entre as diferentes espécies (Kassemsarm et al., 1963; Ehira e Uchiyama, 1987).

Ainda que o fundamento do método proposto por Saito et al. (1959) permaneça o mesmo, as técnicas de purificação e fracionamento tem sido muito aperfeiçoadas, sendo hoje possível separar HxR, Hx, ATP, ADP, AMP e IMP por cromatografia líquida de alta eficiência, obtendo-se o valor de K em pouco tempo e com a certeza da ausência da interferência a 250 nm.

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

Nos peixes muito frescos, os metabólitos finais HxR e Hx existem em quantidades mínimas, dando valores de K muito pequenos. No decorrer da aprendizagem, a soma HxR + Hx aumentará progressivamente até atingir valores altos que, quando relacionados

com testes sensoriais, permitirão definir os limites de aceitação para as diferentes espécies.

Uchiyama et al. (1970) e Ehira e Uchiyama (1973) acompanharam a evolução dos valores de K de espécies comerciais desde a captura até sua comercialização no varejo em várias localidades do Japão, encontrando que, nos peixes bem frescos analisados a bordo, o valor de K ficava abaixo de 5 %, nos peixes descarregados no cais, apresentava valor em torno de 22 % e, nos peixes distribuídos nos diferentes elos da cadeia comercial, o valor situava-se entre 40 e 60 %.

Ehira e Uchiyama (1987) comprovaram que a determinação do valor K realmente acusa a suscetibilidade de estragar em qualquer espécie, enquanto que a medição da Hx é mais restrita, acusando deterioração só naquelas cuja taxa de formação de Hx é razoavelmente rápida.

Além da adequação das espécies, a escolha dos métodos depende também das facilidades de laboratório e habilidade dos técnicos, fatores que são menos relevantes na determinação do Hx.

10.4 - Referências Bibliográficas

- AMANO, K., BRITO, M., KAWABATA, T. Handling effects upon biochemical changes in the fish muscle immediately after catch. 1 - Difference of glycolysis in the frigate mackerel killed by various methods. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **19**:487-98 (1958).
- AMLACHER, E. Rigor-mortis in fish. In: *Fish as food*. vol. I. Ed. G. Borgstrom, Academic Press, New York, pp.345-410 (1978).
- ARAI, K. Nucleotides in the muscle of marine invertebrates: a review. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **44**:1123-6 (1978).
- AZAM, K., MACKIE, I.M. Effect of stunning method on the time of onset, duration and resolution of rigor in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) as a measured by visual observation and analysis of lactic acid, nucleotide degradation products and glycogen. In: *Chilling and freezing of new fish products*. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France, pp.351-7 (1990).
- BENDALL, J.R. *J. Physiol.* **114**:71 (1951).

- BERAQUET, N.J., LINDO, M.K.M., VIEIRA, C.M. Métodos químicos na avaliação de qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca e processada termicamente. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) **15**:141-70 (1985).
- BURT, J.R. Glycolitic enzymes of cod (*Gadus callarias*) muscle. J. Fish Res. Bd. Can. **23**:527-38 (1966).
- BUTTKUS, H.J. Red and white muscle of fish in relation to rigor-mortis. J. Fish Res. Bd. Can. **20(1)**:45-58 (1963).
- CHEUK, W.L., FINNE, G., NICKELSON, R. Stability of adenosine-deaminase and adenosine monophosphate deaminase during ice storage of pink and brown shrimp from the Gulf of Mexico. J. Food Sci. **44**:1625 (1979).
- CHIA-PING, S.Y., NICKELSON II, R., FINNE, G. Ammonia-producing enzymes in white shrimp tails. J. Food Sci. **43(5)**:1400-4 (1978).
- DANIDA (Agência Danesa para el Desarrollo Internacional). Manual del pescado fresco, su calidad y cambios de calidad. p.41 (1983).
- DINGLE, J.R., HINES, J.A. Protein instability in minced flesh from fillets and frames of several commercial Atlantic fishes during storage at -5°C. J. Fish Res. Bd. Can. **32**:775-83 (1975).
- DINGLE, J.R., HINES, J.A., FRASER, D.I. Post-mortem degradation of adenine nucleotides in the muscle of lobster (*Homarus americanus*). J. Food Sci. **33**:100-3 (1968).
- DISNEY, G.J., CAMERON, D.J., HOFFMAN, A., JONES, N.R. Quality assesment in tilapia species. Technical Conference in Fish Inspection and Quality, Halifax, Canada (1969).
- DRAETTA, I., BALDIN, S.V.L., IADEROZA, M., LEITÃO DE FREITAS, M.F. Alterações bioquímicas e microbiológicas do camarão sete-barbas (*Xyphopenaeus kroyeri*) durante a estocagem em gelo. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). **23(2)**:203-19 (1986).
- DUGAL, L.C. Hipoxanthine in iced freshwater fish. J. Fish Res. Bd. Can. **24(11)**:2229-39 (1967).
- DYER, W.J., FRASER, D.I., LOHNES, P.D. Nucleotide degradation and quality in ordinary and red muscle in iced and frozen sword fish (*Xiphias gladius*). J. Fish Res. Bd. Can. **23**:1821-33 (1966).
- EHIRA, S., UCHIYAMA, H. Determination of freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. In: Seafood quality determination. Ed. D.E.

- Kramer and J. Liston, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.185-207 (1987).
- EHIRA, S., UCHIYAMA, H. Formation of inosine and hipoxanthine in fish during storage in ice. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. **75**:63-73 (1973).
- ESKIN, N.A.M., HENDERSON, H.M., TOWNSEND, R.J. Biochemistry of foods. Academic Press, New York, USA, pp. 1-29 (1971).
- FINNE, G. Enzymatic ammonia production in penaeid shrimp held on ice. In: Chemistry and biochemistry of marine food products. Ed. R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. Avi Publishing Company, Westport, Conn., USA, pp. 323-31 (1982).
- FLICK, G.J., LOVELL, R.T. Post-mortem biochemical changes in the fish muscle of gulf shrimp (*Penaeus aztecus*). J. Food Sci. **37**:609-11 (1972).
- FLORES, S.C., CRAWFORD, D.L. Post-mortem quality changes in iced pacific shrimp (*Pandalus jordani*). J. Food Sci. **38**:575-9 (1973).
- FORREST, J.C. et al. Fundamentos de la ciencia de la carne. Ed. Acibria, Zaragoza, España, pp.135-41 (1979).
- FRASER, D.I., DYER, W.J., NOWLAN, S., DINGLE, J.R. Variation of biochemical quality indices by biological and technological factors. In: Fish inspection and quality control. Ed. R. Kreuzer, Fishing News Books Ltd., London, England (1972).
- FRASER, D.I., PITTS, P.D., DYER, W.J. Nucleotide degradation and organoleptic quality in fresh and thawed mackerel muscle held at and above ice temperature. J. Fish Res. Bd. Can. **25(2)**:231-53 (1968).
- FRASER, D.I., SYMPSON, S.G., DYER, W.J. Very rapid acumulation of hipoxantine in the muscle of red fish stored in ice. J. Food Sci. **25(4)**:817-21 (1968).
- FUJII, Y. Relation between the ATP-breakdowns in canned fish and the original freshness of the raw fish used. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. **55**:185-93 (1968).
- FUJII, Y., UCHIYAMA, H., EHIRA, S., NOGUCHI, E. Changes of nucleotide substances in plaice muscle during ice storage. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **32(5)**:410-6 (1966).
- HAMOIR, G., MCKENZIE, H.A., SMITH, M.B. Biochem. Biophys. Acta **40**:141 (1960).
- HILTZ, D.F., BISHOP, L.J. Post-mortem glycolytic and nucleotide

- degradation changes in muscle of the atlantic queen crab (*Chionectes opilis*) upon ice storage of unfrozen and of thawed meat and upon cooking. *Comp. Biochem. Physiol.* **B52**:435-58 (1975).
- HOCHACHKA, P.W., SINCLAIR, A.C. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **19**:127 (1962).
- HOFFMAN, K.P.H. A quality criterium for meat. *Fleischwirtsch* **68**(1):67-70 (1988).
- HONIKEL, K.O. et al. Characteristics and utilization of pre-rigor meat. *Ann. Technol. Agric.* **29**(4):589-602 (1980).
- HONIKEL, K.O., RONCALES, P., HAMM, R. The influence of temperature on shortening and rigor onset in beef muscle. *Meat. Sci. Barking*, **8**(3):221-41 (1983).
- HUGHES, R.B., JONES, N.R. Measurement of hipoxanthine concentration in canned herring as an index of the freshness of the raw material with a comment on flavor relations. *J. Sci. Food Agric.* **17**:434-6 (1966).
- IKEDA, S. Other organic components and inorganic components. In: *Advances in fish science and technology*. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Scotland, U.K., Fishing News Books Ltd., England, pp.111-23 (1980).
- JONES, N.R., BURT, R.J., MURRAY, J., STROUD, D.G. Nucleotides and the analytical approach to the rigor-mortis problem. In: *The technology of fish utilization*. Ed. R. Kreuzer, Fishing News Books Ltd., London, England, pp.14-20 (1965).
- JONES, N.R., MURRAY, J. Nucleotide concentration in codling (*Gadus callarias*) muscle passing through rigor-mortis at 0°C. *Z. Vgl. Physiol.* **44**:174-83 (1961).
- JONES, N.R., MURRAY, J. Rapid measure of nucleotide dephosphorilation in iced fish muscle, their value as indices of freshness and of inosine 5'-monophosphate concentration. *J. Sci. Food Agric.* **15**:684-90 (1964).
- KASSEMSARN, O.B., SAEZ, D.B., MURRAY, H., JONES, N.R. Nucleotide degradation in the muscle of iced haddock (*Gadus aeglefinus*), lemon sole (*Pleuronectes microcephalus*) and plaice (*Pleuronectes platessa*). *J. Food Sci.* **28**(1):28-37 (1963).
- KENNISH, J.M., KRAMER, D.E. A review of high pressure liquid chromatographic methods for measuring nucleotide degradation in fish muscle. In: *Seafood quality determination*. Ed. D.E. Kramer

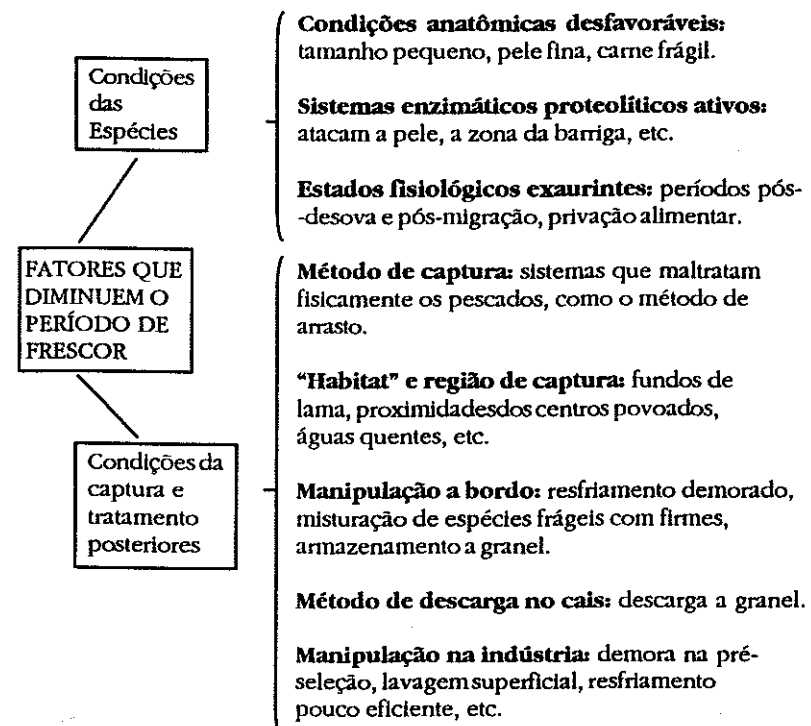
- and J. Liston, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 209-20 (1987).
- KHAN, A.W. Relation between isometric tension, post-mortem pH decline and tenderness of poultry breast meat. *J. Food. Sci.* **39**:393-5 (1974).
- LOVE, R.M. Biological factors affecting processing and utilization. In: *Advances in fish science and technology*. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Scotland, U.K., Fishing News Books Ltd., England, pp.130-8 (1972).
- MAGNUSSEN, M.L. Influence of handling and slaughtering on quality of farmed fish. In: *Chilling and freezing of new fish products*. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France, pp. 259-64 (1990).
- MARSH, B.B. Observations on rigor-mortis in whale muscle. *Biochem. Biophys. Acta* **9**:127-32 (1952).
- MATSUMOTO, M., YAMANAKA, H. Changes in content of glycolytic metabolites and free amino-acids in the muscle of kuruma prawn during storage. *Nippon Suisan Gakkaishi* **56**(9):1515-20 (1990).
- MORGA, A.A. Avaliação do índice de frescor da pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) conservada em gelo. Tese de Mestrado, Fac. Engenharia de Alimentos, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1975).
- NAGAYAMA, F. Mechanism of breakdown and synthesis of glycogen in tissue of marine animals: a review. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **32**:188-92 (1966).
- NAKAMURA, K., FUJII, Y., ISHIKAWA, S. Post-mortem changes in the amounts of glycogen and ATP in adductor muscle of scallop. *Bul. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* **84**:21-9 (1976).
- NAIR, R.B., IHARAMANI, P., LAHIRY, N.L. Studies on chilling storage of freshwater fish. II Factors affecting quality. *J. Food Sci. & Tech. India* **11**(3):118-22 (1974).
- NAKAYIMA, N., ICHIKAWA, K., KAMADA, M., FUJITA, E. 2'-5'-ribonucleotides in foods (2)5'-ribonucleotides in fishes and meats. *Nippon Kogeikagaku Kaishi* **5**:803 (1961).
- NAZIR, D.J., MAGAR, N.G. Biochemical changes in fish muscle during "rigor-mortis". *J. Food Sci.* **28**:1-7 (1963).
- NETTO, F.M. Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo. Tese de Mestrado, Fac. de

- Engenharia de Alimentos e Agrícola, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1984).
- PARTMAN, W. Changes in proteins, nucleotides and carbohydrates during rigor-mortis. In: The technology of fish utilization. Ed. R. Kreuzer, Fishing News Books Ltd., London, England, pp.4-13 (1965).
- PORTER, R.W. The acid soluble nucleotides in king crab muscle. *J. Food Sci.* **33**:331 (1968).
- POULTER, R.G., CURRAN, C.A., DISNEY, J.G. Chill storage of tropical and temperate water-fish. Differences and similarities. Proc. of the International Institute of Refrigeration, Boston 1981.
- REAY, G.A., SHEWAN, J.M. The spoilage of fish and its preservation by chilling. *Advances Food Res.* **2**:343-98 (1949).
- SAINCLIVIER, M. Évolution biochimique du muscle post-mortem. In: L'Industrie alimentaire Halieutique. Ed. Sciences Agronomiques, Rennes, France, pp.145-53 (1983).
- SAITO, T., ARAI, K., MATSUYOSHI, M. A new method for estimating the freshness of fish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **24**(9):749-50 (1959).
- SHEWAN, J.M., JONES, N.R. Chemical changes occurring in cod muscle during storage and their possible use as objective indices of quality. *J. Sci. Food Agric.* **8**(2):491-5 (1957).
- SHIBATA, T. Enzymological studies on the glycolytic system in the muscle of aquatic animals. *Mem. Fac. Hokkaido Univ.* **24**:1-80 (1977).
- SIMIDU et al. (1969).
- SPINELLI, J., EKLUND, M., MIYAUCHI, D. Measurement of hiposanthine in fish as a method of assessing freshness. *J. Fish Res. Bd. Can.* **29**(6):710-4 (1964).
- STONE, E.F. Enzymatic deamination of adenine monophosphate (AMP), adenosine and adenine by salmon, crab and scallop muscle extracts. *J. Food Sci.* **5**:565-7 (1970).
- TABAGI, I., SHIMAZU, W. Constituents and extractive nitrogen in a few species of shellfish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **28**:1192-8 (1962).
- SHAW, D.H., BOTTA, J.R. Preservation studies of inshore male capelin (*Mallotus villosus*) stored in ice. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **32**:2039-46 (1975).
- TARR, H.L.A. Fish muscle riboside hydrolases. *Biochem. J.* **59**(3):386-91 (1955).

- TARR, H.L.A. Post-mortem changes in glycogen, nucleotides, sugar phosphates and sugars in fish muscle. *J. Food Sci.* **31**:846 (1966).
- TARR, H.L.A., LEROUX, M. A note concerning the origin and quantitative distribution of acid-soluble phosphorus compounds and free sugars in fish muscle. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **19**:519 (1962).
- TARRANT, P.V. Muscle biology and biochemistry. European Meeting of Meat Research Workers, Proceedings, **1**(33):1-5 (1987).
- TOMLINSON, N.S., GEIGER, S.E., ROBERTS, E. A progress report of the Pacific Coast Station from the fisheries research board of Canada. Report n°114, 19 (1962).
- TOMLINSON, N.S., ARNOLD, E.R., GEIGER, S.E. Observations on post-mortem biochemical changes in the fish muscle in relation to rigor-"mortis". *J. Fish Res. Bd. Can.* **18**:321 (1961).
- TOYOHARA, H., ANDO, M., SAKAGUCHI, M., SHIMIZU, Y. Post-mortem tenderization of fish muscle during chilling storage. In: Chilling and freezing of new fish products. Ed. International Institute of refrigeration, Paris, France, pp.179-84 (1990).
- TSUCHIYA, Y., KUNII, K. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **26**:284 (1960).
- UCHIYAMA, H., EHIRA, S., KOBAYASHI, H., SHIMIZU, W. Significance in measuring volatile base, trimethylamine nitrogen and nucleotides in fish muscle as indices of freshness of fish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **36**(2):177-87 (1970).
- YAMANAKA, H., NAKAGAWASAI, T., KIKUCHI, T., AMANO, K. Studies on the contraction of carp muscle. 1 - Remarkable differences between rigor-mortis and thaw rigor. *Bull. Jpn. Soc. sci. Fish* **32**:174-9 (1966).

11. Deterioração do frescor

O estado de frescor dos peixes armazenados é avaliado por uma série de parâmetros físicos, bioquímicos, microbiológicos e sensoriais, cujos valores no tempo t são comparados com os respectivos que a matéria-prima apresentava no tempo t_0 (recém-capturado). A taxa de diminuição do frescor depende, entre outros, dos fatores relacionados no esquema a seguir:



A prática de conservação dos pescados com gelo faz com que a evolução do frescor se processe num meio em torno de 1°C com

degelo contínuo. Na armazenagem, desde o pré-rigor, o degelo carrega compostos solúveis e microrganismos e, dependendo do sistema, pode disseminá-los através da massa restante ou eliminá-los por uma drenagem eficiente.

Os produtos do catabolismo das substâncias nitrogenadas, geralmente indesejáveis, são diminuídos pela lixiviação, porém simultaneamente podem ser eliminados compostos musculares indispensáveis para o desenvolvimento do aroma e sabor.

Face a vários testes químicos objetivos para acompanhamento do frescor, baseados na formação de produtos metabólicos solúveis, só serão detectados acréscimos quando a velocidade de formação exceder a velocidade de lixiviação. Esta é uma das principais deficiências dos testes objetivos de frescor, particularmente quando se trata de pescados pequenos.

Os analistas têm tentado contornar esta situação, estabelecendo correlações entre número de microrganismos, avaliação do frescor pela via sensorial e quantidade dos compostos químicos escolhidos como monitores do frescor. Desses estudos, têm sido estabelecidos limites de comestibilidade, definidos quando um ou vários compostos típicos da deterioração atingem valores específicos.

Os eventos bioquímicos que depreciam a qualidade nas etapas iniciais da armazenagem, pré-rigor e rigor "mortis" pleno, são diferentes dos que ocorrem nas etapas pós-rigor.

Há várias décadas, Bailey et al. (1956) classificaram a diminuição da qualidade de camarão conservado em gelo em duas fases: na fase I, relataram mudanças que só afetavam a qualidade "extra" sem comprometer a aceitabilidade; já na fase II, registraram mudanças que afetavam o odor, sabor e textura e que, após alguns dias, tornavam o produto em não-comestível.

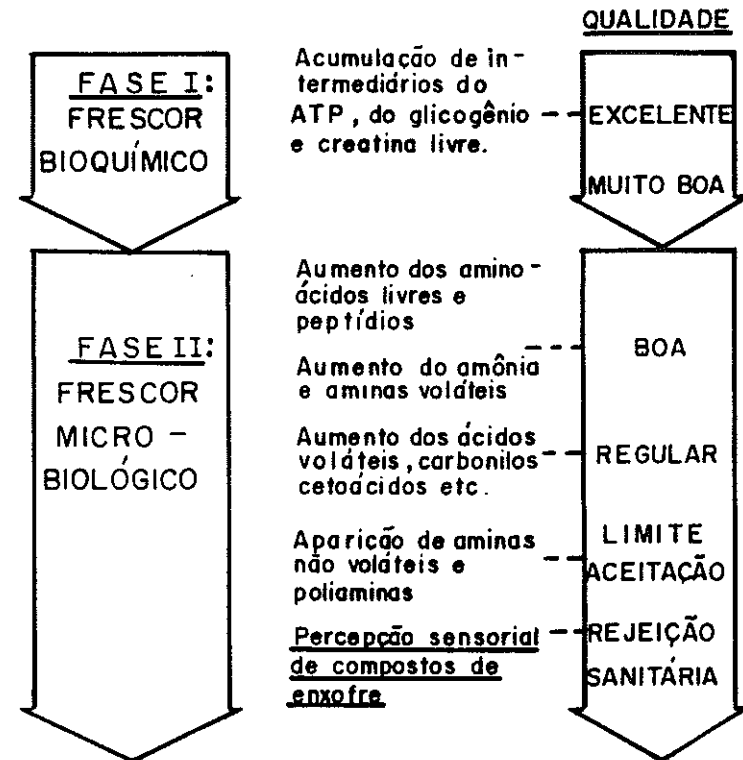
Ehira e Uchiyama (1987) conceituaram de maneira mais precisa a evolução da qualidade, chamando de frescor bioquímico aquela fase entre a captura e o fim do rigor-"mortis", e de frescor microbiológico as mudanças de qualidade no pós-rigor. Os compostos que caracterizam o estado de frescor, na primeira fase, são de origem autolítica, que são impossíveis de se evitar.

Na realidade, o termo deterioração não é adequado para esta fase, pois não ocorrem mudanças indesejáveis, apenas uma pequena diminuição da "qualidade extra".

Os compostos da segunda fase são produtos da atividade microbiana que, se bem que não possa ser eliminada, pode ser deprimida para compatibilizá-la com as de comercialização ou processamento.

A figura 58 mostra a inter-relação entre qualidade geral e tipo de compostos acumulados durante a armazenagem com gelo.

FIGURA 58 - Alterações da qualidade dos pescados durante a armazenagem refrigerada.



Os itens da seqüência 11.1 a 11.5, abordam a formação dos compostos químicos da figura 58, enfatizando os níveis considerados limites para aceitação, tanto em pescados frescos quanto processados.

11.1 - Alterações do teor de NNP, particularmente dos aminoácidos livres na fase de pós-rigor-"mortis"

A fase I foi comentada no capítulo sobre fenômenos bioquímicos do rigor-"mortis", portanto, neste capítulo, abordaremos os eventos que se iniciam no fim do rigor e terminam no limite da aceitação sensorial e sanitária.

O NNP é a primeira fração a ser afetada pelo crescimento dos microrganismos que poderão utilizá-la como fonte de energia (consumo) ou produzir maior quantidade de NNP através de suas proteases secretadas no músculo.

A validade desta determinação como teste de frescor tem sido muito questionada. Netto (1984) encontrou que a tilápia nilótica apresentava 294 mg NNP % imediatamente após a morte. Durante a estocagem, o teor de NNP diminuiu, mesmo na própria fase de rigor-"mortis", caindo para 208 mg NNP % após 20 dias no gelo.

Um resultado próximo foi encontrado por nós com este mesmo peixe que tinha 344 mg NNP %, logo após a morte e abaixou para 258 mg NNP % em 16 dias.

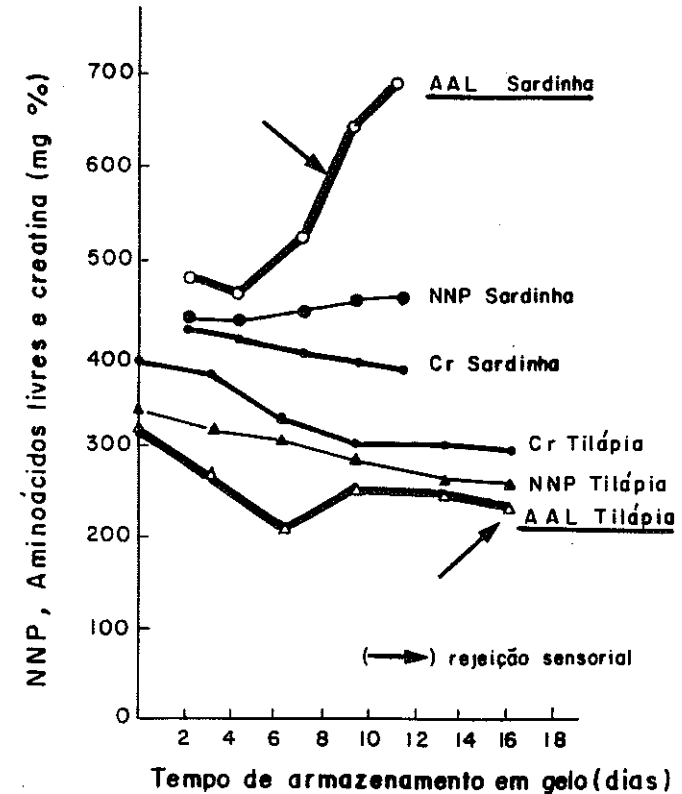
O decréscimo constante parece estar relacionado com a lixiviação (Shewan, 1962; Cobb III et al, 1973) e não com o crescimento bacteriano, visto que, neste peixe, o pH muscular se mantém baixo (~6,0 - 6,4) por vários dias (Netto, 1984).

Um comportamento oposto tem sido relatado por Siebert (1962) e Varela e Wojciech (1956), que descreveram um aumento contínuo do NNP na estocagem, atribuindo este comportamento à atividade das catépsinas na fase inicial e as proteases microbianas nas fases posteriores.

De acordo com a nossa experiência, acreditamos que o comportamento do NNP depende da espécie, isto é, da sua capacidade de autólise, seja por possuir um potencial proteolítico endógeno elevado, ou pela suas próprias características anatômicas.

A figura 59 mostra o curso do NNP, AAL e creatina de sardinha e tilápia mantidas em gelo.

Na figura mencionada, é possível observar dois regimes de evolução do NNP: na tilápia, a tendência é de decréscimo e, na sardinha, de acréscimo.



Fonte: FEA-UNICAMP

FIGURA 59 - Variações do Nitrogênio Não-Protéico (NNP), dos Aminoácidos Livres (AAS) e da Creatina (Cr) em sardinha e tilápia armazenadas em gelo.

A análise de creatina, na tilápia, revela que este composto é perdido com uma velocidade próxima da do NNP, acusando que o mecanismo preferencial é a lixiviação.

Na sardinha, o teor de creatina também desce, porém o NNP sobe, indicando que a lixiviação, representada pela perda da creatina, ocorre simultânea com a geração de NNP, neste caso, aminoácidos livres (AAL), que aumentam abruptamente a partir do 4º dia no gelo.

A escolha da creatina como monitor da lixiviação baseia-se na sua resistência à degradação biológica, microbiana ou autolítica (Shewan e Jones, 1957; Sakaguchi et al., 1982).

O aumento dos AAL nas espécies pequenas e de carne escura é tão marcante que poderia ser utilizado para acompanhar o frescor. Nestas espécies, a intensa proteólise, provavelmente, é o resultado das várias ações concorrentes, que incluem proteases microbianas, do aparelho digestivo (exceto da pepsina) e dos músculos somáticos. Outras espécies foram estudadas junto com a sardinha e tilápia: a cavalinha (*Scomber scombrus*) comportou-se semelhantemente à sardinha, mas a corvina (*Micropogon furnieri*) e o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) ficaram mais próximos da tilápia. Nesta, o NNP desce continuamente, enquanto os AAL primeiro diminuem e logo apresentam um pequeno acréscimo que não chega a compensar o teor inicial; a seguir, os AAL declinam moderadamente até o final da armazenagem.

Esta seqüência, provavelmente, corresponde a uma lixiviação inicial dos AAL naturais, que logo são incrementados por uma proteólise pouco intensa para, finalmente, serem utilizados pela flora microbiológica, desenvolvida mais tardiamente que na sardinha.

Na armazenagem de camarão em gelo, o teor de AAL e de NNP diminui rapidamente com grande perda da qualidade sensorial (Lovern, 1970; Cobb III et al., 1976; Jones, 1967). Certamente, a forma anatômica do camarão favorece a lixiviação intensa que não é compensada com uma eventual proteólise nem mesmo quando a população de microrganismos atinge valores além dos máximos para comercialização.

A figura 60 mostra curvas típicas do comportamento dos AAL e do NNP em camarões. Das figuras 49 e 50 é possível concluir que a determinação do NNP é menos demonstrativa da evolução do

frescor que os AAL, os quais apresentam mudanças muito definidas tanto para peixes quanto para crustáceos.

Alguns pesquisadores têm proposto a determinação de tirosina livre como monitor da formação de AAL. O método químico é simples e sensível, sendo analisada no mesmo extrato preparado para NNP. Tem sido utilizada para avaliação de frescor de várias espécies de carne clara, comparando sua utilidade com a de outros testes de frescor, concluindo-se que, mesmo havendo acréscimos no período de armazenagem com gelo, o aumento irrefutável só ocorre no final da vida útil (Jahns et al., 1976; Jahns e Rand, 1979; Shenouda et al., 1979).

Morga (1975) usou a tirosina no acompanhamento da vida útil da pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*), um peixe brasileiro de carne branca, encontrando que, após 11 dias em gelo, a tirosina mudou de 5,10 mg % para 11,97 mg %. A despeito de ter havido aumento, os valores foram muito dispersos para servirem como índices de frescor.

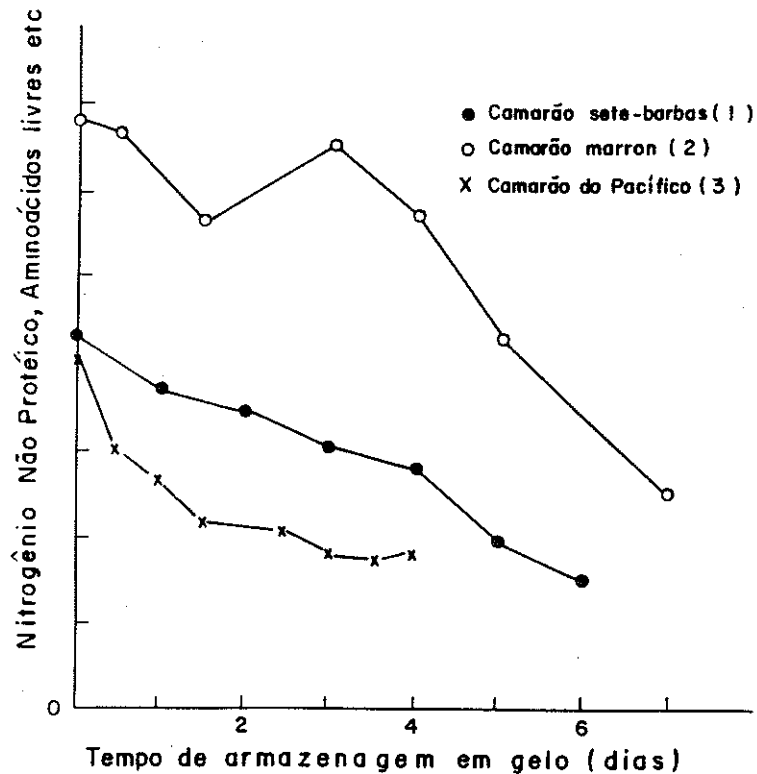
No camarão armazenado em gelo, a evolução da tirosina segue a mesma tendência ao declínio que os AAL.

Tem sido sugerido que a diminuição regular da tirosina com o tempo de armazenagem poderia ser utilizado como indicador de qualidade sensorial, pois há uma relação distinta entre teor de AAL (ou de tirosina) e palatibilidade (Frieger e Friloux, 1953).

A formação de AAL parece ser causada, principalmente, pela atividade microbiana, já que nos músculos assépticos só se formam quantidades irrelevantes (Shewan e Jones, 1957).

Sakaguchi et al. (1982) demonstraram que, no músculo ordinário do yellowtail (*Seriola quinqueridata*), não houve variação na concentração dos AAL em 40 dias de estocagem asséptica em recipientes de plástico mergulhados em gelo. Entretanto, no músculo vermelho, houve um aumento dos AAL, principalmente da Leu, Lis, Ileu, Fe, Val, Tre, Tir, Ser, Gli e A.Glut., o que acusa uma atividade proteolítica moderada neste músculo.

Na armazenagem industrial, o vazamento das enzimas do trato digestivo é a causa mais relevante da hidrólise da pele, cavidade abdominal e do amolecimento geral da carne.



- 1) Draetta et al. (1986);
2) Cobb III et al. (1976);
3) Flores e Crawford, L.D. (1973).

FIGURA 60 - Perda contínua de aminoácidos livres, e substâncias solúveis em algumas espécies de camarões, devido ao degelo durante a armazenagem.

11.2 - Formação de amônia

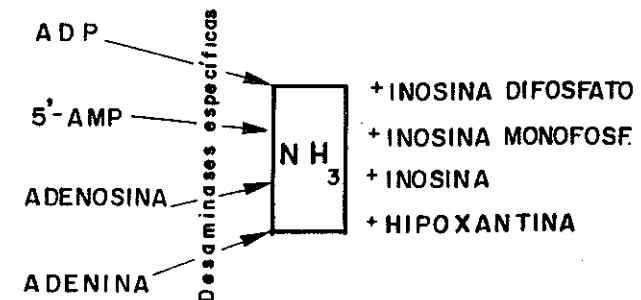
Após a morte, o aumento de amônia pode-se originar dos seguintes mecanismos:

- Ação das aminoidrolases sobre nucleotídeos;
- Desaminação de aminoácidos por microorganismos;
- Hidrólise da uréia pela urease.

11.2.1 - Formação de amônia da degradação dos nucleotídeos

A amônia derivada destes compostos é produzida bem logo após a captura e em alguns casos no esforço anterior à captura.

Vários autores têm resumido de maneira didática a evolução do ATP durante a armazenagem sob refrigeração (Spinelli, 1971; Burt, 1977; Ikeda, 1980; Sanclivier, 1982). Na base dessas propostas, é possível aceitar vários caminhos que levam à liberação de amônia, que são mostrados na figura 61.



Fonte: Spinelli (1971), Burt (1977), Ikeda (1980).

FIGURA 61 - Vias autolíticas de formação de amônia.

As reações que prevalecem, dependem da espécie e da temperatura de armazenagem; em qualquer caso, a amônia da degradação completa do ATP, até hipoxantina (Hx), dependerá do teor de ATP inicial que, de acordo com as referências da tabela 44, deverá estar em torno de 600 $\mu\text{moles}/100$.

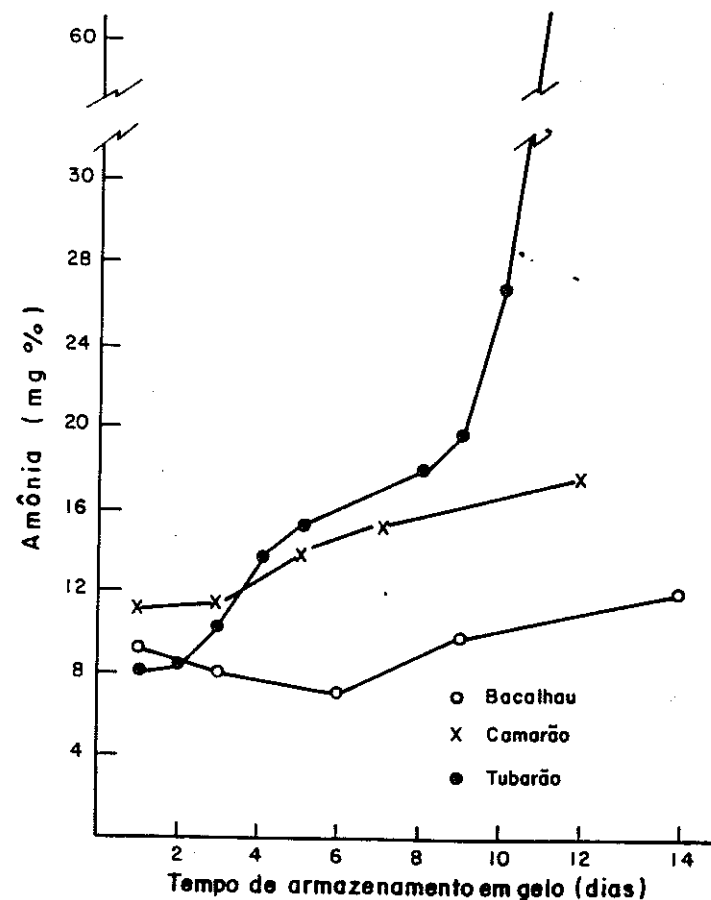
Uchiyama et al. (1970) verificaram que a soma dos produtos de degradação do ATP (I, IMP, Hx) no yellowtail (*Seriola quinqueridata*) encontrava-se entre 660 e 1050 μmoles por 100 g. Com base nestes dados, Sakaguchi et al. (1982) calcularam que as desaminações seqüenciadas deveriam produzir de 9,2 a 14,7 mg N amoniacal %. Este valor coincide com as BVT determinadas nos 4 primeiros dias de estocagem (pré-rigor e rigor-"mortis" pleno), concluindo-se que esta amônia não é um produto de decomposição, mas sim da evolução do frescor bioquímico (fase I).

A partir do pós-rigor (fase II), a amônia gerada pela atividade microbiana soma-se à produzida na fase I e, por isso, as curvas de acompanhamento do frescor registram um aumento nítido no final da primeira semana de estocagem.

Devido a diversas dificuldades analíticas, raramente é determinado NH_3 como tal, mas como nitrogênio volátil, no teste chamado Bases Voláteis Totais (BVT). Esta determinação, nos pescados muito frescos, coincide com o teor de amônia; porém, assim que a armazenagem progride, várias amins voláteis somam-se à amônia, causando uma diferença perceptível entre as duas determinações.

A figura 62 ilustra a evolução de amônia num peixe cartilaginoso, um ósseo e um crustáceo. Nas 3 amostras, percebe-se uma fase inicial (0 - 3 dias) de valores relativamente constantes de amônia (8 a 11 mg N/100 g), que provavelmente representa a quantidade derivada dos nucleotídeos do ATP.

Se se considerar que as espécies são biologicamente distantes, o teor de amônia, nesta fase, resulta surpreendentemente próximo.



Fonte: Tubarão (*Galecrhinus australis*), Weller, 1980;
Camarão (*Penaeus setiferus*), Cobb et al., 1973;
Bacalhau (*Gadus morhua*), Reay e Shewan (1949).

FIGURA 62 - Formação de amônia num peixe ósseo (bacalhau), num cartilaginoso e num crustáceo.

11.2.2 - Formação de amônia por desenvolvimento microbiano

Após a fase inicial, registra-se um aumento da amônia, cujo regime de acréscimo é característico da espécie. Estas podem possuir diferenças na flora microbiológica, concentração de substratos solúveis, atividade das enzimas endógenas e resistência mecânica dos tecidos, que determinarão a vida útil dos pescados.

O aumento inicial da amônia pode ser contrabalançado inicialmente pela lixiviação, particularmente se a área for muito grande (peixes, pequenos, filés, postas); porém, após alguns dias, o aumento torna-se notório e, geralmente, coincide com o aumento de pH. O meio mais alcalino, por sua vez, favorece a atividade das desaminases, cujo pH, no caso do camarão, está próximo de 8,5 (Cobb III et al., 1974; Yeh et al., 1978). Nestas condições favoráveis, o teor de amônia eleva-se abruptamente num período de 6 - 8 dias.

A amônia formada nesta fase vem da degradação de aminoácidos, de acordo com o esquema de Bramstedt (1961), resumido na figura 63.

O mecanismo que predominará, depende da temperatura e do pH.

Abaixo de 20°C e pH ácido, predomina a descarboxilação, visto que as bactérias descarboxilase⁺ são muito freqüentes na pele e no trato digestivo. As descarboxilases da ornitina e da lisina são enzimas comuns a várias bactérias (Taylor e Sumner, 1987), que também apresentam as mono e diaminoxidases necessárias para produzir amônia, que não encontram obstáculos no pH, pois são ativas em uma faixa ampla.

Nos produtos embalados a vácuo (filés, porções e postas), a produção de amônia é sustada numa primeira fase; porém, após um período prolongado, a produção de amônia torna-se vigorosa por causa dos microrganismos anaeróbios da família Bacteroidácea, gênero *Fusobacterium* (Kjosbakken e Larsen, 1974; Storf et al., 1977). Estas bactérias desaminam os aminoácidos livres formados por outros microrganismos, pois elas não são proteolíticas.

No camarão, Finne (1982) relata a existência de dois sistemas enzimáticos endógenos, com valores de pH ótimo, em torno

de 6,0 e de 8,4, respectivamente. Estas enzimas seriam muito mais relevantes na gênese da amônia que as desaminases microbianas.

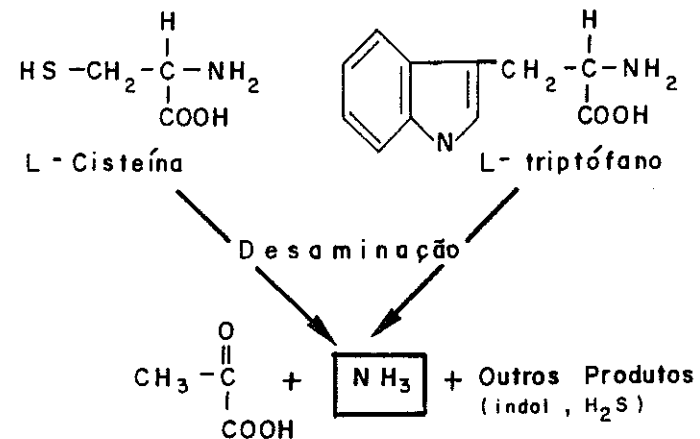
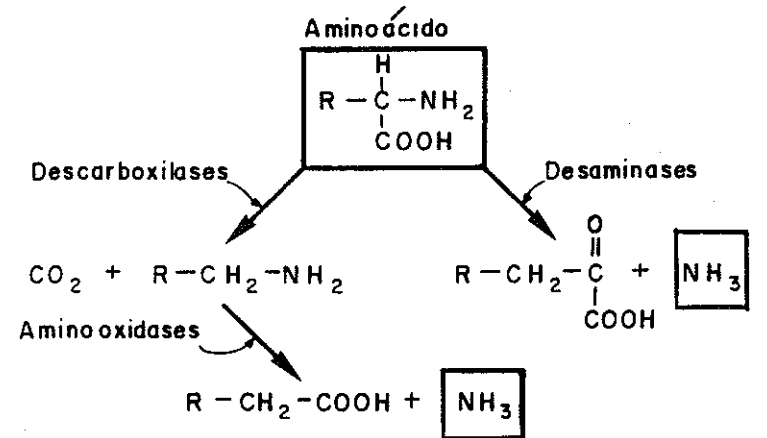


FIGURA 63 - Mecanismo geral de formação de amônia (parte superior) e exemplos típicos, com formação de ácido pirúvico (parte inferior) por desenvolvimento bacteriano.

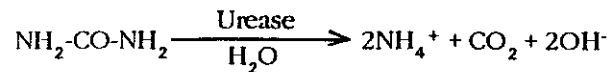
Das enzimas endógenas com capacidade de produzir amônia, apenas a adenosina desaminase, a AMP-aminoidrolase e a arginase estão presentes no camarão (Finne, 1982). Por outra parte, tem sido relatado que, com exceção da serina oxidase, os crustáceos não apresentam oxidases de aminoácidos (Sisini, 1953) e também não têm sido detectadas as enzimas do ciclo da uréia, com exceção da arginase (Chefurka, 1965).

Estes achados indicam que a produção de amônia nos camarões, em taxa muito maior que nos peixes ósseos, é de natureza endógena, principalmente por desaminases de aminoácidos e aminoidrolases de nucleotídeos.

11.2.3 - Formação de amônia da hidrólise da uréia

A amônia derivada da uréia tem importância nos cações e raias, que apresentam um teor de uréia acima de 1000 mg/100 g (Tabela 22), de modo que sua contribuição deve ser irrelevante, já que apenas uma parte pequena poderia ser hidrolisada no período de vida útil dos pescados. Nos cações, a formação de amônia ocorre, primeiramente, na superfície, sob a pele, particularmente no músculo vermelho (Weller, 1980).

A quebra da uréia é causada pela urease, de acordo com a reação seguinte:



A urease é ativa numa faixa ampla de pH, embora seja mais eficiente em pH alcalino. Não tem sido detectada em tecidos, de modo que sua procedência é estritamente exógena.

Na armazenagem dos cações (eviscerados e decapitados) com gelo, o comportamento da amônia, nos períodos iniciais, é semelhante ao dos peixes ósseos. As diferenças só se manifestam após o 3º dia, como foi observado na figura 62.

A tabela 46 mostra a evolução da amônia, uréia, TMA e BVT do cação-anjo (*Squatina argentina*), brasileiro, recebido no laboratório após 48 horas de captura e mantido em gelo desde o início.

Da tabela 46, deduz-se que a vida útil deste elasmobrânquio é mais ou menos semelhante à da maioria dos peixes ósseos de procedência comercial. O acréscimo de amônia nos 9 dias (56,1 mg %) corresponde apenas à metade do que corresponderia se a uréia desaparecida tivesse sido convertida em amônia (104 mg %). Certamente, a lixiviação carrega uréia e amônia. Como era lícito esperar, a BVT e a amônia variaram de maneira semelhante, não assim a TMA que aumentou 2 vezes mais do que os parâmetros anteriores.

TABELA 46 - Comportamento da uréia, amônia, trimetilamina (TMA) e BVT em cação-anjo (*Squatina argentina*) armazenado eviscerado em gelo*.

AMOSTRA	TMA (mg N/100 g)	Uréia (mg/100 g)	Amônia (mg/100 g)	BVT (mg N/100 g)
Cação em gelo no momento da recepção (2 dias após a captura)	1,8	1425	15,8	22,3
Cação em gelo (5 dias após a captura)	4,1 (+ 128 %)	1388 (- 2,6 %)	23,8 (+ 50,6 %)	34,6 (+ 55,2 %)
Cação em gelo (9 dias após captura) [rejeitado sensorialmente]	15,2 (+ 744 %)	1201 (- 15,7 %)	71,9 (+418 %)	98,0 (+ 441 %)

Valores entre parênteses correspondem a acréscimo (+) ou decréscimo (-) em % do valor inicial.

* dados do Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

A vida útil de 9 dias está próxima dos 7 dias encontrados por Leitão et al. (1979) com cações de tamanho maior (*Carcharhinus* e *Sphyrna*). Wynke (1978) pesquisou a raia (*Raja clavata*) e Weller (1980), um tipo de tubarão australiano (*Galeorhinus australis*), quanto à evolução do teor de amônia, desde o estado fresco (24 horas após a captura) até a rejeição sensorial.

Os peixes frescos apresentaram entre 15 e 20 mg de N-NH₃ %. Na raia, aumentou para 35 mg após 7 dias no gelo e, dali, seguiu

umentando exponencialmente. Estes experimentos permitem definir um limite de aceitabilidade entre 50 - 60 mg de N amoniacal por 100 g, que foi atingido após 10 dias no gelo.

11.3 - Bases voláteis totais (BVT)

A determinação das BVT, também chamadas de BNV (Bases Nitrogenadas Voláteis), já foi mencionada em relação à amônia, o componente majoritário. Além da amônia, as BVT incluem trimetilamina, dimetilamina e, provavelmente, traços de monometilamina, propilamina, que se formariam em etapas mais avançadas da decomposição (Reay e Shewan, 1949; Molteno et al., 1968).

As substâncias nitrogenadas voláteis originam-se do OTMA e dos aminoácidos livres por mecanismos diferentes; portanto, as BVT representam o efeito concorrente de várias transformações. Esta inespecificidade é um dos méritos da determinação, pois a amônia e as aminas voláteis são metabólitos ubíquos da decomposição de peixes, crustáceos e moluscos. Os peixes de água doce apresentam algumas particularidades que serão comentadas posteriormente.

Durante a armazenagem com gelo, as BVT são produzidas com maior velocidade pelas bactérias aeróbicas; porém, em períodos prolongados, as anaeróbicas facultativas assumem importância.

Ensaio com carpa (*Catla catla*) embalada em atmosferas modificadas mostraram que o CO₂ deprime a formação de BVT, provavelmente afetando tanto a população aeróbica, que produz desaminases, quanto a reação de descarboxilação, que gera aminas e amônia via oxidases (Srinivasa et al., 1990).

O teor de BVT não é homogêneo através do corpo, sendo ligeiramente maior no músculo vermelho. Este fenômeno pode ser causado apenas pela posição superficial do músculo vermelho; porém, em algumas espécies, parece haver fatores endógenos. O acúmulo de BVT é particularmente elevado no músculo vermelho de tubarão, como é ilustrado na tabela 47. —

A determinação do N volátil já era usada no século passado para avaliar decomposição de pescados (Farber, 1965) e, com pequenas modificações, tem permanecido até hoje por sua simplicidade

analítica e razoável concordância com o estado de frescor.

Tem sido objetado que o teste só apresenta aumentos consistentes quando os pescados estão próximos da rejeição, de modo que não prestaria para prognosticar a vida útil a partir de dados intermediários; porém, teria utilidade como indicador do período máximo de comercialização.

TABELA 47 - Teores de BVT (mg N/100 g) de algumas espécies brasileiras analisadas por zonas e tipo de músculo*.

Espécie	ZONA EXAMINADA				TIPO DE MÚSCULO	
	Caheça	Dorsal	Caudal	Ventral	Ordinário	Vermelho
Albacora	17,5	15,9	15,6	17,3	17,3	22,0
Bagre-bandeira	9,8	10,7	9,8	10,8	9,8	9,8
Bonito-pintado	20,7	19,2	19,2	21,8	21,8	23,4
Cação-machote	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	37,3	84,3
Cavalinha	N.d.	N.d.	N.d.	N.d.	11,5	16,5
Serra	17,5	16,0	16,2	18,0	16,7	17,0
Tainha	11,3	11,8	11,3	10,0	11,0	12,2

a - Dados do Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, Campinas, Brasil;

b - Os nomes científicos aparecem na tabela 10A.

N.d. - não-determinado.

O valor das BVT, que devia ser adotado como limite para comércio de pescados, foi, e ainda é, motivo de controvérsia. Foram feitas sugestões desde 20 até 60 mg de BVT por 100 g. O valor de 20 mg foi proposto em trabalhos mais antigos (Glassman e Rochwargen, 1929; Lucke e Geidel, 1935, citados por Tomiyasu e Zenitani, 1956). Um valor próximo de 30 mg tem mostrado ser compatível com os limites de aceitação sensorial e contagem de microrganismos de muitas espécies, levando alguns países a adotarem oficialmente este valor como máximo para a comercialização (Japão, Austrália, Argentina, Brasil, Alemanha) [Kuaye, 1982].

Há consenso que, nos elasmobrânquios, o valor de 30 mg de BVT % é irreal, pois a matéria-prima chega à indústria com valores

acima de 30 mg. Valores em torno de 60 mg de BVT % são comuns em cações de qualidade sensorial e microbiológica aceitável.

Um limite entre 70 e 100 mg % parece adequado na base da literatura internacional e dados brasileiros.

11.3.1 - Métodos para a determinação das BVT

Considerando que o valor de 30 mg de BVT por 100 g tem caráter legal em vários países, é importante que a determinação seja realizada de maneira padronizada.

O método de Lucke e Geidel (1935), descrito por Antonacopoulos (1973) e Person (1978), consiste na destilação direta do músculo triturado adicionado de MgO e água para formar o tampão com pH em torno de 9,8.

O método de microdifusão de Conway e Byrne (1933), adaptado para pescados por Beatty e Gibbons (1936), utiliza-se de um extrato de músculo obtido com ácido tricloracético, que é alcalinizado com carbonato de potássio, realizando a determinação em placas com tampa hermética e dupla câmara, numa das quais, é colocado o ácido para captação dos voláteis básicos. No Brasil, tem sido usado por Mendes (1974) com bons resultados.

A destilação com vapor é hoje o método universal; porém, o deslocamento das bases com vácuo também tem sido usado ocasionalmente (Tomiyama et al., 1956).

Quanto ao agente alcalinizante, vários compostos têm sido propostos (MgO, Na₂HPO₄, boratos, carbonatos). Todos proporcionam valores de pH entre 8 e 10.

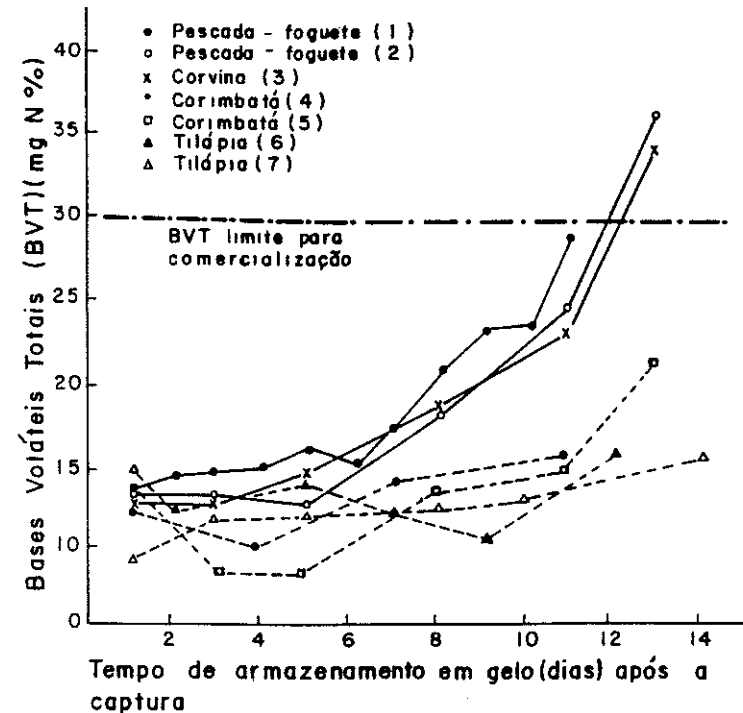
O MgO é preferido pela simplicidade da adição e adequação do pH (~9,8).

O uso de NaOH tem sido sugerido por Gagnon e Fellers, 1958 e Billon et al., 1979.

Kuaye (1982) demonstrou que o uso de NaOH é inconveniente, pois gera amônia, derivada das amidas (glutamina, asparragina) ou da uréia, o que aumenta artificialmente o teor das BVT.

O autor citado recomenda o uso de tampão borato pH 9,8, que dá resultados reproduzíveis e semelhantes ao MgO, sendo mais econômico.

estado de frescor inicial, isto é, não representam a situação dos produtos comerciais.



Fonte: 1) Morga (1976);
2) Amanajás (1985);
3) Amanajás (1985);
4) Kauaye (1982);
5) Amanajás (1985);
6) Netto (1984);
7) Amanajás (1985).

FIGURA 65 - Evolução das Bases Voláteis Totais (BVT) em alguns peixes marinhos e de água doce brasileiros, adquiridos em ótima condição de frescor, antes da armazenagem.

A figura mostra que, nos peixes marinhos, as BVT apresentam um patamar inicial entre 14 e 16 mg %, que se mantém com pequena flutuação por 5 ou 6 dias, para logo aumentar com rapidez até tornar-se exponencial nos últimos períodos da armazenagem. A vida útil sensorial e microbiológica da pescada-foguete foi estimada em 11 dias (Morga, 1976), quando a BVT era de 29,2 mg %. O outro estudo com esta mesma espécie (Chaves, 1985) mostra que a BVT atinge 30 mg % em 12 dias e o mesmo acontece com a corvina. Ambos os estudos foram realizados a nível de laboratório.

Nos peixes de água doce, as BVT variam pouco e de maneira errática, não atingindo o valor de 30 mg, apesar de terem sido rejeitados sensorialmente (Neto, 1984). Este comportamento tem levado a não recomendar este teste para avaliação de frescor de peixes de água doce (Maia et al., 1983).

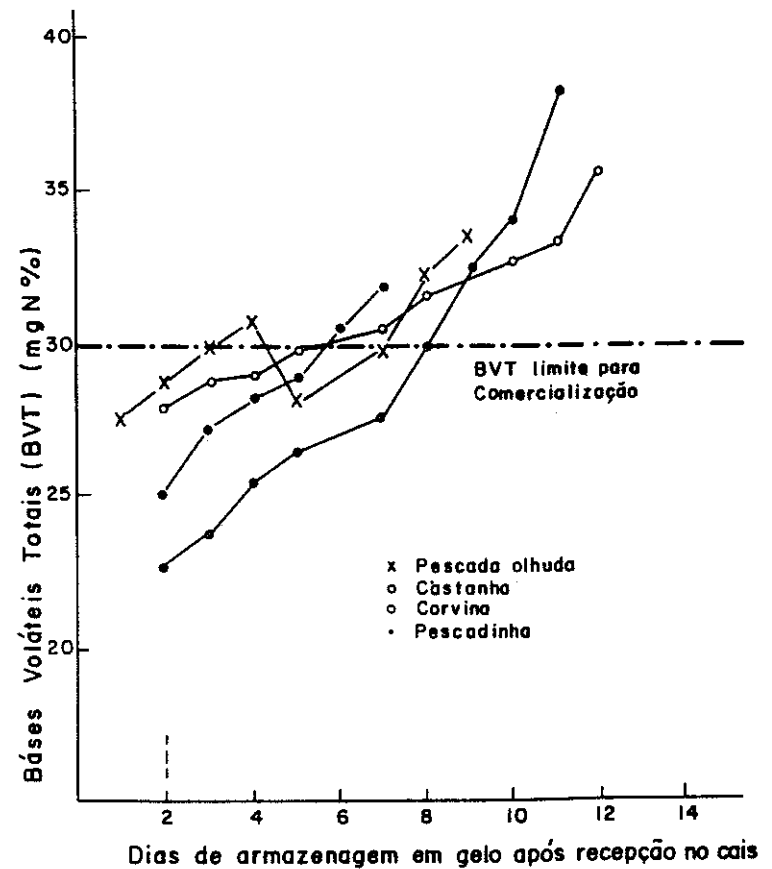
A maior vida útil dos peixes tropicais de água doce tem sido explicada em função do tipo de flora microbiana mesófila ou psicrotrófica e não psicrófila como a dos peixes marinhos. Outros fatores têm relação com os métodos de captura que, no caso dos marinhos, são mais extressantes e causam um maltrato maior na acomodação a bordo.

Os teores de BVT encontrados nos peixes manipulados de acordo as práticas industriais, mostrados na figura 66, são maiores que os determinados para peixes experimentais, mostrados na figura 65.

Na figura 66, percebe-se que, já na recepção, os valores de BVT são elevados e atingem 30 mg % entre o 6º e 7º dia de armazenagem, período que coincide com a rejeição sensorial, que ocorre entre o 6º e o 8º dia. Nos peixes manipulados para pesquisas, a rejeição sensorial acontece após 10 dias.

11.4 - Formação de aminas

No item anterior, foi comentado que as BVT avaliam várias substâncias básicas em conjunto. Porém, em algumas espécies, a determinação das aminas individuais auxilia no esclarecimento dos eventos deteriorativos e serve como teste de confirmação.



Fonte: Reguly et al. (1972).

FIGURA 66 - Período de vida útil de peixes marinhos capturados e manipulados nas condições nonnais praticadas a bordo e na indústria.

Face à enorme variedade de compostos musculares, poder-se-ia esperar uma composição de aminas extremamente

complexa. Porém, a realidade mostra que não mais de 12 aminas ocorrem com regularidade nos extratos de pescados. A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) tem sido de grande ajuda para separação e quantificação destes compostos, cuja existência já era conhecida, embora não tivessem sido estudados em um número abrangente de espécies e nas diversas situações de manipulação e processamento.

TABELA 49 - Características químicas e físicas das aminas biogênicas encontradas em pescados.

Nome Comum	Categoria	CARACTERÍSTICAS		
		P.M.	P.c. (°C)	P.f. (°C)
Trimetilamina (TMA)	amina volátil simples	59.11	2,9	—
Dimetilamina (DMA)	amina volátil simples	45.09	7	—
Metilamina (MA)	amina volátil simples	31.06	~5	—
Histamina (Hm)	amina não-volátil com função imidazólica	111.2	167 (0.8 mm)	83 - 84
Tiramina (Tm)	amina não-volátil com função fenólica	137.18	—	161 - 163
Triptamina (Tr)	amina não-volátil com função indólica	160.2	137 (0.15 mm)	114 - 119
Putrescina (Put)	diamina pouco volátil	88.15	158 - 160	—
Cadaverina (Cad)	diamina pouco volátil	102.18	178 - 180	—
Agmatina (Ag)	poliamina não-volátil	130.2	—	—
Spermine (Sp)	poliamina não-volátil	202.35	—	—
Spermidine (Spd)	poliamina não-volátil	145.25	—	—

11.4.1 - Trimetilamina, dimetilamina e formaldeído

O interesse pelo estudo da trimetilamina, em pescados, vem de várias décadas. Já em 1938, Tarr e em 1939, Shewan, Watson e outros estabeleceram a inter-relação entre TMA e população microbiana e entre TMA e OTMA. Dyer (1945) e Dyer e Mounsey (1945) incentivaram a utilização da TMA como teste de acompanhamento

do frescor, via publicação de um método analítico simples, que foi aplicado ao bacalhau armazenado em gelo com grande sucesso. A partir dos trabalhos de Dyer, a determinação de TMA tornou-se imprescindível para qualquer estudo de frescor, sendo aplicada indiscriminadamente para peixes, crustáceos e moluscos.

No decorrer do tempo, ficou demonstrado que várias espécies não apresentavam uma relação clara entre TMA e frescor (Shaw e Shewan, 1968; Fields et al., 1968; Gould e Peters, 1971; Amu e Disney, 1973; Mackie e Thompson, 1974; Connell, 1975; Poulter et al., 1981; Hebard et al., 1982). Os resultados erráticos, em espécies com teores altos de OTMA, têm sido atribuídos à existência, na pele e nos músculos, de substâncias inibidoras das bactérias específicas ou da própria redutase do OTMA (Murray e Fletcher, 1976; Connell, 1980).

TMA em relação ao odor: Nas primeiras pesquisas, foi dada grande ênfase à TMA como agente causal da degradação do odor, opinião apoiada na boa correlação entre teor de TMA e odor, como é mostrado na tabela 50.

TABELA 50 - Correlação entre odor e concentração de TMA em músculos de vários gadídeos (correlação expressa pelo valor de r).

Espécie	Correlação	Referências
Pescados magros em geral	0,4 - 0,8	Coletânea de Calabresse (1965)
<i>Sebastes marinus</i>	0,89	Coletânea de Calabresse (1965)
<i>Merluccius merluccius</i>	0,89-0,96	Coletânea de Calabresse (1965)
<i>Merluccius gavi-gavi</i>	0,83 - 0,86	Asenjo (1971)

Em relação ao odor, há que salientar que a TMA pura, em solução aquosa alcalina, tem odor de amônia ou de peixe, dependendo da concentração; todavia, o odor da TMA não pode ser qualificado como repulsivo, atributo mais adequado para os compostos voláteis de enxofre (Josephson et al., 1986). É possível aceitar que o acúmulo de TMA ocorra simultâneo com pequenas quantidades de metabólitos de odor rejeitável, que, por possuir limiares de percepção sensorial (threshold) muito baixos, causam uma depreciação do odor maior que

aquele que seria esperado a partir da concentração de TMA, melhorando a correlação TMA-odor. A amônia tem um **threshold** relativamente alto, sendo mais importante no odor de elasmobrânquios e camarões. O threshold da TMA, muito menor que o de amônia, pode ser atingido com facilidade na maioria dos peixes nas condições normais de conservação.

TABELA 51 - Limite de percepção de compostos odoríferos de importância na decomposição de pescados.

Composto	Limite de Percepção	
	(p.p.b.)	Referências
Amônia	110.000	Ikeda (1978)
Dimetilamina	30.000	Ikeda (1978)
Trimetilamina	600	Ikeda (1978)
Sulfeto de hidrogênio	40	Fazzalari (1978)

Mecanismos de formação de TMA: A degradação do OTMA pode ocorrer por vários mecanismos que originam TMA, DMA e aldeído fórmico (A.F.), como é mostrado na figura 67.

11.4.1.1 - Formação de TMA por OTMA-ase de origem bacteriana

O desenvolvimento de microrganismos que produzem a enzima redutora do OTMA, é a via mais importante das 4 esquematizadas anteriormente.

A condição primária é a existência de OTMA em quantidade abundante, como a que existe nos peixes ósseos de carne branca (linguado, corvina, castanha, pescada, merluza, abrótea), nos elasmobrânquios (cações e raias) e em alguns crustáceos e moluscos (camarão, lagosta, caranguejo, lula, polvo).

Nos peixes de carne escura (sardinha, cavalinha, atum, serra, bonito), o teor de OTMA é inferior a 55 mg %, embora ainda

seja suficiente para gerar TMA em níveis detectáveis. Algumas exceções são comentadas mais adiante.

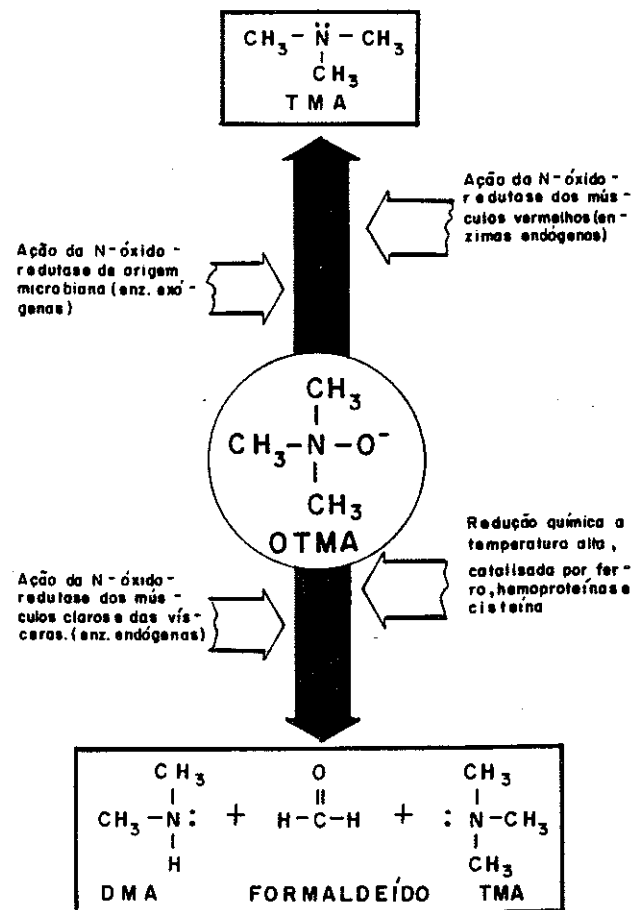


FIGURA 67 - Vias de degradação do óxido de trimetilamina (OTMA) em pescados.

Nos peixes de água doce ou nos diadromos, a determinação de TMA, como índice de frescor, não tem utilidade (Castell, 1949; Anderson e Fellers, 1952; Somaatmadja et al., 1962).

Bactérias envolvidas na produção de TMA

Há vários microrganismos que sintetizam a enzima N-amino óxido redutase nas condições de armazenagem comum, porém não se deve exagerar a ubiquidade destes microrganismos, se considerarmos que a flora que causa deterioração sensorial tem sido estimada em apenas 25% da total, valor que se mantém mais ou menos constante no decorrer da armazenagem com gelo, pois a predominância de algumas ocorre às custas da diminuição de outras (Shaw e Shewan, 1968).

Na tabela 52, aparecem recoletados os microrganismos mais importantes na geração de TMA, a partir do OTMA.

As *alteromonas putrefaciens* (Shewanella) são os microrganismos mais devastadores do odor e sabor dos produtos marinhos. São mais competitivos que as bactérias comuns, face a sua capacidade de utilizar compostos de N não-protéico, ser de natureza psicrófila e aeróbica e produzir proteases.

Esta maior adaptação para sobrevivência permite que as alteromonas e pseudomonas dominem a flora, chegando a constituir 87% dos microrganismos (Leitão et al., 1979) após alguns dias no gelo.

A Shewanella oxida aerobicamente aminoácidos a CO₂ e cataboliza o lactato, formando pequenas quantidades de acetato (Ringo et al., 1984). A redução do O₂ tecidual, após alguns dias, obriga as alteromonas a se utilizarem do OTMA para respiração, resultando na aparição da TMA.

Watson (1939) sugeriu que a redução bacteriana do OTMA deveria ocorrer de acordo com a equação geral seguinte:

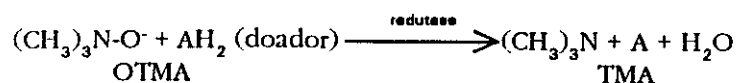


TABELA 52 - Microrganismos que produzem TMA em peixes, moluscos e crustáceos armazenados em gelo.

Microrganismos	Características	Referências
Pseudomonas Grupo IV (<i>Alteromonas putrefaciens</i>)	Psicrófilos e aeróbios não-facultativos	a - j
Aeromonas e vibriões	Psicrófilos facultativos e anaeróbios estritos	e, i, k
Coryneformes, Moraxella e Micrococcus	Psicrófilos facultativos e anaeróbios facultativos	i, j, h, t
<i>Proteus</i> spp.	Psicrófilos e anaeróbios facultativos e fermentativos	l, m
<i>Alteromonas</i> spp.	Psicrófilos e anaeróbios facultativos não-fermentativos	j, n, o
<i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella</i>	Mesófilos e aneróbios facultativos	p, q, r, s

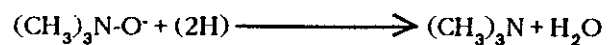
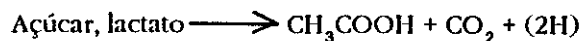
Referências:

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------|
| a) Castell e Greenough (1967); | b) Castell et al. (1949); |
| c) Van Spreekens (1977); | d) Shaw e Shewan (1968); |
| e) Lerke et al. (1965); | f) Shewan et al. (1960); |
| g) Shewan e Murray (1979); | h) Liston (1980); |
| i) Gillespie e MacRae (1975); | j) Shewan (1977); |
| k) Sasajima (1973); | l) Stenberg et al. (1982); |
| m) Olafsen et al. (1971); | n) Ringf et al. (1984); |
| o) Easter et al. (1983); | p) Skaguchi et al. (1980); |
| q) Yamamoto e Ishimoto (1977); | r) Ishimoto e Shimokawa (1978); |
| s) Kim e Chang (1974). | |

Nos anaeróbios facultativos, como *E. coli*, tem sido demonstrado que o OTMA induz a síntese de citocromo c e da enzima N-amino óxido redutase, que formam parte da cadeia de transferência de elétrons, que termina no aceitador final, o OTMA (Sakaguchi, et al., 1980). O OTMA pode aceitar elétrons do NADPH e do formato (Davis, 1990), do nitrato e do fumarato (Haddock e Jones, 1977) em condições anaeróbicas, demonstrando uma versatilidade concordante com a produção vigorosa de TMA nos peixes embalados a vácuo ou

em atmosferas modificadas. A baixa tensão de O_2 inibe a produção de amônia, porém é ideal para o crescimento de anaeróbios e para a ativação da N-amino óxido redutase (Easter, 1982).

Nos proteus (anaeróbios facultativos e fermentativos) a TMA seria formada pela fermentação do lactato e açúcares, como tem sido relatado por Kjosbakken e Larsen (1974).



Nas aeromonas e vibriões (anaeróbios estrictos), cujo "habitat" são o estômago e o intestino, a utilização do OTMA, provavelmente, tem o objetivo comum de conservar a energia através da respiração. Os elétrons, após percorrerem uma cadeia, são finalmente aceitos pelo OTMA, e a energia liberada é estocada na forma de compostos de fósforo.

Em alguns produtos curados com sal, a predominância das pseudomonas é substituída por micrococcus (Dussault, 1957), que são muito comuns nas espécies tropicais (Wood, 1953; Watanabe, 1962; Gillespie e MacRae, 1975), apesar de que, na armazenagem em gelo, se desenvolvam vagarosamente.

Nos produtos curados, 80% da flora eram micrococcus, e a metade era capaz de produzir TMA (Dussault, 1957).

Evolução da TMA em peixes de carne branca

Hoogland (1958) demonstrou que, nos gadeídeos, a geração de TMA era exponencial em todas as situações de decomposição, levando-o a propor uma fórmula para expressar a relação entre tempo de armazenagem e teor de TMA de maneira linear:

$$\text{Índice de TMA} = \log (1 + \text{valor de TMA})$$

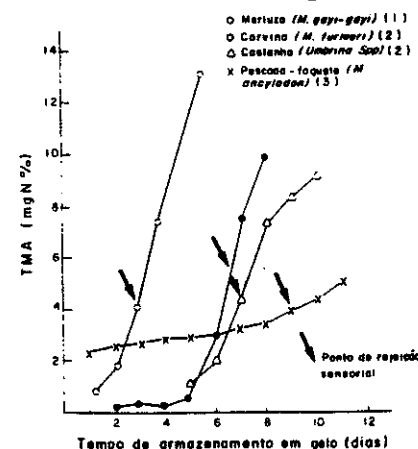
Esta expressão foi usada por Burt et al. (1976 A e B) num dos estudos mais abrangentes para verificar a validade da estimativa de vida útil do bacalhau com base de valores de TMA das fases iniciais.

Entretanto, a maioria dos pesquisadores continuou a usar a expressão simples da TMA para fins de acompanhamento ou, então, o logaritmo da TMA quando se pretende uma correlação com o número de microrganismos.

Nos peixes de carne clara, a concentração de TMA evolui lentamente nos períodos iniciais (2o. a 7o. dia), após os quais, há um aumento abrupto que só termina quando o substrato OTMA se esgota. Certamente, os peixes são rejeitados sensorialmente bem antes do esgotamento ocorrer.

Várias espécies não têm a OTMA-ase, como a cavala-do-atlântico, de modo que, nestes peixes, a determinação da TMA como índice de frescor tem pouca utilidade, pois a TMA só aumenta quando os microrganismos são já muito elevados.

À maneira de exemplo, a figura 68 mostra a evolução da TMA em 3 espécies da Costa Sul do Brasil, pesquisadas por Pezoa et al. (1976) e Morga (1975), e uma espécie da costa chilena (Asenjo, 1971). As espécies são de carne clara, magras e com teores altos de OTMA.



Fonte: (1) Asenjo (1971)
(2) Pezoa et al. (1976)
(3) Morga (1975)

FIGURA 68 - Evolução da trimetilamina (TMA) em peixes de carne branca, brasileiros e chilenos.

Levando-se em consideração o deslocamento de 3 dias da curva da merluza-do-pacífico (*Merluccius gayi-gayi*), pode-se aceitar que esta espécie é de conservação mais difícil que a corvina e a castanha brasileiras, espécies de "habitat" moderadamente quente.

No geral, o regime de aumento da TMA das 3 espécies é quase que semelhante, podendo ser assimilado ao comportamento típico de gadídeos (Dyer, 1945; Connell, 1976; Wong e Gill, 1987). Casualmente, nas 3 espécies, a rejeição sensorial aconteceu quando o teor de TMA foi próximo de 5 mg N/100 g.

Na pescada-foguete, a taxa de aumento da TMA é vagarosa, começando já nos primeiros dias com valores altos (2,4 mg N %). A rejeição sensorial aconteceu após 11 dias de armazenagem, com um valor de 4 mg de N-TMA%. Este comportamento parece não ser ocasional, pois Reguly et al. (1971) verificaram que a pescada-foguete e a pescada-olhuda estragaram-se após 6 dias no gelo, quando o teor de TMA era apenas de 1,8 a 3,5 mg N %, respectivamente. Watanabe (196_) registrou também valores altos de TMA no início da armazenagem (3,5 mg N %) da pescada-foguete.

Como resultado das inúmeras pesquisas sobre TMA e frescor, vários valores de TMA têm sido sugeridos, sendo adotados por alguns países para regulamentação sanitária de produtos pesqueiros, como é mostrado na tabela 53.

O valor de 4 mg de N-TMA %, adotado no Brasil, parece baixo demais quando comparado com os máximos permitidos em outros países. No entanto, deve-se considerar que os limites elevados foram propostos para bacalhau, haddock e outros gadídeos que não existem no Brasil. Um valor entre 5 e 7 mg N-TMA % parece razoável para o tipo de espécies comercializadas no Brasil (excluindo-se os elasmobrânquios).

TABELA 53 - Valores de N-TMA por 100 g, sugeridos para caracterizar o grau de frescor de peixes.

Espécies	Teor de N-TMA (mg/100 g)			Referências
	Fresco	Comercializável	Estragado	
Peixes em geral	< 2	2 - 15	15 - 30	Tar e Ney (1959)
Peixes em geral	—	5 - 10	—	Martin et al. (1979)
Bacalhau, haddock	—	—	10 - 20	Dyer e Mounsey (1945)
Bacalhau, haddock	< 1.0	1 - 7	> 7	Hoogland (1958)
Bacalhau	—	—	10 - 15	Connell (1975)
Arenque	—	—	5 - 7	Sigurdson (1947)
Arenque	—	—	4,6	Tomiyasu e Zenitani (1957)
Peixes em geral	< 1.0	1 - 5	> 5.0	Sen Gupta et al. (1972)
Peixes em geral	—	—	> 6.0	Canadá (Sainclivier. 1982)
Peixes em geral	—	—	> 12.0	França (Sainclivier. 1982)
Peixes em geral	—	—	> 4.0	Brasil (SUDEPE. 1984)

(-) não mencionado.

TMA em sardinha e outros clupeídeos

Na sardinha, a determinação da TMA, como índice de frescor, tem dado resultados contraditórios. Na *Sardinella pilchardus*, Barhoumi et al. (1981) não encontraram variações consistentes após 7 dias de armazenagem em gelo e em água do mar refrigerada (CSW).

Smith et al. (1980) tentaram definir um limite de conservação de arenque em gelo e CSW. O regime de variação da TMA foi diferente do registrado com gadídeos e, apesar de existir uma relação entre tempo de conservação e teor de TMA, os valores absolutos entre lotes manipulados identicamente foram tão variáveis que impossibilitaram a definição de um limite numérico de TMA. Os autores apontam que as perdas por volatilização, lixiviação ou mesmo diferenças intrínsecas na taxa de conversão de OTMA sejam as causas da grande variabilidade nos teores de TMA.

Face à importância da sardinha na indústria pesqueira brasileira, as pesquisas sobre o frescor têm sido relativamente frequentes, como mostra a tabela 54.

TABELA 54 - Valores de TMA de *Sardinella brasiliensis* e comparação com outras espécies de sardinha.

Espécie	N-TMA (mg %)		Referências
	Fresca	Deteriorada	
<i>S. brasiliensis</i>	0,7	—	Itô et al. (1969)
<i>S. brasiliensis</i>	0,7	—	Alves (1985)
<i>S. brasiliensis</i>	0,5	3,0	Beraquet et al. (1985)
<i>S. brasiliensis</i>	0,25 - 1,5	2,0 - 3,8	FEA-UNICAMP*
<i>S. brasiliensis</i>	3,5	10,8	Zamboni (1963)
<i>S. pilchardus</i>	0,5 - 2,0	5,0	Ribeiro et al. (1963)
<i>S. aurita</i>	0,2	2,8	Burgess et al. (1965)
<i>S. pilchardus</i>	—	7,3 - 7,7	Barhoumi et al. (1981)

(*) Laboratório de pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP;

(-) não mencionado.

Os teores baixos da tabela 57 explicam-se pelo reduzido teor de OTMA desta espécie (~10 mg N-OTMA %).

Na condição deteriorada, um valor em torno de 3,0 mg de N-TMA % parece consensual entre os pesquisadores.

Embora a sardinha não tenha condições de atingir valores elevados de TMA, Beraquet et al. (1985) encontraram uma excelente correlação entre tempo de conservação e teor de TMA, cujo valor "r" variou entre 0,92 e 0,96. A relação inversa entre o teor de OTMA e TMA foi também claramente demonstrada, resultando em correlações da ordem de 0,80 e 0,88. Apesar de ser lógica, esta relação é difícil de ser demonstrada na prática, face à lixiviação e volatilização da TMA (Barhoumi et al., 1981).

TMA em camarões e outros crustáceos

A determinação de frescor de crustáceos por métodos objetivos tem dado resultados contraditórios. Por uma parte, devido à ausência de OTMA-ase muscular, e por outra, pela intensa lixiviação de solutos que ocorre em espécies pequenas, conservadas com gelo.

Britto de Castro et al. (1973) realizaram um estudo sobre conservação de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) a bordo de barcos, cobrindo a primavera, verão e outono. Os camarões foram armazenados em gelo por até 10 dias, determinando o teor de TMA e de outros compostos para verificar a utilidade dos testes químicos na predição do frescor. A TMA foi a menos adequada, registrando, nas amostras frescas, variações de até 100 vezes. Nas amostras armazenadas com gelo, a variação foi errática e não houve nenhuma correlação entre diminuição do OTMA e aumento da TMA.

Outros pesquisadores têm chegado à mesma conclusão, descartando a TMA como índice de frescor de camarão (Frieger e Frioloux, 1954; Verlankar e Govindan, 1958).

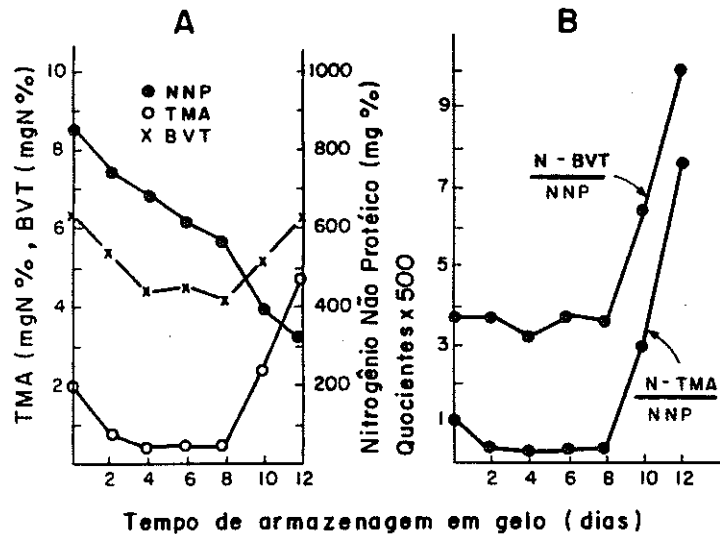
Cobb III et al. (1973) pesquisaram a evolução da TMA em *Penaeus aztecuse Penaeus setiferus*, comprovando aumentos mínimos da TMA na armazenagem com gelo. Os autores têm tido uma preocupação constante com o problema da lixiviação, tanto em relação à perda da qualidade quanto à inviabilização das determinações analíticas para acompanhamento do frescor. Em outras pesquisas, Cobb II et al. (1976) analisaram os camarões e os líquidos do degelo que foram coletados quantitativamente. A eliminação da influência da lixiviação desembocou na proposta de um novo índice que relaciona o teor de BVT com o teor de aminoácidos livres (AAL):

$$I = (N \text{ (BVT mg \%)} / (N \text{ (AAL mM)})$$

A idéia de expressar as determinações como quocientes de um parâmetro que varia simultaneamente com elas, diminui ou elimina a influência da lixiviação. Segundo este raciocínio, poder-se-ia expressar o teor da TMA e das BVT como porcentagem do NNP, um teste que pode ser feito no mesmo extrato. Nós aplicamos esta forma de expressão aos dados de Draetta et al. (1985), referentes à vida útil do camarão-sete-barbas (sea bob), que aparece na figura 69.

Na parte A da figura, mostra-se a variação da TMA, BVT e NNP, tal qual aparece no trabalho original; e na parte B, a variação dos quocientes BVT/NNP e TMA/NNP obtidos por nós. Resulta óbvio que os quocientes são mais acusativos e indicam claramente que, até

o 8º dia, o crescimento bacteriano estava sob controle. Do trabalho original, também, deduz-se que o 8º dia é crítico, porém a inflexão das curvas é menos evidente.



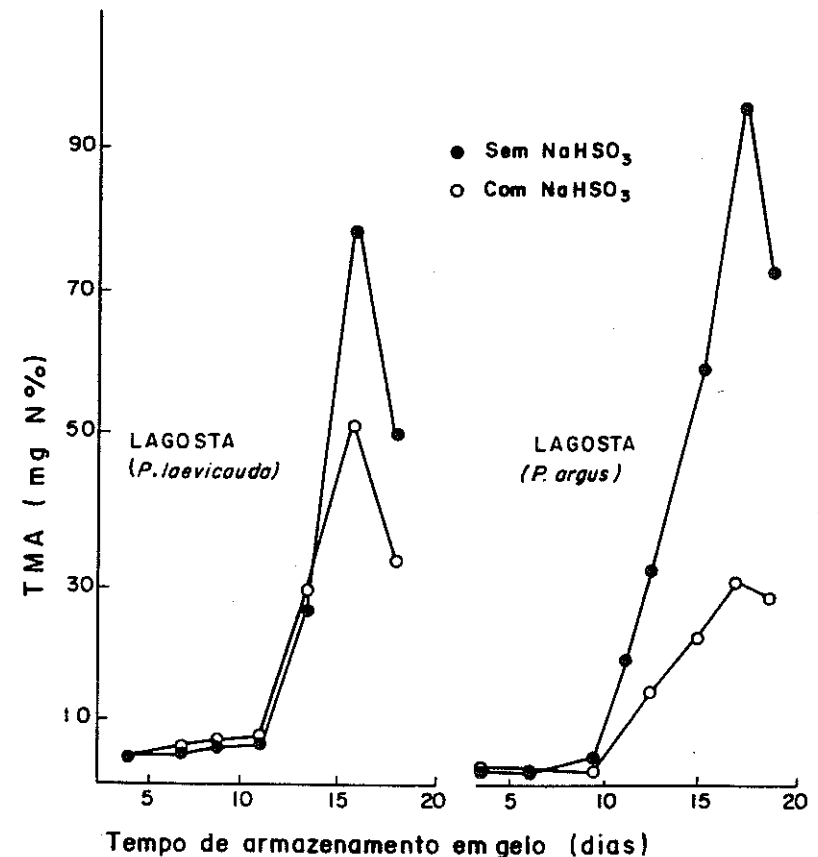
Fonte: Draetta et al. (1986).

FIGURA 69 - Evolução das BVT, TMA e NNP em camarão-sete-barbas armazenado em gelo. Figura A: dados de Draetta et al. (1986); Figura B: recálculo nosso, expressando o N-BVT e N-TMA como quociente do NNP do mesmo dia.

A expressão da TMA na forma de quociente reduziria a influência dos fatores de manipulação, da taxa de degelo e outros parâmetros de padronização difícil.

A despeito de serem relativamente altos em OTMA (~ 200 mg%), os camarões apresentam teores comumente baixos de N-TMA que só aumentam após o 8º dia, sem chegar a exceder os 5 mg de N-TMA/100 g, quando rejeitados sensorialmente.

Na lagosta brasileira, estudada por Ogawa et al. (1970 A e B), ocorre uma situação semelhante: há um acréscimo súbito entre o 9º. e o 11º. dia de estocagem que marcam o fim da vida de prateleira em gelo (Figura 70).



Fonte: Ogawa et al. (1970) A e B.

FIGURA 70 - Evolução da trimetilamina em caudas de lagostas brasileiras, armazenadas sem nenhum tratamento e com imersão em solução de metabissulfito de sódio (NaHSO₃) a 1,25%, por um minuto.

A tabela 58 reúne valores de N-TMA em várias espécies de camarões brasileiros e estrangeiros e das lagostas verde e vermelha da costa do Ceará. Em geral, o nível de N-TMA no produto inaceitável para consumo é pouco expressivo.

O insucesso do índice de TMA para acompanhamento do frescor de crustáceos pode ser explicado, além das perdas por lixiviação, pela formação de DMA, um mecanismo de decomposição do OTMA que coexiste com o mecanismo convencional de TMA em crustáceos, moluscos e alguns peixes armazenados em gelo.

A pesquisa de Ogawa et al. (1970 A e B), sobre preservação de lagosta, incluiu, também, lotes tratados com antibióticos e com metabissulfito a 1,2%. Os resultados com este preservador são interessantes, porque metabissulfito produz um certo efeito depressor das bactérias produtoras da OTMA-ase (ou da própria enzima), que se torna muito mais nítido nos períodos finais da armazenagem, como foi mostrado na figura 70.

TABELA 55 - Teores de TMA em alguns crustáceos em condição fresca e no limite de aceitação sensorial.

Espécies	TMA (mg N %)		Referências
	Fresco	Estragado	
Camarão-do-Pacífico (<i>Pandalus jordani</i>)	0.24	1.60	Crawford (1973)
Camarão-do-Pacífico (<i>Pandalus jordani</i>)	0.24	1.72	Collins et al. (1960)
Camarão em geral (para comercialização no Japão e na Austrália)	—	< 5	Montgomery et al. (1970)
Camarão-sete-barbas (<i>Xiphopenaeus kroyeri</i>)*	2.0	2.3	Draetta et al. (1986)
Lagosta (<i>Panulirus laveicuda</i>)*	3.5	6.7	Ogawa et al. (1970)
Lagosta (<i>Panulirus argus</i>)*	1.5	6.7	Ogawa et al. (1970)

* - espécies brasileiras.

11.4.1.2 - Produção de TMA por enzimas endógenas

A propriedade dos músculos vermelhos de atum, tubarão e outras espécies de catalisar a formação de TMA, a partir do OTMA, tem sido observada desde há várias décadas. Em conseqüência, a zona vermelha mostra uma concentração de TMA maior que a clara, fato também verificado com as BVT (tabela 47), porém em menor escala.

A tabela 56 ilustra este fenômeno com espécies pelágicas brasileiras.

A demonstração de que a formação de TMA, no músculo vermelho, não é de origem bacterina, tem sido verificada em ensaios com este músculo e com o ordinário de bonito-cachorro (*Auxis tpeinosoma*) em condições assépticas. Apenas o músculo vermelho formou TMA a partir do OTMA (Kawabata, 1953).

TABELA 56 - Teores de TMA em músculos vermelhos e ordinários em alguns peixes marinhos brasileiros*.

Espécie	TMA (mg N %)	
	Músculo ordinário (claro)	Músculo vermelho
Albacora (<i>Germo alalunga</i>) Serra	0.33	2.54
(<i>Sarda sarda</i>) Cavalinha	0.31	2.0
(<i>Scomber scombrus</i>) Cação-machote	0.34	3.39
(<i>Carcharhinus maculipinis</i>)	3.11	12.30

* - Dados do Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, Campinas, SP.

A enzima tem sido demonstrada, também, no músculo vermelho de alguns cações e arraias (Suyama, 1960 e 1975) e em vários peixes migratórios (Tokunaga, 1970A). Os dados da tabela 59 concordam plenamente com publicações referidas, evidenciando que o músculo vermelho, de fato, tem maior atividade de OTMA-ase.

Até o presente, não se tem esclarecido se esta OTMA-ase é a mesma que produz TMA, DMA ou AF nos músculos vermelhos de peixes congelados (-5°C e -10°C), que forma TMA, DMA e AF nos músculos claros de peixes gadídeos congelados, ou se é semelhante à OTMA-ase presente nos cecos pilóricos, fígado e rins.

Os estudos do OTMA e de suas transformações enzimáticas são um campo fascinante, pois tocam num aspecto fundamental da adaptação das espécies ao "habitat" salino.

11.4.1.3 - Formação de Dimetilamina (DMA) e Aldeído Fórmico (AF) por ação da OTMA-ase de origem endógena

A presença de DMA tem sido relatada desde a mesma época em que começou o interesse pela TMA (Beatty, 1938; Reay, 1938; Shewan, 1939; Dyer e Mounsey, 1945), porém ficou relegada a um plano secundário, face a que a TMA mostrou-se mais útil para acompanhamento do frescor de peixes conservados com gelo.

A adoção da congelação como método rotineiro e o advento da tecnologia da carne triturada (minced meat) reavivou o interesse pela DMA, face à suspeita de uma inter-relação entre AF e deterioração textural.

O AF é produzido em quantidades equimolares com a DMA, a partir do OTMA (Amano et al., 1963; Castell et al., 1974; Harada, 1975), que também produz TMA de maneira simultânea. A relação entre TMA e DMA depende da espécie, da forma de processamento, da temperatura e tempo de estocagem congelada e do tipo de embalagem, como pode ser deduzido da coletânea de dados da figura 71 que pretende abranger a maioria das situações tecnológicas em que a TMA tem sido determinada paralelamente com a DMA.

A observação da tabela permite extrair as conclusões seguintes:

- (1) Nos peixes, a armazenagem com gelo em condições aeróbicas favorece a formação de TMA;
- (2) Nos crustáceos e moluscos, a armazenagem com gelo favorece a formação de DMA;
- (3) A armazenagem em condições sob 0°C favorece a formação de DMA e, portanto, do AF em quantidades equimolares;
- (4) A armazenagem em condições anaeróbicas, ou parcialmente aeróbicas, favorece a formação de DMA e AF;
- (5) Os peixes de carne escura formam TMA no músculo ordinário em condições aeróbicas, tanto a 0°C, quanto sob congelação. Porém, o músculo vermelho forma mais DMA que TMA nesta última condição.

Nas espécies gadídeas (bacalhau, merluza, haddock) armazenadas entre 0°C e -10°C, a produção de DMA e AF é muito maior que em outras famílias, indicando que a OTMA-ase é muito abundante e ou particularmente ativa nestas espécies.

Segundo Castell et al. (1970 e 1973), a temperatura ótima de produção de DMA e AF é -5°C; Tokunaga (1970 A) cita uma faixa entre -6°C e -10°C e Perkin e Hulton (1981) relatam um ótimo a -6°C. A enzima das espécies gadídeas não produz TMA (Harada, 1975), portanto parece diferente da OTMA-ase das espécies não-gadídeas (escombrídeos, cupleídeos, sciaenídeos, pleuronectídeos) que, nos músculos claros, formam pouca ou nenhuma DMA e AF e sim TMA.

Nos músculos vermelhos de vários peixes congelados, foi comprovada a produção de DMA e AF; porém, só nas espécies migratórias este músculo assume importância quantitativa, e por estar regionalizado, não estraga a textura do filé completo. Caso contrário à situação dos gadídeos, onde a DMA e AF se formam no músculo ordinário (Castell et al., 1973; Crawford et al., 1979).

ESTOCAGEM	TIPOS DE PEIXES	TIPOS DE PRODUTOS	Amino predominante no final da estocagem	
			TMA	DMA
MISTURADOS COM GELO (±0°C)	Sardinha e peixes de carna escura ^{a,d}	Filet	MAIOR*	MENOR
	Peixes Planos ^g	Filet	MAIOR	ausente
	Peixes Gadídeos ^e	Filet	MAIOR	MENOR
	Camarão-do-Pacífico ^h	cauda	MENOR	MAIOR
	Lula ^f	Manta e tentáculos	MENOR	MAIOR
0°C SEM GELO	Bacalhau	Filet embalado a vácuo	MAIOR	MENOR
		Filet emb atmosfera modificada N ₂ /CO ₂ /O ₂	MAIOR	MENOR
	Merluza	Filet embalado com Ar	MAIOR	MENOR
		Filet embalado com N ₂	MENOR	MAIOR
CONGELADOS até -10°C	Peixes Gadídeos ^e	Filet	ausente	MAIOR
	Peixes Planos ^g	Filet	ausente	ausente
	Lula ^f	Manta e tentáculos	ausente	MAIOR

* Maior ou menor concentração de uma com respeito a outra

Fonte: a) Tokunawa (1970 A e B); b) Smith et al. (1980);
c) Harada (1975); d) Matthews et al. (1980);
e) Lundstrom et al. (1982); f) Davis (1990);
g) Dingle et al. (1977) h) Flores & Crawford (1973).

FIGURA 71 - Formação de Trimetilamina (TMA) e Dimetilamina (DMA) em pescados embalados e armazenados sob diferentes condições.

Formação de TMA em extratos de vísceras de peixes

As vísceras apresentam uma forte atividade da OTMA-ase, particularmente os cecos pilóricos e o fígado. Semelhante à OTMA-ase dos gadídeos, a OTMA-ase visceral quebra **1 mol de OTMA em 1 mol de DMA e 1 mol de AF** (Amano e Yamada, 1964; Yamada e Amano, 1965 A e B).

Harada (1975) concluiu que a enzima tinha um cofator de baixo peso molecular de natureza complexa. Stevenson (1980) encontrou que o cofator ativante da OTMA era de origem muscular, de peso molecular baixo (< 2.000 Da), sendo capaz de restaurar a atividade da OTMA-ase inativada por calor.

Parkin e Hulton (1981) estudaram OTMA-ase de merluza (*Urophycis chuss*), cusk (*Bosme bosme*) e linguado (*Pseudopleuronectes americanus*) obtida de preparações microscópicas do músculo. A OTMA-ase de cusk e de linguado apresentaram apenas 10% e 1% da atividade da merluza, respectivamente, mantendo-se a proporção entre os teores de DMA que as 3 espécies tinham apresentado durante a estocagem congelada.

O pH ótimo das OTMA-ases foi de 6,5 e a temperatura ótima, de -6°C; porém, entre 8 e 20°C também houve formação de DMA e AF, em menor quantidade.

A enzima é ativada pelo Fe⁺² e Fe⁺³, ascorbato e cisteína, e inibida por fosfato.

A OTMA-ase do fígado (Tomioaka et al., 1974) difere da microscópica no pH ótimo (5,0) e na inativação pelo Fe⁺³ que, na microscópica, funciona como ativador.

DMA e AF em crustáceos e moluscos

Flores e Crawford (1973) notaram um acúmulo rápido de DMA no camarão-do-pacífico que evolui desde 0,32 mg N-DMA % para 4,27 mg N-DMA % em 8 dias no gelo. O AF tem um aumento paralelo com a DMA, não ocorrendo o mesmo com a TMA que variou entre 0,24 e 1,6 mg no período completo. Nesta espécie, a relação DMA:TMA foi de 2,7:1 em 7 dias, uma proporção inversa da observada nos peixes em gelo, de 1:2,5 (Tokunaga, 1970 B).

Na lula armazenada em gelo, ocorre uma situação semelhante: a DMA acumula-se em quantidade maior que a TMA (Harada, 1975). Na lula *Loligo vulgaris* congelada a -20°C por 90 dias, foram encontrados 9,9 mg N-DMA % (Moral et al., 1980).

11.4.1.4 - Formação de TMA, DMA e AF por reações químicas

Tokunaga (1975; 1980) observou que quase todos os peixes marinhos cozidos formavam quantidades importantes de TMA e DMA. As reações são catalisadas por Fe^{+2} e Fe^{+3} , hemoglobina, cisteína e carboidratos (Vaisey, 1956; Craig et al., 1961), sendo imprescindível o aquecimento acima de 50°C . Se a N-TMA e N-DMA são arranjados como quociente (N-DMA/D-TMA + N-TMA), os valores maiores, nos peixes, correspondem ao músculo ordinário. Nos moluscos e crustáceos, o quociente é maior que o dos peixes, atingindo valores entre 0,4 e 0,8 (Ota, 1958; Tokunaga, 1975), confirmando que a degradação do OTMA pelo calor segue a mesma tendência que a observada na armazenagem com gelo (DMA \gg TMA).

Estudos com atum, bonito e peixes relacionados demonstram que os processos térmicos, usados durante o enlatamento, causam grande aumento de DMA e TMA, como é mostrado na tabela 57.

TABELA 57 - Formação de DMA e TMA em atum (*Thunnus alalunga*), em diferentes fases do enlatamento (Gallardo et al., 1990).

Composto (mg N %)	Peixe cru	Peixe cozido	Peixe Enlatado		
			110°C , 90 min	115°C , 55 min	118°C , 40 min
OTMA	1,90	0,84	0,42	0,33	0,19
TMA	0,44	1,30	1,60	1,70	1,90
DMA	0,24	0,52	0,70	0,74	0,77
OTMA + TMA + DMA	2,58	2,66	2,72	2,77	2,86
DMA/(TMA + DMA)	0,36	0,29	0,30	0,3	0,30

Os dados de Gallardo et al. (1990) sugerem as conclusões seguintes:

- a) a TMA e a DMA são derivadas do OTMA, pois a soma é constante;
- b) o quociente muda pouco após o cozimento, e o valor médio (0,30) está na faixa de valores para o músculo ordinário;
- c) o teor de OTMA quase desaparece após autoclavagem.

Segundo Tokunaga (1975), a decomposição do OTMA aumenta desde 60 para 100°C , e é maior em pH ácido ($< 6,0$) que em neutro, sendo inibida em pH acima de $7,5$. Alguns fatores influenciaram a proporção entre DMA e TMA: os açúcares, mioglobina e Fe^{+2} favorecem a formação de TMA.

11.4.2 - Aminas não-voláteis

A existência de aminoácidos livres (AAL) em concentrações elevadas favorece a proliferação de bactérias e induz à síntese de descarboxilases específicas. O resultado da descarboxilação é uma amina que, dependendo do peso molecular e estrutura do AA que as origina, pode resultar em aminas leves, diaminas com funções suplementares, como é mostrado na figura 72.

A arginina é particularmente importante em moluscos e crustáceos, onde preenche a função de osmótico e agente osmótico. A evolução deste AA nos moluscos é bastante complexa, envolvendo várias descarboxilações e eliminação de uréia, formando metabólitos importantes de grande potencial para avaliar qualidade de lula, abalone, vieira e outros bivalvos.

A figura 73 é uma síntese dos mecanismos de degradação da Arginina (Ar) nos moluscos, para explicar a geração de putrescina, espermina, espermidina, agmatina e ornitina.

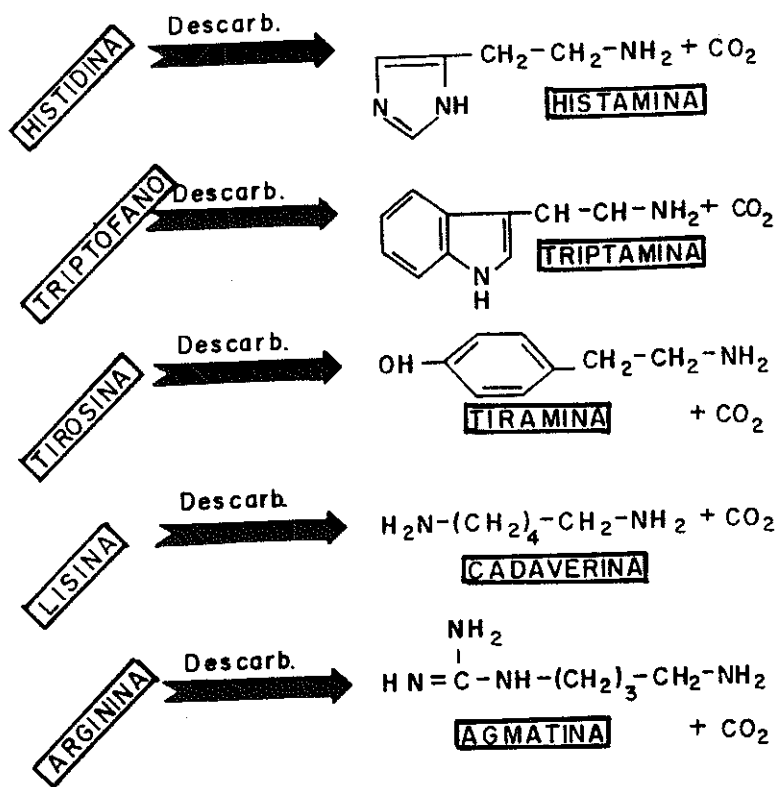
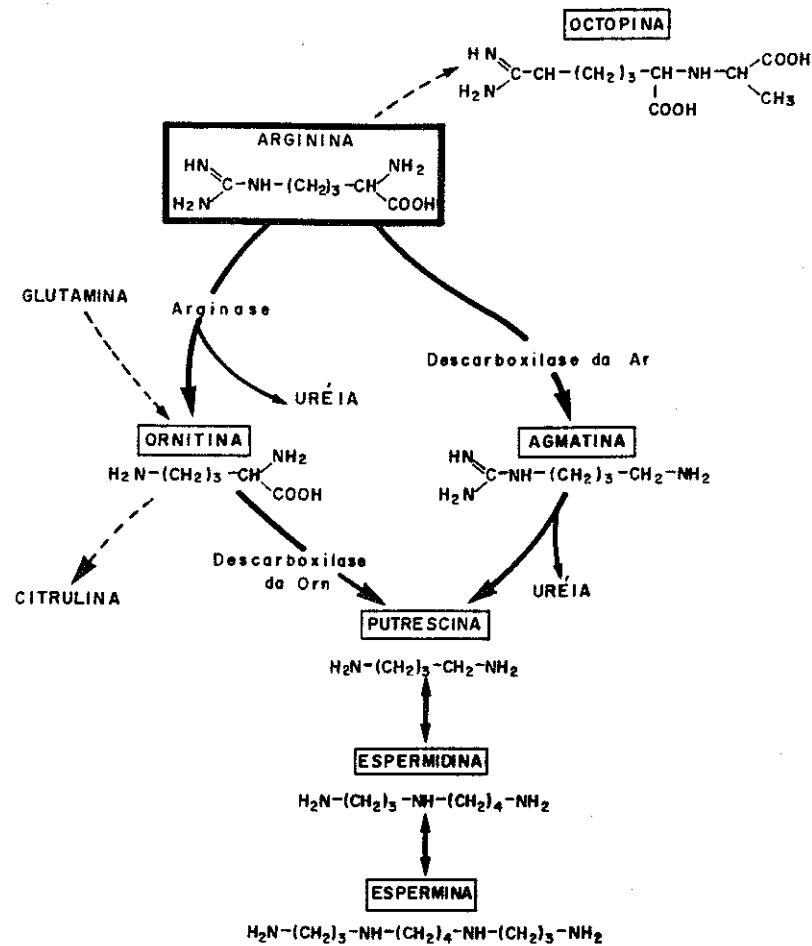


FIGURA 72 - Formação de aminas não-voláteis por descarboxilação de AA.



Fonte: Yamanka (1990), Kamas e Mietz (1978) e Ritchie e Mackie (1980).

FIGURA 73 - Vias eventuais de decomposição da arginina em moluscos.

As descarboxilases de AA são secretadas pelas bactérias, de modo que o tipo da amina que predominar depende da flora microbiana. Algumas bactérias produzem várias descarboxilases, sendo comuns as da lisina e ornitina, porém menos comum a da histidina. A maioria das bactérias da família Enterobacteriácea pode produzir putrescina (Put) e cadaverina (Cad), porém só umas poucas podem produzir, também, histamina (Eitenmiller et al., 1982), sendo anaeróbicas facultativas Gram (+) ou (-).

A tabela 58 reúne alguns microrganismos capazes de gerar descarboxilases nas condições de armazenagem comum de pescados e produtos de pescado (0 e - 5°C).

TABELA 58 - Microrganismos que produzem descarboxilases em pescados armazenados em gelo.

Microrganismo	Descarboxilases de			Referências
	Hist	Lis	Orn	
Proteus (<i>Morganella morganii</i>)	X	—	—	Taylor e Summer (1987)
<i>Pseudomonas fluorescens e putida</i>	—	X	X	Taylor e Summer (1987)
Bactérias psicrófilas do grupo N	X	—	—	Taylor e Summer (1987)
<i>Photobacterium spp.</i>	X	X	±	Van Spreekens (1987)
<i>Alteromonas putrefaciens</i>	—	—	X	Olley e Beranowsky (1985)

(-) não-detectada.

11.4.2.1 - Histamina (Hm)

Devido a sua toxicidade, a Hm tem sido abordada com um enfoque múltiplo, envolvendo estudos bioquímicos, fisiológicos, farmacológicos e microbiológicos, particularmente em relação às práticas de manuseio e conservação de produtos marinhos e outros alimentos.

Aspectos fisiológicos da intoxicação por histamina

A intoxicação por Hm é uma doença pouco grave, de duração curta, porém de características muito desagradáveis, cuja intensidade depende da dose ingerida no alimento e da suscetibilidade do organismo.

Os sintomas principais são coceira e formação de bolhas, calor e sufocação no rosto, dor de cabeça, vômito e, em casos graves, desvanecimento por algumas horas (Douglas, 1970).

Alguns destes sintomas se explicam pela propriedade vasodilatadora da Hm, que causa queda de pressão sanguínea, em contraste com a tiramina e as catecolaminas, que produzem vasoconstrução.

Porém, o efeito vasodilatador não explica os outros efeitos fisiológicos. Beaven (1978) relata que a variedade de sintomas se deve à existência de dois tipos de receptores de Hm, H₁ e H₂, que operam de maneira diferente.

A Hm, em condições normais, atua no controle da pressão sanguínea e na estimulação da secreção de HCl no estômago. O excesso de estímulo tem sido sugerido como explicação da doença **vômito negro**, um tipo de ulceração violenta da moela dos frangos alimentados com farinhas de peixe, altas em histidina, como as de anchoveta, sardinha, bonito, resíduos de atum, etc.

O estímulo excessivo tem sido atribuído à presença de uma toxina chamada **Gizzerosine** (moelosine), formada da histidina (ou histamina) com a lisina, durante o processamento da farinha. Não está certo até hoje se a presença de toxina está associada ao estado de deterioração da matéria-prima, à temperatura excessivamente elevada na secagem ou a outros fatores.

No Chile, foi desenvolvida uma análise biotóxicológica (Gallegillos e Romo, 1992) para detecção da moelosine em farinhas de peixe comerciais. O ensaio emprega frangos que são alimentados por períodos curtos, com dietas da farinha sob inspeção. A aparição de ulcerações acusa a presença de "moelosine" e permite excluir esses lotes da comercialização internacional.

Com respeito aos níveis máximos de Hm permissíveis em alimentos para consumo humano, as sugestões são muito amplas, com limites mínimos de 10 mg e máximo de 100 mg Hm/100 g de produto.

Valores de 100 mg/100 g são considerados tóxicos com certeza, pois têm sido determinados na maioria dos surtos de intoxicação que foram documentados (Merson et al., 1974; Kin e Bjeldanes, 1979; Cruickshank e Williams, 1978); entretanto, concentrações entre 50 e 100 mg também têm sido implicadas e ainda, ocasionalmente, valores menores que, provavelmente, foram potencializados por poliaminas (Murray et al., 1982).

No Canadá, a Seção de Inspeção de Pescados (1979) tem proposto 3 níveis de Hm para qualificar os produtos da pesca:

- 1) **Nível aceitável:** produtos com menos de 10 mg/100g;
- 2) **Nível de alerta** (leve decomposição): produtos com teores entre 10 e 30 mg Hm/100g;
- 3) **Nível de rejeição** (decomposição definitiva): produtos com teores acima de 30 mg Hm/100 g.

O FDA dos Estados Unidos estabeleceu 50 mg/100 g como nível perigoso e 20 mg/100 g como nível de alerta apenas para o Atum e o Mahi-mahi (Ababouch, 1991).

Vários países estão considerando um nível de alerta (**Defectation Level**) entre 10 a 20 mg/100 g, baseados no conhecimento de surtos reportados em numerosas ocasiões (Ababouch, 1991).

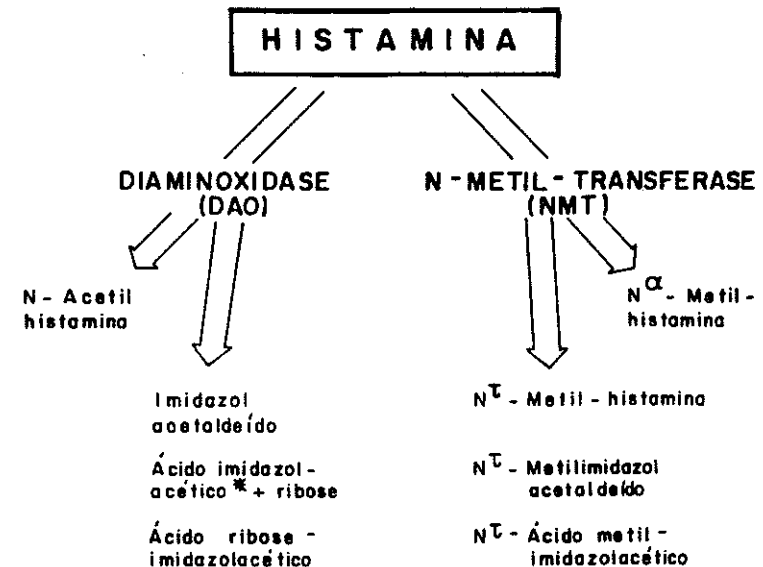
Nos crustáceos e moluscos, o teor de histidina livre é pequeno, entretanto, com certa frequência, aparecem envolvidos em episódios de reações alérgicas. Quanto aos camarões, pode-se aceitar que algumas reações sejam causadas pelo uso excessivo de metabissulfito de sódio para prevenção da mancha preta. Nos camarões estragados, porém, a concentração de histidina poderá alcançar valores suficientemente elevados para a produção de histamina em níveis tóxicos, devido ao acúmulo deste aminoácido na forma livre por efeito da proteólise.

O efeito das substâncias potencializadoras não está claro; porém, face à disponibilidade de métodos altamente resolutivos para poliaminas, é esperado um esclarecimento em um prazo relativamente curto, para permitir uma definição do nível máximo de Hm sobre bases mais concretas.

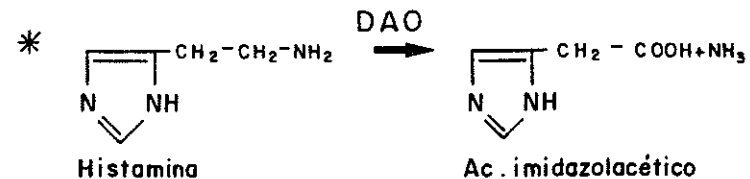
Mecanismos de detoxificação da histamina

No organismo, a Hm é degradada pela diaminoxidase (DAO), monaminoxidase (MAO) e N-metiltransferase da Hm (N-HMT) (Granerus, 1968; Sjaastad e Sjaastad, 1974; Taylor et al., 1984; Ababouch et al., 1991).

A figura 74 mostra os caminhos para detoxificação da Hm e os metabólitos respectivos.



Fonte: Taylor (1986)



Fonte: Taylor (1986).

FIGURA 74 - Detoxificação de histamina pelo organismo animal.

A importância relativa de um ou outro mecanismo de detoxificação depende dos animais e do tipo de tecidos (Taylor, 1986). Segundo Wetterqvist (1978), o mecanismo predominante no homem é a metilação, visto que a HMT está presente em todos os tecidos. A Hm injetada, via endovenosa, ou ingressada na corrente sanguínea, via intestinal, seria metilada nos pulmões, fígado e outros órgãos, tornando-a inativa.

A passagem pela barreira intestinal dependeria do bloqueio da DAO, que é a enzima predominante no intestino delgado. A DAO desamina oxidativamente a Hm, como foi salientado na figura 74.

Tanto a DAO como a MAO não têm seletividade para a Hm, que é oxidada com menor velocidade que as diaminas típicas Cad e Put (Bieganski et al, 1983).

Existem várias substâncias que inibem a atividade da DAO, HMT e MAO; algumas são de ocorrência normal nos peixes pouco frescos, como a cadaverina, putrescina e tiramina (Taylor et al., 1984). Outros inibidores são drogas farmacêuticas usadas para combate de algumas doenças e que, paralelamente, bloqueiam a DAO ou a MTH, causando intoxicação histamínica (Taylor, 1986).

Atualmente, aceita-se a interpretação de que os efeitos da Hm podem ser intensificados por componentes do próprio alimento, visto que a Hm ingerida em quantidades elevadas não produz os sintomas típicos da intoxicação. As aminas dos alimentos atuam inibindo, competitivamente, a DAO e permitindo que a Hm não-modificada atravessasse a parede do intestino delgado, ingressando no sangue (Inestea, 1973; Taylor e Sumner, 1984). Outra hipótese sugere que os potenciadores atuam a nível da parede intestinal, afetando a ligação da Hm pela mucina intestinal. Chu e Bjeldanes (1981) demonstraram em experimentos "in vitro" que a Cad, Put, Spm e Spd reduzem o nível de aglutinação da Hm com a mucina, embora a inibição requeresse quantidades altas de poliaminas e fosse menos intensa com extratos de atum.

Ababouch (1991), citando opiniões de Taylor (1986), salienta que a contribuição da inibição da mucina na região gastrointestinal teria uma importância secundária na potencialização da toxicidade da Hm.

Produção da descarboxilase da Hm e caracterização de suas propriedades

A *Morganella morganii* (Proteus) tem sido involucrada desde há tempo na produção de Hm em pescados e, portanto, tem servido de modelo para obtenção e pesquisa da descarboxilase da histidina (Klausen e Huss, 1987).

Recentemente novos tipos de microrganismos psicrófilos produtores de Hm têm sido isolados de pescados por Ukuzumi et al. (1981 e 1982) e Okuzumi et al. (1984). Eles pesquisaram um tipo de psicrófilos que chamaram de **Bactérias do grupo N** que parecem coincidir com a descrição do *Photobacterium* spp detalhado por Van Spreekens (1986), visto que ambos os tipos apresentam requerimentos especiais para crescer (o que explicaria sua não-detecção pelos métodos comuns), são termolábeis, sensitivos ao congelamento e produzem histamina vigorosamente em temperaturas relativamente baixas. Sua presença explicaria a acumulação de Hm em quantidades surpreendentemente elevadas em peixes em que a flora aceita como produtora de Hm permanece baixa.

Eitenmiller et al. (1982) relataram que a acumulação de Hm nos músculos de peixes é difícil de prever, visto que os fatores que concorrem para isso têm parâmetros ótimos diferentes. Estes autores selecionaram a bactéria *Morganella morganii* GRMO6, que foi incubada em meios de cultura específicos e carne de atum, permitindo registrar o comportamento da enzima através das etapas do crescimento celular em diferentes condições de pH e temperatura:

Característica Testada	Condições Ótimas
Indução da descarboxilase	pH 5 a 20 - 25°C
Crescimento celular	pH 6,5 a 37°C
Concentração de histidina do meio de cultura	< 0,07 %
Descarboxilação da histidina	pH 6.5 a 37°C

Fonte: Eitenmiller et al. (1982).

Estes dados são próximos aos de outras pesquisas (Frank, 1981) e permitem concluir que, na carne de atum com e sem inoculação do microorganismo, há uma certa diferença entre a temperatura ótima para a produção da descarboxilase (30°C) quando comparada com a ótima do meio de cultura (20 - 25°C). A máxima produção foi obtida às 12 horas de incubação; porém, a Hm apresentou o valor mais alto às 48 horas, configurando uma defasagem definitiva entre a produção da enzima e sua ação sobre a histidina.

Na amostra sem inoculação (baixo número de microrganismos), a enzima acumulou com taxas menores, atingindo o máximo em 48 horas.

Estes achados demonstram a complexidade das relações entre população de microrganismos, produção de descarboxilase e formação de Hm no músculo de peixes e, além do mais, explicam por que, nos peixes deixados à temperatura ambiente e logo resfriados com gelo, a paralisação do crescimento dos microrganismos, nem sempre coincide com uma diminuição da taxa de síntese de Hm.

Hm em relação à composição do alimento

A Hm ocorre em alimentos imprópriamente manipulados que tenham teores altos de histidina autolítica ou por fermentação. Nestes últimos alimentos, os processos microbiológicos são capazes de gerar Hm e causar intoxicações no chucrute (Meyer e Pause, 1972), queijos (Voigt et al., 1974) e vinho (Ough, 1971). No salame, Taylor (1976) encontrou quantidades elevadas de Hm.

Os peixes marinhos, frescos ou processados, são de longe os maiores inculpadados de episódios de intoxicação (Skovgaard e Elleman, 1978; Lerke et al., 1978; Lerke e Bell, 1976; Merson et al., 1974; Jepsen e Skovgaard, 1973). A elevada incidência em produtos marinhos deve-se, certamente, ao teor elevado de histidina livre das espécies das famílias clupeídea, escombrídea e outras que, pelo seu sabor e aroma únicos, desfrutam de grande aceitação, sendo consumidas na forma enlatada ou anchovada.

Algumas espécies, baixas em histidina livre como bagres, trutas de água doce, camarões marinhos e alguns produtos específicos, como peixes fermentados ou defunados, têm aparecido implicadas em

envenenamento por Hm. Nestes episódios, as causas prováveis devem ser a falta de higiene e de refrigeração oportuna.

A decomposição de espécies de carne escura (músculo ordinário) certamente está associada a teores altos de histidina (Hillig, 1954 e 1956; Tomiyasu e Zenitani, 1957; Kimata, 1961; Arnold e Brown, 1978), que pode atingir até 1.000 mg %, garantindo uma concentração abundante para os microrganismos que possuem a descarboxilase específica.

Bryan (1987) recoletou os episódios de intoxicação e das espécies envolvidas, no período 1979 - 1984, que são mostrados na tabela 59.

TABELA 59 - Famílias de peixes que envolvem risco potencial de intoxicação por Hm.

Famílias	Representantes Importantes	Episódios de Intoxicação (1979 - 1984)
Scombridae	bonito, atum, cavala e serra	16
Clupeidae	sardinha e savelha	
Engraulidae	anchova e manjuba	
Carangidae	olho-de-boi e olhete	
Scomberesocidae	agulha	
Coryphenidae	dourado-de-mar (<i>Mahi mahi</i>)	10
Pomatomidae	enchova	4
Salmonidae	salmão coho, chinook, rosa e etc.	2

Fonte: Bryan, 1987.

Hm em relação à manipulação das matérias-primas

Estudos de preservação em ambiente asséptico ou com antibióticos têm demonstrado que, na formação de Hm nos músculos, não há envolvimento de fatores endógenos (Geiger, 1944; Ferencick, 1970; Fernandez-Salguero, 1979), portanto, deve ser dada muita atenção aos fatores circunstanciais que aumentam os riscos:

a) nos peixes pelágicos, o risco é maior no verão devido à temperatura alta e à maior concentração de histidina livre (Simidu e Hikibi, 1954; Skovgaard e Elleman, 1978);

b) as espécies de menor tamanho são mais perigosas, pois apresentam maior área de ataque enzimático e microbiano, comumente apresentam textura pouco firme e, devido ao tamanho, são armazenadas a granel;

c) as zonas mais suscetíveis são as da cavidade ventral e na zona da cabeça (Lerke et al., 1978; Yoshinawa e Frank, 1982; Orejana et al., 1983). Os músculos ordinários apresentam maior risco que os vermelhos (Takagi et al., 1969; Orejana et al., 1983).

Os fatores mencionados são importantes, embora mais crítica seja a manipulação imprópria no período inicial a bordo. Várias pesquisas têm demonstrado que os peixes deixados no convés, sem gelo por algumas horas e logo resfriados, desenvolvem na armazenagem quantidades de Hm maiores que as esperadas em função do tempo sem gelo. A demora na aplicação de gelo deveria mudar o patamar inicial de Hm, porém não causar aumento da taxa de síntese de Hm (Behling e Taylor, 1982; Orejana, 1983; Van Spreekens, 1986; Putro e Saleh, 1985).

Este aumento catalítico que ocorre em lotes resfriados demoradamente, seria devido aos fatores seguintes:

a) as bactérias desenvolvidas no período sem resfriamento penetrariam no músculo através das fibras de colágeno, fato facilitado a temperatura acima de 8°C (Shewan e Murray, 1979). Este fenômeno não aconteceria nos peixes resfriados imediatamente, pois os microrganismos ficariam espalhados apenas na superfície (Gill e Penney, 1977);

b) no período à temperatura ambiente, as bactérias mesófilas e psicrotólicas facultativas secretariam a descarboxilase da Hm que permaneceria acumulada localmente de onde difundiria aos tecidos vizinhos durante a armazenagem com gelo; mesmo que o resfriamento viesse a restringir a multiplicação dos microrganismos, a enzima pré-

formada continuaria a produzir Hm (Klausen e Huss, 1987; Putro e Saleh, 1985);

c) nos escombrídeos, a falta de refrigeração imediata seria muito mais grave, pois a temperatura corporal destas espécies é comumente alta, podendo atingir 10°C acima da temperatura da água, e, sem aplicação de gelo, os peixes manter-se-iam quentes por mais tempo, provocando a autoativação de colagenase endógena e, eventualmente, outras enzimas. A colagenase degrada o tecido conjuntivo, cujo caso extremo é a aparição de favos (honeycombing), através dos quais ocorreria a penetração das bactérias (Frank et al., 1981).

Hm em peixes enlatados

A quantidade de Hm que permanece nos produtos enlatados mantém, em termos gerais, uma relação com o teor existente na matéria-prima.

Segundo Pan et al. (1982), na operação de pré-cozimento e nas etapas subsequentes (resfriamento, separação da carne (lombos), raspagem da pele, eliminação do músculo vermelho e enchimento das latas), acontece uma diminuição da concentração de Hm. Esta redução ocorre pela liberação de água muscular pela cocção, pela lavagem externa, pelo vapor condensado e pelo descarte das zonas críticas, pele e barriga. Porém, se estas operações forem muito demoradas ou houver excesso de manuseio, a Hm pode aumentar (Lee et al., 1984).

Na etapa de autoclavagem, acontecem duas situações, dependendo das espécies e do grau de frescor. No bonito-de-barriga-listrada (skip jack) muito fresco, foi determinado um aumento da Hm entre 20 e 50% do valor que existia na pré-cozimento (Farn e Sims, 1990). Paradoxalmente, nos peixes em má condição, houve uma diminuição entre 30 e 50%. Os mesmos autores relatam que, no albacora-de-laje (yellowfin tuna) em ótima condição, a Hm aumentou entre 0 e 300% por efeito da autoclavagem, enquanto que, nos peixes em má condição de frescor, a Hm diminuiu entre 30 e 50% do valor na pré-cozimento.

Pan et al. (1981) relataram que o teor de Hm em bonito aumentou desde 8,55 para 19,35 mg % após autoclavagem, porém salientaram que a tendência geral é de manter os níveis que havia na pré-cozimento.

Na definição dos teores mínimos de Hm como critérios de qualidade, este comportamento deverá ser levado em consideração.

Existe uma tendência de limitar o teor de Hm nos enlatados de comercialização internacional, e alguns países já empregam padrões provisórios máximos: 100 ppm na Alemanha e 250 ppm nos Estados Unidos. Estes limites, raramente, são excedidos pelos produtos de categoria **fancy** (sólido), onde predominam valores inferiores a 10 ppm (Yamanaka et al., 1980; Taylor et al. 1978; Mietz e Karmas, 1977). Nos produtos em flocos ou desintegrados (**grated**), os valores encontram-se na faixa de 10 a 50 ppm.

No Brasil, a elaboração de conservas de atum (*Thunnus albacores*, *Germo alalunga*), bonito-de-barriga-listrada (*Katsuwonus pelamis*) e bonito-pintado (*Euthynnus alleteratus*) tem atingido um alto desenvolvimento, com produtos de qualidade comparável aos importados.

O teor de Hm dos produtos brasileiros tem sido pesquisado por Lopes Martins (1986), Mendonça (1991) e pela FEA-UNICAMP (1992).

A tabela 60 reúne dados dos teores de Hm em enlatados de atum e bonito produzidos no Brasil. Os dados da FEA-UNICAMP foram obtidos por um método espectrofotométrico simples, desenvolvido por Mendonça (1991) e os de Lopes Martins, pelo método do AOAC.

TABELA 60 - Teor de histidina em enlatados de atum sólido e bonito produzidos no Brasil.

Espécie e tipo de produto	Nº. de amostras	Hm (mg %)	Referências
Albacora-de-laje em óleo	10	0,69 ± 0,43	FEA-UNICAMP*
Albacora-de-laje em salmora	5	0,88 ± 0,31	FEA-UNICAMP*
Atum em óleo	15	0,94 ± 0,48	FEA-UNICAMP*
Bonito-de-barriga-listrada em óleo	15	1,28 ± 0,84	FEA-UNICAMP*
Atum em óleo	29	0,62 ± 0,69	Lopes Martins (1986)
Bonito	2	0,33	Lopes Martins (1986)

* - Dados obtidos no Laboratório de Pescados da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP - Campinas, Brasil (1992).

Os valores médios de Hm das conservas brasileiras apresentam teores ligeiramente mais baixos que os valores médios, aceitos em produtos estrangeiros, que se encontram, segundo Yamanaka et al. (1980), na faixa de 0,7 a 1,3 mg Hm/100 g no albacora sólido, entre 1,5 e 5,2 mg Hm/100 g no albacora em flocos e de 1,4 a 3,6 mg Hm no skipjack (bonito-de-barriga-listrada). Dados de Taylor et al. (1977), registram para albacora uma média de 1,45 mg/100 g.

Os dados baixos dos enlatados brasileiros indicam que a indústria de escombridos assimilou rapidamente as práticas adequadas de manipulação a bordo e processamento industrial.

A pesquisa de Lopes Martins abrangeu, também, bonito-do-Peru, um produto amplamente aceito no Brasil. O estudo, envolvendo um número representativo de amostras, revela um fato interessante quanto à qualidade dos produtos ralados (**grated**) e os sólidos (**solid pack**), como pode ser deduzido da tabela 61.

TABELA 61 - Concentração de Hm em enlatados de bonito-do-Peru (*Sarda cbiliensis*) comercializados no Brasil.

Produto	Nº. de amostras	Hm (mg %)
Bonito sólido	8	0,5 ± 0,11
Bonito ralado	19	2,5 ± 1,35

Fonte: Lopes Martins (1986).

Os enlatados de atum e bonito, na forma ralada, geralmente apresentam índices de deterioração (BVT e TMA) mais elevados que os respectivos na forma inteira (sólido) (Foster, 1988). Aparentemente, a Hm não foge a esta regra. A matéria-prima para os produtos "grated", de fato, é mais suscetível de mudanças deteriorativas, pois é obtido das superfícies dos lombos durante o seu aprimoramento, das zonas da barriga e de sobras miúdas que sofrem uma exposição maior ao ar (oxidação de lipídios) e ao contato com superfícies antes da autoclavagem.

Outras espécies enlatadas também apresentam riscos de acumulação de histamina nos estágios anteriores ao processamento

térmico. A cavalinha (*Scomber scombrus*) tem apresentado, ocasionalmente, teores de Hm de até 227 mg% (Lopes Martins, 1986); porém, excluindo-se esses casos, os valores médios são baixos.

A tabela 62 reúne algumas informações sobre o teor de Hm em enlatados de peixes diversos, produzidos no Brasil e países sul-americanos.

TABELA 62 - Teor de histamina em enlatados de sardinha e outros peixes brasileiros e latino-americanos.

Espécie	Procedência	Hm (mg %)	Referências
Sardinha (<i>S. brasiliensis</i>)	Brasil	0.42 ± 0.23	Mendonça (1992)
Sardinha (<i>S. sagax</i>)	Chile	0.46	Saa et al. (1982)
Caballa (<i>Scomber peruanus</i>)	Chile	0.89	Saa et al. (1982)
Bonito-sólido (<i>Sarda chiliensis</i>)	Chile	1.11	Saa et al. (1982)
Cavalinha (<i>Scomber scombrus</i>)	Brasil	1.14 ± 1.69	Lopes Martins (1986)
Jurel (<i>Trachurus murphy</i>)	Chile	0.29	Saa et al. (1982)

11.4.2.2 - Cadaverina, Putrescina, Agmatina e outras aminas

O conhecimento da ocorrência, identificação e quantificação destas poliaminas é mais recente que o da histamina, embora sua formação, nos processos de decomposição de pescado, tenha sido prevista desde há muitos anos.

Yamanaka (1990) tem relatado que estas aminas se formam na maioria dos peixes e moluscos armazenados acima de 0°C, salientando sua eventual utilidade como índices de deterioração. A ubiquidade destas aminas é tida como certa, após terem sido determinadas em lula e polvo (Takagi et al., 1971), em atum e bonito

(Mietz e Karinas, 1977; Farn e Sims 1986), em arenque (*Clupea barengus*) e cavala-do-atlântico (*Scomber scombrus*) (Ritchie e Mackie, 1980), na cavala-do-pacífico (*Scomber japonicus*), peixe-agulha (*Cololabis saira*) e vieira (*Patinopecten yossoensis*) (Yamanaka, 1990), e em sardinha (Ababouchi et al., 1991).

As poliaminas típicas (Cad e Put) formam-se conjuntamente com a Hm, porém a concentração desta última é geralmente maior, devido a que, os peixes pesquisados são, na sua maioria, de carne escura, onde a histidina livre ocorre em quantidades muito maiores que a lisina e a arginina livres. Poucos estudos têm sido realizados com peixes de carne clara, moluscos e crustáceos.

A tabela 63 reúne dados de vários pesquisadores sobre formação de Cad, Put e Hm em diversas espécies.

TABELA 63 - Teor de poliaminas em espécies armazenadas sob refrigeração e em temperaturas próximas à do meio ambiente.

A - Armazenagem sem refrigeração

Espécie	Temperatura (°C)	Tempo (dias)	Poliaminas			Referências
			Cad	Put	Hm	
Cavala-do-Atlântico	25	2	8.56	2.46	5.90	Ritchie e Mackie (1980)
Arenque	25	3	49.33	17.29	107.36	Ritchie e Mackie (1980)
Bonito-listrado	21	3	30.8	1.7	23.3	Farn e Sims (1986)
Atum (amarelo)	21	3	14.2	1.9	21.7	Farn e Sims (1986)
Sardinha	ambiente	1	105.5	30.0	—	Ababouch et al. (1991)
Cavala-do-Pacífico	10	3	50.0	3.8	91.5	Yamanaka (1990)

B - Armazenagem sob refrigeração

Espécie	Temperatura (°C)	Tempo (dias)	Poliaminas			Referências
			Cad	Put	Hm	
Arenque	1	10	11.57	1.94	11.37	Ritchie e Mackie (1980)
Cavala-do-Atlântico	1	10	2.06	0.43	2.37	Ritchie e Mackie (1980)
Agulha	0	11	6.7	Tr	63.5	Yamanaka (1990)
Sardinha	~3	8	105.5	Tr	—	Ababouch et al. (1991)

(-) não relatada.

A tabela 63 mostra algumas tendências que podem ser sintetizadas nos itens seguintes:

a) a decomposição em temperaturas altas forma quantidades variáveis de poliaminas que parecem estar relacionadas com o tipo de peixe. Os dois clupeídeos de tamanho pequeno (arenque e sardinha) formam quantidades extremamente elevadas de Cad, Hm e Put. A cavala-do-pacífico, excetuando-se a Put, apresenta teores de Hm e Cad próximos aos dos clupeídeos, embora os dois escombrídeos típicos (atum e bonito-de-barriga-listrada) apresentam teores de poliaminas menores e relativamente semelhantes em ambas as espécies. Aparentemente, o seu maior tamanho e firmeza dos tecidos contribuem para diminuir a disseminação dos microrganismos na massa muscular.

Em todos os peixes armazenados à temperatura ambiente, nota-se que a relação Cad:Hm varia pouco, mantendo-se entre 50:100 e 100:50;

b) Na armazenagem próxima de 0°C, há grande redução no teor das poliaminas, exceto nos dois clupeídeos que apresentam dados ainda elevados. A formação de Put é a mais deprimida, o que se explicaria pela inibição das bactérias produtoras de arginase e da descarboxilase da arginina em temperaturas baixas. A Hm forma-se em quantidades maiores que a Cad, particularmente no peixe-agulha.

Taylor e Sumner (1987) concluíram que, à luz dos dados atuais, nos peixes estragados, a Cad encontra-se entre 10 e 50 mg % e a Put, em torno de 10 mg %.

Yamanaka (1990) não detectou Hm na vieira armazenada a 5 e 15°C e sim Cad e Put, além dos aminoácidos não-protéicos citrulina e ornitina. O regime de formação deste último é bastante regular, motivo pelo qual, o autor propõe a ornitina com índice de frescor neste molusco.

Outras poliaminas e monoaminas que têm sido pesquisadas, são a espermina (Spm), espermidina (Spd), tiramina (Tr), agmatina (Ag) e triptamina (Tp).

A espermidina (Spm), no arenque e na cavala-do-atlântico, foi detectada em quantidades mínimas e não apresentou um regime

regular de acumulação; porém, na cavala-do-pacífico, Yamanaka (1990) observou um comportamento mais regular, aumentando gradualmente desde 0,7 para 1,6 mg %, em 3 dias, a 10°C.

A Spm e a Spd são formadas pela adição de 1 ou 2 grupos aminopropílicos no grupo amino da Put, via S-adenosil metionina descarboxilada (Karmas e Mietz, 1978).

A tiramina (Tr) tem sido detectada em quantidades mínimas em vieira (Yamanaka, 1990), no final do período de armazenagem, a 5 e 15°C. Porém, na cavala-do-pacífico e no peixe-agulha armazenados sob refrigeração, a tiramina aumentou gradualmente, mostrando um certo potencial como índice de frescor.

Cabe lembrar que a tirosina, que origina a tiramina, já é usada para acompanhamento do frescor (aumento da proteólise) em várias espécies.

Nos peixes armazenados acima de 0°C, a agmatina (Ag) apresenta um acréscimo inicial para logo diminuir e quase desaparecer, concomitante com um aumento da Put. Nos moluscos, tanto a Ag quanto a Put aumentam na armazenagem devido à grande concentração de arginina livre destas espécies, que dispõem de um substrato farto para substituir a Ag convertida em Put (ver figura 73).

11.5 - Compostos voláteis contendo enxofre

Nos capítulos anteriores, tem sido mencionado que a redução do OTMA e a descarboxilação e desaminação dos aminoácidos geram produtos odoríferos com prejuízo da qualidade sensorial. No caso dos aminoácidos com enxofre (metionina, cistina e cisteína), vários voláteis contendo este elemento acompanham as aminas, ácidos, voláteis, álcoois, aldeídos e outros compostos típicos da decomposição das proteínas por microrganismos. A taurina (ácido 2-aminoetanossulfônico), um aminoácido com enxofre que existe na forma livre em altas concentrações em crustáceos e moluscos, sofre pouca ou nenhuma modificação bacteriana (Bennergee, 1967).

A concentração dos voláteis com enxofre parece ser a chave da diferenciação organoléptica entre aceitável e inaceitável, face ao baixo limiar de detecção sensorial destes compostos (tabela 54). Segundo Liston (1982), a deterioração dos pescados torna-se

perceptível quando o número de microrganismos produtores de voláteis com enxofre excede os 40 % da flora geral.

O uso de embalagens seladas a vácuo ou em atmosfera modificada (CO_2 , N_2 ou misturas destes com oxigênio) tem trazido à tona a validade dos testes tradicionais para avaliação de qualidade. As novas formas de embalagem dos produtos de pescado alteram os tipos de aroma e a velocidade de formação dos monitores convencionais (hipoxantina, BVT, TMA, histamina), de modo que é necessário refazer muitas pesquisas bioquímicas e microbiológicas, originalmente realizadas para condições aeróbicas.

Josephson et al. (1987) relatam que a aparição de compostos com enxofre, em algumas espécies, coincide com o início da putrefação tanto nos peixes embalados sem evacuação do ar quanto nos selados a vácuo. Pelo contrário, nas mostras sob CO_2 , o odor podre não se desenvolve, mesmo que os gases do **head space** contenham compostos de enxofre.

O uso de atmosferas modificadas pode aumentar a vida útil dos peixes em 1,5 e 2,5 vezes; porém, é preciso conhecer mais sobre as alterações bioquímicas e microbiológicas que, geralmente, se evidenciam na composição dos voláteis.

11.5.1 - Microrganismos responsáveis pela geração de voláteis com enxofre

Nos peixes armazenados aerobicamente sob refrigeração, as *Pseudomonas* e *Alteromonas* emergem como os gêneros dominantes e com maior capacidade deteriorativa (Huss et al., 1987; Shevan, 1977; See e Harison, 1968; Liston, 1980).

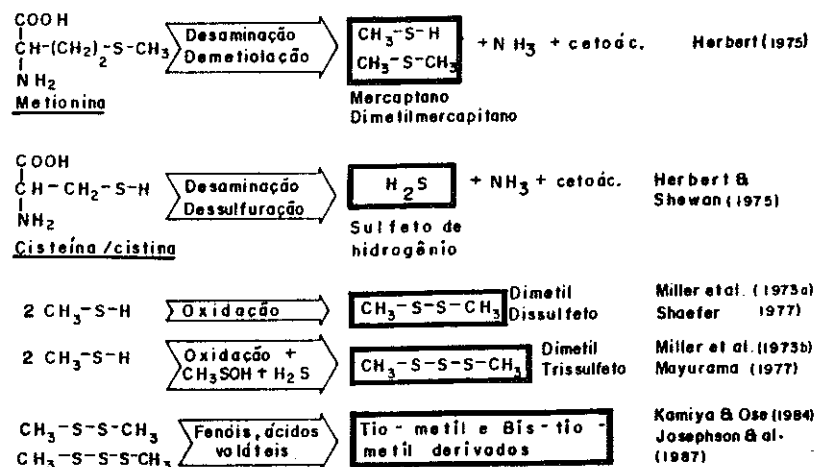
Levin (1968) relatou que, nos extratos de pescado, apenas as *Pseudomonas* (*Alteromonas*) *putrefaciens* e *Proteus* spp. formam H_2S em meio de peptona-agar. Gillespie e Mac Rae (1975) estimaram que 43% dos isolados de *Pseudomonas* da tainha eram capazes de gerar odores de enxofre, enquanto que só 8% dos Flavobactérios, 4% das *Moraxellas* e 1% dos *Micrococcus* tinham esta propriedade. Herbert et al. (1971) destacaram que as *Pseudomonas* e *Alteromonas* são produtores enérgicos de H_2S , metilmercaptana (CH_3SH) e

dimetilsulfeto ($(\text{CH}_3)_2\text{S}$) sob condições refrigeradas. O H_2S foi detectado a partir do 6o. dia e os outros compostos a partir do 8o. dia, o que coincide com o período de vida útil de várias espécies.

O uso da cromatografia capilar (Lindsay et al., 1987; Josephson et al., 1987) permitiu quantificar novos compostos com enxofre: dimetildissulfeto ($\text{CH}_3\text{-S-S-CH}_3$) e dimetiltrissulfeto ($\text{CH}_3\text{-S-S-S-CH}_3$), que aparecem na fase de deterioração sensorial tanto em amostras embaladas com ar quanto nas com vácuo. Neste último sistema, também se formaram tiometil derivados do acetato, propionato de butirato, além do bis-tiometano.

A figura 75 reúne vários compostos voláteis ou parcialmente voláteis que têm sido relatados na literatura.

FIGURA 75 - Compostos voláteis determinados em peixes embalados sob diferentes condições.



A importância relativa de cada um destes compostos no odor rejeitável depende da concentração que, por sua vez, é regulada pelas condições da estocagem (tempo, temperatura e técnica de

embalagem). O nível mínimo de percepção odorífera de alguns voláteis de enxofre aparece na tabela 64.

TABELA 64 - Valor "threshold" dos voláteis de enxofre.

Threshold (ppb)	H ₂ S ¹	CH ₃ SH ²	CH ₃ S ³	CH ₃ -S-S-CH ₃ ⁴	CH ₃ -S-S-S-CH ₃ ⁵
compostos puros	40,0	0,5	0,50	12,0	1,01
em carne de peixe	150,0	120,0	20,0		

^{1, 2} - Fazzalari, 1978;

³ - Herbert e Shewan, 1977;

^{4,5} - Buttery et al., 1976.

A concentração de compostos de enxofre que se forma na carne ou na atmosfera da embalagem, no período de vida útil dos produtos, não envolve riscos à saúde, embora estes compostos possam estar envolvidos em casos fatais ocorridos em barcos de captura de peixes para farinha.

Na indústria da farinha de anchoveta, os peixes são armazenados a granel nos porões dos barcos anchoveteiros, sem refrigeração e em climas quentes (Norte do Chile, Sul do Peru). O maltrato físico deste sistema acelera a disseminação dos microrganismos do trato digestivo, produzindo, em curto tempo, substâncias gasosas (CO₂, H₂S, NH₃, CO, etc.) que se acumulam nos porões. A entrada do pessoal para descarga ou limpeza tem causado vários episódios de asfixia, alguns dos quais têm sido mortais (Reposi, 1967). Acredita-se que o H₂S tenha sido o maior agente tóxico, porém pouco tem sido pesquisado sobre o envolvimento de outros compostos de enxofre.

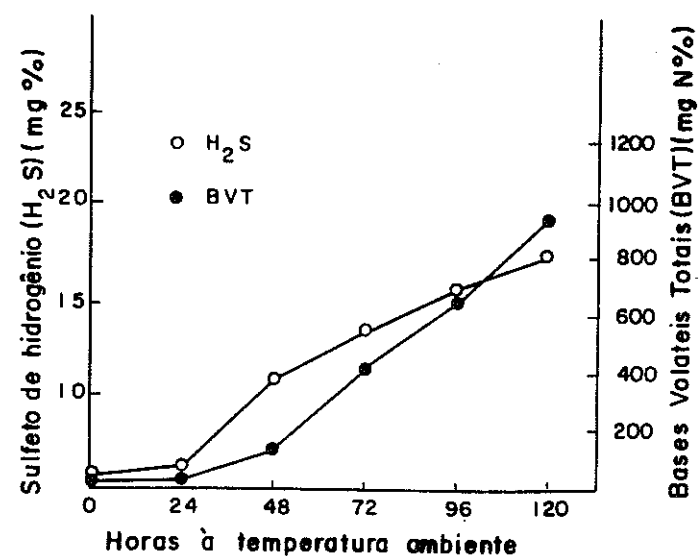
A figura 76 mostra os teores de H₂S e de nitrogênio volátil em um teste, simulando as condições dos porões com peixes para farinha.

Da figura, constata-se que o H₂S é produzido vigorosamente, superando, no primeiro dia, o nível permissível de H₂S (20 ppm) (Reposi, 1967).

No krill antártico, os compostos do enxofre podem vir de dimetilproteína do fitoplâncton que, no trato digestivo dos crustáceos,

se torna sulfeto de metilo. Pesquisas de Yamawashi (1980) relatam teores entre 30 e 53 mg/g de sulfeto de metilo na cauda entre 90 e 3700 mg/g no cefalotórax.

FIGURA 76 - Geração de substâncias nitrogenadas voláteis (BVT) e sulfeto de hidrogênio (H₂S) em um ensaio simulando as condições de armazenagem de anchoveta destinada à farinha.



Fonte : Reposi (1967)

Pesquisas recentes aventam a possibilidade de que os odores podres não sejam originados das mercaptanas (CH₃SH) ou do sulfeto de hidrogênio (H₂S), mas de compostos oxidados como o dimetildissulfeto (CH₃-S-S-CH₃) e dimetiltrissulfeto (CH₃-S-S-S-CH₃) formados às custas dos compostos reduzidos. Lindsay et al. (1987) encontraram teores altos de CH₃SH e H₂S em peixes embalados em atmosfera de CO₂ que não apresentavam cheiros podres, enquanto que, nos peixes embalados com ar, o odor era inaceitável, sem que os teores de CH₃SH e H₂S fossem muito diferentes. Porém, os últimos

apresentavam, também, $\text{CH}_3\text{-S-S-CH}_3$ e $\text{CH}_3\text{-S-S-S-CH}_3$ em níveis de 2.000 ppb contra 110 ppb das amostras embaladas com CO_2 . Os autores opinam que a atmosfera de CO_2 modifica a flora aeróbica de *Pseudomonas* e *Alteromonas*, favorecendo a flora anaeróbica de *Lactobacillus* que, na falta de carboidratos, utiliza aminoácidos, com formação de CH_3SH e H_2S , que são compostos reduzidos. A síntese de compostos de odor podre (oxidados), nos peixes embalados em atmosfera de CO_2 , estaria limitada pela falta de oxigênio.

1.6 - Duração dos peixes de clima tropical

Lima dos Santos (1981), na sua ampla revisão sobre a duração dos peixes tropicais armazenados em gelo, conclui que as informações disponíveis não permitem afirmar que os peixes tropicais possuam uma vida útil maior que os de água fria; idéia que tinha sido levantada por Disney et al. (1974), Shewan (1977), Nair e Dani (1975) e outros.

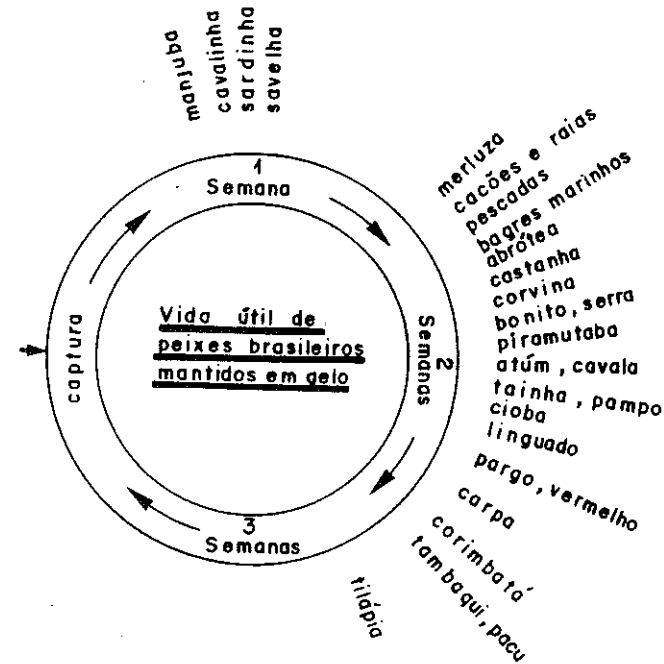
A causa para a duração maior, segundo estes autores, se explicaria pela microflora das espécies tropicais: mesofílica ou mesotrófica contra uma flora psicrófila ou psicrotrófica própria de espécies de "habitat" frio. A aplicação de gelo, então, deprimiria com maior intensidade o crescimento das bactérias mesofílicas.

No Brasil, são comercializadas espécies marinhas tropicais (pargo, vermelho, cavala, atum, sororoca, tubarões, etc.) e também, espécies de "habitat" temperado (merluza, corvina, castanha, abrótea, pescadas, congro, cações, etc.). Além desses grupos, temos os peixes de água doce autóctones (piramutaba, pacu, tambaqui, mandi, pintado, pirarucu, etc.), a grande maioria habitando em águas relativamente quentes ($25\text{-}35^\circ\text{C}$); condições que também prevalecem para as espécies alóctones (tilápia, carpa, bagre-africano, etc.). Neste universo de espécies, existe mesmo alguma diferença no tempo de conservação em gelo?

As avaliações das mudanças do frescor através de TMA, BVT, H_2S e outros testes químicos feitos no decorrer do capítulo 11, ligados a auscultação da opinião de pessoas ligadas ao comércio de pescados e a nossa própria experiência nos cursos de graduação e pós-graduação em tecnologia de pescados indicam que há espécies de vida

útil curta, de vida média e de vida longa. As causas principais para este comportamento foram resumidas no esquema inicial do Capítulo 11, embora possam existir outras de caráter mais específico, como a presença de antibacterianos na pele ou no músculo ou diferenças qualitativas na microflora da superfície (Lima dos Santos, 1981).

A figura 77 pretende dar uma idéia da duração das espécies comumente comercializadas no Brasil. Trata-se apenas de um registro do comportamento geral, pois os critérios utilizados para montagem dos testes e para o julgamento do frescor, nas informações recolhidas, foram, como não podiam deixar de ser, muito heterogêneos.



Fonte: Lima dos Santos (1981), FEA-UNICAMP e dados esparsos em trabalhos brasileiros.

FIGURA 77 - Duração aproximada de peixes brasileiros, marinhos e de água doce, conservados em gelo. A vida útil foi avaliada por testes sensoriais, químicos e ocasionalmente microbiológicos.

Da figura é possível visualizar os fatos seguintes:

- a) Os peixes pequenos duram menos tempo, em torno de uma semana;
- b) A maioria das espécies dura entre uma e duas semanas. Incluem-se nesta faixa os peixes cartilagosos;
- c) Os peixes de corpo comprimido lateralmente como o pargo, cioba, vermelho e linguado têm uma vida útil maior, excedendo duas semanas;
- d) Os peixes de água doce, particularmente os de formato achatado e pele firme e escamosa duram mais tempo que os peixes marinhos, atingindo, em alguns casos, quase três semanas.

11.7 - Referências Bibliográficas

- ABABOUC, L. Envenenamiento de alimentos por histamina: Revisión actualizada. *Fish. Tech. News* **11(1)**:3-5 (1991).
- ALVES DE ARAÚJO, G. Qualidade da Sardinha (*Sardinella brasiliensis*) enlatada a partir de matéria-prima congelada. Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1985).
- AMANAJÁS, C.C. Determinação dos compostos básicos totais do pescado e o seu potencial para avaliação do frescor. Tese de mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1985).
- AMANO, K. e YAMADA, K. Formaldehyde formation from TMAO by the action of pyloric caeca of cod. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **30(8)**:639-45 (1964).
- AMANO, K., YAMADA, K. e BITO, M. Content of formaldehyde and volatile amines in different tissues of gadoid fish. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **29(9)**:860-4 (1963).
- AMU, L. e DISNEY, J.G. Quality changes in West Africa marine fish during iced spoilage. *Trop. Sci.* **15(2)**:125-38 (1973).

- ANDERSON, D.W. e FELLERS, C.R. The occurrence of trimethylamine and trimethylamine oxide in freshwater fish. *Fish. Res.* **17**:472 (1952).
- ANTONACOPOULOS, N. Métodos sensoriales y químicos de reconocimiento. In: Ludorf, W. e Meyer, V. *El pescado y los productos de la pesca.* trad. J.E. Escobar, 2a. ed., Zaragoza, Editorial Arancibia, pp.231-75 (1973).
- ARNOULD, S.H. e BROWN, W.D. Histamine toxicity from fish products. *Ad. Food. Research* **24**:113-54 (1978).
- ASENJO, C.I. Evaluación de la frescura en la merluza empleando los métodos del panel organoléptico, la trimetilamina y el recuento bacteriano. Tesis para ingeniero de ejecución en pesca, Univ. Católica de Valparaiso, Chile (1971).
- BAILEY, M.E., FRIEGER, E.A. e NOVAK, A.F. Objective tests applicable to quality studies on iced stored shrimp. *Food Res.* **21**:611-20 (1956).
- BANNERJEE, D. Oxidative metabolism of non protein nitrogen by fish spoilage bacteria and their physiology of psychrotrophic growth during storage of fish (English Sole). PhD. Dissertation, Univ. of Washington, Seattle, Wash. (1967).
- BARHOUMI, M., ABDOULAYE, F.A., TETSCHER, R., LIMA DOS SANTOS, C.A. e YINKE, E. Storage characteristics of sardine (*Sardinella pilchardus*) held in ice and chilled seawater. International Institute of Refrigeration, Boston, USA (1981).
- BEATTY, S.A. Studies on fish spoilage. II. The origin of trimethylamine produced during spoilage of cod muscle press juice. *J. Fish Res. Bd. Can.* **4**:63-8 (1938).
- BEATTY, S.A. e GIBBONS, N.E. The measurement of spoilage in fish. *J. Biol. Bd. Can.* **3**:77-91 (1937).
- BEAVEN, M.A. Histamine, its role in physiological and pathological processes. *Monogr. Allergy* **13**:1-5 (1978).
- BEHLING, A.R. e TAYLOR, S.L. Bacterial histamine production as a function of time and temperature and trime of incubation. *J. Fd. Sci.* **47**:1311-7 (1982).
- BERAQUET, N.J., LINDO, M.K.M. e VIEIRA, C.M. Métodos químicos na avaliação de qualidade de sardinha (*Sardinella brasiliensis*) fresca e processada termicamente. Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). **15**:141-70 (1985).

- BIEGANKI, T., KUSCHE, J., LORENTZ, N., HESTERBERG, R., STAHLKNECHT, C.D. e FEUSSNER, K.D. Distribution and properties of human intestinal diamine oxidase and its relevance for the histamine catabolism. *Biochem. Biophys. Acta* **756**:196-203 (1983).
- BILLON, J., OLLIEUZ, N. e TAO, S.H. Étude d'une nouvelle méthode de dosage de l'azote basique volatil total (ABVT) pour l'évaluation qualitative des produits de la pêche. *Revue technique Vétérinaire de l'alimentation* **18(149)**:13-7 (1979).
- BRAMSTEDT, F. The spoilage of freshwater fish. In: *Fish a food*, Vol.1, Ed. G. Borgstrom, Academic Press, New York, pp. 613-38 (1961).
- BRITTO DE CASTRO, A.L. Lavagem de trimetilamina (TMA) pela água de fusão do gelo utilizado na conservação do camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). *Boletim do Instituto da Pesca* **4(2)**:29-36 (1975).
- BRITTO DE CASTRO, A.L., SANTOS, D.S., RIBEIRO, S. e TENUTA, F.A. Contribuição ao estado eo controle de qualidade no camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). *Bol. Inst. Pesca, São Paulo*, **2(1)**:1-18 (1973).
- BRYAN, F.L. Seafood transmitted infections and intoxications in recent years. In: *Seafood quality determination*. Ed. D.E. Kramer and J. Liston. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 319-37 (1987).
- BURGESS, G.H.O., CUTTING, C.L., LOVERN, J.A. e WATERMAN, J.S. Ed. *Fish Handling and Processing P.* (1965).
- BURT, J.R., GIBSON, D.M., JASON, A.C. e SANDERS, H.R. Comparison of methods of freshness assesment on wet fish. II. Instrumental and chemical assesment of boxed experimental fish. *J. Fd. Technol.* **11**:73-89 (1976).
- BURT, J.R., GIBSON, D.M., JASON, A.C. e SANDERS, H.R. Comparison of methods of freshness assesment on wet fish. III. Laboratory assesment of comercial fish. *J. Fd. Technol.* **11**:117-28 (1976).
- BUTTERY, R.G., GUADAGNI, D.G., LING, L.C., SEIFERT, R.M. e LIPTON, W. Additional volatil components of cabbage, boccoli and cauliflower. *J. Agric. Food. Chem.* **24(4)**:829-32 (1976).
- CALABRESE, R.H. Variación de la frecura de la merluza mediante determinación de la trimetilamina y la tirosina. 2o. Congreso

- Bonaerense de Promoción Pesquera, Necochea, Buenos Aires, Argentina (1965).
- CANADA Fisheries and Oceans Canada. Fish Inspection Branch. Proposed Official Method Number 28 Histamine-Like Substances, 5 pp. (1979).
- CASTELL, C.H. The several chracteristics of trimethylamine and its effects on the sea fish spoilage. *Food in Canada* **9**:44 (1949).
- CASTELL, C.H. e GREENOUGH, M.F. The action of *Pseudomonas* on fish muscle. I. Organisms responsble for odors produced during incipient spoilage of chilled fish muscle. *J. Fish Res. Bd. Can.* **30**:1246-8 (1973).
- CASTELL, C.H., NEAL, W.E. e DALE, J. Comparison of changes in trimethylamine, dimethylamine and extractable protein in iced and frozen fillets. *J. Fish Res. Bd. Can.* **30**:1246-8 (1973).
- CASTELL, C.H., NEAL, W.E. e SMITH, B. Formation of dimethylamine in stored frozen sea fish. *J. Fish Res. Bd. Can.* **27(10)**:1685-90 (1970).
- CASTELL, C.H., RICHARDS, J.F. e WILLMOT, I. *Pseudomonas putrefaciens* from cod fillets. *J. Fish Res. Bd. Can.* **7**:430-1 (1949).
- CASTELL, C.H., SMITH, B. e DYER, W.J. Simultaneous measurements of trimethylamine and dimethylamine in fish and their use for estimating quality of frozen stored gadoid fishes. *J. Fish Res. Bd. Can.* **31(4)**:383-9 (1974).
- CHEFURKA, W. Intermediary metabolism of nitrogenous and lipid compounds in insects. In: *The physiology of insecta*. Ed. M. Rockstein, vol.2, p. 670, Academic Press, New York (1965).
- CHU, C.H. e BJELDANES, L.F. Effect of diamines, polyamines and tuna fish extracts on the binding of histamina to mucin in vitro. *J. Fd. Sci.* **47**:79-80, 88 (1981).
- COBB III, B.F., ALANITZ, I. e THOMSON Jr., C.A. Biochemical and microbial studies on shrimp: volatile nitrogen and amino nitrogen analysis. *J. Fd. Sci.* **38**:431-6 (1973).
- COBB III, B.F., VANDERZANT, C. e HYDER, K. Effect of ice storage upon free aminoacids content of tails of white shrimp. *J. Agric. Food Chem.* **22(6)**:1052 (1974).
- COBB III, B.F., VANDERZANT, C., HANNA, M.O. e YEH, C.S. Effect of ice storage on microbiological and chemical changes en shrimp in melting ice in a model system. *J. Fd. Sci.* **41**:24-9 (1976).

- COLLINS, J., SEAGRAM, H. e IVERSON, J. Processing and quality studies of shrimp held in refrigerated sea water and ice. Part 2: Comparison of objective methods for quality evaluation of raw shrimp. *Comm. Fish Rev.* **22(4)**:1 (1960).
- CONNELL, J.J. Control of quality. In: *Methods of assessing and selecting for quality*. Fishing News Books Ltd. Farnham, Surrey, England, pp.107-32 (1975).
- CONNELL, J.J., HOWGATE, P.F., MACKIE, I.M., SANDERS, H.R. e SMITH, G.L. Comparison of methods of freshness assesment of wet fish IV. *J. Fd. Technol.* **11**:297-308 (1976).
- CONNELL, J.J., SHEWAN, J.M. Sensory and non sensory assesment of fish. In: *Advances in fish science and technology*. Ed. J.J. Connell, Fishing News Books Ltd., England, pp.56-64 (1980).
- CONWAY, E.J. e BYRNE, A. An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. I. The micro-determination of ammonia. *The Biochem. Journal* **27**:419-29 (1933).
- CRAIG, J.C., DWYER, F.P., GLAZER, A.N. e HORNING, E.C. Tertiary amine oxide rearrangements. I. Mechanisms. *J. Am. Chem. Soc.* **83**:1871-8 (1961).
- CRAWFORD, D.L., LAW, D.K., BABBIT, J.K. e MC GILL, L.A. Comparative stability and desirability of frozen pacific hake fillet and minced flesh blocks. *J. Fd. Sci.* **44(2)**:363-7 (1979).
- CRUICKSHANK, J. e WILLIAMS, H.R. Scombrotoxic fish poisonig. *British Medical J.* **2(6139)**:739-40 (1978).
- DANIDA (Agencia Danesa para el Desarrollo Internacional). El pescado fresco, su calidad y cambios de la calidad. Manual para participantes de los cursos de formación tecnológica organizados por la FAO en colaboración con DANIDA, pp.69-70 (1983).
- DAVIS, H.K. Some effects on modified atmosphere packaging gases on fish and chemical tests for spoilage. In: *Chilling and freezing of new fish products*. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France, pp.201-7 (1990).
- DINGLE, J.R., KEITH, R.A. e LALL, B. Protein instability in frozen storage induced in minced muscle of flatfishes by mixture with muscle of red-hake. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* **10**:143-6 (1977).
- DISNEY, J.G., COLE, R.C. and JONES, N.R. Considerations in the use of tropical fish species. In: *Fishery products*. pp.329-37. Ed.

- Kreuzer, R. Surrey: Fishing News Books (1974).
- DOUGLAS, W. Histamine and antihistamines: 5-hidroxy triptamine and antagonists. In: *The pharmacological basis of therapeutics*. Ed. Goodman and Gilman, Mac Millan Ed., New York, pp.621-2 (1970).
- DRAETTA DOS SANTOS, I., BALDIN, S.V.L., IADEROZA, M. e LEITÃO DE FREITAS, M.F. Alterações bioquímicas e microbiológicas do camarão-sete-barbas (*Xyphopeneaeus kroyeri*) durante a estocagem em gelo. *Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL)* **23(2)**:203-19 (1986).
- DUSSAULT, H.P. TMA test for evaluating the quality of the rosefish filets. *Fish Rs. Bd. Can. Progress Report, Atlantic Coast Station* 67 (1957).
- DYER, J.W. Amines in fish muscle. I: Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate salt. *J. Fish Res. Bd. Can.* **6**:351-8 (1945).
- DYER, J.W. e MOUNSEY, Y.A. Amines in fish muscle. II: Development of trimethylamine and other amines. *J. Fish Res. Bd. Can.* **6(5)**:359-67 (1945).
- EASTER, M.C. Trimethylamine N-oxide reductase by *Alteromonas* spp. Thesis Robert Gordon Institute of Technology, Aberdeen, Scotland (1982).
- EASTER, M.C., GIBSON, D.M. e WARD, F.B. The induction and location of trimethylamine N-oxide reductase in *Alteromonas* spp. NCMB 400. *J. Gen. Microbiol.* **129**:3689-96 (1983).
- EHIRA, S. e UCHIYAMA, H. Determination of fish freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. In: *Seafood quality determination*. Ed. D.E. Kramer and J. Liston, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.185-207 (1987).
- EITENMILLER, R.R., ORR, J.H. e WALLIS, W.W. Histamina formation in fish. Microbiological and biochemical conditions. In: *Chemistry and biochemistry of marine food products*. Ed. R.E. Martin, G.F. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. Avi Publishing Company, Westport, Conn., USA, pp.39-49 (1982).
- FARBER, L. Freshness tests. In: *Fish as food*. vol. IV Ed. G. Borgstrom Academic Press Inc., New York, USA, pp.65-126 (1965).
- FARN, G. e SIMS, G.G. Chemical indexes of descomposition in tuna.

- In: Seafood quality determination. Ed. D.E. Kramer and J. Liston. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.175-83 (1987).
- FAZZALARI, F.A. Compilation of odor and taste threshold value data. American Society for Testing Materials, Philadelphia, PA, USA (1978).
- FERENCICK, M. Formation of histamine during bacterial decarboxylation in the flesh of some marine fish. *J. Hyg. Epidemiol. Immunol.* **14**:52-60 (1970).
- FERNÁNDEZ-SALGUERO, J. e MACKIE, I.M. Histidine metabolism in mackerel (*Scomber scombrus*). Studies on histidine decarboxylase activity and histamine formation during storage of flesh and liver under sterile and non sterile conditions. *J. Food Technol.* **14**:131-9 (1979).
- FIEGER, E.A. e FRILLOUX, J.J. A comparison of objective tests for quality of Gulf Stream shrimp. *Food Technol.* **8**:35-7 (1974).
- FIELDS, M. e RICHMOND, B. Food quality as determined by metabolic by product of microorganisms. *Ad. Food. Res.* **16**:161-229 (1968).
- FINNE, G. Enzymatic ammonia production in penaeid shrimp held in ice. In: Chemistry and biochemistry of marine food products. Ed. R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. Avi Publishing Company, Westport, Conn., USA, pp.323-31 (1982).
- FLORES, C.S. e CRAWFORD, L.D. Post mortem quality changes in iced pacific shrimp (*Pandalus jordani*). *J. Fd. Sci.* **38**:575-9 (1973).
- FORSTER, R.J. Parâmetros químicos e sensoriais para identificação da espécie biológica utilizada na elaboração de enlatados de atum e bonito. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1988).
- FRANK, H.A., YOSHINAWA, D.H. e NIP, W.K. Histamine formation and honey combing during decomposition of skipjack tuna (*K. pelamis*) at elevated temperatures. *Mar. Fish Rev.* **43(10)**:9-14 (1981).
- GAGNON, M. e FELLERS, C.R. Biochemical methods for determining shrimp quality. *Food Technol.* **12**:340 (1957).
- GALLARDO, J.M., PEREZ MARTIN, R.I., FRANCO, J.M., AUBURG, S. e SOTELO, C.G. Changes in volatile bases and trimethylamine oxide during canning of albacore (*Tunnus alalunga*). *Int. J. of Food Sci. and Technol.* **25**:78-81 (1990).
- GALLEGILLOS, M. e ROMO, D. Un parámetro de calidad para harina

- de pescado: score biotóxico. Resúmenes V International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Santiago de Chile, p.60 (1992).
- GEIGER, E.G. Histamina content of unprocessed and canned fish. A tentative method for quantitative determination of spoilage. *Food Res.* **9**:293-7 (1944).
- GILL, C.O. e PENNEY, N. Penetration of bacteria into meat. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**:1284-6 (1977).
- GILESPIE, N.C. e MACRAE, I. The bacterial flora of some Queensland fish and its ability to cause spoilage. *J. Appl. Bact.* **39**:91-100 (1975).
- GOPAL, S.T.K., NAMBIAR, V.N. e BHATTACHARYYA, S.K. Modified atmosphere storage of freshwater fish fillets (*Catla catla*). In: Chilling and freezing of new fish products. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France, p.173-7 (1990).
- GOULD, E. e PETERS, J.A. On testing the freshness of frozen fish. Fishing News Ltd., London, England (1971).
- GRANERUS, G. Effects of oral histamine, histidine, and diet on the urinary excretion of histamine, 4-methylhistamine and 1-methyl-4 imidazoleacetic acid in man. *Scand. J. Lab. Clin. Invest.* **22(Suppl. 104)**:49-58 (1968).
- HADDOCK, B.A. e JONES, C.W. Bacterial respiration. *Bacteriol. Rev.* **41**:47-99 (1977).
- HARADA, K. Studies on enzyme catalysing the formation of formaldehyde and dimethylamine in tissues of fish and shellfish. *J. Shimonoseki Univ. Fish.* **23(3)**:163-241 (1975).
- HEBARD, C.E., FLICK, G.J. e MARTIN, E.R. Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. In: Chemistry and biochemistry of marine food products. Ed. R.E. Martin, G. J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. The Avi Publishing Company, Westport, Conn., USA, pp.149-304 (1982).
- HERBERT, R.A. Microbial ecology of fish spoilage. *Process. Biochem.* **10(10)**:9-11 (1975).
- HERBERT, R.A., HENDRIE, M.S., GIBSON, D.M. e SHEWAN, J.M. Bacteria active in the spoilage of certain sea foods. *J. Appl. Bacteriol.* **34**:41-50 (1971).
- HERBERT, R.A. e SHEWAN, J.M. Precursors of the volatile sulfides in spoiling north sea cod (*Gadus morhua*). *J. Sci. Food Agric.*

- 26:1195-1202 (1975).
- HILLIG, F. Individual volatile acids, succinic acid and histamine as indices of decomposition of atlantic little tuna (*Euthynnus alleteratus*). J. Ass. Off. Agric. Chem. **37**:927-31 (1954).
- HILLIG, F. Volatile acids, succinic acid and histamine as indices of decomposition of tuna. J. Ass. Off. Agric. Chem. **39**:773-800 (1956).
- HOOGLAND, P.L. Grading fish for quality. 2: Statistical analysis of the results of experiments regarding grades and trimethylamine values. J. Fish Res. Bd. Can. **15**(4):717-28 (1958).
- HUSS, H.H., TROLLE, G. e GRAM, L. New rapid method in microbiological evaluation of fish quality. In: Seafood quality determination. Ed. D.E. Kramer and J. Liston. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.291-308 (1987).
- IKEDA, S. Other organic components and inorganic components. In: Advances in fish science and technology. Ed. J.J. Connell and the Staff of Torry Research Station, Scotland. Fishing News Book, England, pp.111-24 (1980).
- INESTEIA, C. Significance and detection of histamine in foods. In: The microbial safety of food. Academic Press, New York, USA (1973).
- ISHIMOTO, M. e SHIMOKAWA, O. Reduction of trimethylamine N-oxide by *Escherichia coli* as anaerobic respiration. Z. Allg. Mikrobiol. **18**(3):171-3 (1978).
- ITO, Y., SANCHEZ, L. e DA SILVA, R.D. Seasonal variations on the chemical composition of sardine. Contribuições do Inst. Oceanográfico da Univ. de São Paulo **6**:1-8 (1969).
- JAHNS, F.D., HOWE, J.L., CODURI, R.J. e RAND Jr., A.G. A rapid visual test to assess fish freshness. Food Technol. **30**:27-30 (1976).
- JAHNS, F.D. e RAND, A.G. Enzyme methods to assess marine good quality. In: Enzymes in food and beverage processing. Ed. R.L. Ory and A.J. St. Angelo. ACS Symp. Ser. no. 40, Avi Publishing Company, Westport, Conn., USA (1977).
- JEBSEN, A. e SKOVGAARD, N. Læredmiddelmikrobiologi og hygiejne. 3^{er} Ed. Mortensen, Copenhagen, 363pp. (1975).
- JONES, N.R. Fish flavors. In: The chemistry and physiology of flavors. The Avi Publishing Company Inc., Westport, Conn. USA, 267pp. (1967).
- JOSEPHSON, D.B., LINDSAY, R.C. e OLAFSDOTTIR, G. Measure-

- ment of volatile aroma constituents as means of following sensory deterioration of fresh fish and fishery products. Ed. D.E. Kramer and J. Liston. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.27-47 (1987).
- KAMIYA, A. e OSE, Y. Studie of the odorous compounds produced by putrefaction of foods: fatty acids, sulfur compounds and amines. J. Chromatog. **292**:383-7 (1984).
- KARMAS, E. e MIETZ, J.L. Poliamines and histamine content of tuna fish and the relationship to decomposition. Lebensmittel Wiss Technol. **11**:333-7 (1978).
- KAWABATA, T. Studies on the TMAO reductase. I: Reduction of TMAO in the dark muscle of pelagic migratory fish under aseptic conditions. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **19**:505-12 (1953).
- KIM, I.S. e BJELDANES, L.F. Amine content of toxic and wholesome canned tuna fish. J. Food Sci. **44**:922-3 (1979).
- KIMATA, M. The histamine problem. In: Fish as food. Ed. G. Borgstrom, Academic Press, New York, Vol. I, pp.329-52 (1961).
- KJOSBAKKEN, J. e LARSEN, H. Bacterell decomponering ar fish; Bulk. 1. Isoslasjon vanaeobe amoniak producerende bakteria. Trondheim, Norway Inst. of Tech. Biochemistry, NTH, Univ. of Trondheim, 28pp. (1974).
- KLAUSEN, N.K. e HUSS, H.H. Growth and histamine production by *Morganella morganii* under various temperature condition. Int. J. Food. Microbiol. **5**:147-56 (1987).
- KUAYE, A.Y. Comparação de métodos para determinação das bases nitrogenadas voláteis (BNV) em pescado: parâmetros críticos e modificações. Tese de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. Brasil (1982).
- LEE, J.S. e HARRISON, M.J. Microbial flora of pacific hake (*Merluccius product*). Appl. Microbiol. **16**(12):1937-8 (1968).
- LEE, J.S., LEE, E.L. e LEE, Y.H. Investigation on the flow-sheet for processing canned fish. Rep. Food Ind. Res. Develop. Inst. Taiwan **361** (1984).
- LEITÃO DE FREITAS, M.F., GERALDINI, A.M., DRAETTA DOS SANTOS, I. e KAI, M. Transformações químicas e microbiológicas e avaliação da microflora urease-positiva em cação armazenado sob refrigeração. Coletânea do Instituto de Tecnologia de

- Alimentos (ITAL) **10**:15-31 (1979), Campinas, SP, Brasil.
- LERKE, P.A., ADAMS, R. e FARBER, L. Bacteriology of spoilage of fish muscle. III: Characterization of spoilers. *Appl. Microbiol.* **13**(4):625-30 (1965).
- LERKE, P.A. e BELL, L.D. A rapid fluorometric method for the determination of histamine in canned tuna. *J. Food Sci.* **41**:1282-4 (1976).
- LERKE, P.A., WERNER, S.B., TAYLOR, S.L. e GUTHERTZ, L.S. Scombroid poisoning: report of an outbreak. *West. J. Med.* **129**:381-6 (1978).
- LEVIN, R.E. Detection and incidence of specific species of spoilage bacteria in fish. *Appl. Microbiol.* **16**(1):1734-7 (1968).
- LIMA DOS SANTOS, C.A. The storage of tropical fish in ice. A review. *Trop. Sci.* **23**(2):98-127, 1981.
- LINDSAY, R.C., JOSEPHSON, D.B. e OLAFSDOTTIR, G. Chemical and biochemical indexes for assessing the quality of fish packaged in controlled atmospheres. In: *Seafood quality determination*. Ed. D.E. Kramer and J. Liston, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.221-34 (1987).
- LISTON, J. Microbiology in fishery science. In: *Advances in fish science and technology*. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, Fishing News Books Ltd., England, pp.138-57 (1980).
- LISTON, J. Recent advances in the chemistry of iced fish spoilage. In: *Chemistry and biochemistry of marine fish products*. Ed. R.E. Martin, G. J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. Avi Publishing Company, Westport, Conn., USA, pp.27-37 (1982).
- LOPES MARTINS, A.N. Determinação quantitativa de histamina em atum, bonito e cavalinha enlatados por fluorimetria. Tese de Mestrado. Fac. Veterinária, Univ. Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil (1986).
- LOVERN, J.A. The complex background to the sensory quality of meat and fish. *Nutrition Soc. Proc.* **29**(2):348 (1970).
- LUNDSTROM, C.R., CORREIA, F.F. e WILHELM, A.K. Dimethylamine and formaldehyde production in fresh red-hake (*Urophycis chuss*). The effect of packaging material, oxygen permeability and cellular damage. *J. Food. Biochem.* **6**:228-41 (1982).
- MACKIE, I.M. e THOMSON, B.W. Decomposition of trimethylamine

- oxide during iced and frozen storage of whole and comminuted tissue fish. *Proc. Int. Congr. Food Sci. and Technol.* **4**(1):243-50 (1974).
- MAIA, E.L. Composição, conservação e utilização do curimatá (*Prochilodus scrofa*: S., 1881). Tese de Mestrado. Fac. Engenharia Alimentos e Agrícola, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1980).
- MARTIN, E.R., GRAY, J.H.R. e PIERSON, D.M. Quality assessment of fish and of the natural occurring microflora. *Food Technol.* May:892-902 (1978).
- MARUYAMA, F.I. Identification of dimethyl trissulphide as a major compound of cooked brassicaceous vegetables. *J. Food Sci.* **35**(5):540-3 (1970).
- MATTHEWS, A.D., PARK, G.R. e ANDERSON, E.M. Evidence for the formation of covalent cross-linked myosin in frozen stored cod minces. In: *Advances in fish science and technology*. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, Fishing News Books Ltd., England, pp.438-44 (1980).
- MENDES, M.H.M. Evolução das bases voláteis totais e da trimetilamina em pescados e o seu uso como indicador de qualidade. Tese de Mestrado. Fac. Ciências Farmacêuticas, Univ. de São Paulo, Brasil (1974).
- MENDONÇA, C.J. Desenvolvimento de um método para determinação de histamina em pescado processado. Tese de Mestrado. Fac. Engenharia de Alimentos, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1992).
- MERSON, M.H., BAINE, W.B., GANGAROSA, E.J. e SWANSON, R.C. Scombroid food poisoning: outbreak traced to commercially canned tuna fish. *J. Am. Med. Assoc.* **228**:1268-9 (1974).
- MILLER, R.A., SCANLAN, J.S., LEE, J.S. e LIBBEY, L.M. Volatile compounds produced in sterile fish muscle (*Sebastes melanops*) by *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas fluorescens* and an achromobacter specie. *Appl. Microbiol.* **26**:8-26 (1973).
- MOLTENO, C., CONTRERAS-GUZMÁN, E., REPOSI, J. e ALIAGA, H. Composición química del destilado de agua de cola y su utilización en calderas. Publicación no.18, Instituto de Fomento Pesquero, Santiago de Chile (1967).
- MONTGOMERY, W.A., SHIDHU, G.S. e VALE, G.L. The Australian

- prawn industry. I: Natural resources and quality aspects of the whole cooked fresh prawn and frozen prawn meat. C.S.I.R.O. Food Preserv. Quart. **30(2)**:21-7 (1970).
- MORAL, A., TEJADA, M. e BORDERIAS, A.J. Frozen storage behaviour of squid (*Loligo vulgaris*). Meeting of the International Institute of Refrigeration, Boston, USA (1981).
- MORGA, A.A. Avaliação do índice de frescor da pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*) conservada em gelo. Tese de Mestrado, Fac. Engenharia de Alimentos, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1975).
- NAIR, R.B. and DANI, N.P. Thechnology of utilization of freshwater fish. Proc. Symp. Fish Proc. Ind. in India Ed. Sharada Press, Mangalore, India p20-2 (1975).
- NETTO, F.M. Modificações químicas, bioquímicas e sensoriais do híbrido de tilápia estocado em gelo. Tese de Mestrado, Fac. de Engenharia de Alimentos e Agrícola, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil (1984).
- OGAWA, M., VIEIRA, H.G., BASTOS, J.R., NORONHA, C.M. e ALVES, M.M. Estudo sobre a conservação de cauda de Lagosta *Panulirus argus*, L. Arquivos de Ciências do Mar **10(2)**:159-63 (1970A)
- OGAWA, M., VIEIRA, H.G. e NORONHA, C.M. Ação da clorotetraciclina e da eritromicina na conservação de caudas da lagosta *Panulirus laeviscauda*, L. Arquivos de Ciências do Mar **10(2)**:165-9 (1970B).
- OKUZUMI, M., AWANO, M. e OKII, Y. Effects of temperature, pH value and NaCl concentration on histamine formation of N-group bacteria. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **50(10)**:1757-62 (1984).
- OKUZUMI, M., OKUDA, S. e AWANO, M. A new type of histamine forming bacteria. I: Isolation of psychrophillic and halophillic histamina forming bacteria from *Scomber japonicus*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **47**:1591-8 (1981).
- OKUZUMI, M., OKUDA, S. e AWANO, M. A new type of histamine forming bacteria. II: Occurence of psychrophillic and halophillic forming bacteria (N-group bacteria) on/in red meat fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **48(6)**:799-804 (1982).
- OLLEY, J. e BERANOWSKI, J. Temperature effects on histamine formation. In: Histamine in marine products: production by bacteria measurement and prediction of formation. FAO Fisheries Technical Paper **252**:pp.14-17 (1985).

- OREJAMA, F.M. et al. Histamine production in iced, smoked and dried frigate mackerel. J. Food. Sci. Technol. **7(2)**:30-8 (1983).
- OTA, F. e AJISAKA, N. Variation in free tirosine content of fish meat in the course of degree of its freshness. Mem. Fac. Fisheries Kagoshima Univ. **3(1)**:98-102 (1953).
- OUGH, C.S. Measurements of histamina in california wines. J. Agr. Food Chem. **19**:241 (1971).
- PAN, B.S., YANG, B.H. e HUANG, D.M. Histamina formation in canning of bonito and mackerel. Food Ind. Taiwan **14(2)**:48 (1982).
- PARKIN, L.K. e HULTON, O.H. A membrane fraction from red hake muscle catalysing conversion of TMAO to dimethylamine and formaldehyde. Meeting of the International Institute of Refrigeration, Boston, MA, USA (1981).
- PEARSON, D. Flesh foods: table jellies. In: The chemical analysis of foods. 7o. ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, pp.386 (1976).
- PEZOA, G.W., COSTA, R.N., SOARES, S.L., SALAS, M.M. e ROCHA, B.J. A influência das condições de manipulação, armazenamento e transporte de pescado nos barcos de pesca, sobre a qualidade da matéria-prima descarregada no porto de Rio Grande. Superintendência do Desenvolvimento da Pesca (SUDEPE) e Fundação Univ. de Rio Grande, RS, Brasil (1976).
- POULTER, R.G. Comparison of the biochemistry and bacteriology of tropical and temperate water fish during preservation and processing. Symp. on Harvest and Post-Harvest Technology of Fish, Cochín. Índia, November (1982).
- PUTRO, S. e SALEH, M. Effect of delaying icing: a) Skipjack tuna. In: Histamine in marine products, production by bacteria, measurement and prediction of formation. FAO Fisheries Technical Paper **252**:pp.30-3 (1985).
- REAY, G.A. The nitrogenous extratives of fish. Rep. of the Food Invest. Bd., Dept. of Scientific and Ind. Research, Great-Britain, pp.69-71 (1938).
- REAY, G.A. e SHEWAN, J.M. The spoilage of fish and its preservation by chilling. Ad. in Food Res. **11**:343-98 (1949).
- REGULY, J.C., MUNDSTOCK, A. e KOETZ, P.R. Avaliação qualitativa do pescado marinho de expressão industrial no sul do Brasil. Convênio SUDEPE-FEI da Fundação Univ. de Rio Grande, RS, Brasil

- (1971).
- REPOSI, J. Estudio preliminar sobre los gases tóxicos producidos durante la descomposición del pescado en la industria de harina. Publicación no. 38, Instituto de Fomento Pesquero, Santiago de Chile (1968).
- RIBEIRO, A.M. et al. Índices de frescura da sardinha (*Sardina pilchardus*). Inst. Nac. Invest. Indust. Lisboa 1:1-27 (1963).
- RINGØ, E., STEMBERG, E. e STRØM, A.R. Aminoacid and lactate catabolism en trimethylamine oxide respiration of *Alteromonas putrefaciens* NCMB 1735. Appl. Environ. Microbiol. 47(5):1804-89 (1984).
- RITCHIE, A.H. e MACKIE, I.M. The formation of diamines and poliamines during storage of mackerel (*Scomber scombrus*). In: Advances in fish science and technology. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Aberdeen, Scotland. Fishing News Books, England, pp.489-94 (1980).
- SAA, C.N., DONDERO, M. e TARKY, O.W. Desarrollo de histamina en jurel (*Trachurus murphy*) almacenado a temperatura ambiente y refrigeración. Alimentos (Chile) Vol. 7(1):5-8 (1982).
- SAINCLIVIER, M. L'évolution objective de l'état de fraîcheur. In: L'industrie alimentaire halieutique. Éd. Sciences Agronomiques, Rennes, France, pp.247-59 (1983).
- SAKAGUCHI, M., KAM, K. e KAWAI, A. Induced synthesis of membrane-bound C-type cytochrome and trimethylamine oxide reductase in *Escherichia coli*. In: Advances in fish science and technology. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, Fishing News Books Ltd., England, pp.472-6 (1980).
- SAKAGUCHI, M., MURATA, M. e KAWAI, A. Changes in free amino acids and creatina contents in yellowtail (*Seriola quinqueridata*) muscle during ice storage. J. Food Sci. 47:1662-6 (1982).
- SASAJIMA, M. Studies on psychotolerant bacteria in fish and shellfish. IV: Relation between the number of trimethylamine reducing psychrophilic bacteria and their activity at sub-zero temperatures. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 139(5):511-8 (1973).
- SCHAEFER, J. Sampling, characterization and analysis of malodours. Agric. Environ. 3:121-6 (1977).
- SEN-GUPTA, J., MONDAL, A. e MITRA, S.N. Separation, quantification

- and estimation of dimethylamine and trimethylamine in fish by paper chromatography. J. Inst. Chem. Calcutta 44(2):49-50 (1972).
- SHAW, B.G. e SHEWAN, J.M. Psychrophilic spoilage bacteria of fish. J. Appl. Bacteriol. 31:89-96 (1968).
- SHEWAN, J.M. The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: Recent advances in food science. Ed. J. Hawthorn and J.M. Leitch, Butterworth, London, pp.167-93 (1962).
- SHEWAN, J.M. The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial cation. In: Fish handling, processing and marketing of tropical fish. Tropical products institute, London, pp.51-66 (1977).
- SHEWAN, J.M. Trimethylamine formation in relation to the viable bacterial population in spoiling fish muscle. Nature 143:284 (1939).
- SHEWAN, J.M., HOBBS, G. e HODGKINS, W. The Pseudomonads and Achromobacter groups of bacteria in the spoilage of marine white fish with special reference to Pseudomonadaceae. J. Appl. Bacteriol. 23(3):379-90 (1960).
- SHEWAN, J.M. e JONES, N.R. Chemical changes occurring in cod muscle during chill storage and their possible use as objective indices of quality. J. Sci. Food. Agric. 8:491 (1957).
- SHEWAN, J.M. e MURRAY, C.K. The microbial spoilage of fish with special reference to the role of psychrophilics. In: Cold tolerant microbes in spoilage and the environment. Ed. A.D. Russel and R. Fuller. Academic Press, London, pp.117-36 (1979).
- SHENOUDA, S., MONTECLAVO, J., JHAVIERI, S. e CONSTANTINIDES, S.M. Technological studies on ocean pout, an unexploited fish specie for direct human consumption. J. Food Sci. 44:164-8 (1979).
- SIEBERT, G. Enzymes of marine fish muscle and their role in fish spoilage. In: Fish in nutrition. Ed. E. Heen and R. Kreuzer, Fishing News Books Ltd., London, pp.80-2 (1962).
- SIGURDSON, G.J. Comparison of chemical tests of the quality of fish. Anal. Chem. 19:892-902 (1947).
- SIMIDU, W. e HIBIKI, S. Studies on the putrefaction of aquatic products 12. On putrefaction of bloody muscle. Bull. Jpn. Soc.

- Sci. Fish **20(3)**:206 (1954).
- SISINI, A. Metabolism of D- and L-serine in marine invertebrates. Bull. Soc. Ital. Biol. Sper. **39**:1969 (1953).
- SJAASTAD, O. e SJAASTAD, O.V. Catabolism of orally administrated C¹⁴-histamine in man. Acta Pharmacol. Toxicol. **34**:33-45 (1974).
- SKOVGAARD, N. e ELLEMAN, G. Levendsmiddelbaren histaminforgiftning. Ugeskr. Laeg. **140**:313-6 (1978).
- SMITH, J.G.M., MC GILL, A.S., THOMSON, A.B. e HARDY, R. Preliminary investigation in the chill and frozen storage characteristics of scad (*Trachurus trachurus*) and its acceptability for human consumption. In: Advances in fish Science and Technology. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Aberdeen, Scotland. Fishing News Books Ltd., England, pp.303-7 (1980).
- SOMAATMADJA, P., POWER, J.J. e PRATT, D.E. Chemical methods for the determination of freshness of fish. J. Milk Food Technol. **24**:2 (1961).
- SPINELLI, J. Biochemical basis of fish freshness. Process. Biochem. **6(5)**:36-7 (1971).
- STEMBERG, E., STYVOLD, O.B. e STRØM, A.R. Trimethylamine oxide respiration in *Proteus* spp. strain NTCH153: electron transfer dependent phosphorylation and L-serine transport. J. Bacteriol. **141(1)**:22-8 (1982).
- STEVENSON, S. Stabilization of fish mince from gadoid species by pretreatment of the fish. In: Advances in fish Science and Technology, Ed. J.J. Connell and Staff of the Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, Fishing News Books Ltd., England, pp.226-31 (1980).
- SUDEPE: SUPERINTENDÊNCIA DO DESENVOLVIMENTO DA PESCA, Ministério da Agricultura: Portaria SUDEPE no. **11/84**, Brasília, Abril (1984), Brasil.
- SUYAMA, M. Formation of ammonia and trimethylamine in elasmobranch fish. J. Tokyo Univ. Fish Spec. Ed. III **3(1)**:1-152 (1960).
- SUYAMA, M. e SUZUKI, H. Nitrogenous constituents in the muscle extract of marine elasmobranchs. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **41(7)**:787-90 (1975).
- TAKAGI, M., LIDA, A., URAYAMA, H. e SOMA, S. On the formation of histamine during loss of freshness and putrefaction of various marine products. Bull. Fac. of Fish Hokkaido Univ. **20**:227-34

- (1969).
- TARR, H.L.A. The bacterial reduction of trimethylamine oxide to trimethylamine. J. Fish Res. Bd. Can. **4(5)**:
- TARR, H.L.A. e NEY, P.W. Effect of flesh acidity on bacterial number and trimethylamine in spoiling fish. Progress Report Pacific Coast Station. Fish Res. Bd. Can. **78**:11-3 (1949).
- TAYLOR, S.L. Histamina food poisoning toxicology and clinical aspects. CRC Critical Rev. in Toxicology **17**:91-117 (1986)
- TAYLOR, S.L., GUTHERTZ, L.S., LEATHERWOOD, M., TILLMAN, F. e LIEBER, E.R. Histamine production by food-borne bacterial species. J. Food Safety **1**:173-8 (1978).
- TAYLOR, S.L., HUI, J.Y. e LYON, D.E. Toxicology of scombroid poisoning. In: Seafoods Toxins. Ed. E.P. Ragelis. Am. Chem. Soc., Washington, pp.417-30 (1984).
- TAYLOR, S.L. e SUMNER, S.S. Determination of histamine, putrescina and cadaverina. In: Seaffod Quality Determination. Ed. D.E. Kramer and J. Liston, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 235-45 (1987).
- TOMIYAMA, T., COSTA, A.A. e STERN, J.A. A rapid vacuum distillation procedure for the determination of volatile acids and volatile bases in fish flesh. Food Technol. **10(12)**:614-7 (1956).
- TOMIYASU, Y. e ZENITANI, B. Spoilage of fish and its preservation by chemical agents. Ad. Food Res. **7**:41-82 (1957).
- TOKUNAGA, T. Biochemical and food scientific study of trimethylamine oxide and its related substances in marine fishes. Bull. Tokai Reg Fish Res. Lab. **101**:1-29 (1980).
- TOKUNAGA, T. Trimethylamine oxide and its decomposition in the bloody muscle of fish. I: Trimethylamine oxide, trimethylamine and dimethylamine in ordinary and bloody muscle. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **36(5)**:502-9 (1970A).
- TOKUNAGA, T. Trimethylamine oxide and its decomposition in the bloody muscle of fish. II: Formation of dimethylamine during storage. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **36(5)**:510-5 (1970B).
- UCHIYAMA, H., EHIRA, S., KOBAYASHI, H. e SHIMIZU, W. Significance in measuring volatile base and trimethylamine nitrogen and nucleotides in fish muscle as indices of freshness of fish. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish **36**:17 (1970).
- VAISEY, E.B. The non enzymatic reduction of trimethylamine oxide

- to trimethylamine and formaldehyde. *Can. J. Biochem. Physiol.* **34(6)**:1085-90 (1956).
- VAN SPREEKENS, J.A.K. Characterization of some fish and shrimp spoiling bacteria. *J. Microbiol. Serol.* **43**:283-303 (1977).
- VAN SPREEKENS, J.A.K. Histamine production by the psychrophilic flora. In: *Seafood Quality determination*. Ed. D.E. Kramer and J. Liston. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp.309-18 (1987).
- VARELA, G. e WOJECIECH, R. Sobre algunos procesos bioquímicos en la descomposición de la merluza (*Merluccius merluccius*). *Anales de Bromatología (Chile)* **8**:6-18 (1956).
- VELANKAR, N.K. e GOVINDAN, T.K. The free amino acid nitrogen as an index of quality in iced stored prawns. *Current Sci. (India)* **27**:451 (1958).
- VOIGT, M.N., EITENMILLER, R.R., KOEHLER, P.E. e HAMDY, M.K. Tiramine, histamine and triptamine content of cheese. *J. Milk Food Technol.* **37**:377 (1974).
- VYNCKE, W. Determination of amonia in dressed Thornback ray (*Raja clavata*, L.) as a quality test. *J. Food Technol.* **13**:37-44 (1978).
- WALLER, P.F. Spoilage and spoilage indicators in shark held in ice. *Food Technol. in Australia* **32(3)**:161-6 (1980).
- WATANABE, K. Spoilage of iced pescada fogueite (*Macrodon ancylodon*) from South Brazil fishing grounds. *Bol. Inst. Oceanográfico da Univ. de São Paulo, Brasil* **12(2)**:65-77 (1962).
- WATSON, D.W. Studies of fish spoilage. V: The role of trimethylamine oxide in the respiration of achromobacter. *J. Fish Res. Bd. Can.* **4(4)**:267-80 (1939).
- WETTERQVIST, H. Histamine metabolism and excretion. In: *Handbook of Experimental Pharmacology Vol. II* Ed. M. Rocha e Silva, Springer-Verlag, New York, pp.131-50 (1978).
- WONG, K. e GILL, T.A. Enzymatic determination of trimethylamine and its relationship to fish quality. *J. Food Sci.* **52(1)**:1-4 (1987).
- WOOD, E.J.F. Heterotrophic bacteria in marine environments in Eastern Australia. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* **4**:160-200 (1953).
- YAMADA, K. e AMANO, K. Studies on the biological formation of formadehyde and dimethylamine in fish and shellfish. V: On the enzymatic formation on the pyloric caeca of Alaska Pollack. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* (1965A).

- YAMADA, K. e AMANO, K. Studies on the biological formation to formaldehyde and dimethylamine in fish and shellfish. VII: Effect of methylene blue on the enzymatic formation of formaldehyde and dimethylamine from trimethylamine oxide. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* (1965B).
- YAMANAKA, H. Histamine content in the canned red meat fish. *Bull Jpn. Soc. Sci. Fish* **46**:905-7 (1980).
- YAMANAKA, H. Polyamines as potential indices for freshness and decomposition os saury pike (*Cololabts saira*) and scallop (*Patinopecten yessoensis*). In: *Chilling and Freezing of New Fish Products*. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, France, pp.153-9 (1990).
- YAMAMOTO, K. e ISHIMOTO, M. Anaerobic growth of Escherichia coli on formate by reduction of nitrate, fumarate and TMA-N-oxide. *Z. Allg. Mikrobiol.* **17(3)**:235-42 (1977).
- YEH, C.S., NCKELSON II, R. e FINNE, G. Amonia producing Enzymes in white shrimp tails. *J. Food Sci.* **43(5)**:1400-4 (1978).
- ZAMBONI, C.Q. Verificação da deterioração da sardinha (*Sardnella brasiliensis*) por microdifusão (Método de Conway). *Rev. Inst. Adolfo Lutz (Brasil)* **22/23**:73-6 (1963).

12 - Lipídios de peixes, crustáceos e moluscos

Com exceção do óleo de fígado de bacalhau e tubarão, que tiveram um papel importante no combate à carência de vitaminas A, D e E, os óleos da carne dos pescados foram considerados como um componente indesejável, associado ao odor de peixe rançoso, que depreciava a porção comestível. Esta avaliação pejorativa não atingia as proteínas de pescado, que sempre gozaram de um alto conceito entre os nutricionistas e o público em geral.

A revalorização dos óleos marinhos veio a ser consequência da campanha pela redução do colesterol dietário, que estimulou o consumo de óleos poliinsaturados de origem vegetal. Os poliinsaturados de origem marinha foram aceitos inicialmente com reticência, porém, após os anos 60, as evidências de que as populações, cuja alimentação era baseada em produtos marinhos, tinham menor incidência de doenças isquêmicas do coração, incentivaram as pesquisas a nível nutricional e clínico.

O benefício dos ácidos graxos ω_3 foi inquestionável quanto à depressão do colesterol, do nível de triglicerídios plasmáticos, diminuição dos ateromas e atenuação dos efeitos de processos imuno-inflamatórios (asma, artrite, psoríase, etc.).

A interpretação bioquímica destes fenômenos é ainda pouco conhecida, se bem que as pesquisas que se desenvolveram rapidamente, a partir do ano de 1980, estão conseguindo desvendar as inter-relações entre ácidos graxos essenciais de origem vegetal (ω_6) e ácidos poliinsaturados ω_3 , nos mecanismos de síntese de prostaglandinas e compostos próximos conhecidos como eicosenóides (Barlow, 1987).

As propriedades benéficas dos óleos marinhos têm conseguido mudar a imagem de produto adequado só para usos não-alimentares, entrando definitivamente na linha de produtos farmacêuticos na forma de cápsulas de óleos concentrados em ácidos

ω_3 e, de maneira experimental, na indústria de alimentos gordurosos, na forma de maioneses, cremes, óleos de saladas, iogurtes, salames e queijos (Barlow e Young, 1988).

Este novo enfoque nutricional justifica ainda mais o estudo dos lipídios das criaturas aquáticas, seja para formulações dietárias ou para auxiliar na solução dos diversos problemas tecnológicos que a presença de poliinsaturados de fontes marinhas origina.

As gorduras localizam-se em várias zonas do corpo dos peixes, apresentando algumas diferenças importantes na composição das classes de lipídios e de menor relevância nos ácidos graxos, como será detalhado no decorrer deste capítulo.

O esquema a seguir mostra os lugares preferenciais de armazenagem de gordura de peixes comerciais:

LUGARES DE ARMAZENAGEM DE GORDURA	Gônadas	(todas as espécies)
	Fígado	(linguado, bacalhau, cação, merluza)
	Tecidos Mesentéricos	(sardinha, manjuba, enchova)
	Pele (sob)	(bonito, cavala, serra, pintado)
	Músculos	(sardinha, tainha, mandi, atum)
	Parede Abdominal	(pacu, tambaqui, corimbatá)

12.1 - Natureza e função dos lipídios poliinsaturados

As causas pelas quais os peixes marinhos acumulam ácidos graxos poliinsaturados (AGP) nos tecidos musculares e nos depósitos de reserva estão só parcialmente esclarecidas.

As estruturas básicas são sintetizadas no fitoplâncton e nas macroalgas (Hardy e Keay, 1972; Ackman, 1980 e 1982) de onde são transferidas para o zooplâncton e elos superiores da cadeia alimentar. Mas o porquê da localização das ligações duplas, do grande número

destas ligações, da existência de mecanismos de dessaturação e extensão que resultam em ácidos graxos mais longos e mais poliinsaturados, permanece ainda no terreno das hipóteses.

De um modo geral, pode-se aceitar que a estrutura dos lipídios marinhos forma parte dos mecanismos de adaptação das espécies aquáticas para sua sobrevivência em água salgada e em temperaturas relativamente baixas, visto que os lipídios de peixes de água doce, particularmente os de clima tropical, são completamente diferentes.

Várias interpretações têm sido levantadas para explicar a natureza dos lipídios marinhos:

- Hardy e Keay (1972) aventam a possibilidade de que a estrutura com várias ligações duplas pouparia oxigênio na utilização energética celular, o que seria importante para os animais aquáticos que vivem num ambiente limitado em oxigênio. Certamente, a combustão total de um fragmento de 4 carbonos saturados precisaria de 6 moles de O_2 contra 5,5, se o fragmento tivesse uma ligação dupla. Esta teoria não tem sido corroborada em microrganismos aeróbicos e anaeróbicos que não apresentam diferenças marcantes na insaturação dos ácidos graxos, como é comentado pelos próprios autores;
- A existência de uma relação inversa entre o índice de iodo dos lipídios e a temperatura do "habitat", que resulta em gorduras com pontos de fusão ligeiramente inferiores à temperatura mínima do meio aquático, sugere que a necessidade de manter fluidos os lipídios protoplasmáticos seja satisfeita, aumentando a poliinsaturação dos mesmos (Hardy e Keay, 1972). Benson e Lee (1982) salientaram que o fitoplâncton das regiões frias contém gorduras extremamente insaturadas que são incorporadas nas ceras dos copépodos herbívoros, caracterizando um exemplo típico de adaptação biológica a baixas temperaturas;

- c) A preferência dos organismos marinhos por ácidos graxos de cadeia longa justificar-se-ia pela possibilidade de introduzir um número maior de duplas ligações, particularmente se os ácidos graxos tivessem estrutura ω_3 (Ackman, 1982);
- d) A existência de peixes gordos, que habitam preferentemente na superfície, e magros, que vivem nas águas mais profundas ou mesmo nos fundos, parece indicar que o teor de gordura corporal tenha um papel importante na flotação. Nos peixes magros, o acúmulo de triglicerídeos ou hidrocarbonetos, exclusivamente no fígado, teria uma função complementar na regulação hidrostática, face a que os hidrocarbonetos, alquil-éteres e outros lipídios são menos densos que os TG (Love, 1980). O acúmulo específico de ceras nos copépodos demersais parece estar relacionado com o maior coeficiente de dilatação destes lipídios que facilitaria a migração vertical noturna na procura de fitoplâncton superficial (Isaacs, 1982).

12.2 - Componentes das gorduras de peixes, moluscos e crustáceos

A composição da gordura extraível da parte muscular e do fígado tem concentrado a atenção dos pesquisadores face à sua utilidade para a caracterização de matérias-primas, controle de processos e da vida de prateleira dos produtos.

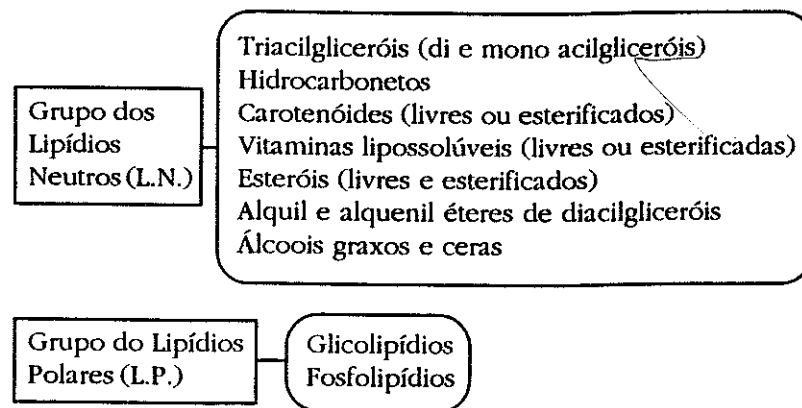
É oportuno salientar que existem diferenças na composição lipídica das gorduras extraídas de maneira exaustiva com solventes orgânicos (métodos de Bligh e Dyer, 1959; Folch et al., 1957) e nas gorduras obtidas por prensagem da carne cozida (método industrial para farinha de peixe). O extrato obtido por solventes contém todas as classes de lipídios de maneira quantitativa, enquanto que o óleo industrial contém, principalmente, triacilgliceróis dos depósitos gordurosos e uma porcentagem pequena de lipídios das membranas celulares.

A cocção dissolve o tecido conjuntivo que envolve as vesículas oleosas, tornando-o gelatina solúvel e deixando o óleo solto

para remoção mecânica. A cocção solta só parcialmente os lipídios estruturais, sejam dos músculos ou das vísceras, devido à forte interação entre lipídios polares e proteínas. Esta interação é quebrada por misturas de solventes, suficientemente polares, para não serem rejeitados das matrizes protéicas e com características apolares para dissolver lipídios neutros que ficam presos nas fibras.

Malins (1967) detalhou os principais compostos que formam os extratos lipídicos de pescado e agrupou-os de um modo próximo do esquema apresentado a seguir:

TABELA 64 - Classes de lipídios de tecidos animais.



12.2.1 - Lipídios neutros (L.N.)

No músculo das espécies gordas ou semigordas, os L.N. perfazem em torno de 90% dos lipídios totais. Na época magra, sua participação diminui em relação direta à depleção dos depósitos de reserva, ainda assim, continuam a ser o grupo quantitativamente mais importante dos lipídios totais (Kanasawa et al., 1979).

Nas espécies normalmente magras (cações, merluza, linguado, crustáceos e moluscos), os L.N. constituem em torno de 70% contra 27-30% dos polares (Sotelo et al., 1990).

A tabela 65 mostra a variação dos lipídios totais (% de gordura) e L.N. de espécies pelágicas nas estações gordas (inícios de outono) e magras (inícios de primavera).

TABELA 65 - Relação entre gordura total e L.N. em peixes pelágicos que apresentam variação sazonal da composição química.

Espécie	Estação	Lipídios Totais (g/100 g de carne)	L.N. (g/100 g de lipídios)	Referências
Cavala (<i>Scomber scombrus</i>)	Inverno	24,10	92,5	Hardy e Keay (1972)
	Verão	9,1	86,7	
Sardinha (<i>S. pilchardus</i>)	Outono	11,8	79,0	Nunes et al. (1990)
	Primavera	2,5	71,7	
Anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>)	Outono	7,80	92,0	Contreras (1976)
	Primavera	4,33	80,0	
Anchoveta (<i>Engraulis mordax</i>)	Outono	10,8	90,5	Contreras (1972)
	Primavera	6,7	86,7	

Da tabela anterior, conclui-se que o grande aumento das épocas gordas é constituído por lipídios neutros, particularmente da classe dos triacilgliceróis que se acumulam sob a pele e na cavidade ventral como óleo livre, apenas retido pela malha de tecidos mesentéricos. Parte deste óleo pode escorrer por simples pressão nos próprios porões ou nos depósitos, na indústria, durante a estocagem a granel, formando a chamada **água de sangue**, um líquido altamente rico em óleo e proteínas.

Alguns peixes de água doce, de clima tropical, acumulam lipídios semi-sólidos, de consistência de banha, que se depositam principalmente sobre o peritônio e podem ser separados com facilidade para aprimoramento dos filés.

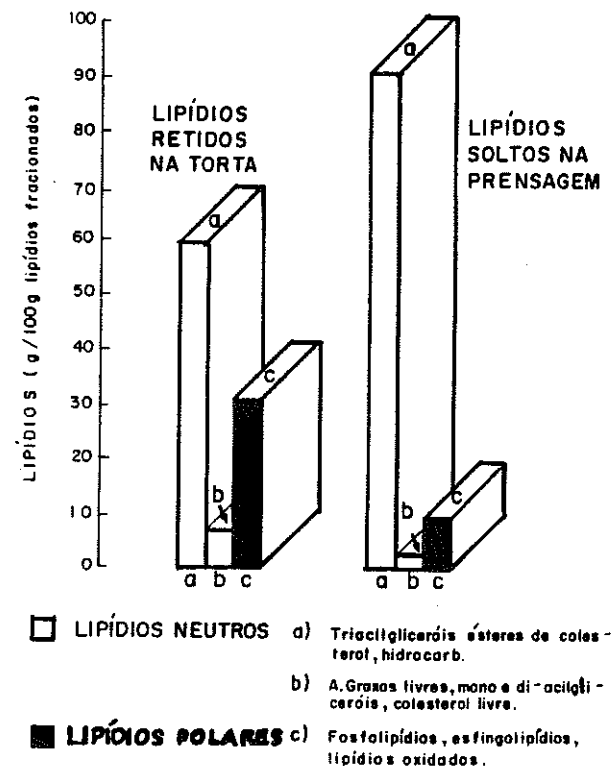
O aproveitamento das gorduras de peixes de água doce, mesmo apresentando excelente composição de ácidos graxos, maior estabilidade que as de origem marinha e ampla faixa de plasticidade, não tem sido abordado como uma nova opção de matéria-prima para formulações de margarina, gorduras plásticas e outros produtos de uso alimentar. O trabalho de Castelo (1980) focaliza esta perspectiva e propõe algumas soluções para o uso da gordura de tambaqui.

É interessante mencionar que os óleos para fritura ou salada, consumidos corriqueiramente, são praticamente lipídios neutros, maiormente triacilgliceróis desprovidos quase totalmente de fosfo e glicolipídios.

Um caso típico ocorre na elaboração de farinha de pescado, onde o óleo solto na prensa contém mais de 90% de lipídios

neutros, enquanto que o óleo retido na torta contém só 60%, o resto sendo formado por fosfolipídios, ácidos graxos livres, mono e diacilgliceróis, etc. Este fracionamento permite um óleo menos impuro, que precisa de tratamentos mais simples para a comercialização.

A figura 78 mostra a composição do óleo de anchoveta escorrido da prensa e do retido na torta, após extração com clorofórmio-metanol.



Fonte: Contreras (1972)

FIGURA 78 - Classes de lipídios da anchova (*Engraulis mordax*), submetida a cocção e prensagem para fabricação de farinha e óleo.

12.2.1.1 - Triacilgliceróis (Triglicerídios)

Os triacilgliceróis (TG) são a classe mais importante dos lipídios neutros, perfazendo nos óleos refinados entre 96 e 98% do óleo.

Para análise dos TG, é preciso primeiro separar os extratos nos dois grandes grupos: lipídios neutros (L.N.) e lipídios polares (L.P.), que é realizada pela combinação de várias técnicas cromatográficas, todas utilizando as propriedades de adsorção de compostos polares da sílica-gel e do ácido silícico.

A classe TG, purificada, é composta por inúmeros TG individuais resultantes da combinação de uma molécula de glicerol com 3 ácidos graxos iguais ou diferentes, dependendo da concentração de cada ácido graxo na mistura total. Quanto maior é a diversidade composicional de ácidos graxos, maior é a variedade de TG individuais.

Os métodos de cromatografia capilar permitem separar praticamente todos os ácidos graxos dos óleos marinhos, que, dependendo das espécies, podem chegar a 90 (Maia, 1992), porém só entre 20 e 21 excedem 1%, mesmo assim, é um número elevado, capaz de formar uma variedade enorme de TG.

Tem sido demonstrado que não ocorrem todas as combinações teóricas, pois os ácidos graxos apresentam uma certa preferência para se esterificar na molécula do glicerol. Litchfield et al. (1978) encontraram que nos TG de baleia os ácidos poliinsaturados ocupavam a posição central (carbono 2), os ácidos monoinsaturados, C16:1 e C18:1, apareciam na posição 1 e a posição 3, comumente, era ocupada por ácidos monoinsaturados de cadeia longa (C20:1 e C22:1). Esta preferência posicional é praticamente a mesma observada com óleos vegetais (Brocherhoff, 1968), com as devidas ressalvas quanto à poliinsaturação e comprimento dos ácidos graxos próprios dos vegetais.

O estudo dos TG requer a separação dos mesmos, tarefa que tem sido mais difícil que a separação dos ácidos graxos, visto que os TG têm pesos moleculares acima de 900, precisando de temperaturas muito elevadas para serem separados por GLC. Além do mais, as diferenças de peso molecular ou de polaridade entre os diversos indivíduos são pequenas, afetando a resolução dos picos.

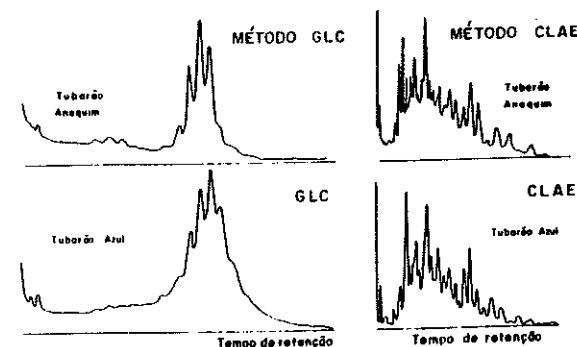
A hidrogenação preliminar dos TG reduz o número de entidades e tem permitido obter cromatogramas com boa resolução em óleo de baleia (Litchfield et al., 1971), porém é desejável conhecer os TG intatos.

As dificuldades mencionadas têm sido eliminadas pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) que separa os TG de acordo com o grau de polaridade (insaturação). A CLAE pode ser em fase normal ou reversa; nesta última, os TG eluem desde o mais insaturado ao mais saturado.

Mesmo após separação, permanece a dificuldade de identificação do TG. A composição percentual de ácidos graxos da amostra fornece uma orientação sobre os tipos de TG que deveriam ser mais abundantes, porém o conhecimento da estrutura do TG individual precisa de várias técnicas (co-eluição com padrões, espectrometria de massas, etc.).

A obtenção de padrões de TG para identificação de óleos marinhos é muito mais difícil que para óleos vegetais, que têm apenas 7 ácidos graxos importantes, dos quais o ácido linoleico, geralmente, contribui com 50% ou mais do total.

A figura 79 mostra, à maneira de ilustração, cromatogramas de óleo de fígado de cação-azul (*Prionace glauca*) e de cação-anequim (*Carcharodon carcharias*), obtidos por cromatografia gás-líquido e por CLAE em fase reversa (Barrera e Pacheco, 1992).



Fonte: BARRERA e PACHECO (1992).

FIGURA 79 - Separação de triacilgliceróis de óleo de fígado de tubarão por Cromatografia Gás-Líquida (GLC) e por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), esta última mostrando 28 picos de TG.

A CLAE apresenta um poder resolutivo muito superior, evidenciando na fração TG cerca de 28 TG individuais. Os cromatogramas dos TG de peixes são mais complexos que os de óleos vegetais, cuja distribuição de TG tem sido dilucidada com sucesso em milho (Ferrari, 1992) e outras sementes oleaginosas.

12.2.1.2 - Hidrocarbonetos (HC)

São compostos de carbono e hidrogênio sem grupos iônicos ou polares, de modo que são quimicamente muito estáveis. Sua estrutura pode ser linear ou ramificada, podendo ser completamente saturados, ou possuir desde 1 até 8 ligações duplas por molécula.

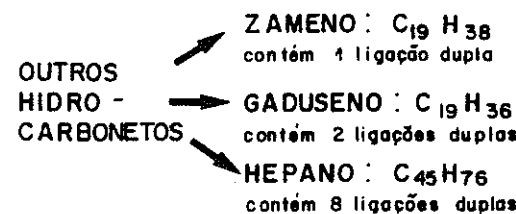
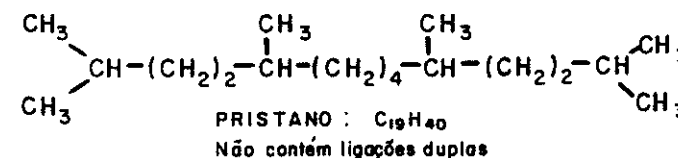
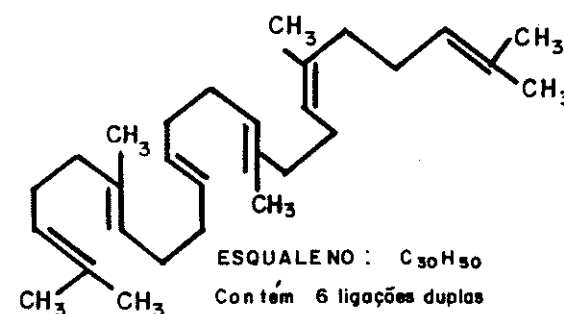
A figura 80 mostra a estrutura química e outras características de vários HC isolados dos óleos de peixes.

Devido a que os HC formam parte dos insaponificáveis (I), a determinação destes últimos permite uma aproximação do teor de HC.

O teor de I de óleos extraídos do corpo dos peixes é muito baixo (0,05-0,5%), portanto o teor de HC é irrelevante. Em alguns óleos de fígado, o teor de I pode ser até 200 vezes maior, dependendo da classe biológica (elasmobrânquios ou teleósteos) e, dentro da classe, só algumas famílias acumulam óleos altos em insaponificáveis no fígado.

Os peixes da família gadídea (merluza, bacalhau, ling) acumulam teores elevados de óleo no fígado, porém a porcentagem de I é baixa; conseqüentemente, os hidrocarbonetos atingem só 0,8% de gordura (Miwa, 1972).

Os tubarões são os peixes com maior teor de I no óleo de fígado, o que se explica por este órgão armazenar vitamina A, colesterol, hidrocarbonetos e outros lipídios não-saponificáveis. Tem sido sugerido que o acúmulo de lipídios no fígado destas espécies tenha a função de diminuir o esforço necessário para flotação, visto que estas espécies não possuem bexiga natatória e moram geralmente, entre 600 a 1.000 m de profundidade. Além do mais, o tamanho do fígado é proporcional ao tamanho do peixe, correspondendo mais ou menos a 20% do peso, e pode conter até 90% de óleo (Corner et al., 1984; Kreuzer e Ahmed, 1978).



Fonte: Tsuchita (1962).

FIGURA 80 - Estrutura e características físicas de hidrocarbonetos de óleo de fígado de tubarão e outros peixes (Tsuchita, 1962).

A preferência pelos hidrocarbonetos, ao invés dos triacilgliceróis, parece justificar-se pela densidade menor dos primeiros, 0,856, contra 0,905 g/cm³ (love, 1980; Gelpi e Oro, 1968).

TABELA 66 - Tubarões com teores elevados de matéria insaponificável no óleo de fígado.

Espécie	Insaponificáveis (% dos lipídios totais)
<i>Squalus mitsukurii</i>	87,32 - 90,17
<i>Centrophorus squamosos</i>	71,87 - 86,93
<i>Centrophorus acus</i>	62,90
<i>Centrophorus atromarginatus</i>	58,30
<i>Cetorhinus maximus</i>	22,80 - 55,30

Da tabela anterior, deduz-se que os membros do gênero *Centrophorus* e da família Squalídea apresentam os teores mais elevados de I. Quanto ao teor de esqualeno, Peyronell et al. (1984) relataram que os tubarões do Mediterrâneo do gênero *Centrophorus* tinham entre 49 a 89% deste hidrocarboneto por 100 g de óleo de fígado.

O *Cetorhinus maximus* (tubarão-peregrino), um dos maiores animais marinhos, possui um fígado que pode pesar até uma tonelada, contendo óleo com 40% de esqualeno, 10% de pristano e teores menores de zamenos (Tsuchita, 1962).

Vários tubarões consumidos freqüentemente no Chile, como o azulejo (*Prionace glauca*) e o tollo (*Squalus acanthias*) têm óleos de fígado com insaponificáveis baixos (~3,8%).

Estas mesmas espécies, conhecidas no Brasil como cação-azul e caçonete, respectivamente, apresentaram também valores baixos (~5,0%) [Pacheco, 1990], indicando que o teor de I é uma característica típica da espécie. Valores baixos ocorrem em cações pelágicos ou pseudo-pelágicos e teores elevados em cações de águas profundas.

Vários HC têm sido determinados em algas bentônicas e planctônicas. Nelas, o conteúdo é baixo, perfazendo entre 0,001 e 0,48% da matéria seca. Nas algas vermelhas, predominam os HC saturados com 17 carbonos (n-heptadecano) e nas marrons, os com 15 carbonos (n-pentadecano). Várias algas apresentam um HC poliinsaturado com 21 carbonos e 6 ligações duplas (21:6) [Pohl e Zurheide, 1979].

Pouco se conhece do destino destes compostos na cadeia alimentar até chegar ao nível trófico dos tubarões. De um modo geral, os HC destes peixes são diferentes tanto no número de carbonos quanto das ligações duplas. Entretanto, deve ser considerado que os tubarões são carnívoros e podem ter ocorrido várias transformações dos HC nos elos anteriores (zooplâncton, carnívoros primários, etc.).

Devido às quantidades elevadas de HC, a hipótese de síntese endógena no fígado dos tubarões demersais é admissível.

No Brasil, os tubarões são capturados desde o limite Norte até a fronteira com o Uruguai. Trata-se de um recurso abundante, todavia pouco aproveitado. Certamente que a exploração intensiva requer de estudos biológicos mais aprofundados.

Após um longo período de desinteresse pelo consumo da carne destas espécies, a aceitação tem aumentado paulatinamente nos últimos anos, estimulando a captura específica ou ocasional e aprimorando a manipulação a bordo e na indústria. Se o consumo continuar crescendo, o fígado hoje descartado, poderá tornar-se numa boa alternativa para extração de óleo, hidrocarbonetos ou ser incorporado como concentrado energético-vitamínico em rações para criação de frangos, crustáceos, peixes e outros animais.

O esqualeno é utilizado na indústria de cosméticos como estimulante da regeneração da pele e, em menor escala, como medicamento para algumas doenças cardíacas (Preston, 1984).

12.2.1.3 - Carotenóides

O β -caroteno e as xantofilas são sintetizados por bactérias, fungos, leveduras e, particularmente, por plantas superiores e algas unicelulares. Nos vegetais das águas tropicais, o acúmulo de β -caroteno e outros pigmentos é maior que nos de águas mais frias, o que se reflete no organismo dos animais que ali habitam.

Os carotenóides das algas marinhas são bastante semelhantes aos de folhas, flores e frutos de plantas terrestres. Sejima et al. (1980) encontraram que a zeaxantina e o β -caroteno eram os principais carotenóides da espirulina, enquanto que a equinenona e a β -criptoxantina participavam minoritariamente.

Os peixes não sintetizam carotenóides, de modo que precisam ingerir estruturas pré-formadas, as quais, através de modificações relativamente simples, são convertidas em vitamina A e outros compostos essenciais.

Os organismos do zooplâncton podem converter o β -caroteno em astaxantina, como ocorre com o krill (*Euphasia superba*), embora só alguns peixes consigam fazer esta conversão e precisem obtê-lo da dieta (Simpson, 1982).

No salmão e na truta, a astaxantina parece ter um rol muito importante, pois é armazenada maiormente no músculo e quase nada na pele, sugerindo que tenha funções fisiológicas. Jacquot (1961) salienta que a astaxantina, mesmo não sendo pró-vitamina A para o homem, possa sê-lo para os peixes, os quais teriam mecanismos de convertê-la em vitamina A.

Em alguns crustáceos, a astaxantina existe associada a proteínas, formando pigmentos marrom-esverdeados típicos de lagosta e de alguns camarões (Benson e Lee, 1981). A astaxantina complexada com proteínas é mais resistente à oxidação e é depositada no músculo e na pele de truta arco-íris com maior eficiência que o pigmento livre (Simpson e Haard, 1985; Long e Haard, 1988). Durante a cocção, o resíduo protéico é desnaturado, e a cor laranja-avermelhada do pigmento livre torna-se evidente. No músculo de algumas espécies, a astaxantina é armazenada esterificada, deixando apenas uma quantidade pequena na forma livre (Simpson et al., 1976), o que reforça a hipótese de que suas funções devam ser mais amplas do que até hoje se conhece.

Outros carotenóides acumulam-se na pele de peixes e, particularmente, nas gônadas de alguns bivalvos (vieira, mexilhão) e de equinodermos (ouriço). Nestes últimos, o tom avermelhado intenso é devido à equinona (Deuel, 1957; Masson et al., 1987). Os peixes bentônicos que se alimentam de ouriços, acumulam a equinona nas paredes da cavidade ventral e não no músculo, que é incomumente branco. Alguns bagres estuarinos brasileiros acumulam carotenóides intensamente amarelos nas superfícies das cavidades bucal e ventral, sem apresentar pigmentação nos músculos. As causas destes fenômenos têm merecido pouca atenção. Além da eventual formação de vitamina A via astaxantina, a formação por cisão do β -caroteno no fígado tem sido relatada por Higashi (1961).

Os dois pigmentos acima mencionados, além da zeaxantina, têm sido citados por Simpson et al. (1982) como os mais relevantes para os peixes satisfazerem as necessidades de pró-vitamina A, visto a ubiquidade destes pigmentos em invertebrados e algas.

A figura 81 mostra a estrutura de alguns carotenóides importantes encontrados em peixes, crustáceos e moluscos:

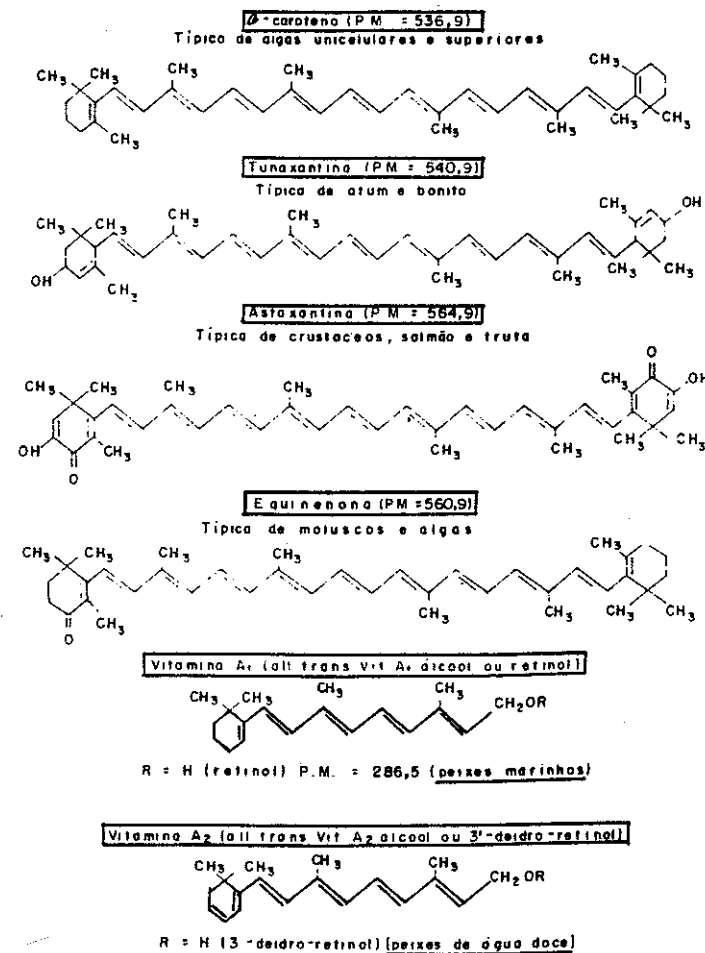


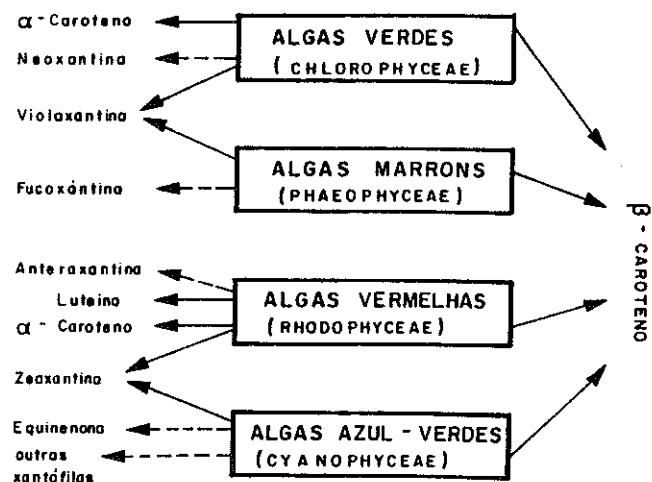
FIGURA 81 - Carotenóides importantes de plantas aquáticas, peixes, moluscos e crustáceos (parte superior). Na parte inferior aparecem os dois tipos de vitamina A dos pescados.

Lewin, 1974, citado por Accorinti (1985) salientou que a composição de carotenóides das classes Chlorophyceae (algas verdes); Phaeophyceae (algas marrons); Rhodophyceae (algas vermelhas) e Cyanophyceae (algas azul-esverdeadas) tinham em comum a presença de β -caroteno, enquanto que o α -caroteno só estava presente nas clorofíceas e rodofíceas. A zeaxantina era comum nas rodofíceas e cianofíceas, e a violaxantina era típica das algas mais evoluídas (algas verdes e marrons).

A violaxantina é um carotenóide diepoxidado, cuja função provável é a de diminuir o efeito da fotoxidação da clorofila excitada (Krinsky, 1966, citado por Accorinti, 1985).

As algas menos evoluídas, as cianofíceas, sintetizam xantofilas pouco comuns como a Equinenona, Micoxantina e Oscillaroxantina, acusando uma maior distância filogenética com as plantas superiores (Accorinti, 1985).

A figura 82 mostra os carotenóides típicos das 4 classes das algas acima mencionadas.



Fonte: Accorinti (1985).

FIGURA 82 - Carotenóides principais das classes de algas que participam da cadeia alimentar:

- (—) carotenóides comuns a várias classes;
- (- - -) carotenóides específicos da classe.

12.2.1.4 - Vitaminas lipossolúveis

Vitamina A (Vit A)

Kinsella (1987) fez uma recopilação dos níveis de vitamina A nos óleos de fígado de peixes marinhos e alguns de água doce, demonstrando que esta vitamina se acumula em grande concentração nas famílias seguintes: Gadídea, Clupeídea, Escombrídea, Salmonídea, e em numerosas famílias de elasmobrânquios (tubarões e raias). Os valores recopilados por Kinsella (1987) variam entre 100 e 512.000 UI/g de óleo. Os valores maiores correspondem aos óleos de fígado; porém, nos óleos industriais de sardinha, arenque, anchoveta, também há níveis elevados, pois, além do fígado, a vitamina A é abundante no intestino, cecos pilóricos e gônadas, e os óleos industriais são fabricados de peixe inteiro.

No óleo de fígado de cação-azul (*Prionace glauca*), capturado na costa de São Paulo, a vitamina A atingiu 1.630 UI/g (Pacheco, 1990), um valor relativamente baixo, porém concordante com observações de Higashi (1961), que relata valores entre 100 e 43.000 UI/g para esta espécie, enquanto que nos tubarões-martelo, canejão e soupfin a faixa vai desde 200 até 200.000 UI/g de óleo.

A riqueza de Vit A do fígado não é aproveitada, pois quase todas as espécies são evisceradas no alto mar. A Vit A da parte comestível é pequena (< 100 UI/g de carne), sendo algo maior nos peixes gordos (Higashi, 1961).

A Vit A é estocada como éster de ácidos graxos, semelhante ao que ocorre com astaxantina e colesterol. Na forma de éster, a Vit A torna-se menos reativa e pode ser acumulada em grandes quantidades. Os peixes mais velhos apresentam quantidades maiores (Kinsella, 1987), que podem superar $2,00 \times 10^5$ UI/g.

A conversão de UI em g dá uma idéia de quanto significa este acúmulo em função do óleo e do fígado: 1 UI = 0,3 μ g de retinol, logo $2,00 \times 10^5$ UI/g correspondem a 6 g de Vit A por 100 g de óleo e entre 2,4 e 4,8 g por 100 g de fígado. Estes valores altíssimos ocorrem no atum, cavala, halibut, etc. Entretanto, o fígado destas espécies é pequeno (~ 1,5% do peixe).

O comportamento da Vit A desperta a curiosidade, pois as quantidades excedem, em muito, as necessidades biológicas de Vit

A dos organismos animais. Há, ainda, outros fenômenos, como existência de uma relação inversa entre esqualeno e vitamina A e a relativa constância do teor vitamínico com as estações, a despeito de grandes variações do teor de gordura, fatos que sugerem que a Vit A tenha outras funções não conhecidas.

A Vit A do óleo de fígado pode ser concentrada por destilação molecular, obtendo-se um produto chamado de óleo-vitamina, que está parcialmente livre de esteróis, álcoois graxos de cadeia longa e triglicerídios. Foi desenvolvido para uso em rações, não como uma alternativa econômica, pois a Vit A sintética continua a ser mais barata, mas porque há indícios de que o produto natural tenha promotores de crescimento (Getz, 1955; Burklew e Morton, 1972).

A **vitamina A₂** é típica de peixes de água doce, sendo formada por desidrogenação da A₁ (Cruickshank, 1962). Nos peixes anádromos (desovam e nascem em água doce e crescem no mar) e nos catádromos (desovam no mar e tornam-se adultos em água doce), ocorrem, simultaneamente, as vitaminas A₁ e A₂, que se concentram separadamente nos diferentes órgãos do corpo (Higashi, 1961).

As vitaminas A₁, A₂, D e E foram analisadas por Marx e Maia (1985), em três espécies da amazônia: tambaqui (*Colossoma macropomum*), pirarucu (*Arapaima gigas*) e cuiu-cuiu (*Oxidoras niger*). As determinações no fígado mostraram teores excepcionalmente elevados das vitaminas A₂ (deidroretinol), D e E, no tambaqui e no cuiu-cuiu.

O eventual aproveitamento dos fígados destes peixes para a obtenção de óleo, deve levar em consideração o teor de óleo e tamanho do fígado, perdas de vitaminas na extração, abundância e facilidade da coleta e outras condições. O tamanho do fígado, na maioria dos peixes, é pequeno (1 - 3% do peixe), exceto nas espécies gadídeas e alguns tubarões. De qualquer modo, os teores vitamínicos dos peixes amazônicos são elevados, e o óleo de fígado de tambaqui compara-se, vantajosamente, com o óleo de fígado de bacalhau, incluído pelos próprios autores na tabela 67, com fins de comparação.

TABELA 67 - Teores de vitamina A₁ (retinol), A₂ (deidroretinol), D e E em três espécies de peixes amazônicos. Determinações realizadas por CLAE em fase reversa (Marx e Maia, 1985).

Espécie	nº. de amostras	Teores Vitamínicos (µg/g de fígado)			
		A1	A2	D	E
tambaqui	4	1577 ± 560	1161 ± 175	20,75 ± 16,9	83,3 ± 31,3
cuiu-cuiu	1	649	2420	146	854
pirarucu	1	traços	303	3	24
Teores Vitamínicos (µg/g de óleo de fígado)					
óleo de tambaqui	1	2850	4900	403	2300
óleo de bacalhau ^a	1	traços	2780	183	995
óleo de bacalhau ^a	1	300	—	3	33

a) Belitz e Grosch (1982), citados por Marx e Maia (1985).

Vitamina D (Vit D)

Na maioria dos mamíferos, a Vit D₃ é sintetizada na pele pela ação da luz solar sobre o D^{5.7} colesterol, cuja fotólise dá lugar ao pré-calciferol, o qual é isomerizado para Vit D₃ por outra reação fotolítica.

Após reações intermediárias nos rins, forma-se o verdadeiro hormônio que regula o transporte de cálcio: o 1,25 di-hidroxivitamina D₃.

É difícil imaginar um processo semelhante no meio marinho, onde a luz solar só é farta na superfície. As numerosas criaturas que habitam em águas profundas estariam obrigadas a receber a Vit D₃ pronta na sua dieta carnívora.

As provitaminas (colesterol, esqualeno) existem fartamente nos organismos do zooplâncton; porém, neles também, não há vitamina D (Cruickshank, 1962). Aparentemente, ela forma-se no fígado de espécies dos elos superiores, pois tem sido determinada em bacalhau, atum e outros peixes, majoritariamente como D₃, com participação menor da D₂ (ergocalciferol) [Sainclivier, 1983].

A origem da Vit D₃ permanece obscura, assim como a causa do porquê de algumas espécies armazenarem quantidades muito além das necessárias para a calcificação.

Nos músculos de peixes magros, a concentração de Vit D é baixa; já nos peixes gordos, os músculos podem ter entre 500 e 3.000 UI/100 g de carne (Jacquot, 1961).

Nos tubarões, o teor de Vit D é surpreendentemente baixo, inferior a 25 UI/g de óleo, contrastando com os teores elevados de vitamina A neles encontrados (Higashi, 1961). A quase ausência de Vit D, simultânea com teores baixos de Ca, nestas espécies, sugere que o esqueleto cartilaginoso teria resultado de uma falta de calcificação, porém a suposição não parece válida, pois as necessidades da Vit D são pequenas na maioria dos animais (Sainclivier, 1983).

É oportuno salientar que o esqueleto de cartilagem dos cações e raias tem cálcio, porém não como fosfato tricálcico, mas como fluorofosfato de cálcio (Ronsisvalli, 1978).

A Vit D não é depletada do fígado nos períodos de carência alimentar, semelhante ao que foi comentado em relação à vitamina A. Conseqüentemente, nos períodos magros, a concentração expressa na base da porcentagem de óleo aumenta substancialmente, porém, mantém-se constante se expressa por g de fígado.

Vitamina E (Vit E)

O α -tocoferol é a principal espécie molecular com atividade de Vit E nos pescados (Ackman e Cormier, 1967). Pouco se conhece da composição de tocoferóis do plâncton vegetal, o único elo que sintetiza estes compostos na cadeia alimentar.

Os dados sobre algas são esparsos. Santillan (1982) relata que a alga azul-esverdeada *Spirulina platensis* tinha 19,0 mg de tocoferóis por 100 g de matéria seca e 271 mg por 100 g de lipídios. Este valor pode ser considerado alto se comparado com o teor de tocoferóis da soja, que apresenta valores entre 110 e 140 mg por 100 g de lipídios extraídos (Contreras, 1981), sendo considerada uma das sementes mais ricas nestes compostos.

Nas plantas, há vários compostos próximos dos tocoferóis que reagem quimicamente como eles. Os tocotrienóis (tocoferóis de cadeia insaturada) são ubíquos em folhas, frutos e sementes e podem ser confundidos com tocoferóis, porém têm atividade vitamínica muito fraca. Accorinti (1982) relata que a alga *Sargassum tortile* tem teores

relativamente altos de δ -tocotrienol e do seu derivado δ -tocotrienol epóxido. Aparentemente, as algas e plantas terrestres comportam-se de maneira próxima quanto ao acúmulo de tocoferóis e tocotrienóis.

Nos vegetais terrestres (cereais e leguminosas), têm sido encontrados 4 tocoferóis (α -T, β -T, γ -T e δ -T) e 4 tocotrienóis (α -T₃, β -T₃, γ -T₃ e δ -T₃). O α -T apresenta a maior atividade biológica da Vit E; porém, com umas poucas exceções, as estruturas g e d nos vegetais são mais abundantes, perfazendo entre 50 e 90% dos tocoferóis totais (Contreras, 1981).

Os mamíferos e peixes não armazenam tocoferóis b, g e d, nem tocotrienóis ingeridos na dieta, detectando-se, principalmente, α -tocoferol nos tecidos e sangue.

Nos peixes de água doce, a gordura contém em torno de 10 mg de α -tocoferol por 100 g. Castelo (1980) encontrou essa quantidade em tambaqui capturado em Manaus, e Moraes (1988) determinou 10,2 mg % em corimbatá do Estado de São Paulo. Ambos os peixes tinham gorduras com índice de iodo entre 80 e 61,3, respectivamente.

O óleo de sardinha brasileira, com índice de iodo entre 170 e 180, tinha apenas 8 mg de α -tocoferol, com flutuações entre 4 e 17 mg % (FEA - UNICAMP). Esta relação inversa entre grau de poliinsaturação e teor de α -T foi notada, também, num estudo sazonal de lipídios de espadim (*Sprattus sprattus*), realizado por Hardy e Mackie (1969) que registraram um aumento contínuo do α -tocoferol, que variou desde 5 até 27 mg % durante 6 meses consecutivos (desde outono a início da primavera), enquanto que o teor de óleo diminuiu desde 18 para 11% e o índice de iodo desde 160 para 125. A utilização preferencial das gorduras poliinsaturadas contra uma poupança, e, ainda, um incremento do α -T, no período de escassez de alimento, é um fenômeno pouco pesquisado.

No óleo de fígado, o teor de α -tocoferol é maior que no músculo. Pacheco (1990) determinou 45 mg de α -T por 100 g de óleo de fígado de cação-azul (*Prionace glauca*) e valores próximos para anequim (*Isurus oxirrinchus*).

O valor de vitamina E do óleo de fígado de tubarão (45 mg %) é muito menor que o existente no óleo de fígado de tambaqui (230 mg %) e do cuiu-cuiu (854 mg %), valores calculados por nós na base dos dados publicados por Marx e Maia (1985).

Provavelmente, os peixes de água doce, herbívoros ou onívoros, ingerem mais tocoferóis, face à sua elevada concentração nas sementes e frutas que formam sua dieta habitual.

12.2.1.5 - Esteróis

O estudo dos esteróis de óleos marinhos tem-se intensificado pela implicação do colesterol em diversas doenças cardiovasculares e a conseqüente redução deste composto pela ingestão de óleos poliinsaturados marinhos.

A guerra contra o aumento do colesterol tem relegado a um plano secundário as várias funções fisiológicas indispensáveis de que ele participa:

- Componente ubíquo das miomembranas e lipoproteínas em arranjo com fosfolipídios, proteínas e triacilgliceróis;
- Precursor da vitamina D₃ e conversão dela na hormona reguladora do transporte de cálcio, a 1-25 hidroxivitamina D₃;
- Precursor da síntese de sais biliares, prévia degradação para ácido cólico e conversão em ácido taurocólico, glicocólico e outros;
- Precursor de hormônios esteroidais (corticosteróides, progestinas e hormônios sexuais).

A molécula de colesterol, mostrada na figura 83, consta da cabeça polar (OH), do corpo formado pelos núcleos A, B, C e D, apolares e rígidos, e da cauda com 8 carbonos, apolar e flexível. O grupo OH não chega a modificar a enorme hidrofobicidade da molécula, que se comporta como um lipídio neutro. Nas membranas, o corpo fica mergulhado entre as cadeias acilglicéricas dos fosfolipídios e o grupo OH orienta-se para a superfície, junto com as cabeças polares (ácido fosfórico e amina) destes compostos (Rawan, 1989).

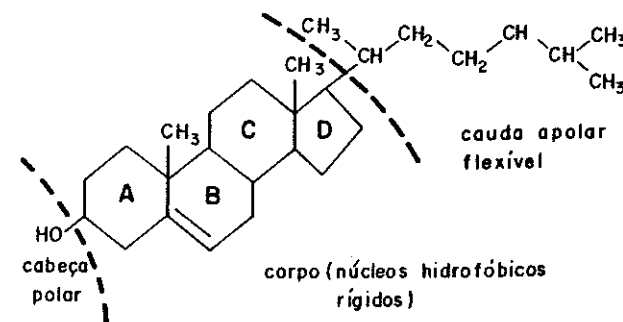


FIGURA 83 - Fórmula de estrutura do colesterol.

O colesterol era considerado o único presente nos músculos de animais terrestres e peixes, porém os métodos cromatográficos têm demonstrado que, geralmente, há quantidades pequenas de outros esteróis. Pacheco (1990) encontrou que o colesterol do óleo de fígado de cação-azul perfazia 87,3% dos esteróis totais. Sua predominância também é quase total na carne de crustáceos (~ 95%); porém, nos moluscos, só entre 30 e 50% dos esteróis correspondem a colesterol (Idler e Wiseman, 1968 e 1971; Gordon, 1982).

A determinação de colesterol por reação colorimétrica corresponde a esteróis totais e, por essa causa, os moluscos (ostras, mexilhão, abalone e outros) foram considerados como alimentos proibidos, em grande parte, pelo uso de tabelas de composição não-atualizadas (Wedman, 1987). De fato, qualquer peixe, molusco ou crustáceo, exceto ovas e lula, pode fazer parte de um regime baixo em colesterol.

A tabela 68 mostra o teor de colesterol de alguns peixes, crustáceos e moluscos, recompilados de várias fontes e, quando possível, organizados por famílias de peixes marinhos. Os dados representam a média simples ou o intervalo de ocorrência.

Da tabela 68, resulta evidente que os peixes apresentam teores baixos o bastante próximos entre as diferentes famílias. Um teor

em torno de 50 mg poderia ser considerado característico da carne de peixe, se bem que valores em torno de 100 g têm sido publicados para peixes gordos como arenque, cavala e espadim (Kinsella, 1987). Estas espécies são utilizadas, freqüentemente, para farinha e, em menor escala, para consumo direto. O óleo de peixe industrial apresenta uma faixa entre 500 e 1.500 mg de colesterol por 100 g de óleo (Ackman, 1988).

TABELA 68 - Teor de colesterol total e esteróis totais em peixes, moluscos e crustáceos.

Espécies	Colesterol (mg/100 g carne)	Esteróis (mg/100 g carne)	Colesterol (mg/100 g esteróis)	Referências
Scombridae (várias espécies)	51,8	—	—	Richkus e Dinardo (1984)
Scombridae (várias espécies)	44,5	—	—	Sotelo et al. (1990)
Gadidae (várias espécies)	40,0	—	—	Richkus e Dinardo (1984)
Gadidae (<i>M. merluccius</i>)	44,0	—	—	Sotelo et al. (1990)
Trichuridae (<i>T. murphy</i>)	26 - 60	—	—	Arias (1984), Muñoz (1984)
Squalidae (<i>S. acanthias</i>)	60,6	—	—	Jhaveri e Constant- tinides (1981)
Squalidae	28,4 - 73,0	—	—	Ackman (1974)
Peixes de água doce (várias espécies)	61,0	—	—	Richkus e Dinardo (1984)
Peixes de água doce (várias espécies)	50 - 90	—	—	Kinsella et al. (1977a)
Camarão (<i>Pandalus borealis</i>)	123	130	94,3	Gagosian (1975)
Camarão (do Pacífico)	128,9	129,4	99,6	Gordon (1982)
Camarão-marrom	142	—	—	Richkus e Dinardo (1984)
Caranguejo (pinça)	45,9	46,5	98,7	Gordon (1982)
Lagosta	129	—	—	Richkus e Dinardo (1984)
Abalone (<i>C. concholepas</i>)	235,0	—	—	Portilla (1975)
Ostra (<i>C. gigas</i>)	50,7 ± 9,5	169,8 ± 20,5	29,9	Gordon (1982)
Mexilhão	25,8	84,8	29,5	Gordon (1982)
Ouriço (gônada)	182,0	—	—	Masson et al. (1988)

O óleo de fígado de cação-azul brasileiro apresentou apenas 143 mg % (Pacheco, 1990). Em peixes brasileiros de água doce, Andrade e Almeida (1980) encontraram, no mandi (*Pimelodus clarias*), um teor médio anual de 55,94 mg %, valor próximo da média de peixes de água doce (61,0 mg %) da tabela 68.

O teor de colesterol dos crustáceos é realmente maior que o dos peixes, particularmente nos camarões, onde o valor médio fica ao redor de 130 mg/100 g de carne. Outros crustáceos próximos, como lagosta e crayfish, apresentam teores na mesma faixa (Kritchevsky et al., 1967; Sidwell et al., 1974; Kinsella, 1987); porém, nos caranguejos, comum e rei (king crab), o teor de colesterol aproxima-se do valor encontrado em peixes (Gordon, 1982).

Os métodos cromatográficos têm mostrado que o teor elevado de colesterol atribuído aos moluscos, de fato, corresponde a vários esteróis, com o colesterol contribuindo com algo em torno de 30% dos totais. Os outros esteróis são, por ordem de importância, o brasicasterol, 2-4-metilenocolesterol, 7-deidrocolesterol e 22-deidrocolesterol. Os esteróis típicos dos vegetais, β -sitosterol e estigmasterol, ocorrem em quantidades menores de 5% (Idler e Wiseman, 1968 e 1971; Gordon, 1982). Segundo estes autores, a grande variedade de esteróis preencheria, nos moluscos, as funções do colesterol na constituição e função das biomembranas.

Geralmente, parte do colesterol, Vit A e Vit D encontram-se esterificados, motivo por que é comum determiná-los no insaponificável na forma livre.

As causas pelas quais os óleos marinhos diminuem o colesterol plasmático (circulante) e o nível de triglicerídios parecem estar relacionadas com alterações da relação entre as lipoproteínas VLDL, LDL e HDL, ou seja lipoproteínas de muito baixa e alta densidade, respectivamente.

Segundo Rawn (1989), as VLDL e LDL têm a função de transportar o colesterol intestinal (da dieta) e o sintetizado no fígado (livre ou esterificado com ácidos graxos) para os tecidos periféricos, cujas membranas plasmáticas têm receptores específicos para estas lipoproteínas que são transportadas para o interior, onde são desmontadas, liberando o colesterol (ou seus ésteres) para a composição de membranas.

Alguns desarranjos hereditários e, também, o excesso de colesterol livre, inibem a síntese de receptores, impossibilitando o aproveitamento do colesterol pelas células. A VLDL e LDL, com sua carga de colesterol, permaneceriam circulando com o conseqüente aumento do esterol plasmático. A HDL coletaria este colesterol, após desintegração das VLDL e LDL, e o conduziria ao fígado, onde é eliminado na forma de sais biliares (Rawn, 1989).

A ingestão de óleos marinhos, ricos em ácidos poliinsaturados, eicosapentanoico (EPA) [C20:5 ω_3] e docosaexanoico (DHA) [C22:6 ω_3], modificaria a estrutura espacial dos fosfolipídios e, conseqüentemente, das lipoproteínas, favorecendo a transferência do colesterol para a HDL e apressando sua eliminação.

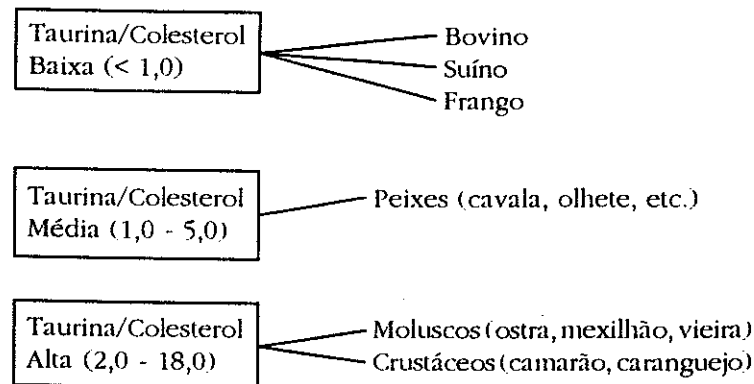
Tucker (1992), comentando várias pesquisas em nutrição relata que o consumo de óleos marinhos altos em EPA (óleo de pollock) causou uma diminuição do nível de triglicéridios e do colesterol ligado à HDL, enquanto que os óleos altos em DHA (atum, salmão) diminuiram os triglicéridios e o colesterol ligado à LDL, considerado mais danoso.

Algumas pesquisas têm mostrado que o consumo de peixes e moluscos também induzem à redução do colesterol. Visto que os moluscos são muito magros, a contribuição de ácidos graxos poliinsaturados neles é pequena, quando comparada com dietas feitas com óleos marinhos. Aparentemente, outros fatores dos músculos de pescados poderiam estar envolvidos no efeito depressor do colesterol sanguíneo.

Tsuji e Yano (1984), citados em Infofish (1991), sugerem que a taurina seria capaz de formar uma associação com o colesterol, tornando-o mais "solúvel", facilitando sua remoção das lipoproteínas do sangue. Existiria uma relação entre os dois compostos (taurina/colesterol), cujo valor numérico indicaria o grau de benefício que os alimentos ou dietas dariam para o consumidor.

Visto que os crustáceos e moluscos precisam de colesterol e outros esteróis para suas funções fisiológicas, a própria natureza teria criado neles uma espécie de desativador, a taurina, para diminuir os efeitos de excesso de colesterol.

O esquema seguinte mostra faixas da relação taurina/colesterol em músculos de animais terrestres e aquáticos; conceitos extraídos de Tsuji e Yano (1984):



12.2.1.6 - Éter-acilgliceróis e álcoois graxos

Os alquiléteres de glicerol constituem uma família de lipídios aparentados com os TG, formados por 2 ácidos graxos esterificados nas posições 2 e 3 do glicerol, e uma longa cadeia alquil ou alquenil ligada por enlace éter na posição 1 do glicerol (Malins et al., 1965). Devido à sua semelhança com os Triacilgliceróis, estes compostos passaram despercebidos por muitos anos, sendo evidenciados pelos métodos cromatográficos refinados.

Atualmente, é aceito que estas substâncias são componentes normais de espécies de águas profundas, nas quais, às vezes, representam a principal classe lipídica dos músculos (Ackman, 1980 e 1982; Hayashi e Takagi, 1978; Mori et al., 1978; Malins et al., 1965).

A figura 84A mostra a estrutura geral e alguns tipos de cadeias R.

As funções específicas destes compostos são praticamente desconhecidas, porém sua abundância em espécies demersais permite supor que elas tenham a ver com o mecanismo de adaptação da vida em regiões profundas.

A figura 84B contém vários álcoois graxos de insaponificável, liberados pela hidrólise dos ésteres dos quais participavam (ceras). Os mais comuns são álcoois simples como cetílico e oleílico, encontrados no óleo de baleia e tubarão, embora haja, também, álcoois-ésteres como o quimílico e batílico, além de

outros, com cadeias de 22 carbonos e altamente insaturadas (Tsuchita, 1961).

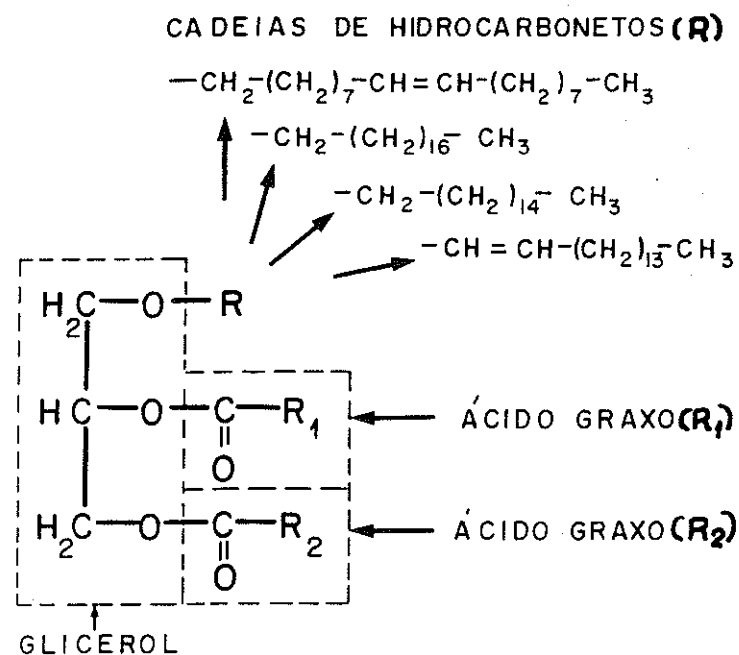
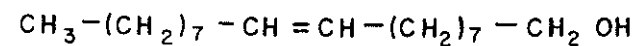


FIGURA 84A - Estrutura dos alquiléteres-diacilgliceróis em óleos marinhos.

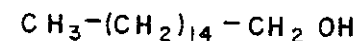
Os óleos de peixes com dietas na base de copépodos, geralmente, se reconhecem pelo teor elevado dos ácidos graxos C20:1 ω_9 e ω_{11} e C22: ω_9 e ω_{11} , como ocorre com os óleos de baleia, arenque, capelin e cavala do atlântico. O de capelin, entretanto, conserva teores importantes dos álcoois C20:1 e C22:1 (Ackman, 1982), sugerindo que tenham alguma função não-energética nesta espécie.

Os álcoois batílico, quimílico e selaquílico são substâncias compostas por um resíduo de hidrocarboneto saturado ou insaturado, ligado como éter ao carbono 1 do glicerol.

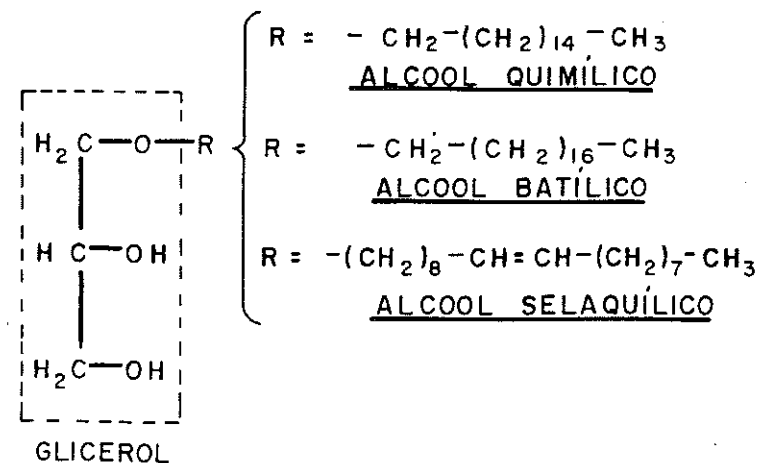
A utilização de hidrocarbonetos, em estruturas versáteis, parece ser um dos principais mecanismos de adaptação das criaturas marinhas para a sobrevivência em águas profundas.



ALCOOL OLEÍLICO



ALCOOL CETÍLICO



Fonte: Tsuchita (1961).

FIGURA 84B - Álcoois graxos simples e complexos encontrados em óleos de baleia e tubarões (Tsuchita, 1961).

12.2.1.7 - Ceras

As ceras de origem marinha resultam da esterificação de um ácido graxo poliinsaturado de cadeia longa (C20:5, C22:5, C22:6) com um álcool graxo monoinsaturado, que nos copépodos tem 20 ou 22 carbonos, embora nas baleias possa ter 16 ou 18 carbonos. Na figura 85, aparece a fórmula típica de uma cera de origem marinha.

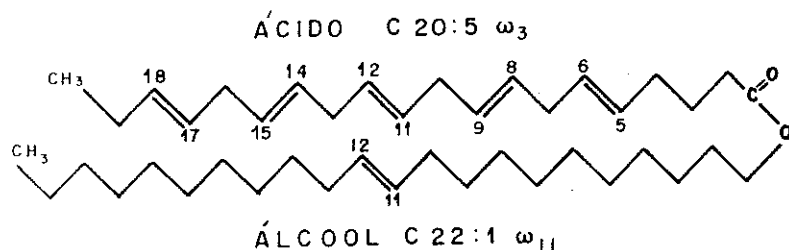


FIGURA 85 - Estrutura de uma cera de origem marinha.

As ceras são de ocorrência comum nos organismos do zooplâncton, particularmente da ordem Copépoda, que acumulam, também, triacilgliceróis. A preferência pelas ceras, aparentemente, apresenta algumas vantagens, visto que o seu coeficiente de exposição térmica é maior que o dos triacilgliceróis, o que facilitaria sua movimentação vertical noturna desde o fundo até a superfície, onde encontram fitoplâncton para sua alimentação (Benson e Lee, 1981). Devido à importância da função hidrostática, as ceras são utilizadas como energia só quando os outros lipídios estão esgotados.

Geralmente, as algas não contêm álcoois graxos de modo que a síntese das ceras ocorreria no segundo nível trófico. Os peixes e invertebrados maiores consomem o zooplâncton, porém eles não acumulam ceras, que são hidrolisadas por uma lipase pancreática localizada nos cecos pilóricos. O ácido graxo da cera é transferido para triacilgliceróis, e o álcool graxo é oxidado para o ácido graxo correspondente (Ackman, 1980 e 1982). O ácido C22:1 ω_{11} seria, então, reesterificado em triacilgliceróis, originando a composição típica do óleo de arenque do Atlântico, do espadim e outras espécies que se alimentam quase exclusivamente de copépodos.

Os peixes dos elos superiores não acumulam ceras, porém alguns animais de águas mais profundas (baleia spermacetti, lulas, tubarões) apresentam teores relativamente elevados (Benson e Lee, 1982).

12.2.2 - Lipídios Polares (LP)

São formados pelos lipídios de estrutura, perfazendo entre 5 e 50% dos lipídios totais. Um valor de 10% é comum em muitos tecidos, porém sua porcentagem é dependente do teor de triacilgliceróis (lipídios de reserva); com os quais têm uma relação inversa.

12.2.2.1 - Fosfolipídios (FL)

No campo da tecnologia de alimentos, os fosfolipídios são interessantes por suas propriedades emulsificantes. Do ponto de vista bioquímico, porém, eles são importantes por sua participação como o principal componente de membranas celulares, coberturas de lipossomas, lipoproteínas e outras micropartículas gordurosas.

Tanto a importância tecnológica quanto a biológica baseiam-se na característica de possuir, numa mesma molécula, uma região apolar e uma cabeça polar que permite a estes compostos servir de ligação entre meios hidrofílicos e hidrofóbicos. A estrutura do tipo sabão promove a formação de bi-camadas de moléculas de maneira espontânea.

As coberturas ou membranas de fosfolipídios incorporam outras moléculas que são acomodadas entre os bolsões hidrofóbicos ou hidrofílicos da dupla camada, como pode ser observado na idealização gráfica da figura 86, desenhada na base das descrições da literatura.

A região hidrofóbica da dupla camada separa o núcleo da partícula do meio externo aquoso (plasma, fluido extracelular, etc.). As substâncias hidrofóbicas passam com facilidade, porém as polares quase não são capazes de difundir por entre as cadeias de hidrocarbonetos dos ácidos graxos. A difusão de íons, como Na^+ , K^+ ,

Cl⁻, aminoácidos e substâncias aquissolúveis não-iônicas, como glicose, uréia, glicerol e outras, demora muito tempo. Em contraste, a água difunde relativamente rápido, provavelmente, impulsionada pela diferença de concentração de moléculas de água, muito maior no meio externo que no meio interno (Rawn, 1989).

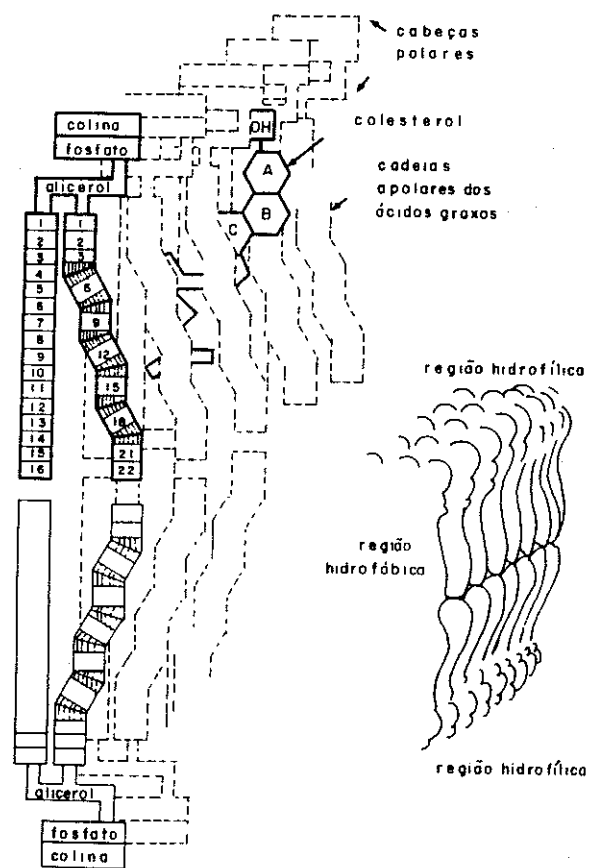


FIGURA 86 - Idealização de um arranjo de fosfolípidios de origem marinha formando uma membrana. A dupla camada típica destas estruturas, pode incluir moléculas de colesterol.

A inclusão de ácidos graxos poliinsaturados nas moléculas de fosfolípidios, devido à ingestão de óleos marinhos, causa mudanças importantes na permeabilidade das membranas, devido aos ácidos graxos com ligações duplas terem cadeias com inclinações variadas, como é detalhado no item dos ácidos graxos (12.4.1), o que impede que as cadeias hidrocarbônicas fiquem muito empacotadas. A estrutura mais solta não apenas permite o fluxo mais rápido de substâncias, mas, também, permite abrigar o colesterol e as apoproteínas de maneira diferente na membrana e, com isso, modificar a afinidade da partícula pelo colesterol esterificado, vitaminas lipossolúveis, mono e diglicerídios e outros lípidios.

Os fosfolípidios são ésteres de glicerol cujas posições 1 e 2 estão preenchidas por ácidos graxos de origem marinha e a posição 3 por ácido fosfórico que, por sua vez, pode estar esterificado com aminoácidos, álcool aminas, bases de amônio quaternário, glicídios e inositol. A remoção do ácido graxo nas posições 1 ou 2, catalisada pela fosfolipase A1 e A2, respectivamente, dá origem a lisocompostos que são encontrados, comumente, junto com fosfolípidios inalterados.

A figura 87 mostra um resumo de fórmulas químicas de fosfolípidios encontrados em extratos de tecidos animais.

A espécie molecular mais abundante nos organismos marinhos e de água doce é a fosfatidilcolina, seguida pela fosfatidiletanolamina. Em tecidos não musculares, pode haver predomínio de outras estruturas, porém, as duas mencionadas, raramente, deixam de participar, qualquer que seja o tecido sob pesquisa.

A tabela 69 mostra uma recopilação de análises de fosfolípidios totais e individuais em relação ao teor de gordura total de alguns peixes marinhos e de água doce.

Da tabela anterior, é possível deduzir que os fosfolípidios dos pescados marinhos perfazem $0,73 \pm 0,11\%$ do peso do músculo; o desvio-padrão baixo indica que estes compostos são tão importantes que não são afetados pela espécie nem por condições nutricionais adversas, como tem sido demonstrado em inúmeros trabalhos (Satto et al., 1984).

Nos peixes de água doce, os valores da tabela são um pouco mais baixos, porém é provável que seja resultado da técnica analítica, pois não há razões para se esperar variações importantes em ambos os grupos de peixes.

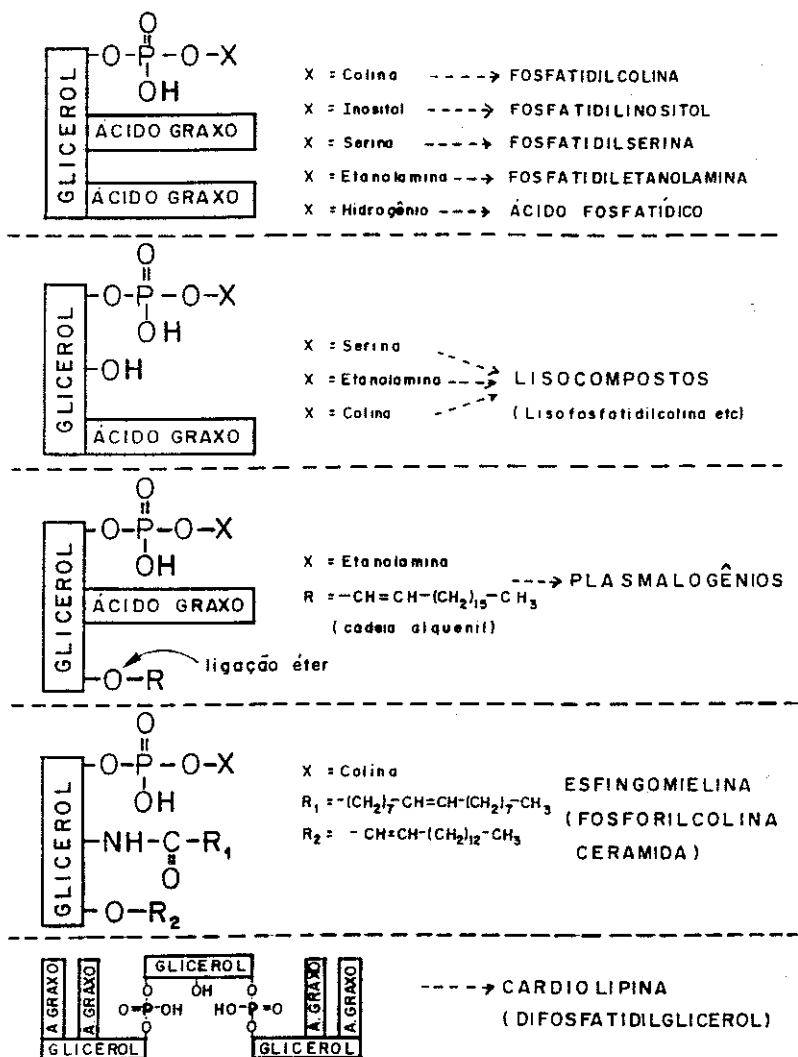


FIGURA 87 - Representação esquemática da estrutura de alguns lipídios contendo fósforo (fosfolipídios) de origem animal e vegetal.

TABELA 69 - Teores de gordura e fosfolipídios de peixes marinhos e de água doce.

Espécies	Gordura (g/100 g)	Fosfolipídios (mg %)	(*)	Referências
Espadim (<i>S. spratus</i>)	13,48	850	(6,75)	Hardy, Mackye (1969)
Cavalinha (<i>S. scombrus</i>)	14,28	880	(9,75)	Hardy, Keay (1972)
Samão sockeye (<i>O. nerka</i>)	1,65	690	(41,9)	Whitset et al. (1986)
White sucker (<i>C. commersoni</i>)	1,60	370	(22,6)	Mai, Kinsella (1979)
<i>Eltropius suratensis</i> (água doce)	1,90	700	(3,68)	Nair, Gopokumar (1981)
Bagre-de-canal (<i>Ictalurus punctatus</i>)	9,0	167	(1,86)	Gibson, Worthington (1977)
Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>)	11,0	583	(5,30)	Maia (1992)
Tambaqui (<i>C. macropomum</i>)	6,0	522	(8,7)	Maia (1992)
Corimbatá (<i>P. scrofa</i>)	6,0	708	(11,8)	Maia (1992)
Tilápia (<i>O. niloticus</i>)	1,4	449	(32,1)	Kim, Lee (1986)
Snakehead (<i>Chana argus</i>)	1,2	300	(25,0)	Hazzel (1979)
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	1,5	315	(21)	

(*) os números entre parênteses correspondem a fosfolipídios por 100 g de gordura.

A expressão dos fosfolipídios em g/100 g de gordura resulta em dados muito variáveis, com valores baixos para as espécies gordas e elevados para as magras, nas quais os fosfolipídios podem perfazer até 80% dos lipídios totais musculares.

A tabela 70 apresenta as percentagens dos fosfolipídios individuais dos extratos de fosfolipídios musculares de alguns peixes marinhos e de água doce

TABELA 70 - Componentes individuais da fração fosfolipídica muscular de alguns peixes marinhos e de água doce.

ESPÉCIES	FOSFOLIPÍDIOS INDIVIDUAIS (g/100g de fosfolipídios totais)					Outros	REFERÊNCIAS
	FC	FE	FI	FS	ESF		
Salmão sockeye (<i>O. nerka</i>)	88	12	—	—	—	—	Whitset et al. (1983)
Merluza (<i>M. merluccius</i>)	63	21	—	—	—	—	Dekoning (1966)
Atum	54,0	23,0	—	—	—	—	Shuster et al. (1964)
White sucker (<i>C. commersoni</i>)	38,3	27,0	107	—	6,5	13	Mai, Kinsella (1979)
<i>Etrapius suratensis</i> (de água doce)	57,9	14,9	—	7,8	—	3,1	Nair, Gopokumar (1981)
Snakehead (<i>Chana argusi</i>)	65,0	28,0	—	—	—	—	Kim e Lee (1986)
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>)	84,0	—	—	—	—	—	Hazel (1979)

FC (fosfatidilcolina);

FI (fosfatidilinositol);

ESF (esfingolipídios);

FE (fosfatidiletanolamina);

FS (fosfatidilserina);

outros (lisofosfolipídios).

Da tabela 70, verifica-se que a fosfatidilcolina (FC) é a espécie molecular mais abundante, perfazendo, no grupo de peixes marinhos, $62,7\% \pm 12,8\%$ dos fosfolipídios musculares, seguida da fosfatidiletanolamina (FE) com $19,2 \pm 14,7\%$. Van der Thillart e De Bruin (1981) encontraram que a soma FC + FE + CAR perfaz quase 90% dos fosfolipídios do goldfish (*Carassius auratus*) e essa relação parece cumprir-se na maioria das espécies, tanto de água doce quanto marinha.

A separação e quantificação dos fosfolipídios simplificou-se com a técnica TLC/FID. Neste método, a camada do suporte está aplicada numa haste fina de quartzo (cromarods), geralmente de sílica gel. O material é separado na haste por cromatografia em câmaras pequenas com solventes convencionais e queimado num detector de chama (FID), sendo obtido um cromatograma.

O método permite acompanhar pequenas mudanças dos fosfolipídios em estudos de melhoramento genético, hidrólise de lipídios na armazenagem e outras pesquisas originalmente acompanhadas por TLC convencional.

A FC e a FE existem em relações entre 2:1 e 3:1, embora estas proporções possam ser alteradas por mudanças no "habitat" (Wodkte, 1978). A readequação pode ser realizada pela descarboxilação da fosfatidilserina que, por metilação exaustiva do N resulta em fosfatidilcolina.

A diminuição da temperatura causou uma diminuição da FC e um aumento concomitante da FE no goldfish (Van der Thillart e De Bruin, 1981). Outra situação que induz a readequação do conjunto de fosfolipídios são as mudanças de salinidade. Os fosfolipídios das brânquias têm a função preponderante de regular as trocas de íons para manter a isotonicidade, particularmente no intervalo em que os outros mecanismos de regulação não estejam ativados (modificação da concentração de aminoácidos livres).

As propriedades dos fosfolipídios são influenciadas não apenas pelo grupo ligado ao fosfato, mas também, pelo comprimento e grau de insaturação dos ácidos graxos.

A presença do ácido C22:6 ω 3 parece ser imprescindível na conformação das membranas animais, particularmente naqueles tecidos com funções altamente especializadas (tecido cerebral, do nervo óptico, etc.). Os ácidos graxos dos fosfolipídios são abordados no item 12.4.3.

12.2.2.2 - Glicolipídios (GL)

É classificado como glicolipídio qualquer composto que tenha uma ou mais moléculas de carboidratos ligadas a um resíduo lipídico, mediante glicerol. Geralmente, são mais abundantes em plantas que em animais, nos quais têm funções altamente especializadas.

A figura 88 mostra as fórmulas estruturais dos glicolipídios mais comuns de tecidos animais e vegetais (algas).

Os monogalactosil e digalactosil diglicerídios (MEDG e DGDG) e os lipídios sulfatados (SL) são encontrados em todas as classes de algas, independentemente de o "habitat" ser salino ou de água doce (Pohl e Zurheide, 1979).

Nas algas tipo planta superior, geralmente magras, há teores elevados de glicolipídios, cujos ácidos ingressam na cadeia alimentar via animais herbívoros.

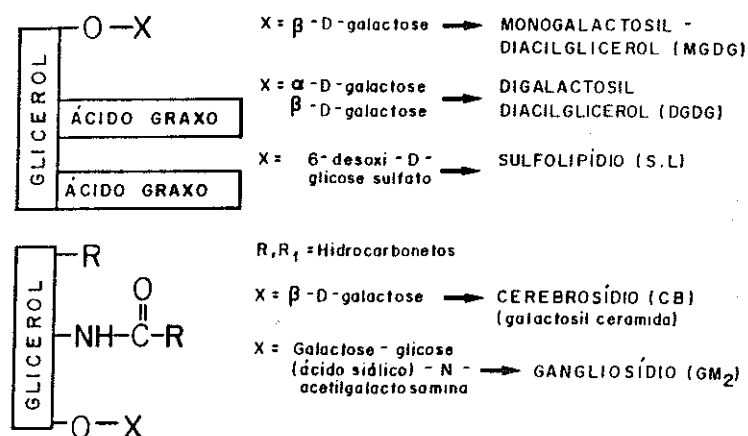


FIGURA 88 - Representação esquemática da estrutura de alguns lipídios contendo carboidratos (glicolipídios) de origem vegetal e animal.

Os MGDG concentram os ácidos graxos mais poliinsaturados do conjunto existente nos lipídios totais. Os MGDG das diatomáceas, têm C16:3 e C20:5 em proporções elevadas (Opote, 1975), e a algamarrom *Ficus vesiculosus* tem C18:4 e C20:5 em proporções muito maiores que nos DGDG, SL e TG (Jamieson e Ried, 1972). Nas criptofíceas, o C18:4 pode perfazer 75% dos ácidos graxos (Beach et al., 1970).

Os glicolipídios vegetais MGDG, DGDG e SL são os mais abundantes, porém não os únicos; algumas algas da classe Phaeophyceae têm compostos contendo glicose, glicosil-sulfatos, glicosil-fosfatos e ésteres sulfatados de álcoois com 18, 20 e 30 carbonos (Pham Quang e Laur, 1976 a e b).

Nos vegetais terrestres, os glicolipídios são muito importantes, tanto na estrutura dos cloroplastos quanto na constituição das sementes. No grão de trigo, os glicolipídios existem principalmente como lipídios não-amídicos (non starch lipids), perfazendo 26% dos totais, enquanto que os fosfolipídios só perfazem 15%. Contrariamente, nos lipídios ligados ao amido, predominam os fosfolipídios (89%). Os principais glicolipídios (galactosil diglicerídios) são altamente insaturados, contendo 83% de ácido linoléico e 7% de linolênico (Morrison, 1978).

Com exceção dos peixes frugívoros, a maior parte dos herbívoros alimenta-se das algas completas e não apenas de sementes, portanto a composição dos lipídios reflete à do organismo inteiro, seja das macroalgas quanto das fitoplanctônicas.

Na tabela 71, mostra-se a composição de 3 algas marinhas de um conjunto de 24, analisadas por Dubinsky et al. (1978), de uma alga filamentosa (B) de uma mistura de algas unicelulares (A), principalmente diatomáceas de água doce, pesquisadas por Benitez e Gorriceta (1985).

TABELA 71 - Classes de lipídios de algumas algas marinhas e de água doce expressos na base da matéria seca ou dos lipídios totais (LT).

"Habitat" das Algas	Lipídios Totais (LT) (g/100 g M. seca)	Lipídios Neutros (g/100 g LT)	Glicolipídios (g/100 g LT)	Fosfolipídios (g/100 g LT)
MARINHAS				
1) <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	31,0	14	39	47
2) <i>Diatomea</i> n°. 9	28,8	60	20	21
3) <i>Diatomea</i> PB ₄₈	35,2	46	44	10
ÁGUA DOCE				
4) Complexo unicelular (A)	4,6	50,9	10,2	38,9
5) Alga filamentosa (B)	3,3	46,2	15,4	38,4

As algas, de origem marinha, geralmente, apresentam teores altos de glicolipídios; embora este fenômeno possa ser ocasional, é possível aceitar a hipótese de que as membranas de plantas marinhas precisem de mais tipos e teores diferentes de lipídios estruturais que as de água doce.

Os glicolipídios de origem animal são estruturalmente diferentes dos vegetais, particularmente pela presença do grupo amino no carbono 2 e do longo hidrocarboneto ligado diretamente no carbono 3 do glicerol.

As funções dos cerebrosídios (glicoesfingolipídios) e dos gangliosídios são altamente especializadas, participando dos tecidos cerebrais, nervosos, das membranas dos eritrócitos, da estrutura dos receptores da acetilcolina (Rawn, 1989) e de outras estruturas.

Nos músculos de peixes, os glicolipídios existem em quantidades relativamente baixas e algo maiores no fígado. No músculo, como sistema alimentar, os glicolipídios têm pouca influência nas propriedades funcionais e energéticas.

A tabela 72 permite formar uma idéia das proporções entre glicolipídios e fosfolipídios, nos extratos de lipídios totais de alguns peixes de água doce.

Da tabela anterior, é possível deduzir que os teores de glicolipídios são relativamente constantes, beirando 2,5% dos lipídios totais, um teor bastante inferior ao dos fosfolipídios que perfazem em torno de 22%. No fígado do milkfish, a relação entre glico e fosfolipídios é bastante próxima da que havia nas dietas A e B; entretando, na gordura muscular, a relação é muito menor, indicando que, nestes tecidos, os fosfolipídios são mais importantes.

O metabolismo dos glicolipídios vegetais nos peixes é pouco conhecido; porém, do experimento de Benitez e Gorriceta (1985), pode-se inferir que uma dieta de algas ricas em glicolipídios se reflete num aumento pequeno, porém contínuo destes compostos no fígado.

Maia (1992) não encontrou glicolipídios na gordura da tilápia, corimbatá, pacu e tambaqui. Possivelmente, a dieta artificial usada na alimentação tinha níveis baixos de glicolipídios. Geralmente, as rações são formuladas com grãos e farelos de grãos sem inclusão da parte foliosa das plantas, que têm muito mais lipídios polares, e que constitui a base da alimentação dos peixes herbívoros no seu meio natural.

A diferença nos hábitos alimentares dos peixes causa mudanças no teor de gordura (maior nos peixes cultivados) e na relação ω_3/ω_6 (maior nos peixes selvagens), além de outras mudanças menores (Tucker, 1992). A ausência de glicolipídios, nos peixes brasileiros cultivados, pode ser inserida no esquema: cultivado vs selvagem.

TABELA 72 - Teores de lipídios totais, glicolipídios e fosfolipídios de músculos e fígado de alguns peixes de água doce.

Espécies	Lipídios Totais (g/100 g de carne)	Glicolipídios (g/100 g LT)	Fosfolipídios (g/100 g LT)
Snakehead (<i>Chana argus</i>) ¹	1.2	3.0	25.0
Carpa (<i>Cyprinus carpio</i>) ¹	1.5	2.0	21.0
Milkfish (<i>Chanos chanos</i>) ²			
(músculo, dieta A)	7,63 ± 1,72	2.19	18.82
(músculo, dieta B)	7,89 ± 1.92	2.56	23.09
Milkfish (<i>Chanos chanos</i>) ²			
(fígado, dieta A)	2.51 ± 0.56	5.21	27.92
(fígado, dieta B)	2.66 ± 0.70	5.66	35.34

(1) Kim e Lee (1986);

(2) Benitez e Gorriceta (1985);
Dietas A e B, ver o texto.

12.3 - Ácidos graxos (AG)

Os AG formam parte da maioria das classes de lipídios, aparecendo esterificados com glicerol, esfingostina, esteróis, xantofilas, álcoois graxos, vitamina A e outros compostos menores. De fato, não constituem uma classe, pois aparecem em quase todas as outras, exceto quando considerados como AG livres, uma fração pequena em todos os extratos lipídicos.

Face a que, a participação dos AG nas moléculas dos lipídios complexos (saponificáveis), praticamente, define as características físicas e químicas desses compostos; o estudo dos AG constitui um dos capítulos mais aprofundados e melhor sucedidos na história da química de lipídios.

Os parâmetros típicos que definem qualquer AG aparecem no esquema seguinte:

- a) Comprimento nas cadeias;
- b) Grau de insaturação;
- c) Presença de metilas ramificadas na cadeia normal;
- d) Posição da ligação dupla em relação ao grupo metila final;
- e) Isomeria cis-trans.

A revisão da literatura permite antecipar uma idéia global sobre quais são as diferenças básicas, avaliadas pelos parâmetros acima citados, entre os AG de animais marinhos, de plantas oleaginosas e de animais de sangue quente.

a) As gorduras marinhas apresentam uma diversidade maior no comprimento das cadeias dos AG que inclui, simultaneamente, ácidos relativamente curtos com 14 carbonos e de cadeia longa, até com 24 carbonos, em teores quantificáveis e não apenas a nível de traços.

b) As gorduras marinhas apresentam uma gama maior de AG insaturados que vão desde 1 até 6 ligações duplas. Além da diversidade, a insaturação média das gorduras marinhas é aproximadamente 2 vezes a das gorduras de animais de abate e 1,5 vez a dos óleos vegetais comuns.

c) Aparentemente, nos pescados, há um número maior de isômeros, gerando as estruturas ω_3 , ω_4 , ω_5 , ω_6 , ω_7 , ω_8 e ω_{13} . Nas gorduras marinhas, predomina a ω_3 e, nas de peixes de água doce, a ω_6 , semelhante aos óleos vegetais

d) Os ácidos com cadeia ímpar: 15, 17, 19 e 21 são comuns no fitoplâncton e vegetais superiores, de onde ingressam nos tecidos dos herbívoros, particularmente os de água doce, e dali se distribuem na cadeia alimentar. Geralmente, são saturados, porém o C_{17} e C_{21} existem como insaturados.

e) Os ácidos graxos, com estrutura Iso e Ante-Iso, são bastante comuns nos lipídios marinhos e de peixes de água doce. A maioria são saturados das séries com 14, 15, 16, 17 e 18 carbonos.

A simbologia ω (ou n) é usada por fisiologistas e nutricionistas, pois salienta o caráter do ácido graxo essencial ou não-essencial para animais terrestres (homem) ou marinhos. A nomenclatura usada por químicos numera o carbono com dupla ligação em relação ao carbono do carboxila (1), a fim de salientar as propriedades estruturais. O ácido clupanodônico seria $C22:5\omega_3$, no primeiro sistema e ácido $C22:5\Delta^7, \Delta^{10}, \Delta^{13}, \Delta^{16}, \Delta^{19}$, no segundo sistema.

A tabela 73 mostra um esquema da estrutura ω em ácidos graxos de ocorrência freqüente nos óleos marinhos, citando exemplos de AG que possuem esta estrutura.

Os AG com estrutura ω_3 e ω_6 são os mais abundantes na maioria dos pescados marinhos, não assim nos peixes de água doce com estrutura ω_6 , ω_7 e ω_9 , preferentemente.

No óleo de sardinha (*Sardinella brasiliensis*), o ácido eicosapentaenóico ($C20:5\omega_3$) e docosaexaenóico ($C22:6\omega_3$) somam entre 20 e 40% dos ácidos totais, seguidos pelo ácido oléico ($C19:1\omega_9$), palmitoléico ($C16:1\omega_7$) e erúico ($C22:1\omega_9$), isto é, as estruturas ω_3 e ω_9 predominam nos óleos insaturados da sardinha.

É interessante salientar que alguns AG monoinsaturados podem apresentar várias estruturas ω , dependendo dos hábitos alimentares das espécies. O ácido palmitoléico ($C16:1\omega_7$) tem sido, também, encontrado como $C16:1\omega_5$, $C16:1\omega_9$ e $C16:1\omega_{11}$. O ácido

erúico (C22:1 ω_9) pode ocorrer como ω_7 e ω_{11} . Esta possibilidade de variação diminui, assim que aumenta o grau de insaturação.

TABELA 73 - Estruturas ω de ácidos graxos.

Esquema da cadeia do ácido graxo		Exemplos de AG com estrutura ω específica*
GRUPO METILA (último carbono) ↓	GRUPO CARBOXILA (primeiro carbono) ↓	
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{---C}^1\text{OOH}$ └─ ω_3 ─┘		C16:3 C18:3, C18:4 C20:3, C20:4, C20:5 C22:4, C22:5, C22:6
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{---C}^1\text{OOH}$ └─ ω_4 ─┘		C16:2, C16:3, C16:4 C22:4
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{---C}^1\text{OOH}$ └─ ω_5 ─┘		C16:1
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{---C}^1\text{OOH}$ └─ ω_6 ─┘		C18:2, C18:3 C20:2, C20:3, C20:4 C22:5
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{---C}^1\text{OOH}$ └─ ω_7 ─┘		C16:1, C16:2 C18:1 C20:1 C22:1
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_7\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{---C}^1\text{OOH}$ └─ ω_9 ─┘		C16:1 C18:1 C20:1 C22:1 C24:1
$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_9\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{---C}^1\text{OOH}$ └─ ω_{11} ─┘		C16:1 C18:1 C20:1 C22:1

* - Ackman (1982); Maia (1992).

AG com estruturas ω_1 (C16:4 e C18:4) e ω_9 (C17:1) têm sido encontradas ocasionalmente.

Ainda que tenham sido identificados cerca de 90 AG nos óleos de peixes (Maia, 1992), não mais de 20 excedem 1% e apenas 9 ou 10 existem em quantidades suficientes para influir nas propriedades físicas ou químicas das gorduras. Estes ácidos são: ácido palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), palmitoléico (C16:1 ω_7), oléico (C18:1 ω_9), ácido 7-eicosenóico (C20:1 ω_7), araquidônico (C20:4 ω_6), timnodônico (C20:5 ω_3), clupanodônico (C22:5 ω_3) e docosaexaenóico (C22:6 ω_3).

12.3.1 - Influência das ligações duplas na estrutura e propriedades físicas dos glicerídeos

Os AG de origem marinha apresentam as ligações duplas com estrutura **cis**, a menos que tenham sido parcialmente hidrogenados. A estrutura **cis** da ligação dupla produz uma inclinação de cerca de 30° na coluna vertebral do ácido graxo, formando dobras a cada ligação dupla. Por isso, a estrutura ω_3 produz uma forma diferente da ω_6 e, nos ácidos altamente poliinsaturados, as numerosas dobras alteram profundamente o comprimento efetivo das cadeias e a estrutura espacial dos lipídios, o que deve ter uma grande influência na conformação das biomembranas.

É importante salientar que o menor ponto de fusão dos ácidos de estrutura **cis** confere às membranas uma maior fluidez (plasticidade) em temperaturas baixas, que é proporcional ao conteúdo de ácidos poliinsaturados dos fosfolipídios. Nas gorduras dos depósitos, a estrutura **cis** e o número elevado de ligações duplas permitem que as gorduras marinhas sejam líquidas (óleos).

Semelhantes aos ácidos graxos de origem vegetal, os marinhos apresentam, também, estrutura metileno-interrompida, como é mostrado na figura 89 para o ácido eicosapentaenóico (C20:5 ω_3).

Por efeito da distribuição eletrônica vizinha, os metilenos entre duas ligações duplas têm tendência a formar radicais livres (R·, H·), o que implica agrupamentos altamente reativos, que respondem pela suscetibilidade à oxidação, polimerização oxidativa, produção de voláteis e outros fenômenos deteriorativos associados aos óleos marinhos.

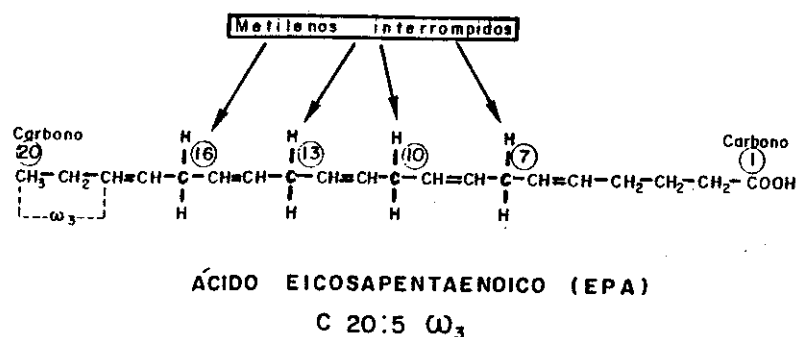


FIGURA 89 - Número e posição dos grupos metilénicos interrompidos no ácido eicosapentaenoico.

A figura 90 mostra uma idealização gráfica de vários ácidos graxos a fim de salientar a conformação espacial que poderiam assumir. Certamente, na molécula dos lipídios (fosfolipídios, triacilgliceróis, etc.) a conformação será o resultado do efeito dos grupos adjacentes; porém, pode-se aceitar que as dobras do ácido poliinsaturado, comumente na posição 2 do glicerol, serão críticas para o espaçamento (empacotamento) das moléculas.

O ácido oléico (C18:1 ω_9) tem só uma dobra na metade da cadeia hidrocarbônica; porém, nos isômeros ω_7 e ω_{11} , os segmentos terão comprimentos diferentes, gerando, supostamente, fosfolipídios diferentes para um mesmo ácido graxo.

Nos ácidos poliinsaturados, as possibilidades multiplicam-se. Na figura 90, mostram-se 2 casos extremos: as estruturas da parte inferior ocorreriam se todas as inclinações fossem aditivas, produzindo o encurvamento máximo; as estruturas da parte superior resultariam da compensação das inclinações, fato que é possível pela rotação livre dos carbonos metilénicos. Certamente, haverá inúmeras situações intermediárias, influenciadas pelo maior número de ligações duplas e pelos AG esterificados nos carbonos adjacentes (1 e 3) do glicerol.

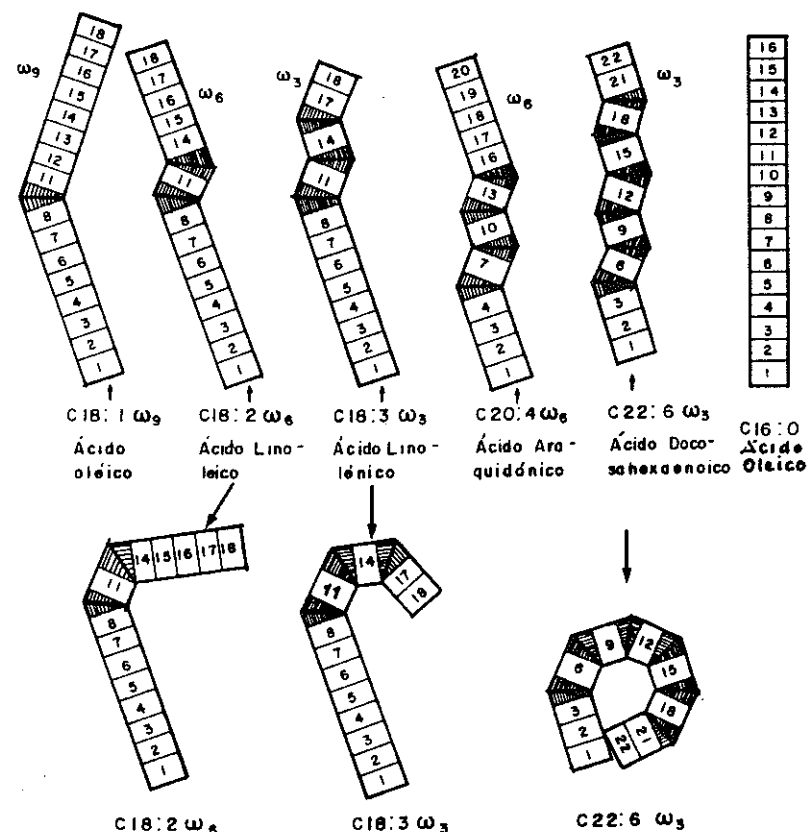


FIGURA 90 - Idealização gráfica das estruturas de alguns ácidos graxos insaturados - cis. Na parte superior da figura, as dobras de 30° em cada ligação dupla são opostas, causando uma compensação entre duas ligações vizinhas. Na parte inferior da figura ilustra-se a estrutura que resultaria se todas as inclinações de 30° fossem aditivas. Um ácido graxo saturado (C16:0) foi incluído para comparação dos comprimentos efetivos dos ácidos graxos poliinsaturados.

12.3.2 - Ácidos graxos de algas

As plantas aquáticas, como as suas congêneres terrestres, são capazes de sintetizar os ácidos graxos necessários para a provisão de energia, biomembranas, esterificações de outros lipídios e outras funções.

A lipogênese ocorre no citoplasma e nos cloroplastos, utilizando a energia do ATP E NADPH produzidos no aparelho fotossintetizante. A condensação de moléculas de acetil COA pelo complexo multienzimático **ácido graxo sintetase** leva em muitos casos diretamente à formação do 16:0 que pode ser aumentado para 18:0, nos cloroplastos (Stumpf, 1975). As algas de água doce e plantas terrestres, com algumas exceções, não sintetizam ácidos graxos com mais de 18 carbonos, enquanto que as algas marinhas acumulam uma gama ampla que vai desde 12 até 24 carbonos (Pohl e Zurheide, 1979).

A síntese de AG insaturados ocorre nos cloroplastos por remoção de hidrogênios de carbonos específicos do ácido saturado respectivo, via dessaturases oxigênicas requerentes, que atuam numa cadeia de transporte de elétrons formada por uma NADH-flavoproteína, a citocromo b_5 redutase, o citocromo b_5 e a dessaturase específica (Rawn, 1989).

As plantas têm dessaturases que subtraem hidrogênios da cadeia saturada dos ácidos palmítico (16:0) ou esteárico (18:0), geralmente nos carbonos 9 e 10, formando a ligação dupla típica do ácido palmitoléico (16:1 ω_7) e oléico (C18:1 ω_9).

Outras dessaturases de plantas podem atuar sobre o C16:1 e C18:1, dando os AG diinsaturados C16:2 (ω_4 ou ω_6) e C18:2 (ω_6 ou ω_8), e estes podem servir de base para outras dessaturações que resultariam em C16:3 (ω_3 ou ω_5) e C18:3 (ω_3 ou ω_7). O C18:4 ω_3 representa a dessaturação máxima da cadeia C18 e ocorre, frequentemente, em algas de "habitat" tropical ou cultivadas a temperatura relativamente alta (Seto et al., 1984).

As algas marinhas, diferentemente das de água doce e plantas superiores, produzem quantidades elevadas de ácidos poliinsaturados com 20 e 22 carbonos, além de produzir, também, insaturados com 14, 16 e 18 carbonos (Pohl e Zurheide, 1979). A regulação do comprimento e poliinsaturação dos AG parece formar parte do mecanismo adaptativo das algas ao ambiente marinho.

Os peixes não sintetizam ácido linoléico (C18:2 ω_6) nem linolênico (C18:3 ω_3), que comportam estruturas essenciais para síntese de poliinsaturados de cadeia longa e alguns hormônios; portanto, devem ser fornecidos no alimento.

Os ácidos graxos, convertidos em triacilgliceróis, glicolipídios e fosfolipídios, são armazenados nos cloroplastos. Teores elevados de lipídios são encontrados em microalgas fotossintetizantes, particularmente nas de origem marinha. Nas algas tipo planta superior (macroalgas), o teor de lipídios é, geralmente, baixo (Berner et al., 1982).

A composição de ácidos graxos de uma mesma espécie de alga apresenta uma grande variabilidade que tem sido atribuída às condições de crescimento como disponibilidade de nitrogênio (NO_3^- , NH_4^+), temperatura, intensidade luminosa, salinidade e senescência (Pohl e Zurheide, 1979). Nas algas produzidas no meio natural, é praticamente impossível controlar estes parâmetros; portanto, a maior parte da informação disponível corresponde a algas cultivadas.

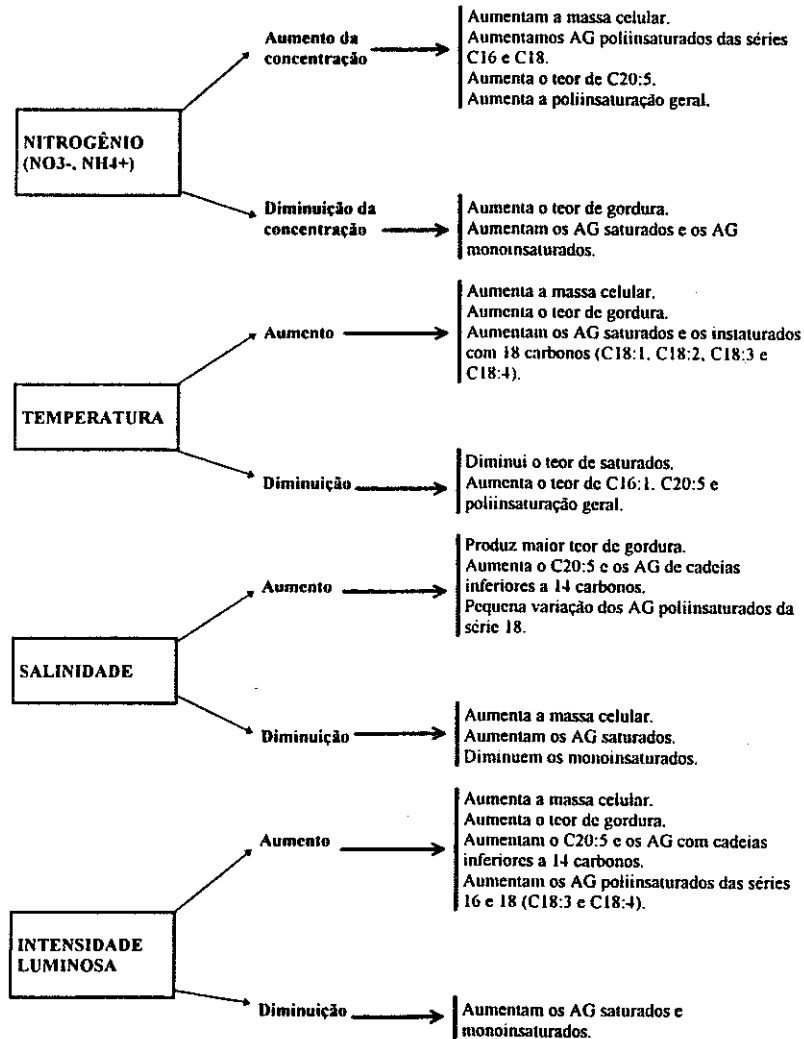
Os valores de lipídios relatados por Berner et al. (1982), obtidos com um número representativo de espécies, permite ter uma idéia da amplitude das variações por classe biológica: a Bacillariophyceae (diatomáceas) apresentou entre 2 e 44% de lipídios, com uma média de 17%; a Dinophyceae (dinoflageladas) entre 3 e 36%, com uma média de 17%; a Chlorophyceae (algas verdes) entre 0 e 70%; a Chrysophyceae entre 29 e 35%, e a Euglenophyceae teve entre 10 e 37% de lipídios.

A classe Phaeophyceae (algas marrons) e a Rhodophyceae (algas vermelhas), geralmente com estrutura de planta superior, apresentaram teores baixos, próximos de 3% de lipídios.

O teor de carboidratos das microalgas fotossintetizantes é baixo, como resultado de teores elevados de lipídios e proteínas. Parson et al. (1961) detalharam a composição química de 11 algas do fitoplâncton marinho, cuja média resultou em 39,2% de proteínas, 22% de carboidratos e 8,3% de lipídios por 100 g de matéria seca.

Os fatores que afetam o crescimento, produzem efeitos diferentes na quantidade de massa celular, no teor de gordura e na composição de ácidos graxos, como pode ser observado na tabela 74, elaborada com dados de Satto et al. (1984) e Pohl e Zurheide (1979).

TABELA 74 - Efeitos mais importantes da variação de algumas condições de cultivo nos lipídios e massa celular de microalgas fotossintetizantes.



Da tabela 74, conclui-se que é possível manipular a composição de AG por vários agentes, mudando a poliinsaturação e o comprimento da cadeia hidrocarbônica e, com isso, o ponto de fusão da gordura. A fluidez dos AG, certamente, reflete-se nas propriedades biológicas das membranas que acumulam, preferentemente, C20:5 ω_3 , C18:2 ω_6 , C18:3 ω_3 e C22:6 ω_3 . Nas algas marinhas, o C22 ω_6 é menos ubíquo que o C20:5 ω_3 e nas algas de água doce, está praticamente ausente. O aumento do EPA na *Chlorella minutissima* ocorre paralelo com um aumento de ácidos graxos de cadeia curta (≤ 14 carbonos) [Seto et al., 1984], o que apóia a hipótese de que a manutenção da fluidez (permeabilidade) das membranas é conseguida pela alteração do comprimento e da poliinsaturação dos AG, seja nos animais ou nos vegetais marinhos.

12.3.2.1 - Ácidos graxos de lipídios de algas marinhas

A composição de AG das algas marinhas apresenta, à primeira vista, diferenças pequenas entre as diversas classes, particularmente se as comparações forem feitas com um número reduzido de amostras. Entretanto, uma visão mais abrangente permite verificar que as classes apresentam blocos de AG característicos que se tornam evidentes apesar dos fatores ambientais destacados na tabela 74.

Os AG mais concentrados de cada classe estão resumidos na tabela 75, que foi estruturada na base das publicações de Ackman et al. (1980), Aronson et al. (1980), Berner et al. (1982), Seto et al. (1984), Zuñiga et al. (1983), Navarrete et al. (1989), Rojas et al. (1992) e da excelente recopilação de Pohl e Zurheide (1979).

Aceita-se que o estabelecimento de esquemas de composição de AG de algas tem apenas um valor orientativo, porém, levando em consideração que elas são o primeiro elo da cadeia alimentar, é preciso conhecer essas características gerais para entender a origem e a evolução dos lipídios no zooplâncton e nos peixes herbívoros.

TABELA 75 - Famílias de ácidos graxos quantitativamente mais relevantes em classes de algas de importância na cadeia alimentar.

Classe e Tipo de Alga	Comprimento	BLOCO DE AG PREDOMINANTES			AG mais concentrados
		Saturados	Monoinsaturados	Poliinsaturados	
Bacillariophyceae					
(diatomáceas)	16 carbonos	C16:0	C16:1	C16:2 C16:3 C16:4	C16:0 C16:1 ω_7
Algas	18 carbonos	—	—	—	—
	20 carbonos	—	—	C20:5 ω_3	C20:5 ω_3
fitoplantônicas	22 carbonos	—	—	—	—
Chrysophyceae					
	16 carbonos	C16:0	C16:1	C16:2 C16:3 C16:4	C16:0
Algas	18 carbonos	—	C18:1	C18:2 ω_6 C18:3 ω_3 , ω_6 C18:4 ω_3	C18:1 ω_9 C18:3 ω_3 C18:4 ω_3
fitoplantônicas	20 carbonos	—	—	C20:5 ω_3	C20:5 ω_3
	22 carbonos	—	—	—	—
Dynophyceae					
(dinoflageladas)	16 carbonos	C16:0	—	—	C16:0
Algas	18 carbonos	—	C18:1 ω_9	C18:2 ω_6 C18:3 ω_3 , ω_6 C18:4 ω_3	C18:4 ω_3
fitoplantônicas	20 carbonos	—	—	—	—
	22 carbonos	—	—	C22:6 ω_1	C22:6 ω_1
Chlorophyceae					
(algas verdes)	16 carbonos	C16:0	C16:1	C16:4 C18:2 ω_6 C18:3 ω_3 , ω_6 C18:4 ω_3	C16:0 C18:2 ω_6 C18:3 ω_3
Algas	18 carbonos	—	C18:1	C18:3 ω_3 , ω_6 C18:4 ω_3 C20:5 ω_3	C18:3 ω_3 C18:4 ω_3 C20:5 ω_3
fitoplantônicas	20 carbonos	—	—	—	—
	22 carbonos	—	—	—	—
Phaeophyceae					
(algas marrons)	16 carbonos	C16:0	—	—	C16:0
Tipo				C18:2 ω_6 C18:3 ω_3 , ω_6 C18:4 ω_1	C18:1 ω_9
planta	20 carbonos	—	—	C20:4 ω_6 C20:5 ω_1	C20:4 ω_1 C20:5 ω_1
superior	22 carbonos	—	—	—	—
Rhodophyceae					
(algas vermelhas)	16 carbonos	C16:0	—	—	C16:0
Tipo	18 carbonos	C18:1 ω_9	—	—	C18:1 ω_9
planta	20 carbonos	—	—	C20:4 ω_6 C20:5 ω_3	C20:4 ω_6 C20:5 ω_3
superior	22 carbonos	—	—	—	—
Chlorophyceae					
(algas verdes)	16 carbonos	C16:0	C16:1	C16:3 C16:4	—
Tipo planta	18 carbonos	—	C18:1 ω_9	C18:2 ω_6 C18:3 ω_3 , ω_6 C18:4 ω_3	C18:1 ω_9 C18:3 ω_3 C18:4 ω_2
superior	20 carbonos	—	—	C20:5 ω_3	—
	22 carbonos	—	—	—	—

Os traços (—) significam que os AG não atingem porcentagens mínimas para serem caracterizados como predominantes (8 5,0%).

A observação da figura 82 permite extrair as conclusões seguintes, sem deixar de salientar que se trata de parâmetros orientativos.

- O ácido palmítico é o mais ubíquo e, geralmente, o mais abundante ácido graxo das classes, onde perfaz entre 14,2% (Phaeophyceae) e 26,52% (Dinophyceae), não apresentando variações muito extremas;
- Os membros monoinsaturados e poliinsaturados com 16 carbonos dominam a composição das diatomáceas e são também abundantes nas crisófitas e clorófitas (algas verdes). Nas outras classes, sua contribuição é pouco relevante;
- Os AG com 18 carbonos dominam a composição das dinoflageladas e macroalgas marrons, sendo algo menos abundantes nas algas verdes e nas crisófitas;
- O ácido oléico, geralmente, é mais importante nas macroalgas (tipo planta superior) do que nas fitoplantônicas. Os AG poliinsaturados com 18 carbonos estão presentes em maior proporção nas dinoflageladas e nas algas marrons, onde, aparentemente, substituem os AG poliinsaturados de 16 carbonos. Nas clorófitas e crisófitas não há substituição, mas complementação, com leve predomínio da série 18 sobre a 16;
- Os AG com 20 carbonos, quantitativamente importantes, são o C20:4 ω_6 e ω_3 e C20:5 ω_3 . O primeiro é pouco comum, porém existe em quantidades apreciáveis, de maneira muito específica, nas algas marrons e vermelhas, onde atinge entre 10 e 15%. Nas outras classes, sua contribuição é inexpressiva. O C20:5 ω_3 (EPA) é encontrado em todas as classes estudadas, tornando-se num distintivo do "habitat" marinho. Apresenta grande variação individual, às vezes superando as variações entre classes. O EPA é notavelmente elevado em algas vermelhas (~ 30%) e nas

marrons (~ 19%). Nas outras classes, os valores médios estão entre 5 e 15%, mas em amostras individuais, podem existir valores próximos de 40%. O ácido C20:1 tem sido relatado como típico das *Crysophyceae* (Pohl e Zurheide, 1979);

f) Os AG com 22 carbonos aparecem nas algas com menor frequência que nos animais marinhos. Os mais abundantes, em termos relativos, são o C22:5 ω_3 e C22:6 ω_3 , cuja soma não chega a 5% dos AG na maioria das classes, embora com uma notável exceção: a classe *Dinophyceae*, que apresenta em torno de 20% de C22:6 ω_3 , uma porcentagem excepcionalmente elevada, só comparável aos valores de peixes de níveis tróficos superiores. O alto teor de ácido docosaexaenóico (DHA) ocorre com um decréscimo notável do EPA, causando a inversão da relação EPA/DHA nas dinoflageladas;

g) Ocasionalmente, determinam-se ácidos graxos com cadeias menores de 14 carbonos (C10:0, C12:0), porém sempre abaixo de 5%. O C14:0 (mirístico) é comum em todas as classes e, geralmente, perfaz entre 5 e 10%. As algas marrons apresentam os teores mais elevados. O C14:1 (miristoléico) acompanha o C14:0, porém, em teores abaixo de 1%.

12.3.2.2 - Ácidos graxos de algas de água doce

A composição de AG das algas de água doce é relativamente próxima da encontrada nas plantas terrestres. Certamente, a composição de AG também é influenciada pela temperatura, iluminação, senescência, compostos nitrogenados dissolvidos, etc., de modo que as comparações devem ser cautelosas, apenas com o intuito de ilustrar o que é diferente nas algas halófitas e nas dulcícolas. Este conhecimento é importante, pois muitos peixes brasileiros de rios e lagoas são

herbívoros e sua gordura terá relação com a composição de AG dos lipídios dietários.

A tabela 76 reúne a composição de AG de duas algas de água doce e duas marinhas incluídas para comparação.

TABELA 76 - Comparação entre a composição de AG de algas de água doce e de origem marinha.

Ácido Graxo	<i>C. brachigona</i> ¹	Complexo unicelular ²	<i>Enxuvella</i> ³	<i>Chaetoceros</i> ⁴
C10:0	0,25	2,00	—	0,6
C12:0	0,94	1,14	—	6,3
C14:0	9,04	10,36	3,0	—
C15:0	2,83	2,65	—	11,0
C16:0	26,69	20,72	26,0	21,2
C16:1 ω_7	10,22	9,43	2,0	2,9
C16:2 ω_4	5,06	6,26	1,0	8,7
C16:3	—	—	—	—
C17:0	6,41	6,50	—	—
C17:1 ω_7	0,50	1,90	—	—
C18:0	17,42	15,71	10,0	0,1
C18:1 ω_7	16,56	15,36	5,0	3,4
C18:2 ω_6	2,09	1,90	9,0	0,5
C18:3 $\omega_3 + \omega_6$	0,31	4,06	2,0	0,5
C18:4 ω_3	—	—	8,0	0,1
C20:1 ω_9	—	—	—	—
C20:2 ω_6	—	—	—	—
C20:3 ω_6	—	0,87	—	—
C20:4 ω_6, ω_3	0,10	—	—	1,7
C20:5 ω_3	—	—	4,0	20,8
C22:3 ω_6	—	—	—	—
C22:5 ω_3	0,75	—	—	3,7
C22:6 ω_3	—	—	12,0	—

(1) Benitez e Gorriceta (1985): *Chaetomorpha brachigona*, alga verde de água doce, filamentosa;

(2) Benitez e Gorriceta (1985): mistura de algas unicelulares incluindo diatomáceas de água doce;

(3) Harrington et al. (1970): *Enxuvella* sp. alga dinoflagelada marinha;

(4) Chuecas e Riley (1969): *Chaetoceros septentrionale*, alga diatomácea marinha.

As algas da tabela 76 representam casos extremos, exclusivamente de água doce ou marinha, evitando as halotolerantes que têm comportamento ambíguo. As algas de água doce de ambiente tropical apresentam teores elevados de ácidos saturados e monoinsaturados das séries 16 e 18, aproximando-as das gorduras de plantas, embora nestas, a abundância de ácido esteárico não seja comum. O elevado teor de saturados (~ 60%) poderia ser explicado pela adaptação às temperaturas altas (~ 35°C) em que elas foram coletadas ou então indicar uma certa preferência pela utilização dos ácidos poliinsaturados para energia, o que depletaria os ácidos C18:2 e C18:3, pois teores tão baixos destes ácidos (7,5,0%) não são comuns em vegetais terrestres.

Considerando que a *C. grachigona* e o complexo unicelular apresentam teores baixos de gordura (1,58 e 1,53%, respectivamente), é preciso admitir que a composição de AG da tabela anterior reflete preferentemente lipídios estruturais e não gordura de reserva.

Nesse caso, os fosfolipídios e glicolipídios devem ter uma composição incomumente saturada, completamente diferente da encontrada nos lipídios polares de peixes e invertebrados marinhos.

Quanto ao comprimento das cadeias dos AG, as algas de água doce não parecem ter meios para alongá-las mais de 18 carbonos, numa demonstração de sua proximidade filogenética com as plantas terrestres que, com raras exceções, apresentam ácidos graxos com mais de 20 carbonos.

12.3.3 - Ácidos graxos de organismos animais em relação à sua dieta

Para deduzir relações entre os AG de diferentes organismos, é preciso ter certeza de que eles representam a composição média ou que os casos individuais são realmente típicos. Para obviar este risco, a amostra denominada fitoplâncton, da tabela 77, foi obtida com 36 espécies de algas fitoplanctônicas das 3 classes mais importantes. Os dados assim obtidos são muito próximos dos relatados por Ackman (1980) para 12 algas fitoplanctônicas. Para organismos zooplanctônicos, a informação sobre composição de AG é reduzida, portanto não há

outra solução que não seja usar espécies típicas. Apenas pretende-se evidenciar as mudanças dos ácidos graxos na passagem dos elos iniciais da cadeia alimentar; isto é:

FITOPLÂNCTON → ZOOPLÂNCTON e MOLUSCOS FITOPLANCTÔNICOS

- a) No zooplâncton e moluscos herbívoros, diminui o C16:0, 16:1 e, particularmente, os AG poliinsaturados com 16 carbonos (C16:2, C16:3, C16:4);
- b) Ocorre um aumento do C18:0 e C18:1 e diminuição dos AG poliinsaturados com 18 carbonos (C18:2, C18:3);
- c) Há um aumento notável dos AG com mais de 20 carbonos, particularmente do C20:5 ω_3 e C22:6 ω_3 .

Estes eventos são muito semelhantes aos relatados por Kayama et al. (1963), pesquisados num sistema-modelo de cadeia alimentar, formado por fitoplâncton (*Chaetoceros simplex*) → zooplâncton (*Artemia salina*) → peixes pequenos (*Lebistes reticulatus*).

A diminuição dos AG com 16 carbonos no zooplâncton deve-se, provavelmente, à sua utilização como combustível e, em menor medida, ao alongamento para C18:0. O alongamento para C18:1 daria C18:1 ω_7 , que apenas participa com 15 a 26% do C18:1 total nos peixes (Ackman et al., 1980), de modo que a quantidade elevada de C16:1, nas algas, deve ser utilizada para outras finalidades. Os AG C18:2, C18:3 e C18:4, muito abundantes nas algas, parecem não ter funções nos peixes marinhos (Yone e Fujii, 1975); por esta causa, seriam alongados e dessaturados para C20:3 ω_3 , C20:4 ω_3 e ω_8 , C20:5 ω_3 , C22:3 ω_3 , C22:5 ω_3 e ω_8 e C22:6 ω_3 , embora a síntese destes ácidos graxos, a partir do C18:3 ω_3 , não seja tão freqüente nem tão eficiente quanto inicialmente se havia imaginado, face ao comportamento da truta e do salmão. Cowey et al. (1976) demonstraram que o turbot (um peixe plano) não era capaz de alongar nem dessaturar C18:2, C18:3 e C20:4 ω_8 para C22:5 e C22:6 e que, quando a dieta não provia estes compostos, eles eram depletados das reservas do fígado.

TABELA 77 - Variação da composição de ácidos graxos no decorrer dos elos iniciais da cadeia alimentar.

ACIDO GRAXO	Fitoplâncton ¹	Euphasia ²	Mexilhão ³	Bivalvo (clam) ⁴
C14:0	7.18	11.5	3.56	4.28
C14:1	0.35		1.77	2.79
C15:1	1.43			
<hr/>				
C16:0	20.27	18.4	16.40	18.13
C16:1	14.71	10.9	8.32	7.01
C16:2	Todos os isômeros	2.22	2.0	2.92
C16:3		3.29		
C16:4		2.67		
<hr/>				
C17:0				
C17:1				
<hr/>				
C18:0	1.40	1.60	4.26	7.71
C18:1	6.49	21.20	4.80	10.05
C18:2	Todos os isômeros		1.52	1.09
C18:3 ω_3 + ω_6		4.27		
C18:3 ω_3	6.58	1.80	4.67	4.56
C18:4 ω_4	5.85	0.60	5.41	0.57
<hr/>				
C20:0				
C20:1		2.58		
C20:2				
C20:3				
C20:4 ω_6 + ω_3	1.11	2.0	2.86	1.77
C20:5 ω_3	9.18	18.70	19.64	15.34
C22:5	Todos os isômeros	1.10	1.88	4.23
C22:6 ω_3		5.06	9.37	12.71
Outros não identificados da série C20			4.3	6.2

(1) Valor médio de 36 algas fitoplanctônicas, calculado por nós na base de dados de Pohl e Zurheide (1979);

(2) Dados cromatográficos do Subcomitê do JOCS (citado por Suyama, 1986);

(3) *Mytilus chilensis*, INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (Chile, 1983);

(4) *Venus antiqua antiqua*, INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (Chile, 1983).

O alongamento e a dessaturação parecem ser mais eficientes a nível de zooplâncton, cujos organismos estruturam o padrão básico que caracteriza os óleos marinhos. Ackman e McLachlan (1977) comentam que o C20:5 ω_3 é mais abundante que o C22:6 ω_3 tanto no fito quanto no zooplâncton. Aparentemente, o maior teor de C22:6 ω_3 , nos peixes superiores, se deva ao consumo do C20:5 ω_3 de maneira preferencial, no entanto o C22:6 é poupado para fins pouco conhecidos.

12.3.3.1 - Ácidos graxos de peixes herbívoros

Alguns peixes de tamanho relativamente grande alimentam-se exclusivamente de macroalgas, diferenciando-se dos animais filtradores (moluscos e peixes pequenos), que obtêm o alimento do plâncton.

A tainha é um dos herbívoros marinhos melhor conhecidos, porém é a fauna de água doce a que possui o maior número de representantes herbívoros (tilápia, carpa). Várias espécies brasileiras de água doce de grande valor comercial são, também, herbívoras ou onívoras (pacu, tambaqui, corimbatá).

Os AG da carpa têm sido amplamente estudados, concluindo-se que as mudanças da composição: **plantas aquáticas** \rightarrow **peixes herbívoros** é próxima da que ocorre na seqüência **microalgas** \rightarrow **zooplâncton**, como tem sido demonstrado por Cai e Curtis (1989). Estes autores alimentaram carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) com as plantas de água doce elódea (*Elodea densa*), coontail (*Ceratophyllum demersum*) e mil folhas (*Myriophyllum* sp.). As 3 espécies tinham 4,13, 5,69 e 8,43% de lipídios e 9,41, 12,40 e 15,30% de proteínas na mesma ordem em que foram mencionadas. Alguns resultados destas pesquisas aparecem na tabela 78, rearranjados do original para salientar a mudança de comprimento dos AG na passagem da planta para o peixe.

Fica evidenciado que a carpa estica as cadeias de 16 e 18 carbonos, pois no músculo diminuem entre 2,25 e 34,34%. Contrariamente, os AG de cadeia longa aumentam enormemente, chegando a mais de 1000% no caso dos com 20 carbonos.

TABELA 78 - Teores de AG com 16, 18, 20 e 22 carbonos no músculo de carpa-capim e nas plantas aquáticas com que a mesma foi alimentada (Cai e Curtis, 1989).

		ACIDOS GRAXOS*		
		NA PLANTA	NO PEIXE	VARIAÇÃO (%)
ELÓDEA	com 16 carbonos	37.92	26.93	- 30.64
	com 18 carbonos	55.89	42.93	- 22.50
	com 20 carbonos	—	10.54	> + 1000.00
	com 22 carbonos	3.79	15.56	+ 310.50
COONTAIL	com 16 carbonos	23.5	24.03	+ 2.25
	com 18 carbonos	69.54	45.66	- 34.34
	com 20 carbonos	1.45	12.33	+ 750.34
	com 22 carbonos	3.46	21.33	+ 516.47

(*) % dos lipídios (da planta ou do músculo).

O C20:5 ω_3 parece não ser essencial para a carpa, já que é sintetizado em níveis baixos (~ 2,0%). Nas plantas, os AG ω_3 predominavam devido ao C18:3 ω_3 ; porém, no músculo da carpa, as estruturas ω_6 são mais abundantes, particularmente o C20:4 ω_6 .

A digestão das matérias vegetais é mais demorada que a de origem animal, sendo, também, aproveitada com menor eficiência (Brett e Groves, 1979). Na carpa, a eficiência da digestão está em torno de 50% da matéria seca (Hickling, 1966). Dentre os peixes marinhos de importância comercial, só umas poucas espécies são exclusivamente herbívoras, várias se alimentam de plâncton animal e vegetal e muitas são carnívoras.

12.3.3.2 - Ácidos graxos de peixes marinhos carnívoros

A existência de esquemas próprios das famílias biológicas é difícil de demonstrar, pois, na cadeia alimentar, ocorre uma espécie de homogeneização dos AG, particularmente nas espécies que acumulam gordura muscular.

As espécies dos elos mais baixos mostram, todavia, uma certa relação com a composição de AG de sua dieta habitual; porém, essa característica pode ser perdida rapidamente se algum fator circunstancial viesse a perturbar a condição dita "normal".

Os fatores mais importantes que influenciam a composição dos AG, aparecem no esquema a seguir:

Variação da Composição de AG

- Mudanças na disponibilidade de alimento habitual;
- Mudanças das condições ambientais (salinidade, temperatura, estações);
- Situações de estresse fisiológico (desova, migração).

Entre os peixes de hábitos alimentares planctônicos, os da família Clupeidae: arenque, savelha (menhaden) e sardinha são, industrialmente, muito importantes. A composição de AG do menhaden e da sardinha são relativamente próximos, porém a do arenque (do mar Báltico e mar do Norte) é incomumente elevada em C20:1 ω_1 e C22:1 ω_{11} . Esta característica tem sido esclarecida brilhantemente nos trabalhos de Ackman (1980 e 1982) como originários do álcool C20:1 ω_{11} que compõe as ceras dos copépodos, dieta habitual do arenque. O álcool seria convertido no ácido C20:1 ω_{11} e dali alongado para C22:1 ω_{11} . Trata-se de uma demonstração convincente da influência da dieta na composição de AG.

O arenque incorpora este composto em triacilgliceróis e raramente em fosfolipídios, o que indicaria a carência de funções específicas, além das normais como regulador hidrostático e como fonte de energia (Ackman, 1982).

Na cadeia alimentar, o C22:1 ω_{11} é transferido para os elos superiores onde aparece como componente menor. Entretanto, nos animais que se alimentam de copépodos, como algumas baleias, a gordura apresenta teores elevados de C20:1 ω_{11} e C22:1 ω_{11} .

AG da sardinha brasileira

A composição dos AG da sardinha brasileira (*Sardinella brasiliensis*) tem sido a mais pesquisada, face a sua importância como alimento e como matéria-prima para óleo industrial. A tabela 79 mostra

várias determinações de AG de sardinha que permitem obter uma média bastante representativa.

TABELA 79 - Composição de ácidos graxos de óleo industrial e lipídios totais de sardinha (*Sardinella brasiliensis*).

Ácido Graxo	1	2*	3	4	Média
C14:0	7.5	4.7	12.5	7.60	8.08 ± 3.24
C14:1	1.7	—	0.7	tr	—
C15:0	3.3	—	—	—	—
C16:0	14.2	20.0	21.9	20.60	19.18 ± 3.41
C16:1	5.8	6.7	6.2	8.75	6.86 ± 1.31
C16:2	2.8	tr	0.1	0.43 ω ₇ + 1.29 ω ₄	2.30 ± 0.71
C16:3	—	—	—	—	—
C17:0	4.1	tr	tr	0.42	2.86 ± 1.20
C17:1	—	—	—	1.4	—
C18:0	7.8	5.7	7.8	3.9	6.31 ± 1.86
C18:1	6.6	19.6	20.3	11.3 ω ₉ + 0.40 ω ₄	12.04 ± 5.89
C18:2ω ₆	6.2	1.7	4.7	0.83 ω ₆ + 0.30 ω ₃	3.32 ± 2.58
C18:2ω ₆ + ω ₆	3.1	4.0	2.2	0.26 ω ₆ + 0.63 ω ₃	2.54 ± 1.33
C18:4ω ₃	3.6	4.5	—	2.52	3.57 ± 0.94
C20:0	2.2	—	0.7	0.28	—
C20:1	3.1	4.2	0.9	1.54	2.44 ± 1.5
C20:2	3.0	—	—	0.46	—
C20:3	5.2	—	—	0.10	—
C20:4ω ₆ + ω ₃	0.9	1.0	—	1.49 ω ₆ + 0.83 ω ₃	1.42 ± 0.81
C20:5ω ₃	8.1	12.10	16.4	17.7	13.58 ± 4.36
C22:1ω ₁₁	—	—	—	0.86	—
C22:5ω ₃	0.6	0.1	—	0.22 ω ₆ + 1.68 ω ₃	1.30 ± 0.98
C22:6ω ₃	10.2	15.2	3.1	10.09	9.85 ± 5.01

(1) Pizzardi (1987);
(3) Melo (1986);
(*) Óleo industrial.

(2) Fernández Rincón (1980);
(4) Maia (1992)

A composição dos AG deste peixe deveria apresentar os AG de sua dieta; de fato, o valor médio é um misto da composição do fitoplâncton e zooplâncton, apresentando teores intermediários de ácidos poliinsaturados com 18 carbonos (9,46%) que são típicos de algas, coexistindo com teores elevados de ácidos poliinsaturados de cadeia longa (26,15%), típicos de eufasídeos e copépodos.

A relação entre C20:5/C22:6, obtida da tabela 78, revela que o fitoplâncton e o zooplâncton apresentam valores em torno de 2,0 e de 1,38 na sardinha (tabela 79, média), indicando uma tendência de acúmulo de C22:6. A predominância deste ácido é, às vezes, muito ampla, como tem sido relatado por Bodolato et al. (1992), que encontraram, na sardinha, teores de 9,9 ± 2,8 de C20:5ω₃ e 15,5 ± 5,8 de C22:6ω₃ (relação = 0,64).

As variações da relação C20:5/C22:6 (EPA/DHA) são mais comuns nas espécies que apresentam variação sazonal do que nas espécies permanentemente magras.

Na tabela 80 apresentam-se dados de AG de 2 espécies de sardinha, diferentes da brasileira, mostrando que, na época gorda, a relação EPA/DHA dá valores acima de 1,0.

TABELA 80 - Composição dos AG saturados, monoinsaturados e poliinsaturados dos lipídios de sardinha nos períodos gordos e magros.

Gorduras e Ácidos Graxos	<i>Sardina pilchardus</i> ¹		<i>Sardinops sagax</i> ²	
	Gorda	Magra	Gorda	Magra
Gordura (%)	11.2	2.5	8.90	2.04
C16:0	18,2	20,2	17,2	17,1
C18:0	3,6	4,1	3,4	3,8
C16:1	7,8	3,4	13,2	2,67
C18:1	10,3	8,3	11,0	7,10
C20:5	13,6	10,5	23,90	9,3
C22:6	13,2	32,7	7,4	44,9
Relação EPA/DHA	1.1	0.32	3.23	0.21

1) Nunes et al. (1990);
2) Instituto de Fomento Pesquero (1983).

Aparentemente, a falta de alimentação depleta o C20:5 dos depósitos gordurosos para suprir necessidades energéticas, enquanto que o C22:6 permanece intocado nos fosfolípidios.

Hardy e Mackie (1969) demonstraram que o índice de iodo (poliinsaturação média) do óleo de espadin (*Sprattus sprattus*), diminuía paralelamente com a depleção das reservas gordurosas, indicando que os AG poliinsaturados eram utilizados preferentemente nas épocas de privação alimentar.

A observação da tabela permite também tirar outras conclusões:

- a) Os ácidos graxos saturados quase não mudam em termos de participação percentual; porém, em termos absolutos, diminuem em torno de 75%, acompanhando a diminuição da gordura (77%). Aparentemente, são utilizados sem seletividade;
- b) O ácido C16:1 e, em menor proporção, o C18:1 diminuem intensamente em termos percentuais e muito mais em termos absolutos, indicando uma utilização seletiva deles na época magra;
- c) Os ácidos poliinsaturados C20:5 ω_3 e C22:6 ω_3 comportam-se de maneira oposta. O C20:5 ω_3 diminui bastante em termos percentuais (~ 61%) e mais ainda em termos absolutos (~ 91%). O C22:6 ω_3 quase não varia em termos absolutos, evidenciando uma preservação seletiva. Por esta causa, sua porcentagem no conjunto de AG aumenta enormemente (~ 500%) na época magra.
- d) A relação C20:5 ω_3 /C22:6 ω_3 , já comentada, dá valores acima de 1 nos períodos gordos, devido ao acúmulo de gordura visceral e subcutânea que reflete a composição do plâncton, mais rico em C20:5 que C22:6. Na época magra, os lípidios musculares contribuem com maior proporção e o AG dos fosfolípidios (altos em C22:6 ω_3) terminam influenciando na composição geral, produzindo valores abaixo de 1.

Ácidos graxos da Anchoveta em relação à indústria de farinha de peixe

O conhecimento da composição de AG também é importante para os fabricantes de farinha e óleo de pescado. Estas indústrias utilizam sardinha só quando as capturas excedem a capacidade de processamento (enlatado, salgado, congelado), ou quando a qualidade da matéria-prima é baixa. A farinha pode ser elaborada, também, dos resíduos dos processamentos; porém, os grandes fabricantes utilizam espécies pouco adequadas para consumo alimentar, seja pelo seu tamanho pequeno, excessivo teor de gordura ou textura mole. Entre os peixes típicos para farinha, encontram-se as anchovas, peixes da família engraulídea.

Entre as espécies de interesse comercial, encontra-se a anchova do Pacífico Norte-Americano (*Engraulis mordax*), a do Pacífico Sul-Americano (*Engraulis ringens*), a do Atlântico Sul-Africano (*Engraulis capensis*). No Brasil, existe a *Anchoviella hubsi*, comumente chamada manjuba.

A anchoveta (*Engraulis ringens*) tem dado origem à maior indústria de farinha de peixe do mundo, com produções superando os 2,5 milhões de toneladas anuais em vários períodos, somando-se as produções de farinha do Chile e Peru.

Esta espécie habita a costa peruana e Norte do Chile, praticamente na mesma latitude que a sardinha brasileira com a qual mostra coincidência nos períodos gordos e magros (capítulo 5, item 5.3).

A composição de ácidos graxos da sardinha brasileira e da anchoveta é bastante próxima, pois a despeito de habitar oceanos diferentes, têm hábitos alimentares muito semelhantes. Em ambas as espécies, a relação EPA/DHA é maior que 1.

A tabela 81 reúne dados da composição de AG das 3 espécies engraulídeas acima mencionadas.

TABELA 81 - Composição de AG de anchoveta (*E. ringens*) e de outras espécies afins (*E. mordax* e *E. capensis*).

Ácidos Graxos	1	2	3	4	5	6
C14:0	8,7	11,2	12,4	9,64 ± 1,82	6,2	6,94
C15:0	0,40	1,3	0,5	0,77 ± 0,43	0,6	—
C16:0	16,5	20,4	20,5	19,64 ± 2,31	14,5	20,23
C16:1	9,8	7,9	11,1	10,03 ± 2,31	6,8	9,36
C16:2	—	—	—	0,76 ± 0,53 ^a	1,0 ^a	—
C16:3	—	—	—	0,8 ± 0,63 ^b	0,6 ^b	—
C17:0	0,7	2,0	1,9	1,58 ± 0,77	—	—
C17:1	—	—	—	—	—	—
C18:0	2,8	6,8	4,1	3,97 ± 1,39	4,4	3,68
C18:1	8,4	12,2	14,4	13,24 ± 4,97	15,3	13,71 ^e
C18:2ω ₆ , ω ₃	1,1	3,3	3,6	1,40 ± 1,79	1,4	1,0
C18:3ω ₃	0,4	0,8	—	2,13 ± 0,44	0,1	—
C18:4ω ₃	1,7	—	—	0,70 ± 0,30 ^c	0,9 ^c	—
C20:1	8,3	2,0	2,1	2,47 ± 1,86	3,5	3,46 ^f
C20:2	—	—	2,5	—	1,1	—
C20:4ω ₆	0,2	0,3	0,5	0,45 ± 0,23	0,4	0,8
C20:5ω ₃	14,5	10,1	16,7	14,40 ± 0,83	20,4	19,64
C22:1ω ₁₁	5,7	2,0	—	2,47 ± 0,98	—	2,59
C22:5ω ₃	1,6	1,0	3,5	1,92 ± 0,88	2,3	1,33
C22:6ω ₃	8,9	9,2	4,4	8,01 ± 3,8	18,9	9,29
C24:0	—	—	—	0,50 ± 0,20	0,8	—

(-) não relatado;

(a) C16:2 + C17:0; b) C16:3 + C17:1; c) C18:4 + C20:0;

e) C18:1 + C16:4; f) C18:4 + C20:1

(1) Ackman, 1982: óleo de anchoveta (*E. ringens*) da zona Central do Chile;

(2) Masson e Burgos, 1973: óleo de anchoveta (*E. ringens*) da zona Norte do Chile;

(3) Sanchez, 1967: óleo de anchoveta (*E. ringens*) do Peru;

(4) Contreras, 1972: óleo de anchoveta (*E. ringens*), de Arica, Chile, 6 lotes industriais (dados não publicados);

(5) Contreras, 1972: óleo de anchoveta (*E. mordax*) da Califórnia;

(6) Ackman, 1982: óleo de anchoveta (*E. capensis*): 32 lotes da África do Sul.

Composição dos AG de peixes dos elos superiores

Os peixes carnívoros e grandes predadores recebem, na dieta, praticamente todos os ácidos graxos de que precisam, de modo que sua biossíntese assume uma importância proporcionalmente menor, desde zooplâncton até os elos finais da cadeia. Graças à dieta animal, os carnívoros não precisam de readequar continuamente o comprimento e a poliinsaturação das cadeias, nem manter ativados os sistemas enzimáticos da lipogênese a partir de carboidratos, mesmo que, em situação de jejum, possam ser utilizados (Greene e Selivonchick, 1987).

Nos carnívoros que armazenam gordura nos músculos (escombrídeos, enchova, caçonetes), os AG refletem aquela dos peixes, crustáceos ou moluscos de sua dieta. Porém, nos peixes que têm teores regularmente baixos de gordura (< 3,0%), como corvina, castanha, pescada-foguete, pescadinha, pargo, ciova e, praticamente, todos os tubarões e raias, os AG do extrato muscular serão influenciados pelo maior teor relativo de fosfolípidios.

A tabela 82 mostra a composição dos principais AG de algumas espécies que cobrem desde planctônicas até carnívoras superiores. Não temos a pretensão de abranger muitas espécies nem abordar situações específicas que já têm sido submetidas a revisões excelentes (Ackman, 1980 e 1982; Hendreson e Tocher, 1987; Greene e Selivonchick, 1987), mas salientar as alterações da composição de AG que ocorrem no percurso da cadeia alimentar. Para tanto, temos selecionado algumas espécies de importância comercial para o Brasil e Chile, incluindo ainda duas forâneas (savelha e arenque) com fins comparativos.

As espécies planctônicas: sardinha brasileira, anchoveta do Chile e Peru e savelha (menhaden) da costa atlântica dos Estados Unidos, apresentam uma composição média de AG semelhante quase em tudo, acusando hábitos alimentares próximos, baseados em algas e microcrustáceos (Eufasídeos). Por esta causa, o teor de ácido gadolécico (C20:11ω₁₁) e cetolécico (C22:1ω₁₁) é baixo, contrastando com os AG do espadin capelin e outras espécies pelágicas do mar do Norte e Báltico, que consomem preferentemente copépodos (Bimbo, 1987).

TABELA 82 - Composição de AG (%) de peixes selecionados, pertencendo a diferentes elos da cadeia alimentar.

Espécie	C14:0	C16:0	C16:1	C18:1	C20:1	C22:1	C20:5	C22:6
Sardinha (<i>Sardinella brasiliensis</i>) ¹	8.1	19.2	6.9	12.0	2.4	0.9	13.6	9.9
Anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>) ²	9.6	19.6	10.0	13.2	2.5	2.5	14.4	8.0
Saveiha (<i>Brevortia tiranus</i>) ³	9	2.0	12	11	1	0.2	14	8
Arenque (<i>Clupea harengus</i>) ³	7	16	6	13	13	20	5	6
Caballa (<i>Scamber japonicus peruanus</i>) ⁴	4.1	18	7.7	22.2	—	—	13.3	11.7
Jurel (<i>Trachurus murphy</i>) ⁴	4	17.4	5.6	16.5	—	—	8.7	21.4
Tollo (<i>Squalus acanthias</i>) ⁴	1.8	16.7	11.1	26.6	—	4.0	8.1	9.0
Serra (<i>Sarda sarda</i>) ⁵	2.8	14.5	6.0	17.9	1.8	1.2	8.7	21.8
Albacora (<i>Germo alalunga</i>) ⁵	2.3	13.9	6.0	16.5	3.0	1.4	8.5	30.8
Cação-azul (<i>Prionace glauca</i>) ⁵	1.8	17.8	3.3	14.5	2.8	1.3	5.1	31.8
Raia (<i>Raja sp.</i>) ⁴	1.2	14.6	2.3	15.6	0.2	2.5	5.8	35.6

(-) não determinados;

(1) dados e referências na tabela 80 (valor médio);

(2) dados e referências na tabela 82 (valor médio, anchoveta de Arica-Chile);

(3) International Association of Fish Meal Manufacturers (1986);

(4) Instituto de Fomento Pesquero (1983). Jurel, médias calculadas por nós;

(5) Pizzardi, 1987, comunicação pessoal.

A ingestão de peixes planctônicos por carnívoros de nível intermediário: caballa, jurel (olhete) e caçonete (dogfish), causa, nos consumidores, uma diminuição do ácido mirístico (C14:0) e palmitoléico (C16:1) e deixa entrever uma inversão da relação C20:5/C22:6 que será definitiva nos membros dos elos superiores.

Nos carnívoros superiores, representados pelo atum, bonito, serra, tubarões, raias e lulas gigantes, os AG C14:0, C16:0 e C20:5 aparecem notoriamente diminuídos. O decréscimo é compensado pelo aumento do C22:6 ω_3 e, às vezes, pelo C22:5 ω_3 .

A consideração de que estes peixes são suficientemente magros para os fosfolipídios, ricos em C22:6 ω_3 , influenciarem a composição geral de AG, parece não explicar completamente este acúmulo incomum, pois o C22:6 ω_3 também é elevado nos depósitos gordurosos.

Ackman (1982) comentou este comportamento, salientando que a gordura do fígado de bacalhau é mais elevada em C22:6 ω_3 que C20:5 ω_3 em e que este excesso não teria nenhuma função óbvia nas gorduras de depósito, parecendo acumular-se por efeito da dieta farta neste composto.

A utilização dos outros ácidos poliinsaturados e não do C22:6 ω_3 poderia explicar pela existência do mecanismo que poupa este ácido e situações de carência alimentar (tabela 80) a fim de manter a integridade das membranas fosfolipídicas. Entretanto, a concentração de C22:6 ω_3 excede em muito as necessidades de C22:6 ω_3 para fosfolipídios.

Nos mamíferos aquáticos, a gordura muscular apresenta um misto de gordura animal terrestre e da dieta de pescados (ou zooplâncton) com que eles se alimentam. A gordura de lobo marinho é tão alta em C18:1 quanto o sebo bovino e, paralelamente, comporta teores de C20:5 e C22:6 típicos de óleo de peixe. A relação C20:5/C22:6 é menor que 1,0, típico de animais carnívoros superiores.

O óleo da baleia antártica reflete sua dieta de krill, alto em C14:0 e C16:1, porém, simultaneamente, apresenta 24,3% de ácido oléico, valor intermediário entre o óleo de peixe e sebo bovino.

A composição de ácidos graxos de mamíferos marinhos aparece na tabela 83.

12.3.3.3 - Óleo de fígado de peixes

No Hemisfério Sul, os tubarões podem fornecer óleo de fígado, substituindo o de bacalhau. Os fígados de cação-anequim (*Isurus oxirrinchus*) e cação azul (*Prionace glauca*) contêm, respectivamente, 62,9 e 54,8% de lipídios (Pacheco, 1990), isto é, mais da metade do peso do fígado corresponde a óleo. Os valores brasileiros correspondem com os de Gordievskaya (1973) que

encontrou 58% de óleo no fígado de cação azul. O mesmo autor relata que o peso do fígado está relacionado ao tamanho do peixe: nos pequenos (~ 2 kg), o fígado é apenas 4% do peso e, nos maiores (~ 224 kg), o fígado pode pesar perto de 30 kg).

TABELA 83 - Composição de gordura muscular de lobo marinho e baleia antártica.

Ácido Graxo (%)	Lobo-marinho ¹	Baleia ²	Sebo bovino ³
C14:0	5,0	12,0	4,0
C16:0	15,2	16,1	25,0
C16:1	—	11,7	5
C17:0	1,7	—	—
C18:0	2,5	1,2	19,0
C18:1	33,6	24,3	36,0
C18:2	1,0	4,0	4,0
C18:3	—	1,0	1,0
C20:1	4,5	2,4	—
C20:4	—	0,5	—
C20:5	6,3	5,6	—
C22:1	—	1,2	—
C22:5	6,0	3,7	—
C22:6	11,9	4,5	—

(1) Barrios et al. (1982);

(2) Ackman e Eaton (1968);

(3) Bimbo (1987).

Na tabela 84, é mostrada a composição de ácidos graxos de óleo de fígado de cação azul, anequim, uma média de 13 espécies da costa australiana e óleo de fígado de bacalhau para comparação:

A tabela 84 revela que o óleo de fígado, comparado com o do corpo (tabela 82) do cação azul tem um percentagem menor de C22:6 ω_3 e maior de C20:1 ω_9 . Um caso semelhante parece ocorrer com o bacalhau, conformando uma situação típica das espécies de carne muito magra e fígados desenvolvidos. Os AG das duas espécies brasileiras são semelhantes, embora haja diferenças notáveis com a média dos óleos da costa Norte-australiana que se caracterizam por

teores maiores de C16:0 e C18:0 e menores de poliinsaturados C20:5 ω_3 e C22:6 ω_3 , indicando adaptação a águas mais quentes nos peixes australianos.

TABELA 84 - Composição de AG de óleo de fígado de tubarões brasileiros e australianos.

Ácido Graxo	Cação-azul ¹	Cação-anequim ²	Cações australianos ³	Bacalhau ⁴
C14:0	2,6	2,4	3 ± 1	3,2
C14:1	0,1	0,1	—	—
C15:0	0,7	0,8	—	—
C16:0	19,2	21,1	27 ± 4	10,8
C16:1	4,8	5,6	5 ± 2	8,9
C16:2	—	—	—	—
C17:0	1,8	1,7	—	—
C18:0	5,2	5,9	12 ± 2	2,5
C18:1	17,2	19,0	14 ± 5	23,9
C18:2	0,2	0,6	—	2,0
C18:3	—	—	—	0,6
C18:4	—	—	—	2,3
C20:1	9,5	6,8	—	11,3
C20:4	5,9	5,0	4 ± 1	—
C20:5	5,2	5,9	3 ± 1	9,0
C22:1*	0,5	1,8	—	5,6
C22:4	—	—	2 ± 1	—
C22:5	2,3	0,1	6,2 ± 1	—
C22:6	22,2	20,0	16 ± 8	10,43
C24:1	0,5	1,4	—	—

(*) identificação duvidosa;

(-) não relatado;

(1, 2) Pacheco, 1990;

(3) Dunstan, 1984: valor médio ± desvio padrão;

(4) Lambersten e Braekkan, 1965: valor médio.

Em comparação com o óleo de bacalhau, os de tubarão apresentam teores menores de AG monoinsaturados: C16:1, C18:1, C20:1 e C22:1; de C20:5 e quantidades maiores de C22:6.

12.3.3.4 - Gorduras de peixes de água doce

O tipo de AG das gorduras dos peixes de água doce resultam da combinação dos AG ingeridos na dieta e das modificações para funções fisiológicas que são realizadas nos tecidos específicos. A armazenagem da gordura para energia ocorre de maneira quase semelhante aos peixes marinhos: há um acúmulo grande nas paredes da cavidade abdominal como depósitos semi-sólidos, sob a pele, no fígado, nos tecidos mesentéricos e nos músculos. Exceto nestes últimos, os outros tecidos refletem, de maneira muito próxima, os AG da dieta. Nos peixes tropicais de água doce, é freqüente encontrar peixes semimagros, porém com grandes depósitos localizados na cavidade abdominal (tambaqui, matrinxã, curimatã).

Os peixes de água doce têm alternativas variáveis durante o ano para sua alimentação; portanto, a classificação de herbívoros, frugívoros, limnófagos (alimentos do lodo) e carnívoros não tem uma conotação estrita, mas apenas para caracterizar o comportamento alimentar básico.

Entre os peixes de água doce típicos de climas frios, a truta tem sido extensivamente pesquisada quanto à essencialidade de ácidos graxos, eficiência de alongação e dessaturação, requerimentos energéticos e outros aspectos da sua nutrição, acordos com a importância econômica desta espécie.

O mesmo pode ser dito com respeito aos salmões nos seus períodos de vida em água doce; por esta causa, achamos mais conveniente abordar os AG de peixes tropicais, que são o sustento de vastas populações do planeta e que, face às características energéticas dos trópicos (crescimento rápido, fartura de nutrientes vegetais e animais), estão se tornando em excelentes alternativas para a aquicultura.

A composição de AG de peixes tropicais está bastante documentada no Brasil (Oetterer e Almeida Lima, 1980; Castelo et al., 1980; Maia et al., 1983; Maia, 1992). Algumas destas informações foram obtidas de espécimes selvagens, outras com espécies alimentadas com dietas artificiais.

O conhecimento do padrão básico de AG, nas espécies selvagens, é difícil de atingir, devido à variabilidade da alimentação natural. Nas espécies cultivadas, a análise dos AG da dieta permite uma

interpretação sobre a tendência de deposição dos AG ingeridos nos músculos e órgãos da espécie em estudo.

A tabela 85 reúne dados sobre composição de AG de espécies brasileiras coletadas no seu meio natural.

É lícito admitir que a temperatura alta do ambiente tropical seja o fator condicionante mais forte da composição de AG das espécies brasileiras que acumulam ácidos com 16 e 18 carbonos, principalmente C16:0, C16:1, C18:0, e C18:1. Estes ácidos perfazem em média 80,6% dos AG da gordura do corpo inteiro. Em algumas espécies, os monoinsaturados superam os saturados e, em outras, ocorre o contrário, porém o predomínio de um ou outro grupo de AG não é muito marcante. A participação do ácido mirístico na soma de saturados é irrelevante, pois se encontra em níveis abaixo de 4%, valor que é, aproximadamente, a metade dos teores das gorduras marinhas. Quanto aos ácidos saturados de cadeia ímpar (C15:0 e C17:0), são componentes ubíquos e, às vezes, abundantes nas gorduras de peixes de água doce. No milkfish, um peixe tropical, cultivado nas Filipinas, foram relatados valores em torno de 6,5% de C15:0 e 3,6% de C17:0; ao contrário, o C14:0 só atingiu 3,7% (Benitez e Gorriceta, 1985). O mandi apresentou C15:0 e C17:0 de maneira permanente no estudo sazonal realizado por Oetterer e Almeida Lima (1980), uma das pesquisas mais completas realizadas sobre variação sazonal da composição lipídica em peixes de água doce dos trópicos.

Maia (1992) demonstrou que os ácidos graxos saturados de cadeia ímpar existem na forma "normal", "iso" e "ante-iso", sendo a estrutura normal a maior contribuinte. A origem parece ser algal, pois estes AG são mais elevados nos peixes herbívoros; porém, as proporções nos músculos dos peixes não são semelhantes às das algas (Benitez e Gorriceta, 1985), sugerindo readequações endógenas.

O C18:2 ω_6 é, também, um AG ubíquo, porém muito variável, mesmo numa própria espécie, onde, aparentemente, reflete o tipo de alimentação ocasional (Macedo-Viegas, 1991). A amplitude dos valores fica evidente nos dados relatados por Maia (1992) que encontrou uma média trimestral de 8,7% em tambaqui cultivado no Estado de São Paulo, enquanto uma amostra de tambaqui selvagem de Manaus tinha 26,1% de C18:2 ω_6 . Esta percentagem está muito além das necessidades como ácido graxo essencial e sugere ser resultado de alguma alimentação específica ocasional.

TABELA 85 - Composição de AG de peixes tropicais de água doce (AG ordenados de acordo com o número de carbonos).

ÁCIDO GRAXO (%)	Mandi ¹	Corimbatá ²	Tambaqui ³	Tambaqui ⁴
C12:0	0,86	—	0,1	—
C14:0	3,33	3,3	0,7	1,1
C14:1	1,49	tr	tr	—
C15:0	1,35	tr	0,2	—
C15:1	0,42	tr	0,1	—
C16:0	17,17	32,0	14,6	26,3
C16:1	11,17	14,6	1,2	9,2
C16:2	—	0,6	tr	—
C17:0	2,43	tr	0,2	—
C17:1	0,65	0,6	0,1	—
C18:0	10,50	8,3	8,2	8,5
C18:1	33,23	22,9	28,6	31,1
C18:2	7,32	3,7	26,1	12,3
C18:3	5,23	5,6	9,1	9,7
C18:4	—	—	0,6	—
C20:0	0,78	tr	0,4	—
C20:1	0,48	tr	0,6	—
C20:2	—	tr	tr	—
C20:3	—	5,0	tr	—
C20:4	—	—	1,8	—
C20:5	(N.I.)	2,6 (N.I.)	0,5	—
C22:1	2,46	tr	—	—
C22:4	—	—	tr	—
C22:5	—	—	0,4	—
C22:6	—	—	1,6	—

(—) ausente;

(tr) traços;

(NI) não-identificados;

(1) mandi (*Pimelodus clarias*): Oetterer e Almeida Lima (1980).

Dados médios anuais de fêmeas e machos;

(2) corimbatá (*Prochilodus lineatus*): Maia et al. (1983);

(3) tambaqui (*Colossoma macropomum*): Maia et al. (1992);

(4) tambaqui (*Colossoma macropomum*): Castelo (1980).

O C18:3 ω_3 ocorre em todas as espécies brasileiras selvagens aqui comentadas, em níveis de 5 a 10% dos AG totais. Tem

sido relatado que o C18:3 ω_3 , de uma mesma espécie, é mais abundante se ela for selvagem do que se for cultivada (Oshima et al., 1982; Haumann, 1989). De fato, as espécies brasileiras cultivadas mostram valores abaixo de 2% (Macedo-Viegas, 1991; Maia, 1992), em forte contraste com as espécies selvagens.

O C18:3 ω_3 não se acumula nos lipídios musculares, provavelmente, pela sua transformação em AG ω_3 das séries C20 e C22, essenciais para fosfolipídios.

Nos peixes de água doce pesquisados por Maia (1992): pacu, tilápia e corimbatá, os ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídios correspondiam, principalmente, ao C20:4 ω_6 e C22:6 ω_3 , cada um contribuindo, em média, com 10% dos ácidos graxos, incluindo, ocasionalmente, C22:5 ω_3 e C20:5 ω_3 em níveis próximos de 5%.

Tal situação parece indicar que tanto o ácido araquidônico quanto o DHA sejam essenciais para estes peixes.

É conveniente lembrar que a abundância de AG poliinsaturados com 20 e 22 carbonos, apenas ocorre na fração fosfolipídica, que constitui uma parcela pequena dos lipídios totais. Nestes últimos, os AG poliinsaturados perfazem menos de 5% e, na fração dos lipídios neutros, menos de 1% dos AG totais (Maia, 1992). Em termos práticos, pode-se assumir que a gordura dos depósitos de espécies tropicais não tem AG poliinsaturados de cadeia longa.

A aqüicultura dos peixes tropicais, particularmente no Brasil, constitui uma das grandes opções para a produção de alimentos de origem animal, face à diversidade de espécies nativas, inúmeros recursos de águas interiores, flora aquática e ribeirinha altamente nutritiva para sustento dos herbívoros e temperatura elevada o ano inteiro, o que acelera o crescimento dos organismos micro e macroscópicos.

A exuberância da vida vegetal termina refletindo-se no tipo e quantidade de gordura dos peixes e crustáceos. Muitas espécies acumulam teores de 20% de gordura (Rocha et al., 1982), valores que, dificilmente, são encontrados em espécies marinhas comerciais. A temperatura alta também influi na adequação das gorduras ingeridas pelos peixes que precisam ser re-saturadas no organismo para permitir sua armazenagem como gordura sólida ou semi-sólida, um caso exatamente oposto ao das criaturas de "habitat" frio.

Rocha et al. (1982) relataram que a gordura dos peixes amazônicos apresentava pontos de fusão muito altos, beirando em média os 40°C. Esse valor, praticamente na faixa de gordura bovina, parece indispensável para as funções metabólicas e mecânicas (equilíbrio, fluabilidade, fixação das vísceras, etc.) dos peixes tropicais.

Em várias espécies, os AG saturados (S) e monoinsaturados (MIS): C16:0, C18:0 C16:1 e C18:1 alternam-se para ajustar a fluidez das gorduras. Algumas algas tropicais contêm teores elevados destes ácidos, cuja soma (S + MIS) pode exceder a 90% dos AG totais. Os peixes que as consomem, aparentemente, modificam pouco o padrão básico da alga, como é mostrado na Tabela 86, que ilustra a influência de dietas com diversos conteúdos de S e MIS no teor destes mesmos AG na gordura depositada no corpo de milkfish e tambaqui.

TABELA 86 - AG da gordura corporal do milkfish (*Cbanos chanos*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas de algas e rações artificiais.

Espécies	Dietas	Ácidos Graxos (g/100 g de AG totais)							
		na dieta				no corpo do peixe			
		S	MIS	S + MIS	POLI	S	MIS	S + MIS	POLI
Milkfish ¹	algas A	59.1	27.8	86.9	13.1	50.3	41.7	92.0	8.0
Milkfish ¹	algas B	63.6	27.3	90.9	9.1	55.1	36.0	91.1	9.0
Tambaqui ²	óleo de milho	20.8	32.0	52.80	45.2	29.5	32.2	61.7	37.2
Tambaqui ²	resíduos de soja	27.1	24.7	51.80	45.6	38.0	29.5	67.5	31.4
Tambaqui ²	óleo de palma	39.9	34.0	73.9	23.4	40.8	38.0	78.8	20.3

(1) Benitez e Gorriceta (1985): Dietas A: algas unicelulares; Dietas B: algas filamentosas.

(2) Macedo-Viegas et al. (1991): Dieta específica para peixes, adicionada de 6% de óleo de milho, 6% de óleo cru de palma de dendê ou 6% do resíduo da refinação de óleo de soja chamado "Destilado da desodorização" (DDOS).

S = AG saturados; MIS = AG monoinsaturados; POLI = AG poliinsaturados, incluindo C18:2.

Da tabela, desprende-se que, quando a dieta contém quantidades adequadas de S + MIS, pequenas alterações das proporção entre S e MIS permitem aos peixes atingir valores de S + MIS ideais

que, no milkfish, parecem beirar 90% dos AG totais. Quando as dietas têm valores baixos de S + MIS e altos em diinsaturados, como a preparada com óleo de milho, o tambaqui satura o C18:2 ω_6 , aumentando S, e em menor medida MIS, mudando a soma de 52,8% para 61,7%. Aparentemente, este valor está ainda abaixo do ideal para esta espécie. Na dieta com subprodutos de soja, o comportamento é semelhante, conseguindo aumentar a soma S + MIS da dieta para 67,5% no peixe, via saturação do C18:2 e C18:3, que aparecem diminuídos no corpo em relação à dieta.

Finalmente, a dieta com óleo de palma de dendê parece satisfazer muito de perto as necessidades de S + MIS do tambaqui, pois os AG foram incorporados quase que sem mudanças, atingindo valores de S + MIS em torno de 79%.

A ausência de AG de cadeias longas nas gorduras das espécies tropicais distingue-as não apenas das marinhas, senão também das de água doce de climas temperados e frios cuja composição de AG é parecida com a dos peixes marinhos.

O white sucker (*Catostomus commersoni*), um peixe lacustre da região nordeste dos Estados Unidos, tem 25% de AG com mais de 20 carbonos (Mai e Kinsella, 1979), contra 5% dos peixes tropicais da tabela 85. A truta, outro peixe de clima frio, tem capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos ω_3 com 18 carbonos, sintetizando C20:5 ω_3 e C22:6 ω_3 necessários para manter a fluidez das membranas protoplasmáticas (Watanabe, 1982).

Em pesquisas com goldfish (*Carassius auratus*), Rieser et al. (1963) encontraram que a aclimação de 13°C para 25°C produzia um decréscimo do C20:1, C20:2, C20:4 e C20:5 com um aumento concomitante do C18:1, C18:2 e C18:3 que foi registrado, primeiramente, nos fosfolípidios. Neste mesmo peixe, Thillart e de Bruin (1981) relataram que o aumento da temperatura entre 5°C e 30°C não causou uma grande mudança na poliinsaturação dos AG; houve, porém, um notável decréscimo do comprimento médio das cadeias de 20,09 \pm 0,97 a 5°C para 17,72 \pm 0,02 a 30°C.

Estes experimentos evidenciam a versatilidade dos organismos aquáticos para se adaptar às mudanças do "habitat", e o papel dos lípidios, que através do encurtamento das cadeias ou de mudanças na poliinsaturação dos AG, contribui para a sobrevivência num ambiente que muda constantemente.

12.3.3.5 - Ácidos graxos de fosfolipídios

O conhecimento dos AG de fosfolipídios tem interesse prático e científico. Vários problemas que depreciam a qualidade de produtos de pescado congelados ou salgados, são causados pela hidrólise e ou oxidação dos AG poliinsaturados dos fosfolipídios que, em alguns peixes magros, perfazem até 40% dos lipídios totais. Contudo, as pesquisas sobre AG de fosfolipídios são muito menos freqüentes que as sobre lipídios totais e mais escassas ainda no caso de peixes de água doce.

A comparação entre a composição de AG de fosfolipídios e lipídios neutros é interessante, porque esclarece o papel dos AG como compostos essenciais para estruturas celulares ou apenas como material energético.

A figura 91, na forma de diagrama de simetria, permite avaliar o grau de semelhança entre duas composições de AG, neste caso, composição de AG de fosfolipídios e lipídios neutros, num grupo escolhido de peixes gordos e de espécies magras ou quase magras de origem marinha.

O GRUPO I foi formado com quatro espécies marinhas gordas, de hábitos pelágicos que, na sua maioria, são usadas para produção de farinha e óleo:

- a) Espadin (*Sprattus, sprattus*), foi obtida a média dos teores de AG dos dados mensais (outubro a março) (Hardy e Mackie, 1969);
- b) Cavala (*Scomber, scombrus*), foi obtida a média dos teores de AG dos meses de dezembro a junho para fêmeas e machos (Hardy e Keay, 1972);
- c) Anchova (*Engraulis mordax*), valor médio de várias amostras da época gorda: verão e outono no hemisfério Norte (Contreras, 1972);
- d) Anchoveta (*Engraulis ringens*) valores médios de várias amostras através do ano (Contreras et al. (1976).

O GRUPO II foi estruturado com peixes estudados por Lambersten (1972), dos quais selecionamos quatro, de hábitos não pelágicos e teores médios ou baixos de gordura:

- a) Linguado (Plaice) (*Pleuronectes platessa*);
- b) Salmão de rocha (Redfish) (*Sebastes marinus*);
- c) Espécie inexistente no Brasil (Wrasse) (*Labrus bergyllia*);
- d) Bagre marinho (*Anarchas lupus*).

A figura evidencia, claramente, que a composição de AG dos fosfolipídios dos grupos I e II (FL I e FL II) é bastante próxima. A organização dos AG dos fosfolipídios em ordem de concentração decrescente permite visualizar um bloco de quatro AG principais: C22:6, C16:0, C20:5 e C18:1, cuja soma perfaz cerca de 80% dos AG totais. Os 20% restantes são feitos pelos outros ácidos graxos (~ 10), cuja seqüência é ligeiramente diferente nos FL I e FL II.

Os quatro AG principais são praticamente iguais em ambos os grupos, sugerindo que o ambiente marinho condiciona a composição de AG dos fosfolipídios, tornando-os relativamente homogêneos, apesar das diferenças dietárias nos grupos I e II.

O C22:6 ω_3 é o AG mais importante, perfazendo entre 23 e 30% dos AG. Deste modo, o DHA transforma-se no distintivo da classe fosfolipídica marinha.

O C16:0 é o segundo AG mais abundante, acompanhando de perto a concentração do DHA, indicando que, na molécula do fosfolipídio, forma um arranjo quanto ao comprimento da cauda hidrofóbica. Tem sido salientado que o C16:0 ocupa a posição 1 do glicerol, e o AG poliinsaturado, a posição 2 (Miller et al., 1976).

Em algumas estruturas especializadas, o C22:6 ω_3 pode alcançar 60% dos AG totais, como ocorre no retículo sarcoplasmático do linguado que apresenta teores elevados de fosfolipídios associados às proteínas reticulares. Borhan et al. (1984) têm relatado que, para cada mg de proteína, existem 0,45 mg de fosfolipídios no retículo sarcoplasmático.

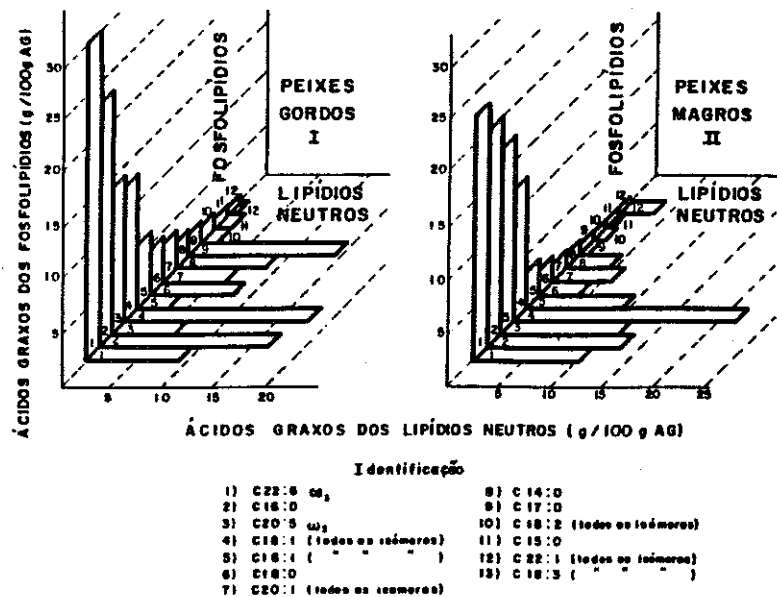


FIGURA 91 - Comparação entre a composição de ácidos graxos dos fosfolípidios e dos lipídios neutros de um grupo selecionado de peixes marinhos gordos (I) e de um grupo magro (ou semi-magro) II. (ver texto).

Em termos gerais, os AG dos peixes de água doce, estudados por Maia (1992), mostram uma seqüência de agrupamento praticamente igual à dos peixes marinhos das figuras 83 A e B. Certamente, a ordem de grandeza da relação LN/FL é diferente; porém, a seqüência se mantém, com a notável exceção do C16:0 que, nos peixes marinhos, mostra nítida preferência pelos fosfolípidios.

Estes resultados indicam que o "habitat" salino ou de água doce não modifica o esquema básico da distribuição dos AG. Isto é, certos AG são sempre usados como combustível, e outros são poupados e concentrados nos fosfolípidios. Por exemplo, os valores baixíssimos da LN/FL para C20:4 ω_6 e C22:6 ω_3 indicam que eles, praticamente, não existem nos depósitos, senão apenas nas membranas dos peixes de água doce tropicais.

Nos peixes tropicais de água doce, o ácido araquidônico (C20:4 ω_6) parece ser chave na estrutura dos fosfolípidios que apresentam teores quase 10 vezes maiores que nos lipídios neutros. O C20:4 ω_6 , nos fosfolípidios (9,9%), supera com folga o teor de C20:5 ω_3 e equipara-se com o teor de C22:6 ω_3 (Maia, 1992).

Nas espécies marinhas, o C20:4 ω_6 é pouco abundante, porém a influência da temperatura produz alguns casos atípicos. Sinclair et al. (1983) encontraram que os peixes de águas mais quentes do continente australiano (latitude 30°N) apresentavam mais C20:4 ω_6 e menos C20:5 ω_3 que as espécies da região sul, o que resulta em diminuição da relação ω_3/ω_6 de 6,25 para valores inferiores a 2,6.

Os fosfolípidios de peixes de climas muito frios, como halibut, apresentam teores de C22:6 perto de 50% (Olley e Duncan, 1965), valores certamente associados à manutenção da fluidez protoplasmática.

Os indivíduos que formam a classe de fosfolípidios: fosfatidil colina (FC), fosfatidil etanolamina (FE), fosfatidil serina (FS), fosfatidil inositol (FI), esfingomielina (ESM), cardiolipina (CL) e lisocompostos (LFC, LFE, LFI) apresentam uma composição de AG variável, tanto entre os diversos fosfolípidios quanto para uma mesma espécie molecular obtida de órgãos ou de partículas membranosas diferentes. Por esta causa, é difícil estabelecer um padrão de composição de AG para FC, FE, FS, etc., mas apenas salientar quais AG apresentam-se geralmente mais concentrados, como é resumido na tabela 88.

TABELA 88 - AG representativos de fosfolipídios de músculos e órgãos de peixes marinhos.

Frequência do AG em ordem decrescente	Fosfolipídio
C16:0, C18:1 ω_9 , C22:6 ω_3	FC (Fosfatidilcolina)
C20:5 ω_3 , C22:6 ω_3 , C18:1 ω_9	FE (Fosfatidiletanolamina)
C20:4 ω_6 , C18:0, C16:0	FI (Fosfatidilinositol)
C22:6 ω_3 , C16:0, C18:0	FS (Fosfatidilserina)
C16:0, C16:1 ω_7 , C18:0	ESM (Esfingomielina)
C16:0, C16:1 ω_7	CL (Cardiolipina)

Da tabela, deduz-se que entre FC e FE não há grande diferença na composição de AG. Ambos os compostos se formam com um AG de 16 ou 18 carbonos e um AG de cadeia longa poliinsaturada. Apenas na FC, o AG longo é C22:6 ω_3 e na FE pode ser também C20:5 ω_3 .

Na tabela 69, foi registrado que a FC era o principal fosfolipídio, com a FE assumindo quase sempre o segundo lugar. A relação FC/FE, para um mesmo tecido, não é fixa, mudando com a temperatura. Em temperatura baixa, a FE pode ser convertida em FC via N-metilização para formar o amônio quaternário, típico da colina.

O FI merece atenção por acumular quantidades elevadas de C20:4 ω_6 ; tem sido sugerido que ele seria o receptáculo de ácido araquidônico para síntese das prostaglandinas e que teria funções na transição das mensagens hormonais através das membranas, como ocorre nos mamíferos (Bell et al., 1986).

Os fosfolipídios: ESM e CL formam-se preferentemente com ácidos saturados e monoinsaturados com 16 ou 18 carbonos, denotando uma disposição espacial diferente dos fosfolipídios típicos FC e FE.

12.4 - Referências Bibliográficas

- AARONSON, S., BERNER, T., DUBINSKY, Z. Algae biomass. Ed. G. Shelef, C.J. Soeder and M. Balaban, Elsevier, NH Amsterdam (1980).
- ACCORINTI, J. Algas, fuente de potencial de nuevos fármacos. Publicación n°. 18, Ed. Derección Nacional del Antártico - Instituto Antártico Argentino, Buenos Aires, 131pp. (1985).
- ACKMAN, R.G. Concerns for utilization of marine lipids and oils. Food Technol. **42(5)**:878-9 (1988).
- ACKMAN, R.G. Fatty acid composition of fish oils. In: Nutritional Evaluation of Long-Chan fatty acids in fish oil. Ed. S.M. Barlow and M.E. Stansby, Academic Press, pp.25-88, New York (1982).
- ACKMAN, R.G. Fish lipids. Part I. In: Advances in fish science and technology. Ed. J.J. Connell and Staff of the Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, pp.86-103 Fishing News Books, Ltd., Farnham, Surrey, England (1980).
- ACKMAN, R.G., CORMIER, M.G. α -Tocopherol en some atlantic fish and shellfish with particular reference to live-holding without food. J. Fish Res. Bd. Can. **24**:357-73 (1967).
- ACKMAN, R.G., MC LACHLAN, J. Fatty acids of some Nova Scotiam seaweeds: a survey for octadecapentaenoic acid and other biochemically novel fatty acids. Proc.: NS Inst. Sci **47**:47-64 (1977).
- ARIAS, R. Estudio de las facciones lipídicas del músculo blanco de jurel (*Trachurus murphy*). Tesis Químico Farmacéutico, Univ. de Chile, Santiago, Chile (1984).
- BARLOW, S. Beneficial medical effects of fish oils. Indofish Marketing Digest **(1)**:38-40 (1987).
- BARLOW, S., YOUNG, V. New uses of fish oils. Food Manufacture **10**:75-8 (1988).
- BARRIOS, F.M., IPINZA, R.J., URZÚA, T.N. Factibilidad de aprovechamiento de la carne y grasa del lobo marino común (*Otaria flavescens*). Alimentos **7(1)**:9 (1982).
- BEACH, D.H., HARRINGTON, G.W., HOLZ, G.G. The polyunsaturated fatty acids of marine and freshwater cryptomonads. J. Protozool. **17**:501-10 (1974).
- BELL, M.V., SIMPSON, C.M.F., SARGENT, J.R. Comp. Biochem.

- Physiol. **818**:193-8 (1985).
- BENITEZ, L.V., GORRICETA, I.R. Lipid composition of milkfish grown in ponds by traditional aquaculture. In: Finfish Nutrition in Asia, pp. Development Research Center, Ottawa, Canada (1985).
- BENSON, A.A., LEE, R.F. The role of wax in oceanic food chains. In: Life in the sea. Readings of Scientific American, 77-84 (1982).
- BERNER, T., DUBINSKY, A., AARONSON, S. The total lipid content of microalgae and its use as a potencial source for industry. In: Biosaline Research: A look to the future. Ed. San Pietro, Plenum Publishing Company, pp.439-42 (1982), USA.
- BIMBO, A.P. The emerging marine oil industry. J. Am. Oil Chem. Soc. **64(5)**:706-15 (1987).
- BLIGH, E.G., DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. **37**:911-7 (1959).
- BODOLATO, E.S.G., CARVALHO, J.B., TAVARES, M., AUED-PIMENTEL, S. Determination of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexanoic (DHA) acids in brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*) oil and in encapsulated sardine oil supplements. In: Proceedings of International Meeting on Fats and Oils Technology. Ed. Campinas State University and Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit GmbH. Campinas, Brasil, pp.189-92 (1991).
- BORHAM, M., SHEWFELT, R.L., HULTIN, H.O. Sarcoplasmatic reticulum from flounder muscle with stable lipid peroxidative activity. Anal. Biochem. **137**:58-65 (1984).
- BRETT, J.R., GROVES, T.D.D. Physiological energetics. In: Fish physiology, vol.8 Ed. W.S. HOAR and D.J. RANDALL. Academic Press, New York, N.Y. (1979).
- BROCKEFORDHOFF, HOYLE, H.J., WANG, P.C., LITCHFIELD, C. Positional distribution of fatty aced in depot triglycerides of aquatic animals. Lipids **3(1)**:24-9 (1968).
- BURKLEW, M.A., MORTON, R.A. Comparison of natural and synthetic vitamin A in deficient white mice. Special Scientific Report n°30, Marine Research Laboratory, St. Petersburg, Florida, 5pp. (1992).
- CAI, Z., CURTIS, L. Effects of diets on consupcion, growth and fatty acid composition in young grass carp. Aquaculture **81**:47-60 (1989).
- CASTELO, F.P. Aproveitamento e características da gordura cavitária

- do tambaqui *Colossoma macropomum*, Cuvier 1818. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Fac. Eng. Alimentos, Campinas, Brasil (1980).
- CHUECAS, L., RILEY, J.P. Component fatty acids of the total lipids of some marine phytoplankton. J. Mar. Biol. Ass. UK **49**:97-116 (1969).
- CONTRERAS, G.E. Studies on anchovy (*Engraulis mordax*) utilization. M.S. thesis University of California, DAVIS, USA (1992).
- CONTRERAS, G.E., GUZMÁN, L.H., KARL, N. Variación estacional de la reactividad de los lípidos de anchoveta (*Engraulis ringens*). Ed. Instituto de Fomento Pesquero, Santiago, Chile, 20pp. (1976).
- CONTRERAS, G.E., NEVES FILHO, L.C. Utilização industrial de aceite de pescado. Revista Nacional da Pesca **138**, 23-9, Brasil, 1974.
- CORNER, E.D., DENTON, E.J., FORSTER, G.R., VAN VLEET, E.S. Neutral lipids components of eleven species of caribbean sharks. Comp. Biochem. Physiol. **79b(4)**:549-54 (1984).
- COWEY, C.G., OWEN, J.M., ADRON, J.W., MIDDLETON, C. Studies on nutrition of marine flatfish. The effect of different dietary fatty acids on the growth and fatty acid composition of turbot (*Scophthalmus maximus*). Br. J. Nutr. **36**:479-86 (1976).
- CRUICKSHANK, E.M., Fat soluble vitamins. In: Fish as Food. Vol. II. Ed. Borgstrom, Academic Press, New York, pp.175-203 (1962).
- DEKONING, A.J. Phospholipids of marine origin I. The hake (*Merluccius capensis*, Castelnau). J. Sci. Food Agric. **17**:112-7 (1966).
- DEUEL, H. The lipids, their chemistry and biochemistry. Vol. I, Ed. Interscience Publishers, Inc., New York (1951).
- DROZDOWSKI, B., ACKMAN, R.G. Isopropyl alcohol extraction of oils and lipids in the production of fish protein concentrate from herring. J. Am. Oil Chem. Soc. **46**:371-6 (1969).
- DUBINSKY, Z., BERNER, T., AARONSON, S. Potential of large scale algae culture for biomass and lipid production in arid lands. Biotechnol. Bioeng. Symposium **8**:51-8 (1978).
- DUSNTAN, G.A., O'DEA, K., SINCLAIR, A.J. The lipid content and fatty acid composition of shark liver oil from Northern Australian waters. Proc. Nutr. Soc. Aust. **12**:103 (1984).
- FARKAS, T. Comp. Biochem. Physiol. **79B**:531-5 (1984).
- FERNANDES, R.C. Hidrogenação de óleo de sardinha (*S. brasiliensis*)

- para obtenção de produtos comestíveis. Tese de Mestrado, Univ. Estadual de Campinas, Fac. Eng. Alimentos, Campinas, SP, Brasil (1978).
- FERRARI, R.A. Estudo comparativo da composição lipídica no milho híbrido NUTRIMAIZ com as cultivares genitoras. Tese de Mestrado. Univ. Estadual de Campinas, 115pp. (1992).
- FOLCH, J., LEES, M., STANLEY, G.H.S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**:497-509 (1957).
- GAGOSIAN, R.B. Sterols of the lobster (*Homarus americanus*) and the shrimp (*Pandalus borealis*). *Experimentia* **31**:878-9 (1975).
- GELPI, E., ORO, J. Gas-chromatography-mass-spectrometry analysis of isoprenoid hydrocarbons and fatty acids in shark liver oil products. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **45**(3):144-7 (1968).
- GETZ, H.R. A physiological and clinica study of failures of vitamin A metabolism in tuberculosis patients. *American Review Tuberc. Pulm. Dis.* **72**(2):218-27 (1955).
- GIBSON, T.A., WORTHINGTON, R.E. Lipid changes in frozen stored channel catfish grown by tank culture: effects of dietary fat, freezing method and storage temperature. *J. Food Sci.* **42**:355-8 (1977).
- GORDON, D.T. Steroids in molluscks and crustacea of the Pacific Northwest. In: *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. Ed. R.E. Martin, C.H. Hebard and D.R. Ward, pp.93-101, Avi Publishing Company, Westport, Connecticut (1982).
- GREENE, D.H.S., SELIVONCHICK, D.P. Lipid metabolism in fish. *Prog. Lipid Res.*, Pergamon Journals, Ltd., Great Britain, **vol. 26**:53-85 (1987).
- HARDY, R., KEAY, J.N. Seasonal variations in the chemical composition of cornish mackerel *Scomber scombrus*, with detailed reference to the lipids. *J. Fd. Technol.* **7**:125-37 (1972).
- HARDY, R.B., MACKIE, P. Seasonal variation in some of the lipid componets of sprats (*Sprattus sprattus*). *J. Sci. Food Agr.* **20**:193-8 (1969).
- HARRINGTON, G.W., BEACH, D.H., DUNHAN, J.E., HOLZ, G.G. The polyunsaturated fatty acids of marine dinflagelletes. *J. Protozool.* **17**:213-9 (1970).
- HAUMANN, B.F. Aquaculture: New markets for meals, fats and oils.

- J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**:1530-43 (1989).
- HAYASHI, K. TAKAGI, J. The lipids of marine animals from various habitat depth VIII. Occurrence of metoxy glyceryl ethers in the lipids of the flesh from deep-sea teleost fish *Seriorella* sp. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **44**:1239-43 (1978).
- HAZEL, J.R. The influence of temperature adaptation on the composition of neutral lipid fraction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) liver. *J. Exp. Zool.* **(207)**:33-42 (1979).
- HENDERSON, J.R., TOCHER, D.R. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.*, Pergamon Journals, Ltd., Great Britain, **Vol. 26**:281-347 (1987).
- HICKLING, C.F. On the feeding process in the white amure (*Ctenopharyngodon idella*). *Proc. Zool. Soc. London* **148**:408-19 (1966).
- HIGASHI, H. Vitamins in fish with special reference to edible parts. In: *Fish as Food*. **Vol. I**. Ed. Borgstrom, Academic Press, New York, pp.411-86 (1961).
- IDLER, D.R., WIESEMAN, P.D. Demosterol and other sterols of the Alaskan king crab and the North Atlantic Quenn crab. *Comp. Biochem Physiol.* **26**:1113-7 (1968).
- IDLER, D.R., WISEMAN, P.D. Sterols of crustacea. *Int. J. Biochem.* **2**:91-8 (1971).
- INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO (IFOP). Catálogo tecnológico de las principales materias primas pesqueras - Chile. Ed. IFOP-CORFO, Santiago de Chile, 165p. (1983).
- INTERNATIONAL ASSOCIATION OF FISH MEAL MANUFACTURERS. *Fish Oil Technical Buletin* **nº.18** (1986).
- ISSACS, J.D. The nature of oceanic life. In: *Life in the sea*. Readings from Scientific American, 5-17 (1982), USA.
- JACQUOT, R. Organic constituents of fish and other aquatic animal foods. In: *Fish as Food*. **Vol. I**. Ed. Borgstrom, Academic Press, New York, pp.146-19 (1961).
- JAMIESON, G.R., REID, E.H. The component fatty acids of some marine algal lipids. *Phytochemistry* **11**:1423-32 (1972).
- JHAVIERI, S.N., CONSTANTINIDES, S.M. Chemical composition and shelf life of grayfish (*Squalus acanthias*). *J. Fd. Sci.* **47**:188-92 (1981).
- KANASAWA, A., TESHIMA, S., ONO, K. Relationships between

- essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity of bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acid. *Comp. Biochem. and Physiol.* 295-8 (1979).
- KAYAMA, M., TSUCHIYA, Y., MEAD, J.F. A model experiment on aquatic food chain and with special significance in fatty acid conversion. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 29:452 (1963).
- KIM, K.S., LEE, E.H. *Bull. Korean Fish Soc.* 19:195-211 (1986).
- KINSELLA, J.E. *Seafood and fish oils in human health and disease.* Publishers Marcell Dekker Inc., New York, pp.183-4 (1987).
- KINSELLA, J.E., SHIMP, J.L., MAI, J., WEIHRAUCH, J. Fatty acid content and composition of freshwater finfish. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 54:424-9 (1977).
- KREUZER, R., AHMED, M.L. *Shark utilization and marketing.* Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). pp.1-45, Roma (1978).
- KRITCHEVSKY, D., TEPER, S.A., DITULA, N.W., HOLEMN, W.L. The sterols of seafood. *J. Food Sci.* 32:64 (1967).
- LAMBERSTEN, G. Lipids in fish fillets and liver - A comparison of fatty acid compositions. *Fiskeridirektoratets skrifter, Serie Teknologiske Undersokelser, Vol. 5, No. 6,* Bergen, 15pp. (1972).
- LAMBERSTEN, G., BRAEKAN, O.R. Fatty acid composition of cod liver oil. *Fiskeridirektoratets skrifter, Serie Tecknologiske Undersokelser, Vol. 4, No. 11,* Bergen, 14pp. (1965).
- LEWIN, R.A. *Biochemical taxonomy.* Ed. STEWART, N.D.P. (1974).
- LITCHFIELD, C., ACKMAN, R.G., SIPOS, J.C., EATON, C.A. Isovaleroyl triglycerides from the blubber and melon oils of the beluga whale (*Delphinapterus leucas*). *Lipids* 6:674-81 (1971).
- LITCHFIELD, C., GREENBERG, A.J., ACKMAN, R.G., EATON, C.A. Distinctive medium chain wax esters, triglycerides and diacyl glyceryl ethers in the head fats of the pacific beaked whale *Berardus bairdi*. *Lipids* 13:860-86 (1978).
- LONG, A., HAARD, N.F. The effect of carotenoid protein association on pigmentation and growth rates of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Proc. Aquaculture Int. Congress, Vancouver, B.C.,* pp.99-101 (1988).
- LOVE, R.M. *The chemical biology of fish.* Academic Press, Inc. Ltd., vol. 2, 943p., London (1980).
- MACEDO-VIEGAS, E.M., BARRERA, A.D., CONTRERAS-GUZMÁN,

- E.S. Effects of diets with palm oil and soybean oil deodorizer distillate on tambaqui (*Colossoma macropomum*) fatty acid composition. In: *Proceedings of International Meeting on Fats and Oils Technology.* Ed. Campinas State University and Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit GmbH, Campinas, Brasil, pp.193-6 (1991).
- MAI, J., KINSELLA, J.E. Composition of lipids and proteins of deboned minced and filleted white sucker (*Catostomus commersoni*). *J. of Food Biochem.* 3:229-89 (1979).
- MAIA, E.L. *Caracterização dos constituintes lipídicos e composição em aminoácidos de peixes de água doce.* Tese de doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos da Univ. Estadual de Campinas, Brasil (1992).
- MAIA, E.L., RODRIGUEZ-AMAYA, D.B., AMAYA-FARFAN, J. Proximate fatty acid and amino acid composition of the brazilian freshwater *Prochilodus scrofa*. *Food. Chem.* 12:275-86 (1983).
- MALINS, D.C. Classes of lipids in fish. In: *Fish oils.* Ed. M.E. Stansby Avi Publishing Company Inc. 31-42, Connecticut (1967).
- MARX, R., MAIA, J.G.S. Determination of fat soluble vitamins from amazonian freshwater fishes 1: HPLC analysis of tambaqui, pirarucu and cuiu-cuiu livers. *Ata Amazônica* 15(1-2):185-91 (1985).
- MASSON, L., BURGOS, M.T. Fatty acid composition of the chilean anchovy, anchoveta (*Engraulis ringens*) and of its neutral and polar fractions. *Grasas y Aceites* 24:327-30 (1973).
- MASSON, L.S., OLIVER, H.A., MELLA, M.A., SALLES, R.G., SERRANO, A.L. Análisis y composición del extracto lipídico de las gónadas del erizo de mar (*Loxechinus albus*). *Alimentos* 13(4):27-32 (1988).
- MELO, R. de A. Efeito de dietas lipídicas sobre a ATP-ase mitocondrial e a composição de ácidos graxos de soro de mitocôndrias hepáticas e encefálicas em ratos normais e tireoidectomizados. Tese de Doutorado. Univ. Estadual de Campinas, Inst. Biologia, Campinas, SP, Brasil (1986).
- MILLER, N.G., HILL, M.W., SMITH, M.W. *Biochem. Biophys. Acta* 455:644-654 (1976).
- MIWA. Fish oil and fish liver oil. In: *Textbook for marine fisheries research course: utilization of marine products.* Japan Overseas

- Technical Corporation, pp.111-9 (1972).
- MORI, M., YASUDA, S., NISHIMURO, S. Two species of teleosts having a wax-ester of diacylglycerol ethers in the muscle as major lipid. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* **44**:363-7 (1978).
- MORRISON, W.R. Cereal lipids. In: *Advances in cereal science and technology*. vol. 2, p.221 Ed. Y Pomeranz, Am. Ass. Cereal Chem., St. Paul, USA (1978).
- MUÑOZ, V. Estudio de las fracciones lipídicas del músculo obscuro de jurel (*Trachurus murphy*). Tesis Químico Farmacéutico, Univ. de Chile, Santiago, Chile (1984).
- NAIR, K.G.R., GOPAKUMAR, K. Effect of dietary fat on deposition of fat and fatty acid composition of tilapia (*Tilapia mossambica*). *J. Food Sci. and Technol.* **18**:108-11 (1981).
- NAVARRETE, L.L., OLIVARES, D.P., OLIVARI, M.R., MARKOVITS, S.A. Ácidos grasos y aminoácidos esenciales de la microalga *Nannochloropsis* spp. *Alimentos* **14**(2):7-8 (1989).
- NUNES, L.M., MEDES, R., CAMPOS, R.M., BANDARA, N. Characterization of fatty acids and lipid classes of sardine (*Sardinella pilchardus*) and its variation with season. In: *Chilling and freezing of new fish products*. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, 339-44 (1990).
- OETTERER, DE ANDRADE, M., ALMEIDA-LIMA, V. The effects of season on processing on the lipids of mandi (*Pimelodus clarias*, Broch), a brazilian freshwater. In: *Advances in fish science and technology*. Ed. J.J. Connell and Staff of Torry Research Station, Aberdeen, Scotland, pp.387-93, Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, England (1980).
- OLLEY, J., DUNCAN, W.R.H. Lipids and protein denaturation in fish muscle. *J. Sci. Food Agric.* **16**:99-104 (1965).
- OPUTE, F.I. Lipid and fatty acid composition of diatoms. *J. Exp. Bot.* **25**:823-35 (1974).
- OSHIMA, T., WIDJAJA, D., WADA, S., KOIZUMI, C. A comparison between cultured and wild ayu lipids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **48**:1795-1801 (1982).
- PACHECO, B.M.T. Obtenção e fracionamento de óleo de fígado de tubarão azul (*Prionace glauca*) e sua estabilização com antioxidantes. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil (1990).

- PARSONS, T.R., STEPHEN, K., STRICKLAND, I.D. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish Res. Bd. Can.* **18**(6):1005-15 (1961).
- PEYRONEL, D., ARTAUD, J., IATRIDES, M.C., RANCHREL, P., CHEVALIER, J. Fatty acids and squalene composition of mediterranean *Centrophorus* spp. eggs and liver oil in relation to age. *Lipids* **19**(9):643-8 (1984).
- PHAMQUANG, L., LAUR, M.H. Structures, teneurs et composition des esters sulfuriques, sulfoniques, phosphoriques des glycosyldiglycérides de trois fucacées. *Biochimie* **58**:1367-80 (1976).
- PIZZARDI, C. Utilização do destilado da desodorização do óleo de soja como antioxidante na farinha de sardinha. Tese de Mestrado, Univ. Estadual de Campinas, Fac. Eng. de Alimentos, Campinas, SP, Brasil (1987).
- POHL, P., ZURHEIDE, F. Fatty acids and lipids of marine algae and the control of their biosynthesis by environmental factors. In: *Marine algae in pharmaceutical science*. Ed. H.A. Hoppe, T. Levring e Y. Tanaka. Walter de Gruyter Publishers, New York, pp.473-523 (1979).
- PORTILLA, G. Análisis del extracto lipídico de loco y almeja. Tesis Químico Farmacéutico, Universidad de Chile, Santiago, Chile (1975).
- PRESTON, G.L. Market requirements for shark products. *SPC Fisheries Newsletter* **30**:29-31 (1984).
- RAWN, J.D. The structure of biological membranes. In: *Biochemistry*, pp.205-32 (Chapter 9). Neil Patterson Publishers, Caroline Biological Supply Company, Burlington, North Caroline, USA (1989).
- REISER, R., STEVENSON, B., KAYAMA, M., CHOUDHURY, R., HOOD, D.W. The influence of dietary fatty acids and environmental temperature on the fatty acid composition of teleost fish. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **40**:507-13 (1963).
- RICHKUS, W.A., DINARDO, G. Current status and biological characteristics of the anadromous alosid stocks of the Eastern US. Martin Marietta Environmental System (1984).
- ROCHA, R.Y., PAIVA, L.A.J., ALBUQUERQUE, M.H., SHRIMPSON, R. Aspectos nutritivos de alguns peixes da Amazônia. *Ata Amazônica*

- 12(4):787-94 (1982).
- ROJAS, G.B., IBEAS, C., CARRILO, A.J. Total fatty acid composition of some marine macroalgae to use as complementary food in mariculture. Resúmenes del V International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Santiago - Chile 1992.
- ROSINSVALLI, L. Sharks and their utilization. *Marine Fisheries Review* (2):1-13 (1978).
- SAINCLIVIER, M. Les matières grasses du poisson. In: *L'Industrie Alimentaire Halieutique*. Ed. Sciences Agronomiques, Rennes, France, pp.29-63 (1983).
- SANTILLAN, C. Mass production of *Spirulina*. *Experimentia* 38:40-3 (1982).
- SETO, A., WANG, H.L., HESSELTINE, C.W. Culture conditions effect on eicosapentaenoic acid content of *Chlorella minutissima*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61:892 (1984).
- SHUSTER, C.Y., FROINES, J.R., OLCOTT, H.S. Phospholipids of tuna white muscle. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 41:36-41 (1964).
- SIDWELL, V.V., FONCANNON, P.R., MOORE, N.S., BONNET, J.C. Compositon of the raw (fresh or frozen) crustacean, finfish and mollusks 1. Protein, fat moisture, ash, carbohydrates, energy value and cholesterol. *Marine Fisheries Review* 36(3):21 (1974).
- SIMPSON, K.L., Carotenoid pigments in seafood. In: *Chemistry and biochemistry of marine food products*. Ed. R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. Avi Publishing Company, Westport, Conn. pp.115-36 (1982).
- SIMPSON, K.L., HAARD, N.F. Extraction of carotenoprotein from shrimp processing offal with the aid of enzymes. *J. Appl. Biochem.* 7:212 (1985).
- SIMPSON, K.L., KAMATA, T., COLLINS, J.G., COLLINS, J.H. *Proc. Tropical and Subtropical fish Tech. Conf.*, Corpus Christi, Texas, pp.395-411, USA (1976).
- SINCLAIR, A.J., O'DEA, K., NAUGHTON, J.M. Elevated levels of arachidonic acid in fish from Northern Australian Coastal waters. *Lipids* 18:877-81 (1983).
- SOEJIMA, R., KATAMAYA, T., SIMPSON, K.L. In: *The brine shrimp Artemia*. vol.2. Ed. G. Persoone, P. Soogeloos, O. Roels and Jespers, pp.613-22, Universe Press, Weeterem, Belgium (1980).
- SOTELO, R.I., PEREZ-MARTIN, S., AUBOURG, S., GALLARDO, J.M.

- Hydrolytic changes in the lipids of frozen hake. In: *Chilling and freezing of new fish products*. Ed. International Institute of Refrigeration, Paris, 275-80 (1990).
- STUMPF, P.K. Biosynthesis of fatty acids in spinach chloroplasts. In: *Recent advances of the chemistry and biochemistry of plant lipids*, pp.95-113, Chap. 4. Ed. T. Gaillard and E.I. Mercer. Academic Press, London (1975).
- TSUCHITA, T. Biochemistry of fish oils. In: *Fish as food*, Ed. Borgstrom, Academic Press, New York, pp.211-58 (1961).
- TSUJI, YANO citado in INFOFISH International Questions and Answers (1):68 (1991).
- TUCKER, W.B. Aquatic products and human nutrition. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, Vol. 1 (1) pp.5-6 (1992).
- VAN DER THILLART, G., DE BRUIN, G. Influence of environmental temperature on mitochondrial membranes. *Bioch. Biophys. Acta* 640:439-47 (1981).
- WATANABE, T. Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B:3-16 (1982).
- WATANABE, T., OGINO, C., KOSHIISHI, Y., MATSUNAGA, R. Requirements of rainbow trout for essential fatty acids. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 40:493-7 (1974).
- WEDMAN, B. Nutrition: major contribution to seafood quality. In: *Seafood quality determination*, Ed. D.E. Kramer and J. Liston, pp.579-89, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam (1986).
- WHITSETT, J.F., KENNISH, J.M., KRAMER, D.E., FRENCH, J.S. Fish oil analysis using combined thin layer chromatography and flame ionization detection (TLC-FID). In: *Seafood quality determination*. Ed. D.E. Kramer and J. Liston, pp.161-74, B.V. Amsterdam (1986).
- WODTKE, E. Lipid adaptation in liver mitochondrial membranes of carp acimated to different environmental temperatures - Phospholipid composition, fatty acid pattern and cholesterol content. *Biochem. Biophys. Acta* 529:280-91 (1978).
- YONE, Y., FUJII, M. Studies on nutrition of red sea bream, XI Effect of ω_3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 41:73-7 (1975).
- ZUÑIGA, H.M.E., LEIVA, M.A., MARKOVITS, S.A. Las microalgas. Fuentes potenciales de aceites y grasas. *Alimentos* 8(1):43-7 (1983).