

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**ESTUDO DE ÍNDICES QUÍMICOS, SENSORIAIS, MICROBIOLÓGICOS
E INSTRUMENTAIS PARA AVALIAÇÃO DO FRESCOR DE LULAS
(*Loligo plei*, Blainville, 1823) ARMAZENADAS EM GELO.**

JUDITE LAPA GUIMARÃES

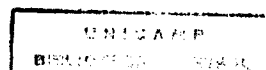
Bióloga

PROF. DR. EMÍLIO CONTRERAS GUZMÁN

Orientador

TESE APRESENTADA À FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS DA UNICAMP
PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

CAMPINAS - 1999



| | |
|--------------|-------------------------------------|
| UNIDADE | BC |
| N.º CHAMADA: | |
| V | |
| T | 39390 |
| P | 229/99 |
| O | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO | R\$ 11,00 |
| DATA | 09/11/99 |
| N.º CPD | |

CM-00136843-3

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

L31e

Lapa-Guimarães, Judite

Estudo de índices químicos, sensoriais, microbiológicos e instrumentais para avaliação do frescor de lulas (*Loligo plei*, Blainville, 1823) armazenadas em gelo. / Judite Lapa Guimarães -- Campinas, SP: [s.n.], 1999.

Orientador: Emílio Contreras Guzmán.

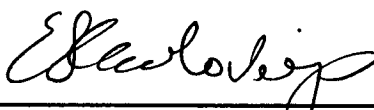
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Molusco. 2. Armazenamento. 3. Análise química.
4. Avaliação sensorial. I. Contreras Guzmán, Emílio.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia
de Alimentos. III. Título.

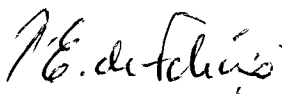
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Emílio Contreras Guzmán



Prof.ª Dr.ª Elisabete Maria Macedo Viegas



Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício

Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão

Campinas, de de 1999

***Aos que se envolvem com o mar,
e aos que são envolvidos por ele...***

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Emílio Contreras Guzmán, pela orientação neste estudo e por tudo que aprendi trabalhando a seu lado por muitos anos.

Ao Prof. Dr. Pedro Eduardo de Felício, pelo constante estímulo, incentivo e confiança, e por sugestões preciosas na correção da tese.

À Prof^a Dr^a Elisabete Maria Macedo Viegas, pela atenciosíssima correção da tese, pela amizade, e por ter me emprestado o “Polegar do Panda”.

Ao Prof. Dr. Mauro Faber de Freitas Leitão, pela correção da tese e por ter confirmado que era possível pescar lulas com linha e anzol, tendo passado sua experiência no assunto, e sendo, assim, o primeiro pescador de lulas que conheci.

À Prof^a Dr^a Maria Aparecida Azevedo Pereira da Silva, pelo auxílio no planejamento da análise sensorial e orientação na análise dos resultados.

Aos provadores da análise sensorial: Alice, Ana, Cristina, Eliana, Edi, Patrícia, José Roberto, Flor, Vitória, Pedro, Lourdes, Mara, Márcia e também Marcelo, Wagner, Ricardo e Paulo, com minhas desculpas por nunca ter feito as prometidas lulas à dorê.

Aos colegas do Departamento de Tecnologia de Alimentos e às amigas Ana, Eliana e Maria Eugênia, pelo apoio.

Ao cefalopodólogo Prof. Acácio Tomás, pesquisador do Instituto de Pesca de Santos, pela atenção nos contatos telefônicos e pelas imagens de lulas enviadas, que permitiram identificar a espécie *Loligo plei*.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo suporte financeiro através do Auxílio à Pesquisa-Processo 97/00521-6.

Ao caçara do pier de Ilhabela, hábil na pescaria, e que me doou as primeiras lulas utilizadas neste trabalho, em 1997. Também à Cláudia, Israel e sua Denise, imensa canoa de bordadura.

Aos destemidos companheiros da primeira e terrivelmente fracassada pescaria de lulas a bordo da Amazônia: Edi, Marcelo, Verena e Adilson.

Ao amigo Silnei, companheiro da primeira e terrivelmente fracassada e da terceira e minimamente bem sucedida pescaria de lulas, cujas fotos (Figura 6) foram utilizadas neste trabalho.

À Margarida (*in memoriam*) e à Gatinha, por me tirarem a concentração do trabalho.

Ao Fernando, companheiro de todas as pescarias e de muitas coisas mais...

SUMÁRIO

| | |
|---|-----|
| SUMÁRIO..... | vi |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | I |
| ÍNDICE DE TABELAS..... | IV |
| RESUMO..... | VI |
| SUMMARY..... | VII |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2. OBJETIVOS..... | 4 |
| 3. JUSTIFICATIVA..... | 4 |
| 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 5 |
| 4.1. A posição das lulas no reino animal..... | 5 |
| 4.2. Propriedades e características da carne de lula..... | 5 |
| 4.2.1. Proteínas..... | 7 |
| 4.2.2. Nitrogênio não protéico..... | 7 |
| 4.3. Processo de deterioração..... | 8 |
| 4.4. Índices para avaliação do frescor..... | 10 |
| 4.4.1. Nitrogênio não protéico (NNP) como índice de frescor..... | 11 |
| 4.4.2. Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV)..... | 11 |
| 4.4.3. Amônia..... | 12 |
| 4.4.4. Aminas..... | 13 |
| 4.4.5. Nucleotídeos - ATP e derivados..... | 16 |
| 4.4.6. Uréia..... | 17 |
| 4.4.7. Alteração da cor..... | 18 |
| 4.5. Vida de prateleira e métodos de conservação..... | 18 |
| 4.5.1. Armazenamento com gelo..... | 19 |
| 4.5.2. Água do mar resfriada..... | 20 |
| 4.5.3. Choque térmico..... | 20 |
| 4.5.4. Congelamento..... | 21 |
| 4.6. Microbiologia..... | 22 |
| 4.7. Análise Sensorial..... | 23 |
| 5. MATERIAL E MÉTODOS..... | 25 |
| 5.1. Material..... | 25 |
| 5.1.1. Material biológico..... | 25 |
| 5.1.2. Equipamentos e demais materiais utilizados nas análises físico-químicas, instrumental e microbiológica..... | 27 |
| 5.2. Procedimento experimental..... | 27 |
| 5.2.1. Condições de armazenamento..... | 28 |
| 5.2.2. Plano de amostragem e preparo para análises..... | 28 |
| 5.2.3. Análise microbiológica..... | 29 |
| 5.2.4. Análise sensorial..... | 29 |
| 5.2.5. Análises químicas..... | 30 |

| | |
|--|------------|
| 5.2.6. Avaliação instrumental da cor..... | 33 |
| 5.2.7. Análise estatística..... | 34 |
| 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 35 |
| 6.1. Caracterização da matéria prima..... | 35 |
| 6.1.1. Caracterização anatômica..... | 35 |
| 6.1.2. Caracterização química da lula fresca (0 Hora)..... | 37 |
| 6.1.2.1. Composição centesimal..... | 37 |
| 6.1.2.2. Componentes do nitrogênio não protéico (NNP) nas lulas frescas..... | 38 |
| 6.2. Alterações durante o armazenamento e avaliação de índices de frescor..... | 40 |
| 6.2.1. Análise microbiológica de psicrotófilos..... | 40 |
| 6.2.2. Análise Sensorial..... | 43 |
| 6.2.2.1. Desenvolvimento da ficha de avaliação e seleção de provadores..... | 43 |
| 6.2.2.2. Alteração do perfil sensorial das lulas durante o armazenamento..... | 46 |
| 6.2.2.3. Análise de componentes principais..... | 55 |
| 6.2.3. Análises químicas..... | 63 |
| 6.2.3.1. Análises de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) e Amônia..... | 63 |
| 6.2.3.2. Análise de Trimetilamina (TMA) e Óxido de Trimetilamina (O-TMA)..... | 68 |
| 6.2.3.3. Análises de Nitrogênio não Protéico (NNP) e Aminoácidos Livres Totais (AAL)..... | 72 |
| 6.2.3.4. Análise de Triptofano Livre..... | 77 |
| 6.2.3.5. Análise Uréia..... | 80 |
| 6.2.3.6. Análise de nucleotídeos - Índices K e K1..... | 82 |
| 6.2.3.7. Análise de pH..... | 87 |
| 6.2.3.8. Análise de Umidade..... | 89 |
| 6.2.3.9. Expressão dos resultados como % do NNP..... | 92 |
| 6.2.4. Avaliação instrumental da cor..... | 98 |
| 6.2.5. Estudo de correlações..... | 103 |
| 6.2.5.1. Correlações entre os resultados da análise sensorial e análise microbiológica..... | 104 |
| 6.2.5.2. Correlações entre os resultados das análises químicas e análise microbiológica e entre análises químicas e análise sensorial..... | 108 |
| 6.2.5.3. Correlações entre os resultados da avaliação instrumental da cor, análise microbiológica, análise sensorial e análise de pH..... | 117 |
| 7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES..... | 122 |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 125 |
| ANEXO A – Métodos de análise química..... | 134 |
| ANEXO B – Resultados das análises sensoriais, microbiológica, químicas e instrumental..... | 142 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Esquema de um indivíduo do gênero <i>Loligo</i> e rendimento de suas diversas partes comestíveis..... | 6 |
| Figura 2. Vias autolíticas de formação de amônia..... | 12 |
| Figura 3. Formação de aminas não-voláteis por descarboxilação de aminoácidos..... | 15 |
| Figura 4. Vias eventuais da degradação de arginina em moluscos..... | 15 |
| Figura 5. Rotas de degradação do 5'AMP em pescados..... | 17 |
| Figura 6. Aparência das lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas..... | 26 |
| Figura 7. Pontos de leitura utilizados na avaliação instrumental da cor da pele de lulas e do manto sem pele..... | 33 |
| Figura 8. Relação entre comprimento dorsal do manto (CDM) e peso total (PT) no lote de lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas..... | 35 |
| Figura 9. Relação entre comprimento dorsal do manto (CDM) e peso total (PT) dos lotes A e B de lulas adquiridas no comércio..... | 36 |
| Figura 10. Variações nas contagens de microrganismos psicotrófilos totais em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 40 |
| Figura 11. Variações nas contagens de microrganismos psicotrófilos totais nos dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 42 |
| Figura 12. Ficha para avaliação sensorial de lulas utilizada nos experimentos LA e LC..... | 45 |
| Figura 13. Perfis sensoriais de lulas (<i>Loligo plei</i>) avaliadas 24 horas após a coleta e aos 16 dias de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 46 |
| Figura 14. Perfis sensoriais de lulas adquiridas no comércio, no 1º e no 15º dia de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 47 |
| Figura 15. Alteração nos valores médios das notas atribuídas pelos provadores aos diversos atributos sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 48 |
| Figura 16. Aparência externa das lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas após 1, 2, 7 e 13 dias de armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG)..... | 51 |
| Figura 17. Aparência do músculo sem pele das lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas após 1, 2, 7 e 13 dias de armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG)..... | 51 |

| | |
|---|----|
| Figura 18. Alteração nos valores médios de notas atribuídas pelos provadores aos diversos atributos sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, no experimento LA, lote B..... | 53 |
| Figura 19. Gráficos da Análise de Componentes Principais da avaliação de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo no experimento LC..... | 57 |
| Figura 20. Gráficos da Análise de Componentes Principais da avaliação de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo do experimento LA, lote B..... | 60 |
| Figura 21. Variação nos teores de BNV em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 64 |
| Figura 22. Variação nos teores de Amônia em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 64 |
| Figura 23. Variação nos teores de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) em dois lotes de lulas (A e B) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 66 |
| Figura 24. Variação nos teores de N-Amônia em dois lotes de lulas (A e B) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 66 |
| Figura 25. Variação nos teores de N-Trimetilamina (N-TMA) em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 69 |
| Figura 26. Variação nos teores de N-Óxido de Trimetilamina (N-O-TMA) em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 69 |
| Figura 27. Variação nos teores de N-Trimetilamina (N-TMA) em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 71 |
| Figura 28. Variação nos teores de N-Óxido de Trimetilamina (N-O-TMA) em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 71 |
| Figura 29. Variação nos teores de nitrogênio não protéico (NNP) em lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC..... | 73 |
| Figura 30. Variação nos teores de aminoácidos livres totais (AAL) em lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas, durante o armazenamento com contato direto em gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC..... | 73 |
| Figura 31. Variação nos teores de nitrogênio não protéico (NNP) em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA..... | 76 |

| | |
|---|-----|
| Figura 32. Variação nos teores de Aminoácidos Livres Totais em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA..... | 76 |
| Figura 33. Variação nos teores de Triptofano livre em lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC..... | 78 |
| Figura 34. Variação nos teores de Triptofano livre em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA..... | 78 |
| Figura 35. Variação nos teores de Uréia em lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG), com gelo, experimento LC..... | 81 |
| Figura 36. Variação nos teores de Uréia em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 81 |
| Figura 37. Variação na % dos compostos ATP, ADP, AMP, IMP, INO e Hx em relação aos nucleotídeos totais de músculo de lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas, durante 24 de armazenamento em contato direto com gelo..... | 83 |
| Figura 38. Variação no Índice K em lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas, durante o pré tratamento (Pré Trat.) e o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 86 |
| Figura 39. Variação no Índice K1 em lulas (<i>Loligo plei</i>) coletadas, durante o pré tratamento (Pré Trat.) e o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 86 |
| Figura 40. Variação nos valores de pH em lulas (<i>Loligo plei</i>) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 87 |
| Figura 41. Variação nos teores de umidade em lulas (<i>Loligo plei</i>) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 90 |
| Figura 42. Variação nos teores de umidade em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA..... | 90 |
| Figura 43. Variação nos teores de BNV (A), N-Amoniacal (B), N-TMA (C), N-AAL (D), N-Triptofano (E), N-Uréia (F) e O-TMA (G), expressos como % do NNP, em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 95 |
| Figura 44. Variação nos teores de BNV (A), N-Amoniacal (B), N-TMA (C), N-AAL (D), N-Triptofano (E), N-Uréia (F) e N-O-TMA (G), expressos como % do NNP, em dois lotes de lulas (A e B) armazenados em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 96 |
| Figura 45. Variação nos parâmetros de cor L*, a* e b* em lulas coletadas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 99 |
| Figura 46. Variação nos parâmetros de cor L*, a* e b* em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 102 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. Composição centesimal de músculo do manto de lulas (<i>L. plei</i>) frescas (0 Hora) determinada em amostras coletadas nos anos de 1997 e 1998..... | 37 |
| Tabela 2. Componentes do NNP de músculo do manto de lulas (<i>L. plei</i>) frescas (0 Hora) determinados em amostras coletadas nos anos de 1997 e 1998..... | 39 |
| Tabela 3. Equação do modelo estatístico ajustado para representar o crescimento microbiano no tratamento CCG do experimento LC utilizada para calcular o período total estimado de armazenamento de lulas do experimento LA..... | 43 |
| Tabela 4. Definição dos descritores de aparência e aroma e referências escolhidos para a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) de lulas armazenadas em gelo..... | 44 |
| Tabela 5. Equações dos modelos estatísticos ajustados utilizadas para calcular as notas de cada descritor e a % de perda de qualidade de lulas no 7º dia de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC..... | 58 |
| Tabela 6. Equações dos modelos estatísticos ajustados utilizadas para calcular as notas de cada descritor e a % de perda de qualidade de lulas no 4º dia de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA..... | 61 |
| Tabela 7. Valores de pH determinados em dois lotes de lulas (A e B) armazenados em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, no experimento realizado com lulas adquiridas em estabelecimento comercial (LA)..... | 88 |
| Tabela 8. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrótrófilos) das lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LC..... | 106 |
| Tabela 9. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrótrófilos) das lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC..... | 106 |
| Tabela 10. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrótrófilos) das lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LA..... | 107 |
| Tabela 11. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrótrófilos) das lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA..... | 106 |
| Tabela 12. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrótrófilos) realizadas em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LC..... | 112 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 13. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) realizadas em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC..... | 113 |
| Tabela 14. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) realizadas em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), lote A, experimento LA..... | 114 |
| Tabela 15. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) realizadas em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), lote A, experimento LA..... | 114 |
| Tabela 16. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) realizadas em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), lote B, experimento LA..... | 115 |
| Tabela 17. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) realizadas em lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), lote B, experimento LA..... | 116 |
| Tabela 18. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) e pH de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LC..... | 119 |
| Tabela 19. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) e pH de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC..... | 119 |
| Tabela 20. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) e pH de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LA, lote A..... | 120 |
| Tabela 21. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) e pH de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA, lote A..... | 120 |
| Tabela 22. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) e pH de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LA, lote B..... | 121 |
| Tabela 23. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) e pH de lulas (<i>Loligo plei</i>) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA, lote B..... | 121 |

RESUMO

Loligo plei é uma das principais espécies de lulas capturadas nas águas litorâneas do Brasil. Com o objetivo de estudar a eficiência de índices para avaliação do frescor e determinar a vida de prateleira da espécie, lulas coletadas com linha e anzol ou adquiridas no comércio foram armazenadas em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), embaladas em sacos de polietileno, durante um período de armazenamento de 16 e 15 dias, para lulas coletadas e adquiridas, respectivamente. Foram realizadas periodicamente análises de bases nitrogenadas voláteis (BNV), amônia, trimetilamina (TMA), óxido de trimetilamina (O-TMA), nitrogênio não protéico (NNP), aminoácidos livres (AAL), triptofano livre, uréia, nucleotídeos (somente para as lulas coletadas), umidade e pH para avaliar a utilidade de alguns destes testes químicos como índices de frescor e sua correlação com a perda de qualidade sensorial e microbiológica. Um painel com 14 provadores treinados avaliou as alterações no perfil sensorial das lulas durante o armazenamento através da análise descritiva quantitativa (ADQ) e aos resultados foi aplicada a análise de componentes principais (ACP). Foram feitas contagens de microrganismos psicrotrófilos (CPsi) e análise instrumental de cor na pele e músculo das lulas. A influência da lixiviação no tratamento CCG também foi analisada. As lulas coletadas permaneceram microbiologicamente aceitáveis após 16 dias de armazenamento em gelo, enquanto as adquiridas passaram a apresentar CPsi superior a 10^6 UFC/g a partir do 10º dia nos dois tratamentos. A ACP indicou que as lulas coletadas conservaram boa qualidade sensorial até o 7º dia, enquanto as adquiridas no comércio apresentaram características sensoriais indesejáveis após o 4º dia de armazenamento em gelo, independentemente do tipo de tratamento. Tanto para lulas coletadas quanto para as adquiridas o tratamento CCG foi mais eficiente ($p < 0,05$) que o SCG em manter a cor característica e em retardar o aparecimento de manchas no músculo. Nas lulas armazenadas sob o tratamento SCG os teores de O-TMA, NNP, AAL, BNV, Amônia, N-TMA, Triptofano livre e Uréia em 100g de músculo foram maiores ($p < 0,05$) que no tratamento CCG ao final do armazenamento, sendo que os cinco últimos compostos aumentaram progressivamente, indicando que estas análises poderiam ser utilizadas como índices de frescor em lulas armazenadas nesta condição. Teores de BNV entre 22-27mg/100g, de amônia entre 21-23mg/100g, de TMA inferiores a 0,5mg/100g, de triptofano livre entre 10-12mg/100g e de uréia entre 14-19mg/100g foram indicativos de boa qualidade sensorial em *L. plei*. Nas lulas coletadas armazenadas no tratamento CCG, pelo contrário, a intensa lixiviação dos compostos solúveis causou uma diminuição progressiva das BNV, amônia, O-TMA, NNP e AAL, coincidente com um significativo ($p < 0,05$) aumento da umidade. A expressão dos teores de BNV, amônia, TMA, AAL, triptofano livre e uréia como percentagem do NNP (% NNP), ao invés de mg/100g de músculo, minimizou o efeito da lixiviação, possibilitando uma avaliação mais realista do grau de deterioração das lulas e tornou os índices mencionados bons indicadores de frescor nos dois tratamentos. A análise de nucleotídeos se mostrou inadequada para avaliar o frescor das lulas, mesmo nos períodos iniciais do armazenamento. O armazenamento das lulas em gelo provocou uma significativa ($p < 0,05$) diminuição da luminosidade (L^*) e aumento da cromaticidade da pele nos dois tipos de tratamentos. O aumento da intensidade de cor vermelha (a^*) e amarela (b^*) no músculo foram maiores ($p < 0,05$) no tratamento SCG. O estudo de correlações entre parâmetros mostrou que o aumento do teor de TMA (% NNP) esteve fortemente correlacionado ($p < 0,05$) ao aumento da CPsi. Parâmetros de cor e vários compostos químicos apresentaram forte correlação com os descritores sensoriais, mostrando-se promissores como testes objetivos para avaliação do frescor de *L. plei*.

Palavras-chave: lula, índices de frescor, vida de prateleira, avaliação sensorial.

SUMMARY

Loligo plei is one of major species of squid caught in Brazilian seawater. To study the efficiency of tests used like freshness indices and the shelf life of *Loligo plei*, squids of this species were caught by hand jiggers or purchased at a local market and stored whole in contact ice (CCG) or in non-contact ice (SCG), in polyethylene bags, during a 16 and 15 days storage time for caught and purchased squids respectively. Periodical tests of volatile basic nitrogen (VBN), ammonia, trimethylamine (TMA), non-protein nitrogen (NPN), free aminoacids (FAA), free tryptophan, urea, trimethylamine oxide (O-TMA), nucleotides (just for caught squids), moisture and pH were made to evaluate the usefulness of some of these chemical tests like freshness indicators, determining their correlation with the loss of sensory and microbiological quality. A trained panel with 14 judgements evaluated the sensory changes in squid samples by quantitative descriptive analysis (QDA) and the principal component analysis (PCA) was applied at the data. Periodical counts of psychrotrophic bacteria (CPsy) and instrumental analysis of color in squid muscle and skin were made too. The leaching effect in CCG treatment was evaluated. The caught squids remained with CPsy smaller than 10^6 CFU/g during 16 days, but the purchased squids showed CPsy greater than 10^6 CFU/g from day 10 in both treatments. The PCA indicated that the caught and purchased squids showed good sensory quality until day 7 and 4, respectively, either in contact ice or not. The CCG treatment was more effective ($p < 0,05$) than SCG in preserving appearance of squid muscle. The contents of O-TMA, NPN, FAA, VBN, ammonia, TMA, urea and free tryptophan/100g of muscle were greater ($p < 0,05$) in SCG than in CCG treatment at the end of storage time and except O-TMA, NPN and FAA, the others compounds progressively increased during the storage in SCG treatment, showing these chemical tests were good freshness indicators. Contents of VBN among 22-27mg/100g, for ammonia among 21-23mg/100g, for TMA smaller than 0,5mg/100g, for free Tryptophan among 10-12mg/100g and for Urea among 14-19mg/100g indicated good sensory quality for *L. plei*. In CCG treatment, nevertheless, the intense leaching caused a continuous decrease of VBN, Ammonia, O-TMA, NPN and FAA, followed by a progressive increase ($p < 0,05$) in muscle moisture. The contents of these chemical compounds expressed in terms of muscle NPN percentage eliminated the leaching effect, showing a realist evaluation of squid spoilage, and showing those chemical tests good freshness indicators for *L. plei* squids stored in contact ice or not. The nucleotide analysis was not suitable for squid freshness indicator. It was observed a decrease of the luminosity (L^*) and an increase of chromaticity of squid skin in both treatments during storage. The increase of a^* (red color intensity) and b^* (yellow color intensity) in squid muscle was greater ($p < 0,05$) in SCG treatment. The correlation study showed that the increase of TMA expressed in terms of muscle NPN percentage was strongly correlated ($p < 0,05$) with the increase of CPsy. The color parameters and some chemical compounds showed strong linear correlation with sensory descriptors, being therefore very good freshness indicators for *L. plei*.

Key words: squid, freshness indices, shelf-life, sensory evaluation

1. INTRODUÇÃO

Os polvos, calamares e lulas, membros da Classe Cephalopoda, são considerados recursos potencialmente importantes para aumentar a captura de animais marinhos não criados (ROPER et al., 1984; GUERRA, 1991). Embora possuindo esta potencialidade, os estudos referentes aos cefalópodes são poucos se comparados aos realizados com peixes, crustáceos e moluscos bivalves, e desenvolvidos somente pelos países com tradição na investigação de recursos marinhos, como Inglaterra, Espanha, Polônia, Canadá e Japão.

GUERRA (1996) relata que em 1994 foram pescadas 2.560.000 toneladas de cefalópodes por cerca de trinta países, representando em torno de 2% da captura total de organismos marinhos, e sugere que o potencial oceânico permitiria o aumento desta quantidade em até 50 vezes. Segundo o mesmo autor, atualmente toda a produção mundial de cefalópodes é consumida na época de sua captura, praticamente não existindo estoques destes moluscos e a sua demanda cresceu nos anos de 1994 e 1995 a um ritmo de 15% ao ano, índice superior ao dos peixes marinhos, havendo grandes dificuldades para abastecer os mercados habituais. Estima-se que na Antártica existam de 2 a 3 milhões de toneladas de cefalópodes que poderiam ser exploradas uma vez que houve uma diminuição das populações de cachalotes e outros mamíferos marinhos, seus principais predadores neste ecossistema (CLARKE, 1983).

Os cefalópodes são alimentos tradicionais em diversos países como Espanha, França, Itália, Portugal, Grécia e principalmente no Japão. Este último país é o líder mundial de produção (800.000 toneladas anuais) e de consumo (1.200.000 toneladas) (GUERRA, 1996). São apreciados devido ao seu excelente sabor e valor alimentício (SUGIAYAMA et al., 1989). Podem ser utilizados em estado fresco, congelado, seco, salgado e em conservas, e alguns de seus componentes são utilizados em outras indústrias que não a alimentícia.

Embora não existam dados na América Latina sobre o consumo interno de cefalópodes acredita-se que o Brasil é o país onde o consumo é maior em função da população de origem japonesa e de descendência portuguesa. A Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo - CEAGESP comercializou, entre os anos de 1987 e 1998, um volume médio de 431.981kg/ano de lula, procedente principalmente dos estados de Santa Catarina, São Paulo, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul.

No Brasil a captura de lulas é acidental, ocorrendo durante o arrasto, na pesca de camarão, ou é feita por pescadores artesanais, que utilizam linha e um tipo específico de anzol, denominado zangarelha. As lulas capturadas no arrasto apresentam baixa qualidade, enquanto que as obtidas na pesca artesanal normalmente atendem a demanda de restaurantes e hotéis por um produto de melhor qualidade. *Loligo sanpaulensis* e *Loligo (Doryteuthis) plei*, principalmente, são as espécies de lula de maior valor comercial encontradas nas águas litorâneas do Brasil, mas, no entanto, não foram encontrados estudos relativos às alterações de sua qualidade após a captura.

Para que haja uma maior utilização dos cefalópodes como recurso alimentar é necessário dispor dos conhecimentos básicos sobre a bioquímica do músculo e seu comportamento durante o armazenamento. Existem diferenças significativas quanto a estes aspectos entre os cefalópodes e os vertebrados marinhos, que se referem principalmente à orientação das fibras musculares e à maior atividade dos sistemas enzimáticos dos cefalópodes (IGUCHI et al., 1981; SUGIYAMA et al., 1989). Por isso, nestes animais ocorre uma precoce formação de odores e sabores desagradáveis, mudanças de cor e alterações na textura que diminuem a sua vida útil e a sua aceitabilidade, principalmente quando se destinam ao processamento, dando origem a produtos de baixa qualidade.

A aceitação ou rejeição de um alimento para consumo é geralmente ditada por suas qualidades sensoriais e a segurança do consumidor depende da sua qualidade microbiológica. No entanto, na maioria das situações cotidianas a utilização de painéis de provadores treinados ou a execução de análises

microbiológicas não são alternativas viáveis. O emprego de testes químicos, físico-químicos ou instrumentais, que comprovadamente se correlacionem bem com as avaliações sensoriais e microbiológicas pode oferecer uma alternativa prática e segura na determinação do frescor de pescados e outros alimentos.

As alterações de frescor em peixes e invertebrados podem ser avaliadas quimicamente através dos metabólitos produzidos por atividades exógenas (manipulação e armazenamento inadequados) ou endógenas (enzimas). Comumente são avaliadas aminas voláteis e não voláteis derivadas de precursores existentes no sarcoplasma, além de compostos da degradação do ATP (nucleotídeos).

A determinação de bases nitrogenadas voláteis (BNV) é amplamente utilizada para avaliar a vida de prateleira de peixes armazenados, e um valor de 30mg de BNV/100g é considerado como limite de aceitação para consumo humano. Para lulas, índices de frescor específicos têm sido estudados por diversos pesquisadores (KE et al., 1984; OTSUKA et al., 1992; ROMO et al., 1996; CONTRERAS et al., 1996) cujas conclusões, na maioria dos casos, sugerem que o limite de BNV deveria ser mais alto.

Durante o armazenamento refrigerado de pescados, normalmente feito em contato direto com gelo, ocorre a lixiviação de compostos solúveis produzidos por processos metabólicos, alguns dos quais são importantes índices bioquímicos para avaliação do frescor. Isto faz com que um aumento na concentração destes metabólitos somente seja detectado quando a velocidade de sua formação for superior à taxa de perda, o que resulta na diminuição da eficiência de alguns testes objetivos de avaliação do frescor.

Deste modo, ao se estudar índices de frescor específicos para lulas, torna-se importante estudar a eficiência dos testes utilizados em diferentes tipos de armazenamento e avaliar sua correlação com a contaminação microbiológica e a qualidade sensorial. Assim se determinará de modo seguro os limites de aceitação e a vida de prateleira de lulas da espécie *Loligo plei*.

2. OBJETIVOS

- Estudar métodos físico-químicos, instrumentais, microbiológicos e sensoriais para avaliação do frescor e da vida de prateleira de lula da espécie *Loligo plei*.
- Correlacionar os resultados obtidos através destes métodos determinando os parâmetros físico-químicos e instrumentais mais adequados para avaliar os limites de aceitação da espécie estudada.
- Comparar duas condições de armazenamento, lulas refrigeradas em contato direto com gelo e lulas embaladas em sacos de polietileno e refrigeradas em gelo, quanto à velocidade do processo de deterioração, lixiviação de compostos solúveis e eficiência dos testes objetivos de avaliação de frescor.

3. JUSTIFICATIVA

- Existe o recurso (lulas) nas águas litorâneas do Brasil,
- Não foram encontrados estudos, feitos no Brasil, relativos à perda de frescor das espécies aqui encontradas, e é preciso considerar que diferenças climáticas podem influenciar o comportamento das alterações que ocorrem após a captura dos animais,
- As espécies de lulas encontradas no Brasil possuem alto valor comercial, apresentando um bom rendimento, excelente sabor e poucos problemas em relação à textura,
- A utilização de métodos mais adequados para avaliar o frescor pode estimular o empenho no desenvolvimento de técnicas de captura e armazenamento otimizadas para obtenção de matéria prima de melhor qualidade para comercialização no mercado interno ou exportação,
- O consumo interno pode ser estimulado pelo aparecimento no mercado de produtos de melhor qualidade.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. A posição das lulas no reino animal

As lulas são invertebrados marinhos pertencentes ao Filo Mollusca e à classe Cephalopoda. Esta classe de animais possui cinco ordens: **Octopoda** (dos polvos), **Sepioidea** (das sibas e sepíolas), **Vampyromorpha** (de pequenas lulas de águas profundas), **Belemnoidea** (uma ordem de espécies já extintas) e **Teuthoidea**. Esta última engloba as subordens **Myopsida** de lulas de águas costeiras e que apresentam uma membrana sobre os olhos e a **Oegopsida** de lulas oceânicas (RUPPERT & BARNES, 1996). A subordem **Myopsida** é formada pelas famílias **Pickfordiateuthidae** e **Loliginidae**, sendo a última considerada a de maior valor comercial no mercado mundial (SIKORSKI & KOLODZIEJSKA, 1986), a qual pertencem as lulas *Loligo sanpaulensis* e *Loligo (Doryteuthis) plei* do Brasil, *Loligo pealei* do Atlântico Norte-Americano, *Loligo patagonico* da Argentina e *Loligo vulgaris* dos países do Mediterrâneo, entre outras. A subordem **Oegopsida** compreende numerosas espécies de lulas de águas profundas dentre as quais se destacam a *Todarodes pacificus*, a lula mais típica do Japão, a *Illex illecebrosus* e a *Dossidicus gigas* do Pacífico Norte e Sul-Americano.

4.2. Propriedades e características da carne de lula

Diferente dos moluscos bivalves, o rendimento de partes comestíveis das lulas é extremamente alto, representando 60 a 80% do peso total, dependendo da espécie, tamanho do indivíduo e maturidade sexual (SIKORSKI & KOLODZIEJSKA, 1986). Os mesmos autores relatam que a composição química básica da carne do manto e tentáculos das lulas é similar à de um peixe magro, possuindo 75-84% de umidade, 13-22% de proteína bruta, 0,1-2,7% de lipídios e 0,9-1,9% de minerais. Na **Figura 1** é apresentado um esquema de um indivíduo do gênero *Loligo* e o rendimento de suas partes comestíveis.

A organização dos tecidos das lulas em camadas é responsável pela textura da carne, que em algumas espécies pode ser coesiva, pouco elástica e muito resistente ao corte. De acordo com OTWELL & GIDDINGS (1980) a camada de fibras musculares do manto de *Loligo pealei* representa 98% da espessura do manto, sendo formada por bandas largas de fibras orientadas no sentido circunferencial, envolvidas por finas camadas de fibras com orientação radial. Outras quatro camadas de tecido conjuntivo constituem o manto: a túnica interna e a membrana visceral no lado da cavidade do corpo e a túnica e membrana externa sob a pele. Os cefalópodes têm três vezes mais colágeno que os peixes ósseos e a maior parte se encontra nas túnicas (GURHWORTH et al., 1982). A estrutura descrita é um produto da evolução que dotou estes animais sem estrutura interna (esqueleto), nem externa (exoesqueleto), de uma estrutura, chamada tubo ou manto, de grande resistência para conter as vísceras, permitir o movimento e manter a forma do corpo (KREUZER, 1984).

KUO et al., (1991) estudaram a influência da pele e do tecido muscular do manto de lulas na dureza e resistência da carne, concluindo que o colágeno da pele tem mais importância na dureza da carne crua, enquanto que o tecido muscular tem maior importância na carne cozida.

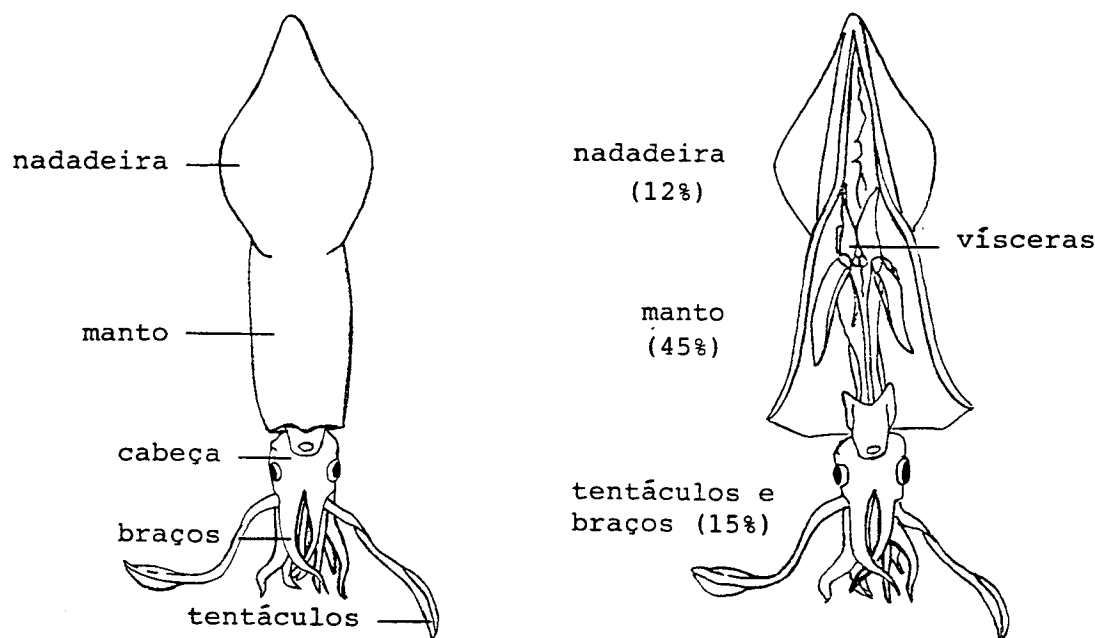


Figura 1. Esquema de um indivíduo do gênero *Loligo* e rendimento de suas diversas partes comestíveis. (Desenho adaptado de BARNES, 1984).

4.2.1. PROTEÍNAS

As proteínas das lulas se caracterizam por sua alta solubilidade em água. Na maioria dos peixes, é possível extrair até 25% das proteínas totais (CONTRERAS, 1994), enquanto que em lulas este valor pode chegar a 55% dependendo da relação água/músculo usada (MIGITA et al., 1954). Isto implica que a actomiosina, o complexo protéico típico das fibras musculares de vertebrados e invertebrados, pode ser solubilizada com água em lulas. Para diferenciar esta actomiosina, que também ocorre em outros moluscos, atribui-se-lhe o nome de M-actomiosina (MATSUMOTO, 1957).

4.2.2. NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO

A fração de nitrogênio não protéico (NNP) é de grande importância científica e tecnológica em cefalópodes. Segundo SOUDAN (1965), estes componentes representam entre 25 e 34% do nitrogênio total. Estes compostos no animal vivo têm funções de detoxificação, osmorregulação e estão envolvidos no metabolismo energético. No animal capturado e destinado à alimentação, conservado por diversos procedimentos, estes compostos são de grande importância tecnológica no controle de qualidade. A fração NNP contém os componentes básicos do sabor e aroma do músculo (também contribuem para o sabor outras substâncias solúveis como açúcares, ácidos orgânicos e minerais). Os aminoácidos livres representam 25% do NNP de músculos de cefalópodes e os que predominam são a prolina, glicina e alanina, embora possa haver diferenças entre as espécies (SUYAMA & KOBAYASHI, 1980). Acredita-se que o melhor sabor das espécies dos gêneros *Loligo* e *Sepia* se deve ao alto teor de aminoácidos livres com predomínio de glicina e alanina, enquanto que nas espécies dos gêneros *Todarodes* e *Thisanoteuthis*, de pior sabor, se detecta um alto teor de óxido de trimetilamina (OTMA) e um baixo conteúdo de aminoácidos livres, exceto da arginina (ENDO et al., 1962).

O estudo dos componentes do NNP tem recebido um grande impulso nas últimas quatro décadas, devido ao desenvolvimento da eletroforese e da cromatografia em todas as suas modalidades, particularmente na técnica de HPLC. Os avanços têm permitido identificar os compostos que perfazem entre 90 e 100% do NNP de peixes, baleias e invertebrados (KONOSU & YAMAGUCHI, 1982), contribuindo para a compreensão das funções bioquímicas e fisiológicas destes compostos no músculo vivo e nas alterações *post-mortem*.

Vários esquemas têm sido sugeridos 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: derivados do amônio quaternário (O-TMA, betaínas), derivados da guanidina (creatina, creatinina, arginina, octopina), derivados do imidazol (histidina, carnosina, anserina, balenina), uréia, aminoácidos livres e derivados das bases púricas.

4.3. Processo de deterioração

Após a morte de um animal vários fenômenos bioquímicos passam a ocorrer nos tecidos ocasionando alterações drásticas nas propriedades físicas dos músculos e alterando as rotas metabólicas e os tipos de compostos formados. Uma das principais alterações é a instalação do estado de *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. Nos pescados, os eventos que ocorrem após a morte podem ser divididos em três fases: *pré-rigor mortis*, *rigor mortis* pleno e *pós-rigor mortis*. A duração da primeira fase depende das reservas de ATP e glicogênio no momento da morte. Qualquer situação que as tiver reduzido, diminuirá o período de *pré-rigor*, o que afetará proporcionalmente o período de *rigor mortis* pleno. Uma fase de *pré-rigor* dilatada corresponderá a um *rigor* pleno prolongado, o que é muito conveniente, pois, nesta fase os pescados ainda mantêm suas defesas naturais

intactas (pele, muco superficial, membranas), apresentam um pH ligeiramente ácido, inibitório para muitos microorganismos e enzimas endógenas e, o que é mais importante, uma estrutura muscular fechada (contraída) que impede a disseminação de enzimas e microorganismos. Devido ao 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 problemas de textura e sua vida de prateleira é muito breve (CONTRERAS, 1994) O resfriamento imediato a bordo é o melhor meio para produzir um *rigor mortis* prolongado nos pescados marinhos.

BOITSOVA & GORDIEVSKAYA, (1983) estudaram as alterações pós morte na espécie de lula *Ommastrephes bartrami* e relataram que, quando as lulas eram mantidas a 19-20°C, o *rigor-mortis* se iniciava em 1,5-2 horas e terminava após 4 horas.

Segundo EHIRA & UCHIYAMA (1987) os fenômenos que ocorrem durante a diminuição do frescor em pescados podem ser divididos em duas etapas, denominadas frescor bioquímico, fase entre a captura e o fim do *rigor-mortis*, e frescor microbiológico, mudanças de qualidade no pós-rigor. Os compostos formados durante a primeira fase são de origem autolítica e impossíveis de se evitar, enquanto que os compostos da segunda fase são produtos de atividade microbiana cuja formação pode ser controlada.

De acordo com CONTRERAS (1994), na fase de frescor bioquímico ocorre somente o acúmulo de intermediários da degradação do ATP, do glicogênio e creatina livre. Na fase de frescor microbiológico uma série de compostos vão sendo formados até que por final os limites de aceitação são ultrapassados. Estes compostos são formados na seguinte sequência:

- aminoácidos livres e peptídeos;
- amônia e aminas voláteis;
- ácidos voláteis, carbonilos e cetoácidos;
- aminas não voláteis e poliaminas
- compostos de enxofre.

4.4. Índices para avaliação de frescor

De acordo com CONTRERAS (1994) o estado de frescor de pescados armazenados pode ser avaliado através de parâmetros bioquímicos, físicos, microbiológicos e sensoriais que comparam a condição em um determinado período com a do animal recém capturado. A taxa de perda de frescor depende, entre outros, de fatores que envolvem:

➤ Características ou condições das espécies

- características anatômicas como tamanho, espessura da pele e textura da carne;
- atividade dos sistemas enzimáticos proteolíticos;
- estados fisiológicos estressantes, como períodos pós-desova ou pós-migração, e privação alimentar.

➤ Condições de captura e tratamento posteriores

- sistemas de pesca;
- habitat da espécie e local de captura;
- manuseio a bordo;
- método de descarga no cais;
- preparo na indústria.

Estes fatores sugerem que a taxa de perda de frescor em lulas deve ocorrer de maneira bastante acelerada visto que na maioria das vezes trata-se de espécies de pequeno tamanho e que, conseqüentemente, possuem uma relação de área/volume elevada, têm sistemas enzimáticos proteolíticos muito ativos, em muitos locais são essas lulas são um subproduto da pesca do camarão e são pescadas durante o período reprodutivo.

Quando os pescados são armazenados em gelo o processo de deterioração ocorre num meio a 1°C com degelo contínuo, o que causa a perda de produtos do catabolismo de substâncias nitrogenadas, geralmente indesejáveis, juntamente com compostos musculares indispensáveis para o desenvolvimento de aroma e sabor. Quando se trata de pescados pequenos, principalmente, este fenômeno causa uma das principais deficiências dos testes objetivos de frescor,

pois um aumento dos produtos metabólicos solúveis, em que estes testes são baseados, só será detectado quando a velocidade de formação exceder a velocidade de lixiviação. Correlações entre número de microrganismos, testes de aceitação sensorial e quantidade dos compostos químicos escolhidos como índices de frescor têm sido utilizadas por pesquisadores para encontrar indicadores de frescor.

4.4.1. NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO (NNP) COMO ÍNDICE DE FRESCOR

Muitos dos índices para controle de qualidade dos pescados, crustáceos e moluscos estão baseados nas modificações de alguns dos componentes individuais do NNP durante o armazenamento. A utilização da determinação global do NNP como índice de frescor tem sido muito questionada, pois alguns estudos relatam que o teor de NNP diminuiu durante o armazenamento e outros relatam um comportamento oposto. O decréscimo constante parece estar relacionado com a lixiviação (COBB III, et al., 1973). CONTRERAS (1994) acredita que o comportamento do NNP depende da espécie, isto é, da sua capacidade de autólise, seja por possuir um potencial hidrolítico endógeno elevado, ou pelas suas próprias características anatômicas.

4.4.2. BASES NITROGENADAS VOLÁTEIS (BNV)

Além da amônia, seu componente principal, as BNV incluem trimetilamina, dimetilamina e, provavelmente traços de monometilamina e propilamina, que se formariam em etapas mais avançadas da decomposição (MOLTENO et al., 1968).

A determinação do N volátil é amplamente utilizada para avaliar a decomposição de pescados devido a sua simplicidade analítica e razoável concordância com o estado de frescor. Um valor de 30mg de BNV/100g é considerado como limite de aceitabilidade para muitas espécies. Para cefalópodes, tal limite parece ser muito baixo, pois algumas espécies já atingem

este teor algumas horas após a captura. KE et al., (1984) sugeriram um limite de 45mg de BNV/100g como limite de comercialização para espécies de lulas consumidas no Canadá.

4.4.3. AMÔNIA

De acordo com CONTRERAS (1984), após a morte o aumento de amônia pode se originar dos seguintes mecanismos: ação das aminoidrolases sobre os nucleotídeos, desenvolvimento microbiano e hidrólise de uréia. A amônia derivada de nucleotídeos é produzida logo após a captura e em alguns casos, no esforço anterior à captura. A amônia gerada por este mecanismo não deve ser considerada um reflexo da deterioração, representando, apenas, uma decomposição autolítica que não pode ser evitada. Na **Figura 2** são mostrados vários caminhos que levam à liberação de amônia durante o catabolismo do ATP, na armazenagem sob refrigeração.

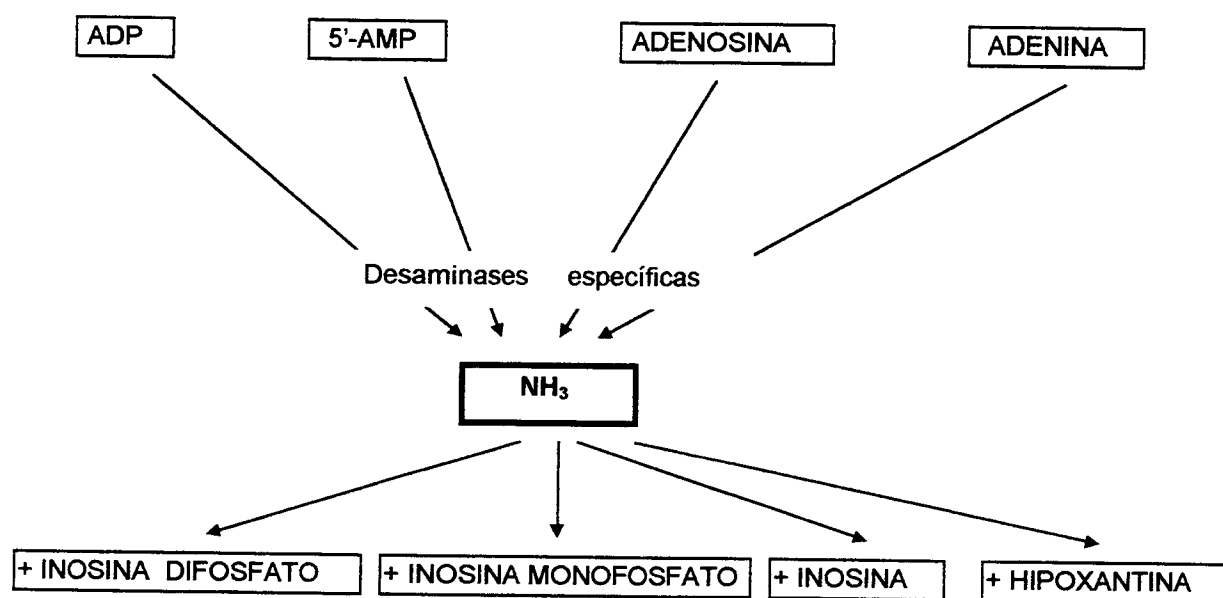


Figura 2. Vias autolíticas de formação de amônia.

Raramente se determina NH_3 como tal, mas como nitrogênio volátil, no teste de BNV. Esta determinação nos pescados muito frescos, coincide com o teor de amônia; porém assim que a armazenagem progride, várias aminas voláteis somam-se à amônia, causando uma diferença perceptível entre as duas determinações. O aumento inicial da amônia pode ser contrabalançado pela lixiviação, principalmente se a área do pescado for muito grande, porém após alguns dias o aumento torna-se notório e, geralmente coincide com o aumento do pH (CONTRERAS, 1994).

A determinação de amônia como critério de frescor para lulas precisa ser empregada com cautela pois vários cefalópodes acumulam altas concentrações do íon amônio nos líquidos celômicos acidificados, que em algumas espécies compreende quase 2/3 do peso do animal (BARNES, 1984). A maior parte dos cátions da água do mar é substituída no fluído celomático por íons amônio derivados dos resíduos metabólicos. Estas espécies utilizam a solução de íons amônio para auxiliar na flutuação, pois em igualdade de concentração iônica, esta solução pesa menos que a água do mar.

4.4.4. AMINAS

O óxido de trimetilamina (O-TMA) e seus compostos de degradação são bastante estudados, e a diminuição gradual da O-TMA e o aparecimento de trimetilamina (TMA) são indicativos do grau de frescor dos cefalópodes. No entanto, nem sempre a diminuição dos níveis de O-TMA são acompanhados por um aumento proporcional de TMA, pois esta pode se perder na água de degelo ou volatilizar. Esta pode ser uma das razões pelas quais a TMA varia pouco em lulas refrigeradas em gelo (NAKAMURA et al. 1985; ROMO et al., 1996). KE et al. (1984) sugeriram um limite de 10mg de N-TMA/100g como limite de comercialização para espécies de lulas consumidas no Canadá.

As aminas de peso molecular elevado, derivadas da arginina (agmatina, putrescina, espermina e espermidina), têm se mostrado de grande valor para

acompanhar a evolução do frescor de invertebrados marinhos (YAMANAKA, 1990). A determinação das poliaminas cadaverina, putrescina, agmatina e das monoaminas com grupos funcionais adicionais, como a histamina, tiramina e triptamina são bons monitores da perda de frescor em cefalópodes (HALASZ et al., 1994). A maioria é formada por descarboxilação dos aminoácidos respectivos por ação bacteriana ou por eliminação de uréia. Uma vez que nas espécies recém capturadas estas aminas não existem, sua detecção é sinal inequívoco de deterioração, ao contrário das bases nitrogenadas voláteis que já estão presentes em um certo nível mesmo no estado fresco. No entanto a detecção e separação de poliaminas somente pode ser realizada por HPLC, método que tem sido de grande valor para o conhecimento das aminas não voláteis em moluscos e peixes (YEN & HSIEH, 1991).

YAMANAKA et al. (1989) estudando o músculo de *Todarodes pacificus* e de vieira relataram que em carnes tratadas com cloranfenicol o número de bactérias viáveis aumentava lentamente e poliaminas eram produzidas em quantidades muito pequenas. Concluíram que poliaminas eram produzidas a partir de aminoácidos por descarboxilases bacterianas e não por enzimas musculares endógenas. No mesmo trabalho relatam que só quando o total de bactérias viáveis atingiu 10^3 /g em lula e 10^3 - 10^4 /g em vieira a formação de poliaminas foi observada.

De acordo com CONTRERAS (1994) 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 AAL que as origina, pode resultar em aminas leves, diaminas ou aminas com funções suplementares, como é mostrado na **Figura 3**.

É interessante destacar o papel da arginina como origem de numerosos metabólitos úteis para acompanhar o frescor em lulas. A arginina é particularmente importante em moluscos e crustáceos, onde preenche a função de fosfagênio e agente osmótico. A evolução deste aminoácido nos moluscos é

bastante complexa, envolvendo várias descarboxilações e eliminação de uréia, formando metabólitos importantes de grande potencial para avaliar qualidade de lula, avalone, vieira e outros bivalvos. A **Figura 4** é uma síntese dos mecanismos de degradação da Arginina nos moluscos, para explicar a origem da putrescina, espermina, espermidina, agmatina e ornitina (CONTRERAS, 1994).

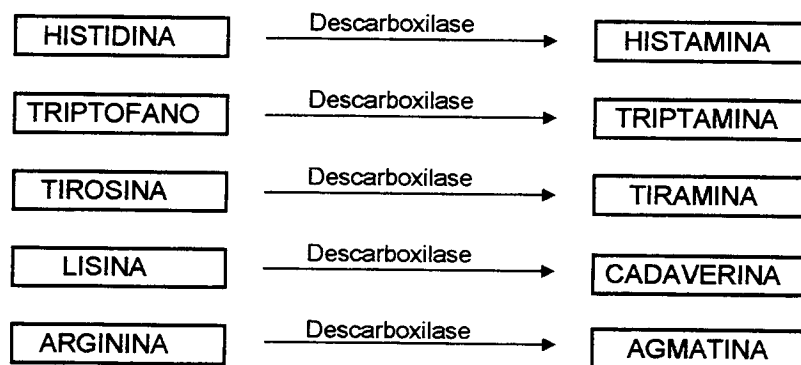


Figura 3. Formação de aminas não-voláteis por descarboxilação de aminoácidos.

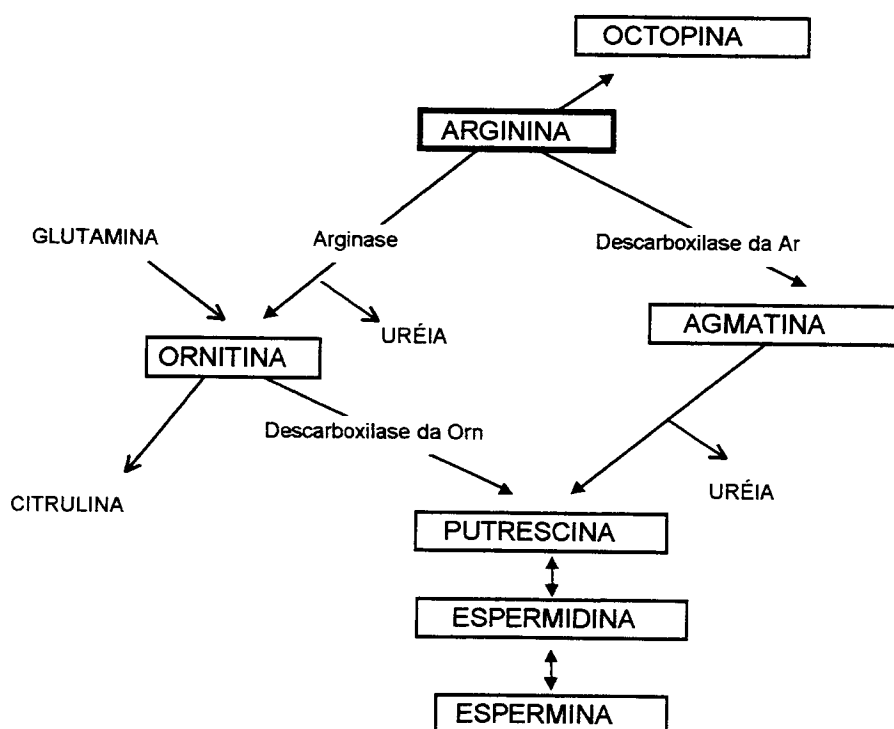


Figura 4. Vias eventuais da degradação de arginina em moluscos.

4.4.5. NUCLEOTÍDEOS - ATP E DERIVADOS

A rota catabólica da adenosina trifosfato (ATP) é amplamente conhecida no músculo de pescados (GREENE et al., 1990), e tanto o ATP como seus derivados são utilizados, sozinhos ou combinados, para monitorar o frescor de uma grande variedade de pescados. Devido à ampla diversidade do padrão de catabolismo dos nucleotídeos, foram propostas relações entre eles para resultar num melhor índice de frescor para peixes e moluscos, sendo os indicadores químicos potenciais de frescor, o teor de hipoxantina e os valores K (SAITO et al., 1959) e K1 (KARUBE et al., 1984) sendo:

$$K = \frac{(\text{hipoxantina} + \text{inosina livre}) \times 100}{\text{nucleotídeos totais}}$$

$$K1 = \frac{(\text{hipoxantina} + \text{inosina livre}) \times 100}{\text{hipoxantina} + \text{inosina livre} + \text{IMP}}$$

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 representam mais de 90% do total, correspondendo ao ATP a contribuição maior (PARTMAM, 1965).

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 sequência de desforilações até adenosina (ARAÍ, 1978). Ambos os mecanismos aparecem na **Figura 5**.

A sequência 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 da presença, na rota "A", da enzima 5"-AMP-aminohidrolase, e na rota "B", da enzima adenosina-aminohidrolase. A primeira enzima é de origem mitocondrial e apresenta a atividade ótima em pH 6,6

(STONE, 1970). ARAI (1978) tem sugerido que a ausência de IMP com o acúmulo de 5'-AMP indica prevalência da rota B nos invertebrados marinhos.

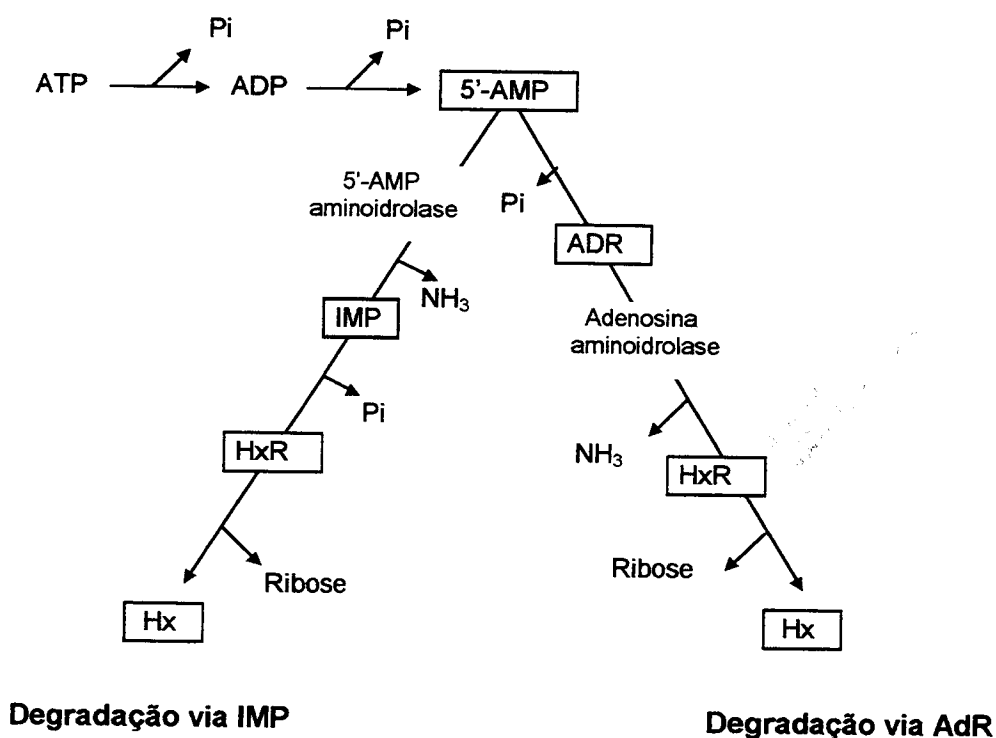


Figura 5. Rotas de degradação do 5'AMP em pescados.

Desde que JONES et al. (1964) publicaram um método para 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.

4.4.6. URÉIA

Alguns autores têm sugerido a determinação de uréia como sendo um bom índice para avaliação do frescor em invertebrados marinhos. OTSUKA et al. (1991) acompanharam a formação deste composto em espécies de caranguejo, camarão, lagosta, vieira, polvo e na lula *Doryteuthis bleekeri*, armazenados em

gelo por 15 dias, concluindo que a uréia pode ser um bom índice para avaliação do frescor nas espécies de camarão, lagosta e lula analisadas pois seu teor se elevou gradualmente durante o período de estocagem.

4.4.7. ALTERAÇÃO DA COR

A coloração das lulas se deve a presença de cromatóforos na pele. A expansão e contração destas células resulta da ação de pequenos músculos que estão inseridos na periferia das células. Quando os músculos se contraem, o cromatóforo se distende formando uma grande placa achatada; quando os músculos relaxam, o pigmento se concentra tornando-se menos aparente (BARNES, 1984). WOYEWODA & KE (1980) citados por KE et al. (1984) relatam que a qualidade de lulas pode ser inicialmente avaliada pela sua coloração externa. Nas lulas frescas, quando as células de pigmentos são removidas juntamente com a pele, a cor do músculo é de cor branco-leitosa. Quando ocorre deterioração das lulas frescas, o pH da carne se torna alcalino, solubilizando pigmentos na epiderme que fazem o músculo se tornar avermelhado (SIKORSKI & KOLODZIEJSKA, 1986).. Deste modo a intensidade da cor vermelha é um indicador da qualidade das lulas (KE et al., 1984).

4.5. Vida de prateleira e métodos de conservação

Os pescados em geral, e neste caso, as lulas em particular, são alimentos muito perecíveis, existindo grande interesse em se estender sua vida de prateleira para melhorar a distribuição e seu uso pela indústria ou diretamente pelo consumidor.

A vida de prateleira de um alimento é o período de tempo para que o produto se torne inaceitável com relação a perspectivas sensoriais, nutricionais ou de segurança (FU & LABUZA, 1993).

Segundo LABUZA & SCHMIDL (1988), medidas objetivas para determinar o final da vida de prateleira, que podem estar relacionadas com a segurança microbiológica e com a qualidade nutricional, têm sido ditadas por regulamentações governamentais. No entanto os órgãos fiscalizadores não avaliam as mudanças sensoriais de produtos alimentícios a não ser que tais mudanças tornem o produto inadequado para venda por estarem relacionadas com odores extremamente desagradáveis ou potencial toxicidade. A vida de prateleira de um produto é efetivamente determinada pelo consumidor através da recusa de compra de um produto que não tenha atendido suas expectativas.

Para a indústria de alimentos a determinação da vida de prateleira de um alimento baseia-se na extensão da perda de qualidade da característica que irá priorizar seu consumo, sendo que neste ponto o produto pode ainda estar organolepticamente aceitável (FU & LABUZA, 1993).

De acordo com REGENSTEIN & REGENSTEIN (1991), do ponto de vista da saúde pública, a vida de prateleira de um pescado é o período de tempo, a partir do dia de captura, em que este ainda pode ser comercializado com segurança, ou seja, em que ele não estiver deteriorado, por outro lado, o fim da vida de prateleira é o ponto no qual o consumidor deixa de adquirir o produto, de modo que os critérios químicos ou microbiológicos devem estar correlacionados com as percepções do consumidor.

4.5.1. ARMAZENAMENTO COM GELO

O método mais utilizado para manter as lulas frescas enquanto estão a bordo é a preservação com gelo picado. No entanto, o contato direto com gelo causa perda de material solúvel na água formada no degelo. De acordo com KE et al. (1991) o armazenamento de lulas em contato direto com gelo de água doce não é adequado pois catalisa a descoloração da pele e altera a textura e sabor dentre outras desvantagens. BORDERIAS (1982) propôs proteger as lulas em sacos plásticos, conseguindo evitar o escurecimento da pele e a perda do sabor.

O gelo deve ser finamente picado ou laminado para proporcionar um bom contato com o plástico (KREUZER, 1984).

STROUD (1978) relata que a aceitabilidade de lulas para consumo fresco é alta ainda com 12 dias, mas que se os animais se destinam a produtos processados, deveriam ter no máximo 5 dias de armazenagem em gelo.

4.5.2. ÁGUA DO MAR RESFRIADA

A conservação em água do mar resfriada tem tido muito êxito com peixes, mas não é muito aconselhada para lulas, exceto por um breve período. As lulas ainda vivas são lançadas em tanques com água do mar a 0°C por uma abertura na cobertura do barco. Por este sistema as lulas são resfriadas muito mais rapidamente que com gelo, mas se assim permanecem por muitos dias ocorre uma intensa lixiviação da carne, que perde nitrogênio não protéico e proteínas (COURT, 1982). Por isso, recomenda-se usar este sistema somente para um rápido resfriamento e, em seguida, acomodar as lulas em recipientes com tampa rodeados externamente por gelo, mantendo-se assim frias e “secas” pelo período necessário até o desembarque.

4.5.3. CHOQUE TÉRMICO

A possibilidade de produzir um choque térmico com salmoura a -18°C nas lulas, antes de sua colocação em gelo ou congelamento, é uma proposta de CONTRERAS et al. (1996). Desta maneira a temperatura do centro do animal cairia mais rápido e poderia haver vantagens em desacelerar o *rigor mortis*.

4.5.4. CONGELAMENTO

O congelamento é um dos melhores métodos para conservar o frescor inicial das lulas. As lulas inteiras, evisceradas, despeladas, ou em partes (mantos, braços, cabeças), são acomodadas em recipientes para até 8kg e congeladas em equipamentos de túnel ou placas. Terminado o congelamento os blocos são desmoldados e imersos por 30 segundos em água doce ou soluções protetoras, a fim de envolver o bloco em uma capa de gelo (glaze) que o protege da dessecação e oxidação durante o armazenamento congelado, geralmente a -18°C (THROWER, 1978).

KE et al. (1991) relatam que a estabilidade da qualidade de lulas congeladas é melhor que a de muitos peixes marinhos e que, quando congeladas a -18°C, ou mais frio, podem manter a qualidade por 1 ano, seja para consumo direto ou processamento.

STANLEY & HULTIN (1982), avaliando a influência do congelamento, refrigeração e cozimento nas espécies de lulas *Illex illecebrosus* e *Loligo pealei* relataram que o armazenamento em gelo durante 5 dias, de lulas frescas ou descongeladas, reduziu significativamente a qualidade em *Illex* mas não em *Loligo* e que esta última foi geralmente preferida em termos de aceitabilidade global. Relatam ainda que a textura estava significativamente mais dura em amostras previamente congeladas de ambas as espécies e que *Illex* fresca endureceu durante a estocagem. Análises de aminas que demonstraram a produção de formaldeído, presumivelmente por uma rota enzimática a partir do óxido de trimetilamina, levaram os autores a especular que esta reação poderia ser responsável por ligações cruzadas entre proteínas e subsequente endurecimento.

4.6. Microbiologia

O número e o tipo de microrganismos encontrados em pescados recém-capturados está mais relacionado ao ambiente em que vivem do que à espécie a qual pertencem, sendo determinados pela localização geográfica, época do ano e método de captura.

Normalmente os pescados capturados em águas tropicais apresentam contagens ligeiramente maiores que os capturados em águas frias e mais distantes da costa (GRAM, 1995). No entanto, de acordo com REGENSTEIN & REGENSTEIN (1991), a vida-de-prateleira de espécies de pescados de águas temperadas varia de 14 a 17 dias, enquanto para aqueles de águas tropicais de 21 a 24 dias quando armazenados em gelo. O autor discute que devido a presença de bactérias psicotróficas e psicofílicas como parte da flora natural em pescados de água temperada, a fase lag para o crescimento destas bactérias poderia ser mais curta devido a alguma pré-adaptação à condição mais fria. Na ausência de gelo, pescados de águas tropicais se deterioram mais rápido que os de águas temperadas devido ao crescimento mais rápido de bactérias não psicotróficas.

O método de captura é um dos fatores que influem no número de bactérias encontradas em produtos marinhos. Segundo FRAZIER & WESTHOOF (1978), os produtos obtidos por métodos de arraste apresentam contagens maiores que os obtidos por "jigging" (linha e anzol), pois ao serem arrastadas as redes podem ser contaminadas com microrganismos do fundo, o que influenciará na carga original.

O número de bactérias na pele e mucosidade de um pescado recém capturado no oceano pode variar de 10^2 a vários milhões/cm² (LISTON, 1980), enquanto o conteúdo intestinal pode conter de 10^3 a 10^9 UFC/g (SHEWAN, 1962). *Shewanella putrefaciens* é considerado como microrganismo específico da deterioração de produtos marinhos conservados a 0°C, se caracterizando por reduzir o O-TMA a TMA e por produzir SH₂ a partir do aminoácido L-cisteína (GRAM et al., 1987).

4.7. Análise Sensorial

Vários pesquisadores enfatizam a importância de correlacionar critérios químicos e/ou microbiológicos com a percepção dos consumidores em estudos de vida de prateleira ou na pesquisa de índices de frescor {REGENSTEIN & REGENSTEIN (1991), FU & LABUZA (1993), LABUZA & SCHMIDL (1988)}. Deste modo a utilização de testes sensoriais torna-se imprescindível nestes tipos de pesquisa.

Segundo recomendações da ASTM (1993), citado por CLEMENTE (1998), a escolha do teste sensorial a ser utilizado em estudos de estabilidade de alimentos baseia-se na previsão dos critérios que irão determinar o fim da vida-de-prateleira do produto. Desta forma três diferentes categorias de testes sensoriais podem ser utilizados: testes de aceitação, testes discriminativos e testes descritivos. Testes discriminativos podem ser apropriados quando qualquer alteração perceptível no produto é o critério selecionado para determinar o final da vida-de-prateleira, por outro lado, testes descritivos podem ser usados quando um ou mais atributos podem definir o final da vida-de-prateleira. Um dos testes descritivos atualmente utilizado pela indústria de alimentos e em pesquisas é a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).

LABUZA & SCHMIDL (1988) relatam que a ADQ pode ser utilizada para caracterizar, avaliar e quantificar mudanças específicas de cor, aroma, e textura que podem ocorrer durante a estocagem, necessitando de um painel de provadores muito bem treinado.

A ADQ foi desenvolvida por STONE et al. (1974) que relatam que neste tipo de análise, indivíduos treinados identificam e quantificam as propriedades sensoriais do produto ou ingrediente. Normalmente é utilizada uma escala não estruturada de 9 centímetros ancorada em cada extremidade por termos que refletem a intensidade da característica sensorial que está sendo avaliada pelo provador.

A utilização da ADQ para a caracterização de alimentos envolve as seguintes etapas:

- Recrutamento de provadores – a equipe de provadores é inicialmente composta de 10 a 12 indivíduos previamente selecionados com base em disponibilidade de tempo, ser consumidor potencial do produto, demonstrar habilidade em perceber diferenças entre as amostras avaliadas e possuir também habilidade para verbalizar as sensações e trabalhar em grupo.
- Desenvolvimento da terminologia descritiva – os provadores avaliam sensorialmente o produto e verbalizam as sensações percebidas, discutindo-as em grupo com a ajuda do líder da equipe.
- Treinamento – é realizado com amostras do próprio produto e com materiais referência.
- Seleção final – são selecionados os provadores que apresentem boa capacidade discriminatória, boa reprodutibilidade e apresentem resultados coerentes com os demais membros da equipe sensorial.
- Teste sensorial
- Análise de resultados – os resultados são avaliados através de análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey para comparação de médias.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material

5.1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

As lulas utilizadas neste estudo foram identificadas como sendo da espécie biológica *Loligo plei*, Blainville (1823), segundo a classificação de ROPER et al. (1984). Numa classificação mais antiga, ainda utilizada por RIOS (1994), a mesma espécie de lula é colocada no gênero *Doryteuthis*, sendo denominada *Doryteuthis plei*.

Experimento com lulas adquiridas no comércio (LA)

Foram utilizados dois lotes de aproximadamente 8 kg de lulas adquiridos em um estabelecimento comercial em Campinas, em março e junho de 1997. Segundo informações obtidas do proprietário do estabelecimento, tais lulas seriam provenientes do Estado de Santa Catarina e teriam aproximadamente entre 3 e 4 dias de armazenamento desde a captura. Nas duas ocasiões os lotes foram acondicionados em caixa com isolamento térmico e levados rapidamente para o Laboratório de Pescados do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, onde foram realizados os experimentos. Simultaneamente, um pequeno número de lulas capturadas artesanalmente em fevereiro de 1997 na Ilha de São Sebastião, e que haviam sido congeladas em neve carbônica logo após a captura, foram incluídas no mesmo ensaio como controle de 0 hora, a fim de dispor de um parâmetro de comparação.

Experimento com lulas coletadas (LC)

Um lote com 230 lulas foi capturado artesanalmente, utilizando-se linha de pesca e anzóis denominados zangareilhas. A pesca foi realizada a partir de uma canoa, na praia do Poço, na Ilha de São Sebastião, litoral norte do Estado de São Paulo, em janeiro de 1998. A **Figura 6** mostra a aparência de uma lula coletada, imediatamente após a retirada da água, ainda viva, e alguns minutos depois, já morta.

A



B



Figura 6. Aparência das lulas (*Loligo plei*) coletadas. A - Imediatamente após a retirada da água, com a musculatura da pele contraída e cromatóforos (células reservatórios de pigmentos) distendidos. B - Alguns minutos após a coleta, com a musculatura relaxada e cromatóforos contraídos.

A medida que as lulas iam sendo coletadas eram colocadas em caixas com isolamento térmico entre camadas de gelo. Os tempos iniciais de amostragem (0 a 12 horas) foram realizadas no próprio local de coleta ou a caminho do laboratório, para os quais 3 lulas foram separadas da caixa com gelo, colocadas em sacos de polietileno e imediatamente congeladas em neve carbônica. Para simular as condições de comercialização, as lulas frescas foram mantidas em gelo, inteiras, com vísceras, e não foram lavadas.

5.1.2. EQUIPAMENTOS E DEMAIS MATERIAIS UTILIZADOS NAS ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS, INSTRUMENTAL E MICROBIOLÓGICA

- Processador de alimentos, marca WALLITA
- Balança analítica, marca OHAUS
- Balança semianalítica portátil, marca AND, modelo EK2000
- Destilador de nitrogênio, marca TECNAL, modelo TE 036
- Bloco digestor para proteínas, marca SARGE
- Mufla, marca FANEM, modelo 413
- Estufa, marca FANEM, modelo 315 SE
- Centrífuga com controle de velocidade e tempo, marca FANEM, modelo 216
- Espectrofotômetro, marca SPECTRONIC, modelo B21
- Colorímetro, marca MINOLTA, modelo CR300
- pHmêtro portátil, marca CORNING, modelo PS30
- pHmêtro e analisador de íons, marca MICRONAL
- Agitador de tubos, marca PHOENIX
- Homogeneizador, marca SEWARD, modelo Stomacher 400
- Capela com fluxo laminar, marca VECO
- Reagentes químicos para uso em laboratório
- Vidrarias de uso geral em laboratório
- Utensílios diversos

5.2. Procedimento experimental

As lulas destinadas aos experimentos foram caracterizadas anatomicamente, medindo-se o comprimento dorsal do manto e o peso do animal inteiro. O experimento com lulas adquiridas foi executado com repetição, sendo os dois lotes de lulas utilizados codificados como A e B. O lote de lulas coletadas

foi mantido em contato direto com gelo durante as primeiras 24 horas, posteriormente, foram selecionadas para o experimento as que possuíam um comprimento de manto superior a 16cm, as quais foram aleatoriamente divididas em dois sublotes submetidos simultaneamente às condições experimentais descritas no item 5.2.1.

5.2.1. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

No experimento LC foram utilizadas as seguintes condições de armazenamento:

Tratamento CCG → As lulas (n=24) foram armazenadas em contato direto com gelo triturado, em caixas com isolamento térmico, numa relação aproximada de 3:1 (gelo:lulas), durante 16 dias, com drenagem da água e reposição do gelo diariamente.

Tratamento SCG → As lulas (n=24) foram armazenadas embaladas em sacos de polietileno (4 lulas/saco) e rodeadas de gelo, porém sem contato direto, em caixas com isolamento térmico, numa relação aproximada de 3:1 (gelo:lulas), durante 16 dias, com drenagem da água e reposição do gelo diariamente.

No experimento LA as lulas foram distribuídas aleatoriamente nos tratamentos CCG e SCG acima detalhados, porém o período de armazenamento foi de 15 dias.

5.2.2. PLANO DE AMOSTRAGEM E PREPARO PARA ANÁLISES

No experimento LC foram amostradas lulas (n=3) nos períodos 0; 1,5; 3; 6; 12 e 24 horas, sendo este estágio denominado de Pré-tratamento (Pré-trat.). Os tratamentos CCG e SCG foram iniciados após 24 horas da coleta e foram feitas amostragens nos períodos 2, 4, 7, 10, 13 e 16 dias de armazenamento, sendo retiradas, aleatoriamente, 4 lulas de cada tratamento, sendo 2 para a análise sensorial e análise instrumental da cor e 2 para as análises microbiológicas e físico-químicas.

No experimento LA foram feitas amostragens nos períodos 1, 2, 4, 7, 10 e 15 dias, sendo as lulas estudadas do mesmo modo que no experimento LC. Na primeira execução do experimento LA as lulas destinadas à análise sensorial foram utilizadas para o treinamento e seleção de provadores.

Após a amostragem para microbiologia, feita assepticamente, foi retirada a cabeça com seus braços e tentáculos, e os corpos foram eviscerados, despelados e então limpos somente com papel absorvente para evitar a lixiviação de compostos solúveis que poderia ocorrer numa lavagem com água. Os mantos sem pele foram homogeneizados em processador de alimentos e em alíquotas desta massa foram feitas as determinações analíticas. Em cada período de amostragem uma certa quantidade de material homogeneizado foi congelada e estocada até o final da pesquisa.

5.2.3. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Na análise microbiológica para determinar a contagem total de aeróbios psicrotrófilos em superfície utilizou-se a metodologia recomendada por SILVA & JUNQUEIRA (1995). De cada lula retirou-se uma faixa de aproximadamente 2cm ao longo do comprimento do manto e, em seguida, as faixas foram picadas com auxílio de bisturi e pinça. Do material picado pesou-se 25g de manto com pele, e homogeneizou-se com 225ml de água salina peptonada, obtendo-se assim a primeira diluição, 10^{-1} . Diluições sequenciais foram feitas de acordo com a contaminação estimada. Como meio de cultura foi utilizado Ágar Padrão para Contagem (PCA) e as placas foram incubadas por 10 dias a 7°C.

5.2.4. ANÁLISE SENSORIAL

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), metodologia desenvolvida por STONE et al. (1974), foi utilizada para determinar o perfil sensorial das lulas frescas e nos diferentes estágios de deterioração. Inicialmente 18 provadores

foram recrutados para a fase de desenvolvimento da terminologia descritiva, realizada através do método de rede (KELLY, 1955, citado por MOSKOWITZ, 1983). Estes provadores descreveram as similaridades e diferenças existentes entre lulas em 3 condições de frescor diferentes, quanto à aparência e aroma. As amostras foram apresentadas aos pares e avaliadas sob duas formas distintas: lulas inteiras e somente manto sem pele. Após a avaliação os provadores foram reunidos e os termos descritores levantados foram discutidos com o auxílio de um líder, sendo selecionados os mais citados. Em seguida foi elaborada a definição dos descritores e determinou-se as amostras referências que deveriam ser memorizadas pelos provadores. Estes descritores foram avaliados em escala não estruturada de 9cm, ancorada nas extremidades com termos de intensidade adequados.

Depois da realização de duas sessões de treinamento os provadores foram selecionados após a avaliação, em duas repetições, de três amostras de lulas em distintos estágios de frescor. Os resultados obtidos para cada provador foram analisados estatisticamente através da análise de variância – ANOVA. Foram selecionados os provadores que apresentaram capacidade discriminatória ($p_{amostra} \leq 0,3$), repetibilidade ($p_{repetição} \geq 0,05$) e consenso com a equipe sensorial de acordo com o sugerido por DAMÁSIO & COSTELL (1991).

5.2.5. ANÁLISES QUÍMICAS

A) Extrato desproteínizado

Foi obtido através da precipitação das proteínas musculares com solução de ácido tricloroacético (ATC) 10%. Foram pesados 25g do material homogeneizado no copo de um liquidificador e adicionou-se 150ml de solução de ATC 10%, procedeu-se a homogeneização por 1 minuto e após um período mínimo de 2 horas de repouso o extrato foi filtrado e em seguida guardado em geladeira para posterior utilização. Tal extrato foi utilizado nas determinações B, C, D, E, F, G, H e I.

B) Determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) (Anexo A)

Foi realizada através do método de HOWGATE, 1976. Utilizou-se 25ml do extrato TCA que foram alcalinizados com MgO e destilados. As BNV destiladas foram recebidas em ácido bórico, com indicador vermelho de metila e verde de bromocresol, até um volume de 125ml, e posteriormente tituladas com HCl 0,02N.

C) Determinação de Amônia (Anexo A)

Foi determinada colorimetricamente após destilação de uma alíquota do extrato TCA e complexação com ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS). Método adaptado de ADLER-NISSEN, 1979.

D) Determinação de Trimetilamina (Anexo A)

Foi analisada colorimetricamente como picrato de TMA pelo método de DYER (1945), modificado por MURRAY & GIBSON (1972).

E) Determinação de Óxido de Trimetilamina (O-TMA) (Anexo A)

O O-TMA foi reduzido a TMA com tricloreto de titânio e determinado colorimetricamente como picrato de TMA pelo método de DYER (1945), modificado por MURRAY & GIBSON (1972).

F) Determinação de Nitrogênio Não Protéico (NNP) (Anexo A)

Foi realizada em uma alíquota do extrato TCA após digestão e destilação pelo método de Kjeldhal para determinação de nitrogênio total, HORWITZ (1980).

G) Determinação de Aminoácidos Livres Totais (Anexo A)

Foram determinados após reação com ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS). O aminoácido Prolina não reage com o TNBS, não sendo, portanto, determinado por este método. Método adaptado de ADLER-NISSEN (1979).

H) Determinação de Triptofano Livre (Anexo A)

Foi utilizado o método colorimétrico desenvolvido por CONTRERAS & LAPA GUIMARÃES (1989). Neste método o aminoácido triptofano reage com antrona formando um complexo púrpura com absorbância máxima a 546nm, permitindo determinar até um mínimo de 5µg de triptofano livre ou em proteínas.

I) Determinação de Uréia (Anexo A)

Foi determinada no extrato TCA pelo método colorimétrico da diacetil monoxima, sendo usado o Kit UREA NITROGEN Cat. nº 535A da Sigma Chemical Company. Neste método a uréia reage com diacetil (formado a partir da diacetilmonoxima em meio ácido) originando uma diazina púrpura com absorbância máxima a 545nm.

J) Determinação de Nucleotídeos e Índices K e K1

Foi utilizada uma solução de ácido perclórico 10% para extrair os nucleotídeos de 5g de músculo homogeneizado. Após separação por centrifugação o sobrenadante foi neutralizado com KOH 20% e novamente centrifugado. O sobrenadante neutralizado foi diluído com 50ml de água destilada. Durante todo este procedimento a amostra foi mantida gelada. A separação dos nucleotídeos foi realizada por HPLC, utilizando uma coluna LiChrospher 100 RP-18 (5µm) LiChroCART 125-4 mantida a 30°C. A eluição foi feita de forma isocrática, utilizando-se como fase móvel KH_2PO_4 , pH 6,5, 100mM e a absorbância foi medida a 254nm (RYDER, 1985). Os padrões utilizados foram ATP, ADP, AMP, Inosina monofosfato, Hipoxantina, Xantina, Inosina, e Adenosina, todos marca SIGMA.

L) Determinação do pH

Para o experimento LA pesou-se 10g de músculo homogeneizado em erlenmeyer com tampa e adicionou-se 40ml de água destilada, misturando-se a amostra, sendo a leitura do pH realizada em pHmetro marca Micronal, modelo B374. Para o experimento LC o pH do músculo homogeneizado das lulas foi determinado com um eletrodo de penetração marca Ingold acoplado a um pHmetro marca Mettler Toledo, não sendo necessária a mistura com água.

M) Determinação de Umidade, Nitrogênio Total (NT) e Cinzas

Foram utilizados os métodos descritos por HORWITZ (1980). As análises de NT e Cinzas foram feitas somente para caracterização do material.

N) Determinação de Lipídios Totais

Foi analisado através do método de BLIGH & DYER (1959). Esta análise foi feita somente para caracterização do material.

5.2.6. AVALIAÇÃO INSTRUMENTAL DA COR

O acompanhamento da variação de cor da pele e do manto sem pele das lulas amostradas foi realizada instrumentalmente com o colorímetro marca Minolta, modelo CR 300. Utilizou-se ângulo visual de 2°, iluminante padrão D65 e o sistema de cor $L^*a^*b^*$ (também conhecido como CIELab) desenvolvido pela Commission Internationale de l'éclairage (CIE) para a expressão numérica da cor, onde o parâmetro L^* indica luminosidade, e a^* e b^* são as coordenadas de cromaticidade. Para avaliação da cor da pele foram estabelecidos 6 pontos diferentes, como mostra a **Figura 7A**, em função da grande variação da cor ao longo do corpo do animal. No manto sem pele as medidas de cor foram feitas em quatro pontos, **Figura 7B**. Em todos os pontos a leitura obtida foi igual a média de três repetições (três pulsos de luz emitidos pelo colorímetro).

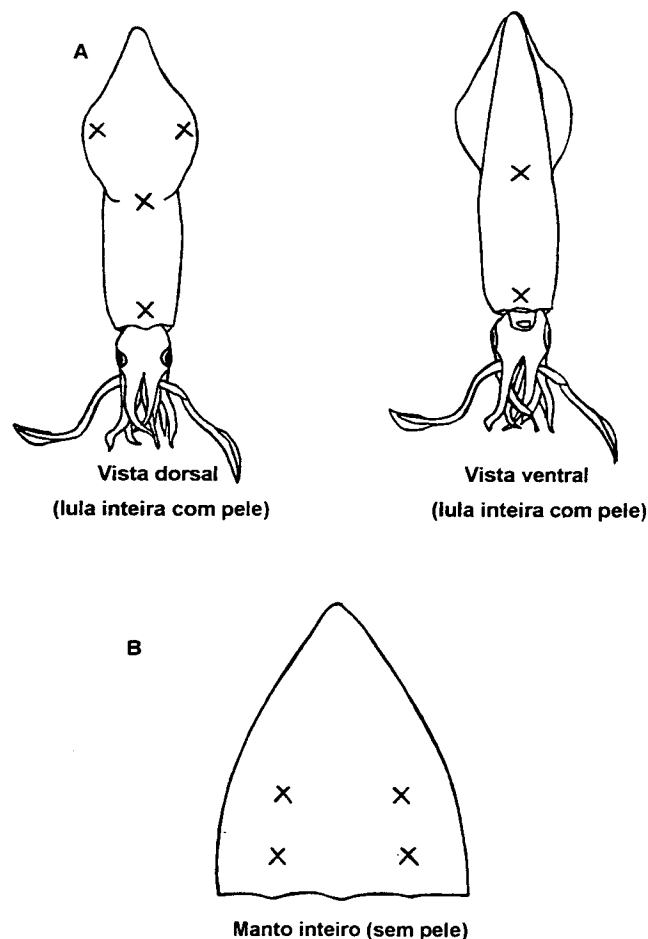


Figura 7. Pontos de leitura (X) utilizados na avaliação instrumental da cor da pele de lulas (A) e do manto sem pele (B).

5.2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas, físico-químicas, sensoriais e instrumentais foram analisados estatisticamente através de análise de variância – ANOVA, teste de comparação de médias (Tukey, $p \leq 0,05$) e análise de correlação. A ANOVA foi aplicada aos efeitos: tratamento, período de amostragem e interação entre tratamento e período. Deste modo determinou-se a existência de diferença estatística entre os tratamentos durante todo o armazenamento e também entre os tratamentos em cada período de amostragem.

De acordo com GACULA (1984) as regressões linear simples e quadrática e a função exponencial são os modelos estatísticos mais usados em estudos de vida de prateleira, quando se quer relacionar a taxa de perda de qualidade de um produto em função do tempo de armazenamento e estimar a vida útil do produto. Assim, no experimento LC, onde o tempo real de armazenamento era conhecido, modelos estatísticos (linear, exponencial e quadrático) foram testados para representar as variações ocorridas em alguns parâmetros examinados em função do período de armazenamento em cada tipo de tratamento, sendo sua adequação aos dados avaliada pelo nível de significância e ^{Coefficiente} Índice de Determinação (R^2). Para os resultados obtidos na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) foram aplicados, além dos testes estatísticos já mencionados, a Análise de Componentes Principais (ACP), segundo MUNÕZ et al. (1992). Os programas utilizados foram: SAS – Statistical Analysis System, 1985, Excel (Copyright ©1985-1997 Microsoft Corporation) e Statistica for Windows (Copyright ©1990-1995 Microsoft Corporation – StatSoft, Inc. 1995).

No experimento LA os resultados obtidos com os lotes de lulas codificados como A e B estão apresentados separadamente pois a Análise Sensorial foi executada somente para o lote B. No experimento LC são apresentadas as médias obtidas para os dois lotes que foram submetidos às condições experimentais simultaneamente.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Caracterização da matéria prima

6.1.1. CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA

A relação entre comprimento dorsal do manto (CDM) e peso total (PT) das lulas coletadas está apresentada na **Figura 8**. O CDM variou desde 9 até 27,5cm com uma média de 16,3cm e o PT desde 30,4 até 244,2g com a média de 96,9g. Foi obtida uma regressão linear significativa ($p < 0,01$) entre PT e CDM, com coeficiente de determinação (R^2) = 0,9223. Para realizar o experimento LC foram selecionadas as lulas com comprimento superior a 16cm, de modo que o lote fosse o mais semelhante possível às lulas normalmente comercializadas. Procedendo-se deste modo, a média de CDM foi de 18,7cm e de PT de 120,5g para o lote de 114 lulas utilizado.

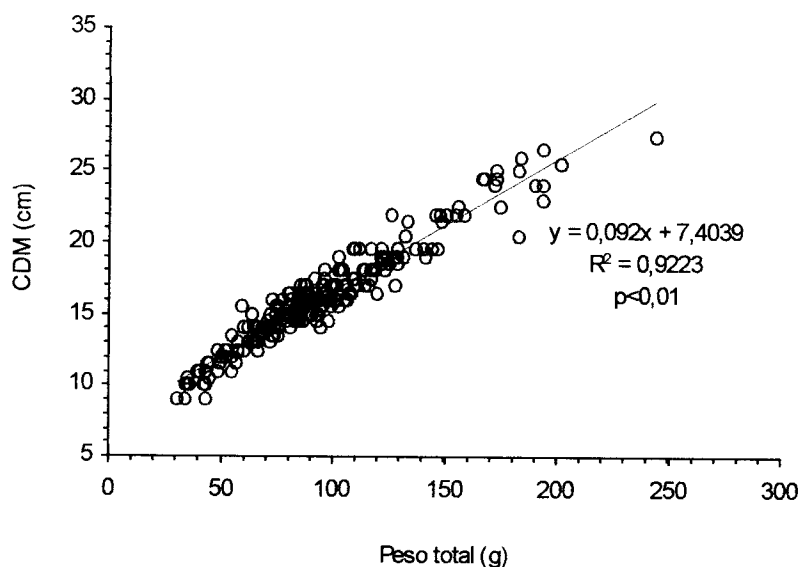


Figura 8. Relação entre comprimento dorsal do manto (CDM) e peso total (PT) no lote de lulas (*Loligo plei*) coletadas.

A relação entre CDM e PT das lulas dos lotes A e B utilizados no experimento LA está apresentada na **Figura 9**. As médias de comprimento e peso foram 25,5cm e 166,6g para o lote A e de 28,2cm e 175,7g para o lote B,

respectivamente. Foram obtidas regressões lineares significativas ($p < 0,01$) entre PT e CDM, e os coeficientes de determinação obtidos foram $R^2 = 0,7614$ para A e $R^2 = 0,6125$ para B. No caso de indivíduos com peso acima do normal em relação ao seu comprimento a explicação poderia ser a presença de areia dentro do manto, o que foi constatado em alguns indivíduos durante a amostragem, revelando o tipo de sistema de pesca utilizado, o arraste de fundo, que provoca a contaminação do produto com areia.

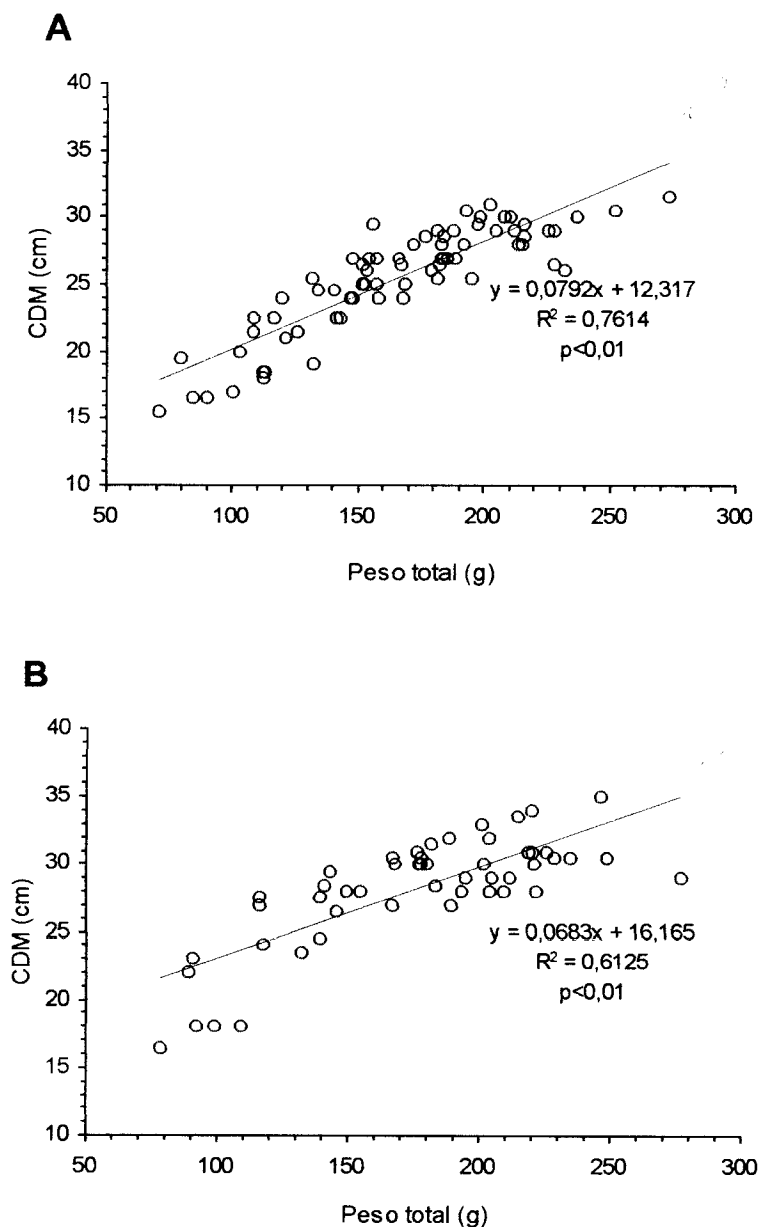


Figura 9. Relação entre comprimento dorsal do manto (CDM) e peso total (PT) nos lotes A e B de lulas adquiridas no comércio.

6.1.2. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA LULA FRESCA (0 HORA)

6.1.2.1. Composição centesimal

Os valores de composição centesimal básica do manto de lulas frescas (0 Hora), determinados em duas ocasiões (anos de 1997 e 1998) estão apresentados na **Tabela 1**. A percentagem de proteínas foi calculada como $(NT - NNP) \times 6,25$.

De um modo geral, a composição centesimal de *Loligo plei* corresponde àquela relatada por SOKORSKI & KOLODZIEJSKA (1986) para manto e tentáculos de lulas. KE et al. (1991) determinaram a composição centesimal do manto de *Illex illecebrosus*, encontrando 18% de proteínas, 1% de lipídios, 79% de umidade e 1% de minerais. Para *Loligo pealei*, JHAVERI et al. (1984) determinaram 1,67% de lipídios, 1,09% de minerais, 81,34% de umidade e 16,33% de proteínas, calculada como $NT \times 6,25$. As diferenças entre os teores de umidade, minerais e proteínas determinados em *Loligo plei* e *Loligo pealei* possivelmente se originam do procedimento experimental, mais do que devido a reais diferenças entre as espécies, uma vez que em *L. pealei* o teor de proteínas foi calculado sem desconsiderar o NNP e as amostras foram obtidas já congeladas, não sendo conhecido seu armazenamento prévio.

Tabela 1. Composição centesimal de músculo do manto de lulas (*L. plei*) frescas (0 Hora) determinada em amostras coletadas nos anos de 1997 e 1998.

| Data de coleta | Umidade (%) | Lipídios (%) | Cinzas (%) | NT (%) | NNP (%) | Proteína (%) |
|----------------|--------------------|-------------------|------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| (19/02/97) | 74,24 ^a | 1,96 ^a | 1,71 | 3,44 ^a | 0,98 ^a | 14,83 ^a |
| (14/01/98) | 74,94 ^b | 1,39 ^b | 1,96 | 3,41 ^a | 0,98 ^a | 15,15 ^a |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

NT = nitrogênio total

NNP = nitrogênio não protéico

Foram detectadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as amostras dos anos de 1997 e 1998 para o teor de lipídios e de NNP. Os teores de NNP

encontrados em *Loligo plei* representam em média 30,4% do NT, encontrando-se dentro da faixa relatada por SOUDAN (1965), mas superior ao valor de 25% encontrado por CONTRERAS (1994) para o mesmo gênero de lulas, provavelmente porque no último caso tratava-se de lulas adquiridas em estabelecimento comercial, conservadas com gelo, talvez já com alguma perda de solutos devido à lixiviação (comunicação pessoal).

6.1.2.2. Componentes do nitrogênio não protéico (NNP) nas lulas frescas

Na **Tabela 2** estão os resultados das análises para determinação dos componentes do NNP em lulas frescas coletadas em dois anos consecutivos. Estes valores foram também utilizados na construção dos gráficos da evolução de cada composto durante a armazenagem refrigerada, sendo que para o tratamento LC os valores determinados para a amostra 0 hora estão ligados aos determinados após 24 horas e codificados como Pré- trat.

Somente para os teores de amônia não foi detectada diferença ($p>0,05$) entre as amostras coletadas nos dois anos consecutivos.

O valor de 2507,87mg de AAL/100g encontrado para a amostra coletada em 1997 é semelhante aos teores relatados por ROMO et al. (1996) para a espécie *Dosidicus gigas* (2813mg%) e por CONTRERAS et al. (1996) para a espécie *Loligo gahi* (2750mg%). Este teor de AAL representa 36,8% do NNP do músculo. O teor determinado para a amostra coletada em 1998, de 640,45mg de N-AAL/100g, representa 64,6% do NNP do músculo, o que parece ser uma percentagem muito elevada.

Os teores de BNV encontrados são altos se comparados ao relatado por OHASHI et al. (1991) que não detectou BNV na lula *Todarodes pacificus* no primeiro dia de armazenamento, mas são semelhantes aos relatados para *Loligo gahi* por CONTRERAS et al. (1996).

Os dados são apresentados em tabelas.

OTSUKA et al. (1992) encontraram 5,4mg de amônia/100g de músculo de lulas da espécie *Doryteuthis bleekeri*, valor significativamente mais baixo que o encontrado neste trabalho com *Loligo plei*.

Em comparação com a espécie *Dosidicus gigas*, estudada por ROMO et al. (1996), os teores de N-TMA determinados em *L. plei* são menores, enquanto os teores de uréia e triptofano são semelhantes. A espécie *Loligo gahi* (CONTRERAS et al., 1996) apresenta valores iniciais de N-TMA e de uréia maiores que os de *L. plei*.

SIKORSKI & KOLODZIEJSKA (1986) relatam que o teor de O-TMA em lulas pode variar de 300-1300mg/100g. O teor encontrado em *L. plei* situa esta espécie entre aquelas que possuem pouco O-TMA, o que confere um sabor mais agradável à sua carne.

Tabela 2. Componentes do NNP de músculo do manto de lulas (*L. plei*) frescas (0 hora) determinados em amostras coletadas nos anos de 1997 e 1998.

| Data de coleta | N-AAL (AAL) (mg/100g) | N-BNV (mg/100g) | N-Amônia (mg/100g) | N-TMA (mg/100g) | N-O-TMA (mg/100g) | Triptofano (mg/100g) | Uréia (mg/100g) |
|-------------------------|-----------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|--------------------|
| (19/02/97) (2507,87) | 491,26 ^b | 15,74 ^a | 8,98 ^a | 0,00 ^b | 192,59 ^a | 2,06 ^a | 3,29 ^b |
| (14/01/98) (4002,81) | 640,45 ^a | 11,14 ^b | 10,14 ^a | 0,47 ^a | 121,29 ^b | 1,45 ^b | 4,79 ^a |

Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

N-AAL = nitrogênio de aminoácidos livres

N-BNV = nitrogênio de bases nitrogenadas voláteis

N-TMA = nitrogênio de trimetilamina

AAL = aminoácidos livres

N-Amônia = nitrogênio de amônia

N-O-TMA = nitrogênio de óxido de trimetilamina

análise de 1998 em amostras coletadas em 1997 e 1998
 N-AAL = nitrogênio de aminoácidos livres
 N-BNV = nitrogênio de bases nitrogenadas voláteis
 N-TMA = nitrogênio de trimetilamina
 N-O-TMA = nitrogênio de óxido de trimetilamina
 Triptofano = triptofano
 Uréia = uréia

6.2. Alterações durante o armazenamento e avaliação de índices de frescor

6.2.1. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE PSICROTRÓFILOS

As variações nas contagens de microrganismos psicrotrófilos (CPsi) de lulas coletadas, experimento LC, está representada na **Figura 10**. Equações exponenciais se mostraram estatisticamente adequadas para representar as variações ocorridas neste parâmetro, como indicam os coeficientes de determinação obtidos. Estes resultados estão de acordo com LABUZA (1982), que relata que o crescimento microbiano em carne fresca é um tipo de deterioração que segue uma cinética de 1ª ordem.

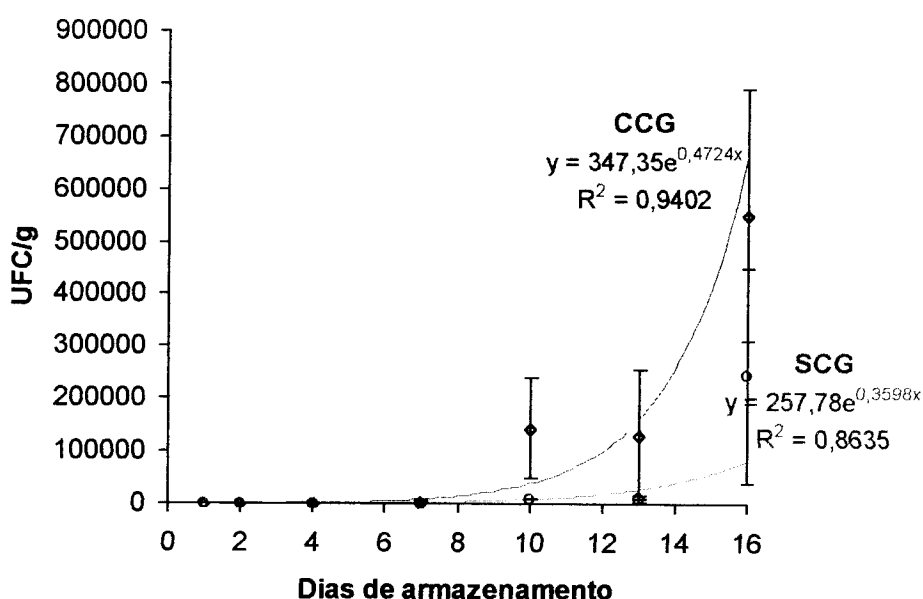


Figura 10. Variações nas contagens de microrganismos psicrotrófilos totais em lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Estão indicadas as equações exponenciais ajustadas aos resultados e coeficiente de determinação de cada modelo. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Utilizando-se as equações exponenciais ajustadas (CCG $\rightarrow y = 347,35e^{0,4724x}$ e SCG $\rightarrow y = 257,78e^{0,3598x}$) para calcular o dia no qual a carga de microrganismos psicrotrófilos chegaria a 10^6 , determina-se 17 dias de armazenamento para o tratamento CCG e 23 dias para o tratamento SCG, o que sugere uma tendência de desenvolvimento de microrganismos psicrotrófilos maior no tratamento CCG.

No entanto, a ANOVA não indicou diferença significativa entre os tratamentos, provavelmente em função dos grandes desvios que ocorreram nos resultados das análises microbiológicas deste grupo de lulas. Quando o Teste de Tukey foi aplicado para os resultados de cada período de amostragem, somente no 7º dia foi detectada diferença significativa entre os tratamentos, sendo a CPsi maior ($p < 0,05$) para o tratamento CCG (**Anexo B**).

A água do mar amostrada no local onde foi realizada a coleta das lulas apresentou uma contaminação inferior a 10^2 UFC/ml e a contaminação inicial do lote de lulas coletadas, $8,3 \times 10^2$ UFC/g, é um valor bastante baixo quando comparado a dados da literatura. Em um trabalho de OHASHI et al. (1991), a contagem padrão de bactérias em placa, de músculo de lulas frescas da espécie *Todarodes pacificus* esteve entre 10^4 e 10^5 UFC/g. Os mesmos autores relatam que não ocorreu aumento significativo da contagem padrão de bactérias em placa quando o músculo foi armazenado a 0°C durante 14 dias e que a contagem de bactérias psicrotróficas apresentou o mesmo padrão.

A manipulação cuidadosa e o resfriamento rápido das lulas parecem ser fatores decisivos na manutenção da qualidade microbiológica. A respeito da manipulação POLO VILLAR et al. (1979), investigaram a qualidade microbiológica de cefalópodes congelados inteiros ou cortados e apresentados de diversas maneiras (anéis, tiras, tentáculos e nadadeiras, mantos recheados) comercializados em supermercados. A menor contaminação foi encontrada em cefalópodes inteiros ($2,5 \times 10^4$ colônias/g) enquanto a maior foi encontrada em cefalópodes cortados em anéis ($4,1 \times 10^6$ colônias/g). Os autores concluíram que o processo de industrialização repercutiu negativamente na qualidade microbiológica do produto final e que a manipulação durante o processo de elaboração foi inadequado do ponto de vista sanitário.

No presente estudo, realizado com *Loligo plei*, mesmo após 16 dias de armazenamento nos tratamentos CCG ou SCG, a carga microbiana ainda não havia atingido valores de 10^6 UFC/g nos, o que indica que lulas desta espécie, quando coletadas, manipuladas e armazenadas sob condições adequadas, podem

ser microbiologicamente aceitáveis para consumo humano até pelo menos 16 dias de armazenamento em gelo (temperatura entre 0 e 1,0°C).

No experimento LA, realizado com lulas adquiridas em estabelecimento comercial a ANOVA indicou que os lotes de lulas apresentaram CPsi estatisticamente diferentes para os dois tratamentos. O teste de Tukey aplicado para períodos de amostragem detectou que o tratamento CCG apresentou médias significativamente maiores ($p < 0,05$) que as do tratamento SCG no 7º e 15º dia para o lote A e nos dias 4, 7 e 15 para o lote B (**Anexo B**). Na **Figura 11** é possível observar o maior nível de contaminação microbiológica dos dois lotes de lulas no tratamento CCG a partir do 10º dia de armazenamento.

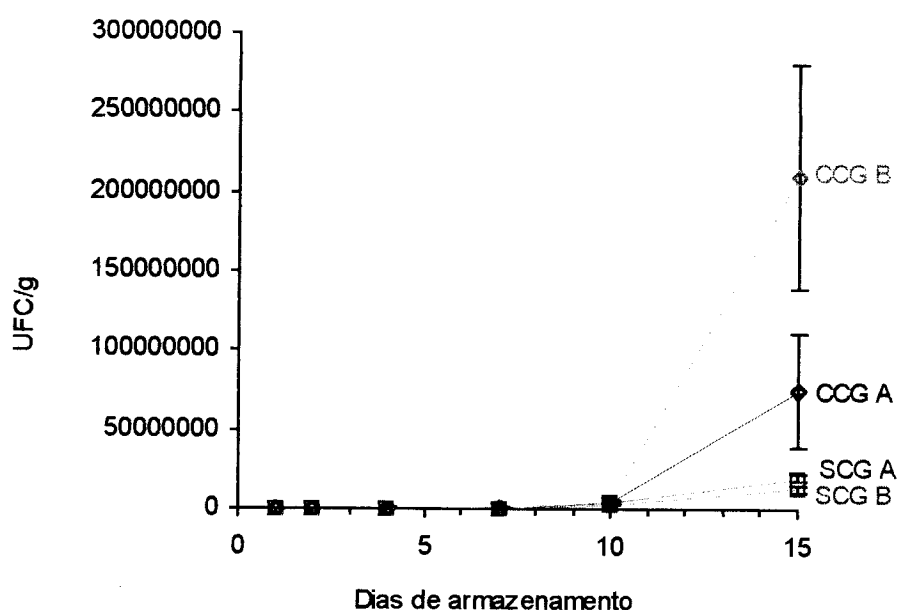


Figura 11. Variações nas contagens de microrganismos psicrófilos totais nos dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

A contagem inicial de psicrófilos nos dois lotes de lulas de procedência comercial ($1,3 \times 10^4$ e $1,0 \times 10^4$) esteve abaixo do limite de contaminação permitido para consumo humano. Após 7 dias de armazenamento em gelo as lulas do lote B no tratamento CCG passaram a apresentar uma contaminação superior a 10^6 UFC/g de amostra, o que somente ocorreu após o décimo dia nos outros

tratamentos. O acondicionamento das lulas em sacos de polietileno no tratamento SCG, evitando uma maior exposição do material a agentes contaminantes externos (gelo, caixa, manuseio na troca de gelo) poderia ser o motivo da contaminação mais baixa encontrada neste tratamento.

Uma vez que no comércio as lulas são normalmente mantidas em contato direto com gelo, foi utilizada a equação exponencial obtida para o tratamento CCG no experimento LC ($y = 347,35e^{0,4724x}$) para estimar o tempo real de armazenamento das lulas adquiridas no comércio, determinando-se que a contaminação inicial das lulas utilizadas no experimento LA foi semelhante a das lulas coletadas já com cerca de 7 dias desde a captura e que a contaminação no 7º dia foi compatível com um período de armazenamento de cerca de 16 e 17 dias para o tratamento CCG lotes A e B, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Equação do modelo estatístico ajustado para representar o crescimento microbiano no tratamento CCG do experimento LC utilizada para calcular o período total estimado de armazenamento de lulas do experimento LA.

6.2.2. ANÁLISE SENSORIAL

6.2.2.1. Desenvolvimento da ficha de avaliação e seleção de provadores

Após a realização de duas sessões para levantamento de termos, a equipe sensorial foi reunida para discussão, sendo escolhidos 8 atributos para caracterizar e quantificar as similaridades e diferenças entre amostras de lulas armazenadas em gelo nos tratamentos CCG e SCG, em diversos estágios de

frescor. Tais descritores estão relacionados na **Tabela 4**, assim como suas definições e as referências utilizadas pelos provadores. Após a definição destes descritores foi elaborada a ficha para avaliação utilizada pelos provadores, apresentada na **Figura 12**. Ao final das etapas de treinamento e avaliação preliminar de amostras de lulas, 14 provadores que apresentaram boa capacidade discriminatória, repetibilidade e consenso com a equipe sensorial foram selecionados.

Tabela 4. Definição dos descritores de aparência e aroma e referências escolhidos para a Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) de lulas armazenadas em gelo.

| DESCRIPTOR | DEFINIÇÃO | REFERÊNCIA |
|---|--|---|
| Aparência do músculo | | |
| COR CARACTERÍSTICA (CORC) | Cor branca-leitosa, levemente amarelada. | Músculo de lulas frescas. |
| PRESENÇA DE MANCHAS ESCURAS OU ROSADAS (MANC) | Existência de pigmentação não característica (cores escuras ou rosadas). | Músculo de lulas deterioradas ou em vias de deterioração. |
| BRILHO (BRIL) | Reflexão de raios luminosos a partir de uma superfície lisa. | Músculo de lulas deterioradas. |
| Aroma do músculo | | |
| AROMA DE PESCADO FRESCO (FRES) | Aroma suave, associado a maresia, água do mar, algas marinhas. | Músculo de lulas frescas, mariscos frescos. |
| AROMA DE PESCADO DETERIORADO (DETE) | Aroma forte, penetrante, associado a pescados deteriorados ou em vias de deterioração. | Músculo de lulas deterioradas. |
| Aparência externa da lula inteira | | |
| ESPALHAMENTO/INTENSIFICAÇÃO DA COR ROSA (ESIN) | Fenômeno onde a cor rosa característica da pele das lulas frescas se torna mais escura e se espalha por todo o manto a partir da região mais próxima à cabeça. | Lulas deterioradas. |
| FLACIDEZ (FLAC) | Característica relacionada com a perda da forma original do corpo das lulas. | Lulas deterioradas |
| OPACIDADE DOS OLHOS (OPAC) | Característica de um objeto ou produto que não se deixa atravessar pela luz. | Olhos de lulas deterioradas. |

FICHA PARA ANÁLISE SENSORIAL DE LULAS

NOME: _____ DATA: _____

POR FAVOR, FAÇA UM TRAÇO VERTICAL NA ESCALA NO PONTO QUE MELHOR DESCREVE A INTENSIDADE DE CADA ATRIBUTO.

AMOSTRA: _____

APARÊNCIA DO MÚSCULO

Cor característica

Fraca _____ Forte

Presença de manchas
escuras ou rosadas

Nenhuma _____ Muitas

Brilho

Pouco _____ Muito

AROMA

Característico de pescado fresco

Fraco _____ Forte

Característico de pescado
deteriorado

Fraco _____ Forte

APARÊNCIA EXTERNA (LULA INTEIRA)

Espalhamento / Intensificação
da cor rosa

Pouco _____ Muito

Flacidez

Pouca _____ Muita

Opacidade dos olhos

Pouca _____ Muita

Comentários: _____

Figura 12. Ficha para avaliação sensorial de lulas utilizada nos experimentos LA e LC.

6.2.2.2. Alteração do perfil sensorial das lulas durante o armazenamento

Os perfis sensoriais das lulas do experimento LC (**Figura 13**) sugerem que ao final do período de armazenamento de 16 dias as amostras dos tratamentos CCG e SCG apresentavam uma acentuada diminuição da cor característica (CORC) e aroma de pescado fresco (FRES) e o concomitante aumento de presença de manchas escuras ou rosadas (MANC), aroma de pescado deteriorado (DETE), espalhamento/intensificação da cor rosa (ESIN), flacidez (FLAC) e opacidade dos olhos (OPAC) em relação às lulas avaliadas no início do armazenamento (24 horas).

A comparação entre os perfis sensoriais de lulas sugere que há diferença entre os tratamentos CCG e SCG ao final do armazenamento em todos os descritores exceto OPAC. No entanto, diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos no período de 16 dias de armazenamento foram detectadas somente para os descritores CORC, brilho (BRIL), MANC e FLAC (**Figura 15**).

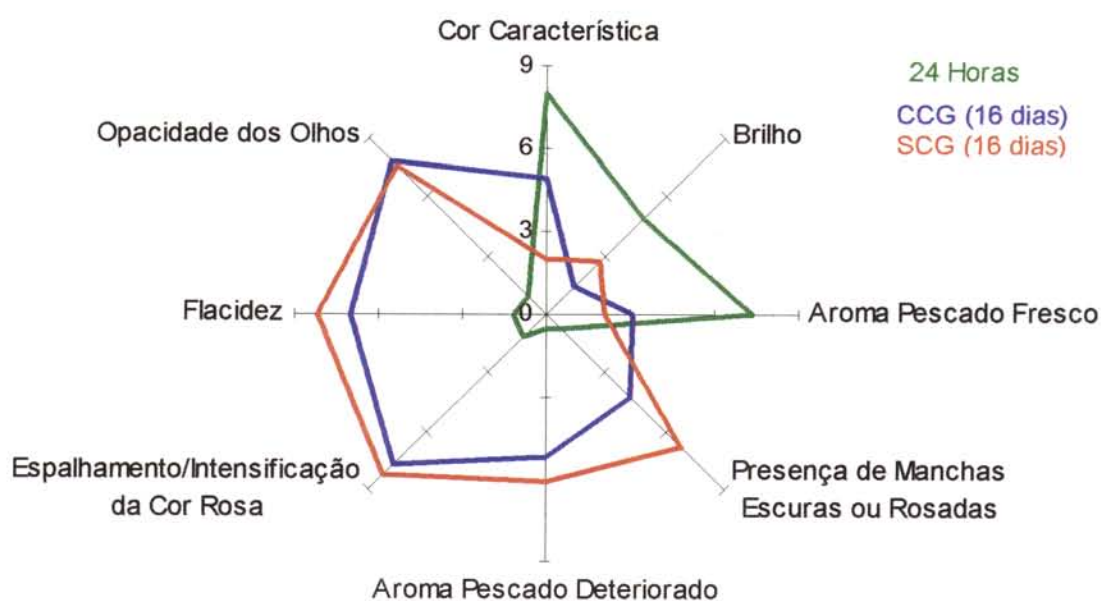


Figura 13. Perfis sensoriais de lulas (*Loligo plei*) avaliadas 24 horas após a coleta e aos 16 dias de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

Os perfis sensoriais de lulas adquiridas em estabelecimento comercial, experimento LA, lote B, (**Figura 14**) apresentaram um padrão semelhante aos encontrados no experimento LC, sugerindo que após 15 dias de armazenamento as lulas de ambos os tratamentos haviam perdido a intensidade de CORC e FRES em relação à amostra do primeiro dia. A comparação entre os perfis sensoriais de lulas ao final do armazenamento sugere a ocorrência de diferenças entre os tratamentos nos descritores BRIL, MANC, ESIN, FLAC e CORC, no entanto, as diferenças significativas ($p < 0,05$) foram posteriormente detectadas somente para os três primeiros descritores citados (**Figura 18**).

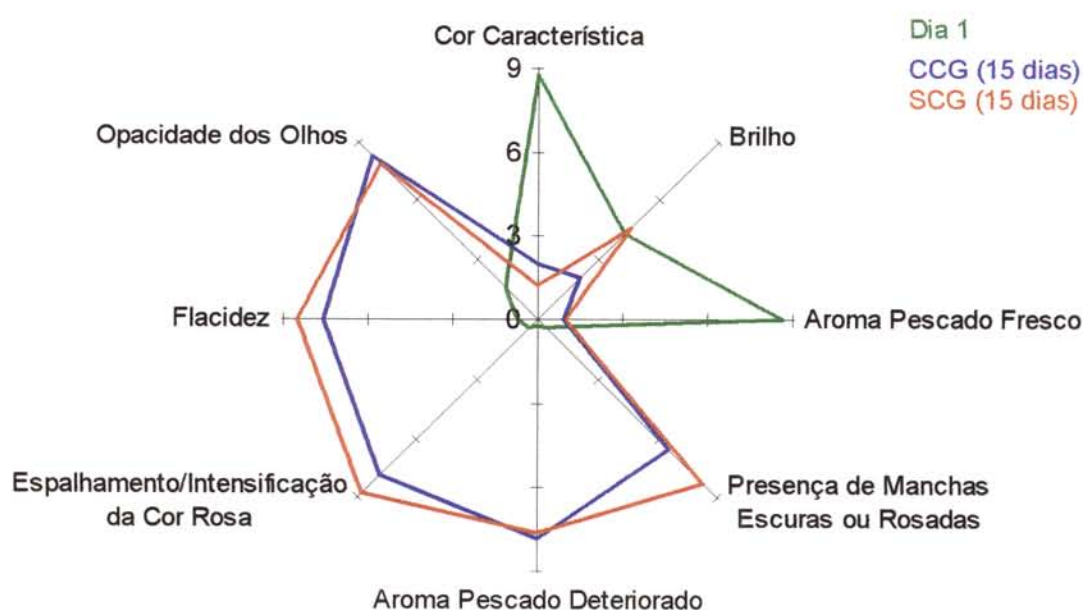


Figura 14. Perfis sensoriais de lulas adquiridas no comércio, no 1º e no 15º dia de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

No experimento LC foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos CCG e SCG para os descritores CORC, MANC, BRIL e OPAC ($p < 0,01$) e também para FRES, DETE e ESIN ($p < 0,05$). Na **Figura 15** estão apresentadas as alterações nos valores médios das notas dos 8 atributos durante o experimento LC, assim como os resultados do teste de Tukey para as médias de períodos dos tratamentos CCG e SCG, sendo que os sinais * e ** indicam diferenças estatisticamente significativas aos níveis de 5% e 1% de probabilidade de erro, respectivamente.

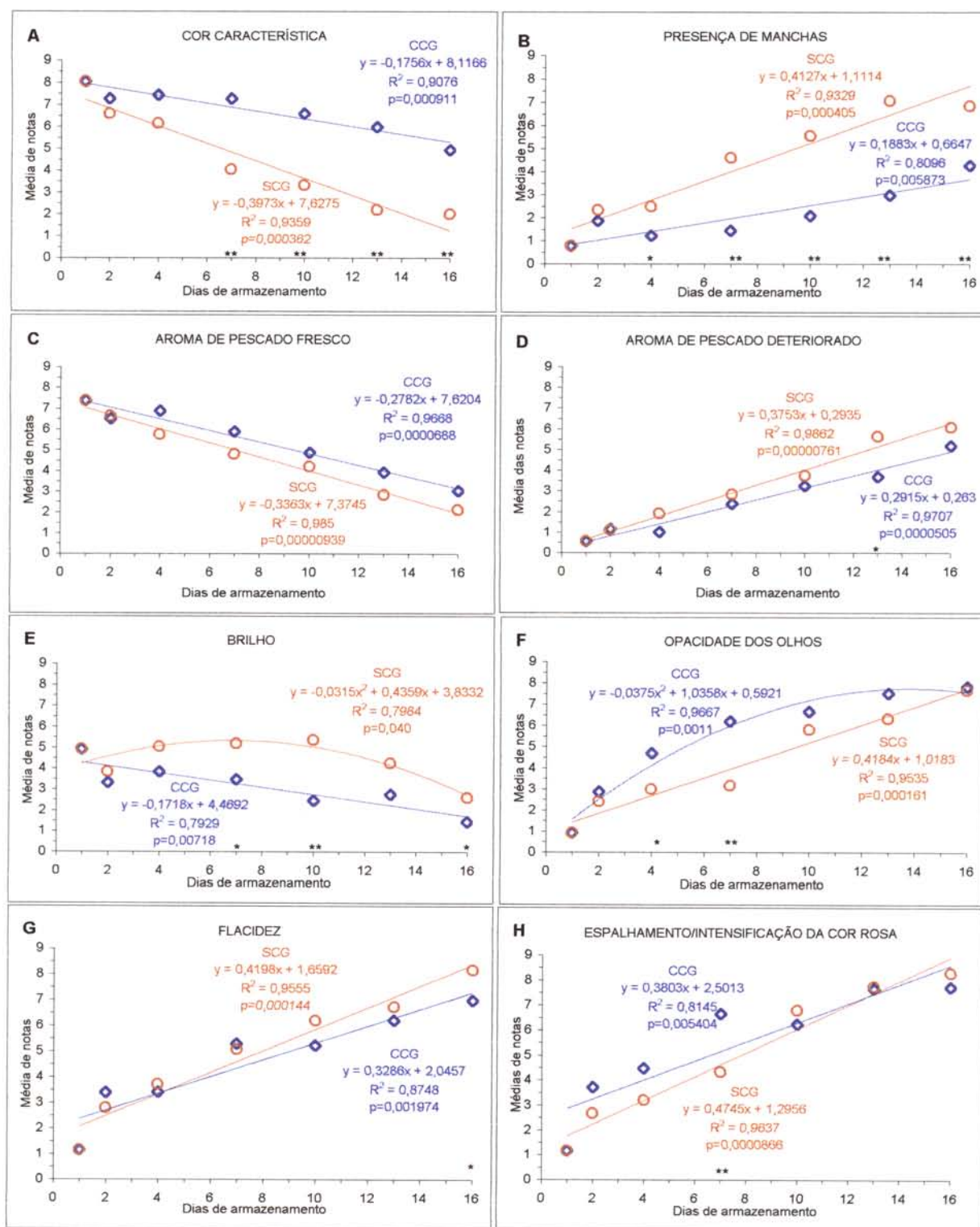


Figura 15. Alteração nos valores médios das notas atribuídas pelos provadores aos diversos atributos sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, no experimento LC. Estão apresentadas as equações lineares ou quadráticas ajustadas aos resultados, nível de p e coeficiente de determinação de cada modelo. * e ** representam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% e 1% de significância, respectivamente.

Obteve-se para o descritor CORC do manto sem pele de lulas (**Figura 15A**) uma nota média de 8,0 no 1º dia de armazenamento. A partir do 7º dia os tratamentos passaram a apresentar médias significativamente diferentes entre si ($p<0,01$). A diminuição da qualidade retratada por este descritor nos dois tratamentos resultou em regressões lineares significativas ($p<0,01$), sugerindo que os provadores conseguiram perceber este decréscimo de qualidade ao longo do período de armazenamento.

Para o descritor MANC a amostra inicial recebeu uma nota média de 0,8. A partir do 4º dia de armazenamento os tratamentos CCG e SCG passaram a apresentar médias de período estatisticamente diferentes entre si. Neste atributo os provadores também perceberam a diminuição de qualidade ao longo do período, sendo obtidas regressões lineares significativas ($p<0,01$) para os dois tratamentos (**Figura 15B**).

Para o descritor BRIL (**Figura 15E**) somente foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos nos dias 7, 10 e 16. No tratamento CCG a diminuição do brilho ao longo do armazenamento pôde ser bem representada pelo modelo de regressão linear ($p<0,01$), enquanto no tratamento SCG o modelo que melhor se ajustou aos resultados foi o de regressão quadrática ($p<0,05$). Verificou-se que a avaliação desta característica do músculo das lulas se tornou bastante difícil para os provadores. Durante a fase de treinamento os provadores definiram que o brilho das amostras aumentava durante o armazenamento (**Tabela 4**), o que não ocorreu com o músculo das lulas durante o experimento LC. No experimento LA, cujos resultados serão descritos a seguir, ocorreram flutuações na intensidade de brilho durante o armazenamento para as amostras submetidas aos dois tratamentos. Aparentemente, a umidade superficial do músculo afetou diretamente a intensidade de brilho, e assim, as condições do ambiente, principalmente a umidade relativa, exerceram uma grande influência nestes resultados.

Nos atributos FRES (**Figura 15C**) e DETE (**Figura 15D**) os provadores perceberam bastante bem a diminuição da qualidade, sendo obtidas regressões lineares significativas ($p<0,01$) para os dois tratamentos. O FRES passou do valor

de 7,4 no 1º dia de armazenamento para 3,0 e 2,1 aos 16 dias de armazenamento, nos tratamentos CCG e SCG, respectivamente, não sendo detectada diferença significativa entre os tratamentos em nenhum período de amostragem. A nota média obtida para DETE passou de 0,6 no primeiro dia para 5,2 e 6,1 para os tratamentos CCG e SCG, respectivamente, ao final do período, sendo que a única diferença significativa entre os tratamentos ocorreu no 13º dia de armazenamento.

Quanto à OPAC (**Figura 15F**) a média de notas foi de 0,9 no 1º dia de armazenamento, atingindo valores de 7,8 e 7,6, para os tratamentos CCG e SCG, respectivamente, ao final do período de armazenamento. Os tratamentos CCG e SCG foram estatisticamente diferentes somente nos dias 4 e 7. No tratamento CCG o modelo de regressão quadrática foi o que melhor se ajustou aos resultados ($p<0,01$), enquanto que no tratamento SCG a regressão linear foi adequada ($p<0,01$) para representar as variações nas médias de notas atribuídas pelos provadores.

Para os descritores de Aparência Externa das lulas, ESIN (**Figura 15H**) e FLAC (**Figura 15G**) obtiveram-se também regressões lineares significativas ($p<0,01$) para os dois tratamentos, revelando que a equipe sensorial percebeu bastante bem a diminuição da qualidade ao longo do período de armazenamento através destes descritores. Uma nota média de 1,2 para ESIN foi recebida pela amostra de lulas no 1º dia, atingindo valores de 7,7 e 8,3, para os tratamentos CCG e SCG, respectivamente, no 16º dia, sendo que somente no 7º dia uma diferença significativa entre médias de período foi detectada. Para o atributo FLAC foi obtida uma nota média de 1,2 no início do experimento e notas de 7,0 e 8,2 ao final do armazenamento, para os tratamentos CCG e SCG, respectivamente, sendo que a única diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos foi detectada no dia 16.

A aparência externa das lulas coletadas e a aparência do manto sem pele, após 1, 2, 7 e 13 dias de armazenamento nos dois tratamentos, estão apresentadas nas **Figuras 16 e 17**, respectivamente.

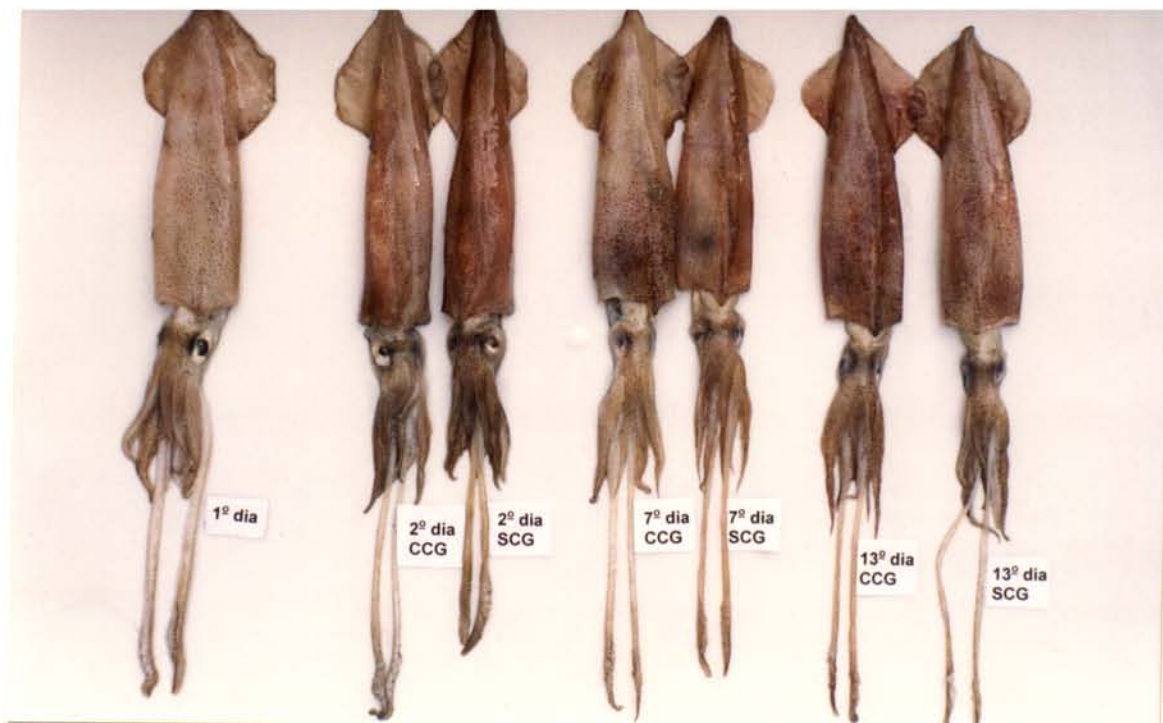


Figura 16. Aparência externa das lulas (*Loligo plei*) coletadas após 1, 2, 7 e 13 dias de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo.



Figura 17. Aparência do músculo sem pele das lulas (*Loligo plei*) coletadas após 1, 2, 7 e 13 dias de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo.

No experimento LA, a ANOVA aplicada ao efeito tratamento detectou diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos CCG e SCG para os descritores CORC e MANC ($p < 0,01$), BRIL e FLAC ($p < 0,05$). A ANOVA indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos, ao se analisar todo o período de armazenamento, em relação aos atributos FRES, DETE, OPAC e ESIN,. No entanto, quando a ANOVA foi aplicada aos resultados de cada período de amostragem, detectou-se pelo menos um período com diferença significativa entre os tratamentos CCG e SCG para estes descritores (**Figura 18**).

Para o descritor CORC do manto (cor branco-leitosa) (**Figura 18A**) a partir do segundo dia e até o décimo dia os tratamentos apresentaram médias diferentes ($p < 0,01$) entre si. A diminuição da qualidade retratada por este descritor nos dois tratamentos foi bem representada por regressões lineares ($p < 0,05$).

Para o descritor MANC durante todo o armazenamento os tratamentos CCG e SCG apresentaram médias de período estatisticamente diferentes entre si. Neste atributo foram obtidas regressões lineares significativas para os dois tratamentos (**Figura 18B**).

Para o descritor BRIL (**Figura 18C**) somente a partir do décimo dia as médias de tratamentos por período passaram a apresentar diferença significativa entre si. As flutuações nas médias por período que ocorreram ao longo do armazenamento, não permitiram ajustar um modelo de regressão linear ou quadrática.

Nos atributos FRES (**Figura 18D**) e DETE (**Figura 18E**) os provadores perceberam bastante bem a diminuição da qualidade, sendo obtidas regressões lineares ($p < 0,01$) para os dois tratamentos. Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre médias de período foram detectadas no dia 10 para FRES e nos dias 2 e 10 para DETE.

Para os descritores de Aparência Externa das lulas, ESIN (**Figura 18F**), FLAC (**Figura 18G**) e OPAC (**Figura 18H**) obtiveram-se também regressões lineares altamente significativas para os dois tratamentos.

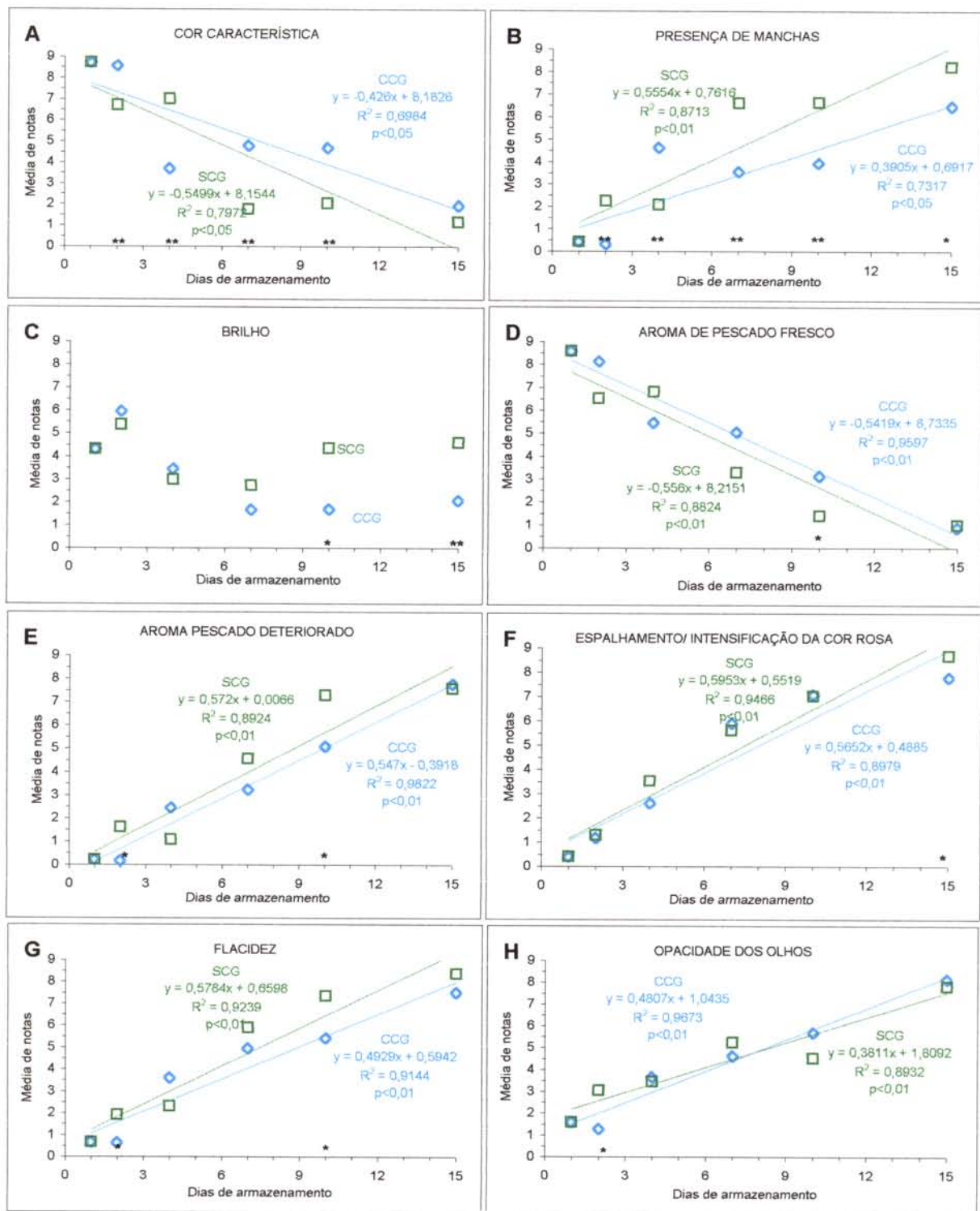


Figura 18. Alteração nos valores médios de notas atribuídas pelos provadores aos diversos atributos sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, no experimento LA, lote B. Estão apresentadas as equações lineares ou quadráticas ajustadas aos resultados, nível de p e coeficiente de determinação de cada modelo. * e ** representam médias estatisticamente diferentes ao nível de 5% e 1% de significância, respectivamente, no correspondente período de armazenamento.

Tanto no experimento com lulas coletadas (LC) quanto no realizado com lulas adquiridas em estabelecimento comercial (LA), as regressões lineares ajustadas para representar as variações na CORC e na MANC sugerem que o tratamento CCG foi mais eficiente na manutenção da aparência do músculo. Os coeficientes angulares com valores absolutos maiores nas equações das retas do tratamento SCG indicam que tanto a redução da cor característica (branco-leitosa), quanto o aumento da presença de manchas no músculo foram mais rápidos nas lulas submetidas a este tratamento que ao tratamento CCG para um mesmo intervalo de tempo. Em relação ao aroma do músculo o mesmo fenômeno ocorreu no experimento LC, onde os coeficientes angulares das equações indicam que o FRESC diminuiu mais rapidamente, com um concomitante aumento mais acentuado do DETE no tratamento SCG. No experimento LA, pelo contrário, os coeficientes angulares das equações dos dois tipos de tratamento são bastante próximos, fazendo com que as retas sejam paralelas, o que indica que a perda de aroma de pescado fresco e o aparecimento de aroma de pescado deteriorado foram muito semelhantes nos dois tratamentos. Quanto ao ESIN, as regressões lineares obtidas sugerem que os tratamentos apresentaram comportamento muito semelhante pois no experimento LC as retas se cruzam, sendo os valores do tratamento CCG maiores que os do SCG no início do armazenamento e menores no final, e no experimento LA os coeficientes angulares são muito próximos. Para o atributo FLAC, os coeficientes angulares maiores das equações de regressão ajustadas para o tratamento SCG indicam que o progressivo aumento desta característica foi mais rápido neste tratamento em relação ao CCG. A OPAC aumentou mais rapidamente no tratamento CCG no início do armazenamento no experimento LC e foi bastante semelhante entre os tratamentos no experimento LA, onde, embora o coeficiente angular da reta ajustada aos resultados do tratamento CCG seja maior, ocorre cruzamento das regressões ajustadas aos resultados dos dois tratamentos na metade do período de armazenamento.

6.2.2.3. Análise de componentes principais

A variabilidade entre amostras pode ser avaliada graficamente com o emprego da análise de componentes principais (ACP). Este tipo de análise pode ser bastante útil quando o objetivo de um estudo é acompanhar alterações de atributos de um produto durante o armazenamento (PEPPARD, 1988). Na **Figura 19** podem ser observados os resultados da ACP da avaliação sensorial de lulas para os tratamentos CCG e SCG, respectivamente, no experimento LC.

No tratamento CCG (**Figura 19A**) o primeiro componente principal (CP1) explicou 88,5% da variabilidade total entre as amostras dos diferentes períodos de armazenamento e o segundo componente principal (CP2) explicou 6,11% da variabilidade total. No tratamento SCG (**Figura 19B**) os CP1 e CP2 explicaram 86,5% e 10,6% da variabilidade existente entre as amostras de diferentes períodos de amostragem, respectivamente.

Na ACP os atributos sensoriais avaliados aparecem no gráfico representados como vetores e as amostras representadas por um ponto, uma linha, um triângulo ou um quadrado, de acordo com o número de repetições avaliadas pelos provadores. No caso do experimento LC, as amostras são representadas por linhas, ligando dois pontos que representam as avaliações sensoriais feitas pelos provadores, com repetição. A separação espacial entre as amostras está relacionada ao grau de similaridade ou diferença entre elas e no caso análise feita com repetição, quanto menor o comprimento da linha, melhor a reprodutibilidade da equipe sensorial. Além disso as amostras ficam localizadas próximas aos vetores que representam os atributos presentes em maior intensidade nestas amostras. Desta maneira a **Figura 19** confirma que as amostras dos primeiros dias de armazenamento (1, 2 e 4) se caracterizaram por apresentar maior intensidade de cor característica, brilho e aroma de pescado fresco nos dois tratamentos. Os atributos aroma de pescado deteriorado, presença de manchas, opacidade dos olhos, espalhamento/intensificação da cor rosa e flacidez estiveram presentes em maior intensidade nas amostras do 13º e 16º dia. Neste experimento pode-se observar que a reprodutibilidade da equipe sensorial

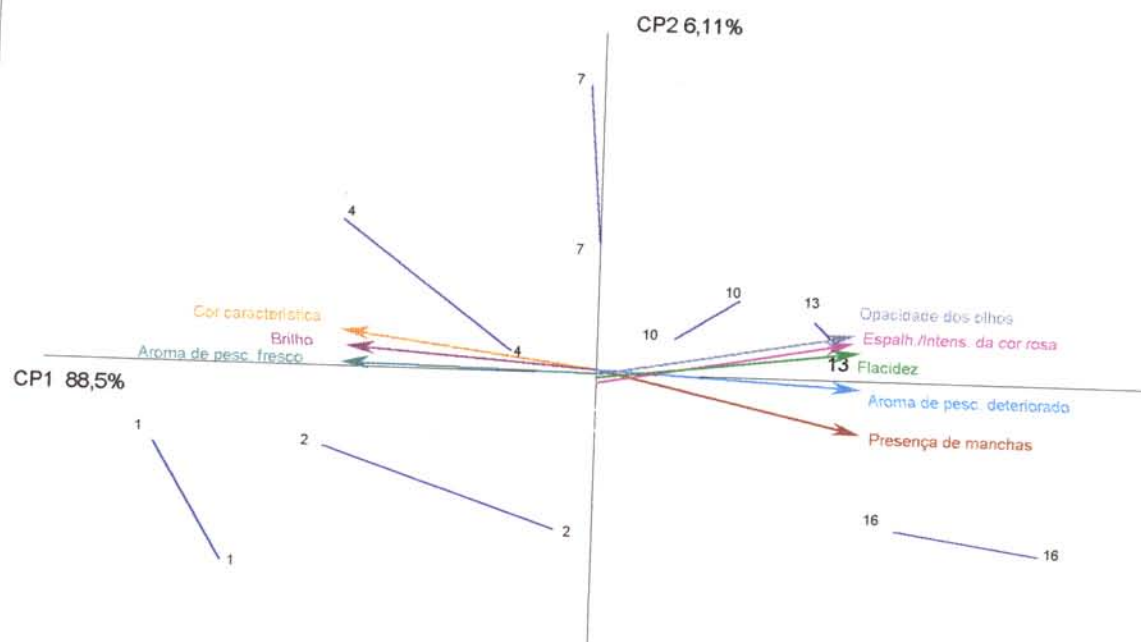
foi melhor para as amostras do final do período de armazenamento nos dois tratamentos, pois o comprimento das linhas destas é relativamente menor.

Na ACP o comprimento dos vetores corresponde à importância relativa de cada atributo na discriminação das amostras, de modo que vetores longos sugerem atributos nos quais as amostras diferem mais entre si. Neste estudo todos os vetores apresentaram comprimento bastante semelhante o que sugere que sua importância na discriminação das amostras foi igual.

A posição relativa entre os vetores também origina informações importantes na ACP, deste modo vetores próximos indicam atributos que provavelmente apresentam correlação linear positiva entre si e aqueles cujo ângulo se encontra próximo de 180° possivelmente apresentam correlação linear negativa entre si. Deste modo, a **Figura 19** sugere a existência e correlação linear positiva entre ESIN e MANC no tratamento SCG. Correlação linear negativa possivelmente ocorre entre FRES e DETE, e entre CORC e MANC nos dois tratamentos, e entre CORC e ESIN no tratamento SCG. Análises realizadas posteriormente confirmaram a existência destas correlações (**Tabelas 8 e 9**).

A ACP pode fornecer inclusive indicações sobre a redução da qualidade das lulas ao longo do armazenamento em gelo. A posição relativa das amostras dos diversos períodos de armazenamento nos gráficos A e B (**Figura 19**) sugere que tanto no tratamento CCG quanto no SCG do experimento LC houve uma significativa diminuição da qualidade das lulas após o 7º dia de armazenamento, pois a partir do 10º dia as amostras se encontram localizadas nos quadrantes positivos do CP1 onde também se localizam os vetores que representam características indesejáveis.

A (CCG)



B (SCG)

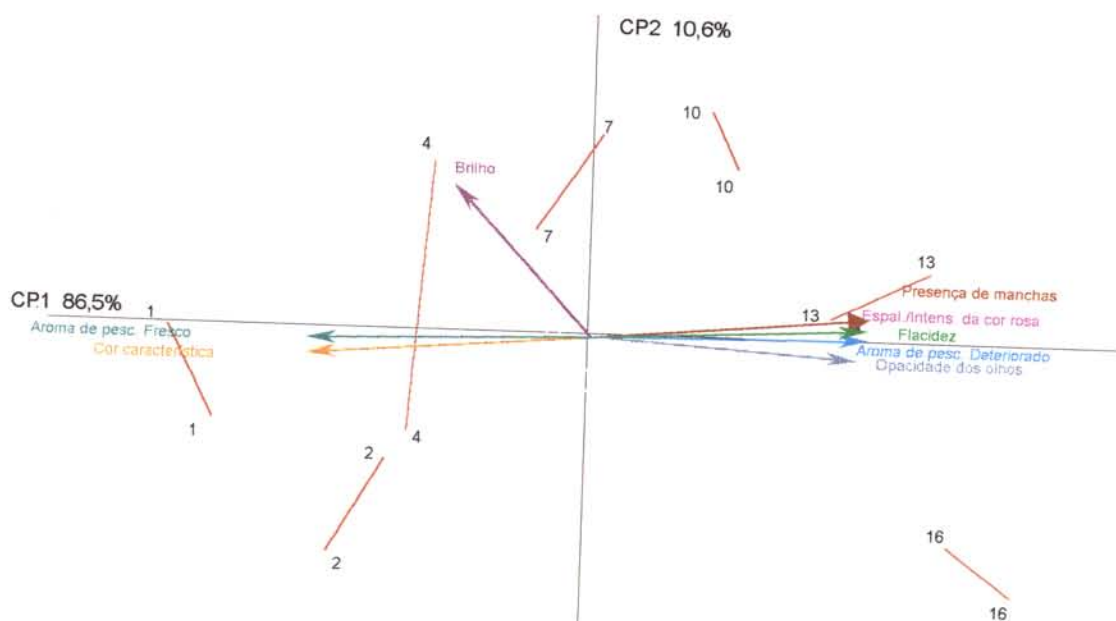


Figura 19. Gráficos da Análise de Componentes Principais da avaliação de lulas (*Loligo plei*) coletadas, armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

Na **Tabela 5** estão apresentadas as equações dos modelos estatísticos ajustados para cada descritor e tratamento, assim como as notas calculadas de cada descritor e a percentagem de perda de qualidade de lulas no 7º dia. No tratamento CCG a perda de qualidade foi menor que no tratamento SCG para os atributos CORC, MANC, FRES, DETE e FLAC, e maior que no tratamento SCG para os atributos ESIN e OPAC. Deste modo, o tratamento CCG foi mais eficaz que o SCG na preservação do músculo (aparência e aroma) apresentando uma redução média de qualidade de 34,36% no 7º dia, contra 41,58% no tratamento SCG. Quanto à preservação da aparência externa o tratamento SCG apresentou uma redução média de qualidade de 48,77% no 7º dia, contra 57,57% no tratamento CCG.

Tabela 5. Equações dos modelos estatísticos ajustados utilizadas para calcular as notas de cada descritor e a % de perda de qualidade de lulas no 7º dia de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| TRATAMENTO | DESCRITOR | EQUAÇÃO | Nota calculada do dia 7 | % de perda de qualidade |
|------------|-----------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| CCG | CORC | $y = -0,1756x + 8,1166$ | 6,9 | 23,5 |
| | MANC | $y = 0,1883x + 0,6647$ | 2,0 | 22,0 |
| | BRIL | $y = -0,1718x + 4,4692$ | 3,3 | 63,7 |
| | FRES | $y = -0,2782x + 7,6204$ | 5,7 | 37,0 |
| | DETE | $y = 0,2915x + 0,263$ | 2,3 | 25,6 |
| | ESIN | $y = 0,3803x + 2,5013$ | 5,2 | 57,4 |
| | FLAC | $y = 0,3286x + 2,0457$ | 4,3 | 48,3 |
| | OPAC | $y = -0,0375x^2 + 1,0358x + 0,5921$ | 6,0 | 66,7 |
| SCG | CORC | $y = -0,3973x + 7,6275$ | 4,8 | 46,1 |
| | MANC | $y = 0,4127x + 1,1114$ | 4,0 | 44,5 |
| | BRIL | $y = -0,0315x^2 + 0,4359x + 3,8332$ | 3,8 | 40,7 |
| | FRES | $y = -0,3363x + 7,3745$ | 5,0 | 44,2 |
| | DETE | $y = 0,3753x + 0,2935$ | 2,9 | 32,4 |
| | ESIN | $y = 0,4745x + 1,2956$ | 4,6 | 51,3 |
| | FLAC | $y = 0,4198x + 1,6592$ | 4,6 | 51,1 |
| | OPAC | $y = 0,4184x + 1,0183$ | 3,9 | 43,9 |

Na **Figura 20** podem ser observados os resultados da ACP da avaliação sensorial de lulas para os tratamentos CCG e SCG, respectivamente, no experimento LA. No tratamento CCG (**Figura 20 A**) o primeiro componente principal (CP1) explicou 91,9% da variabilidade total entre as amostras dos diferentes períodos de armazenamento e o segundo componente principal (CP2) explicou 4,5% da variabilidade total. No tratamento SCG (**Figura 20 B**) os CP1 e CP2 explicaram 83,9% e 13,0%, respectivamente, da variabilidade existente entre as amostras de diferentes períodos de amostragem.

As amostras do dia 1 se caracterizaram por apresentar maior intensidade de CORC do músculo (branco-leitosa) e FRES. Tanto no tratamento CCG quanto no SCG as amostras do segundo dia se caracterizaram por apresentar maior intensidade de BRIL, e os atributos DETE, MANC, OPAC, ESIN e FLAC estiveram presentes em maior intensidade nas amostras do 10º e principalmente 15º dia. Estes resultados podem ser confirmados pelas regressões obtidas para cada atributo na **Figura 18**. Neste experimento foi avaliada somente uma amostra por período, de modo que não foi possível estimar a reprodutibilidade da equipe sensorial.

No experimento LA, assim como ocorreu no experimento LC, todos os vetores apresentaram comprimento bastante semelhante entre si, sugerindo que sua importância na discriminação das amostras foi igual. A ACP indicou a existência e correlação linear positiva entre os atributos MANC e ESIN no tratamento SCG. Correlação linear negativa possivelmente ocorre entre FRES e DETE e entre CORC e MANC nos dois tratamentos. Análises efetuadas posteriormente confirmaram a existência destas correlações (**Tabelas 10 e 11**).

Tanto no tratamento CCG quanto no SCG do experimento LA, a ACP indica a ocorrência de uma significativa queda da qualidade das lulas entre o 4º e o 7º dia de armazenamento, pois no 4º as amostras ainda se encontram localizadas nos quadrantes negativos do CP1 onde também se localizam os vetores que representam características desejáveis, enquanto no 7º dia de armazenamento as amostras se encontram localizadas nos quadrantes positivos do CP1 onde também se localizam os vetores que representam características indesejáveis.

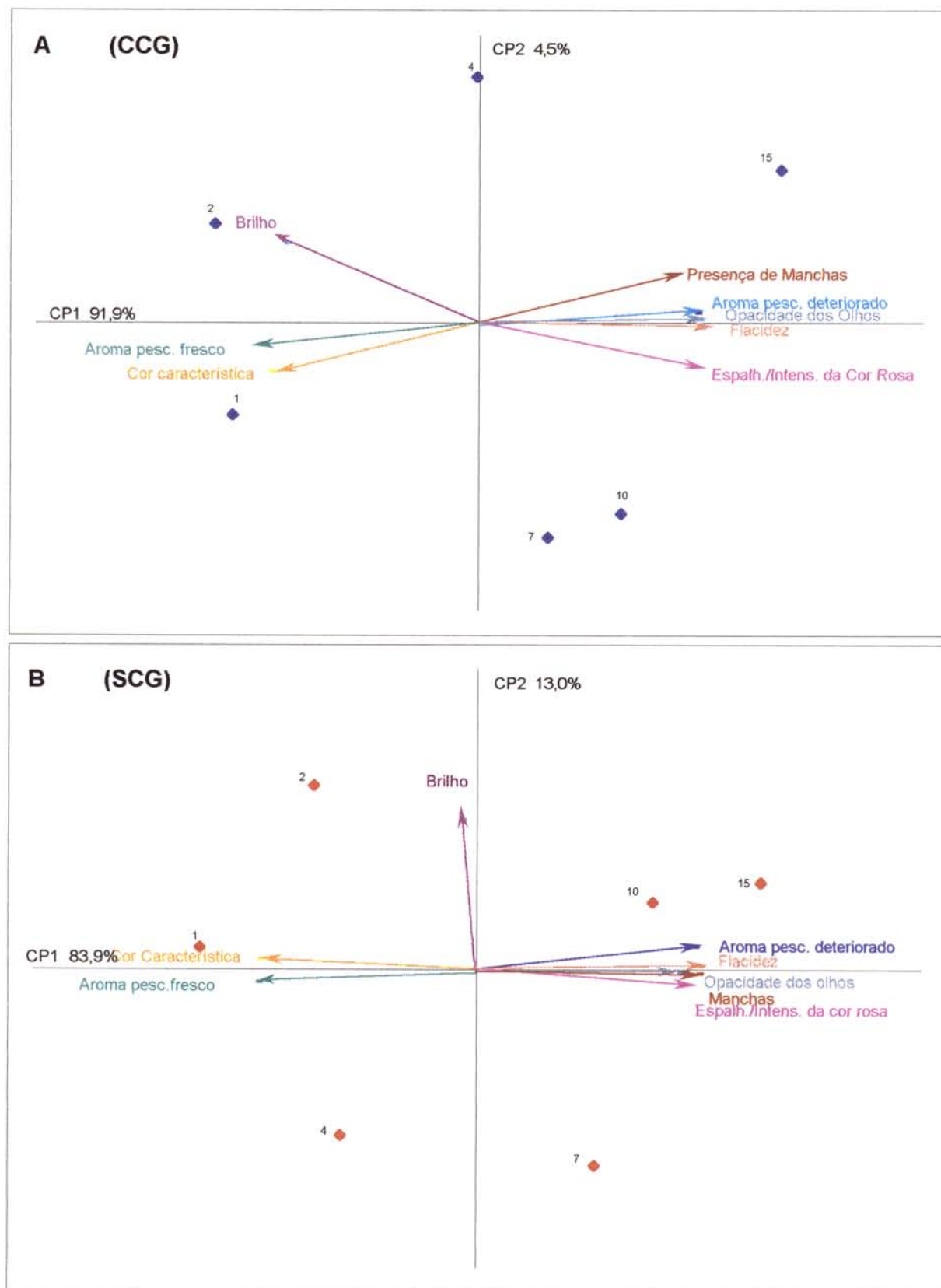


Figura 20. Gráficos da Análise de Componentes Principais da avaliação de lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA, lote B.

Na Tabela 6 onde estão apresentadas as equações dos modelos estatísticos ajustados para cada descritor e tratamento, assim como as notas calculadas de cada descritor e a percentagem de perda de qualidade de lulas no 4º dia de armazenamento em gelo no experimento LA, pode-se observar que a perda de qualidade sensorial neste período foi menor no tratamento CCG que no tratamento SCG para todos os descritores exceto ESIN.

Tabela 6. Equações dos modelos estatísticos ajustados utilizadas para calcular as notas de cada descritor e a % de perda de qualidade de lulas no 4º dia de armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

| TRATAMENTO | DESCRIPTOR | EQUAÇÃO | Nota calculada do dia 4 | % de perda de qualidade |
|------------|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| CCG | CORC | $y = -0,426x + 8,1826$ | 6,5 | 28,0 |
| | MANC | $y = 0,3905x + 0,6917$ | 2,2 | 25,0 |
| | FRES | $y = -0,5419x + 8,7335$ | 6,6 | 27,1 |
| | DETE | $y = 0,547x - 0,3918$ | 1,8 | 20,0 |
| | ESIN | $y = 0,5953x + 0,5519$ | 2,9 | 32,6 |
| | FLAC | $y = 0,4929x + 0,5942$ | 2,6 | 28,5 |
| | OPAC | $y = 0,4807x + 1,0435$ | 3,0 | 33,0 |
| SCG | CORC | $y = -0,5499x + 8,1544$ | 6,0 | 37,8 |
| | MANC | $y = 0,5554x + 0,7616$ | 3,0 | 33,1 |
| | FRES | $y = -0,556x + 8,2151$ | 6,0 | 33,4 |
| | DETE | $y = 0,752x + 0,0016$ | 2,3 | 25,5 |
| | ESIN | $y = 0,5652x + 0,4885$ | 2,7 | 30,6 |
| | FLAC | $y = 0,5784x + 0,6598$ | 3,0 | 33,0 |
| | OPAC | $y = 0,3811x + 0,8092$ | 3,3 | 37,0 |

A marcante queda da qualidade das lulas após o 7º dia no experimento LC e após o 4º dia no experimento LA é coerente se for considerado um tempo estimado de 3 a 4 dias de armazenamento após a captura do lote de lulas utilizado no experimento LA, antes do início deste estudo, já que se tratava de lulas adquiridas em estabelecimento comercial. Deste modo os resultados da Análise Sensorial indicam que lulas frescas armazenadas em gelo mantém uma boa

qualidade até o 7º dia de armazenamento e que o tratamento CCG, onde as lulas são armazenadas em contato direto com gelo, foi mais eficiente que o tratamento SCG na manutenção das características desejáveis deste alimento pois nos dois experimentos houve uma preservação maior da cor característica e um retardo no aparecimento de manchas no músculo sem pele e, no experimento LC, o aroma de pescado fresco se manteve por mais tempo e o aroma de pescado deteriorado demorou mais para ser percebido. Em apenas dois atributos indesejáveis o tratamento CCG apresentou médias maiores que o SCG, espalhamento/intensificação da cor rosa e opacidade dos olhos, no experimento LC.

YAMANAKA et al. (1987), avaliaram o grau de decomposição de músculo de lulas da espécie *Todarodes pacificus* através de parâmetros químicos e sensoriais. Utilizando um painel sensorial formado por 5 provadores, os autores relataram que quando amostras de músculo foram armazenadas sob refrigeração a 1°C foram classificadas em um estágio aceitável (amostra sem odor e firme) até o sexto dia, passaram para o estágio inicial de decomposição (amostra com leve odor pútrido e amolecida) no oitavo dia e finalmente foram classificadas como em um estágio de avançada decomposição (amostra com odor pútrido e muito amolecida) a partir do décimo dia.

LAKSHMANAN et al. (1993) avaliaram a qualidade de produtos de cefalópodes comercializados congelados na Índia através de análises sensorial, química e microbiológica. A análise sensorial foi realizada nas amostras descongeladas por um painel de 6 a 8 provadores treinados que avaliaram a descoloração, deterioração e odor das amostras em uma escala hedônica de dez pontos. As amostras de lulas inteiras foram classificadas como de qualidade excelente (10 — >7 pontos) quando apresentaram odor característico de lulas, cor vermelho-amarronzada e brilho, e textura firme e elástica; de qualidade boa a regular (7 — 5 pontos) quando apresentaram leve odor de lulas, cor vermelho-amarronzada e textura firme e elástica e foram consideradas inaceitáveis (< 5 pontos) ao apresentarem odor ofensivo, moderada a intensa quantidade de manchas rosadas e textura flácida.

6.2.3. ANÁLISES QUÍMICAS

6.2.3.1. Análise de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) e Amônia

Nas **Figuras 21 e 22** observa-se, respectivamente, as variações nos teores de BNV e amônia das lulas utilizadas no experimento LC. Os resultados das comparações entre as médias dos tratamentos em cada período de amostragem, realizada através do teste de Tukey, também estão apresentados nestas figuras.

Para BNV as médias por período de amostragem no tratamento SCG foram maiores ($p < 0,01$) que as do tratamento CCG a partir do 4º dia de armazenamento.

O tratamento CCG apresentou uma contínua queda nos teores de BNV ao longo do armazenamento enquanto que no tratamento SCG houve um progressivo aumento. Tais padrões foram significativamente ($p < 0,01$) bem representados pelos modelos de regressão linear ajustados indicados. É importante ressaltar que estes modelos estatísticos somente são válidos para o intervalo de tempo examinado (1 a 16 dias). Possivelmente deveria ocorrer um aumento dos teores de BNV no tratamento CCG, com um tempo maior de armazenamento, como ocorreu no experimento LA, que será avaliado adiante, e neste caso o modelo não seria adequado para um período de armazenamento maior.

OHASHI et al. (1991), trabalhando com músculo de *Todarodes pacificus* armazenado em bolsas plásticas, relatam que a 0°C os valores de BNV foram bastante baixos por 14 dias de estocagem, sendo determinados teores de 0mg de BNV/100g no dia zero e cerca 17mg aos 14 dias de estocagem (dados levantados a partir de um gráfico apresentado pelo autor). Os valores de BNV encontrados por YAMANAKA et al. (1987) para a mesma espécie de lulas foram bastante distintos, sendo de 6,75mg/100g com 1 dia de estocagem, atingindo 30,78 mg/100g no estágio de início de decomposição e 77,42mg/100g quando as lulas tornaram-se sensorialmente inaceitáveis no 10º dia de armazenamento a 1°C.

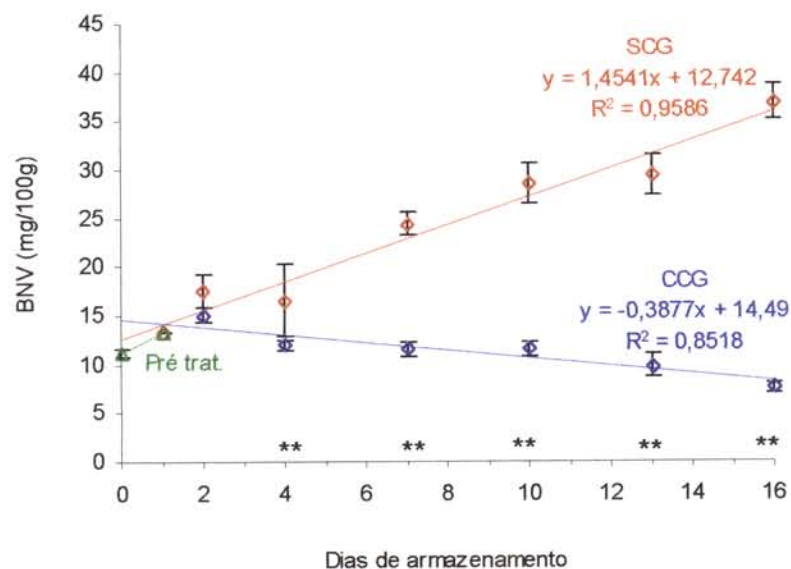


Figura 21. Variação nos teores de BNV em lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Estão apresentadas as equações das regressões lineares e coeficiente de determinação de cada modelo. ** indica diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento e as barras verticais indicam o desvio padrão da média.

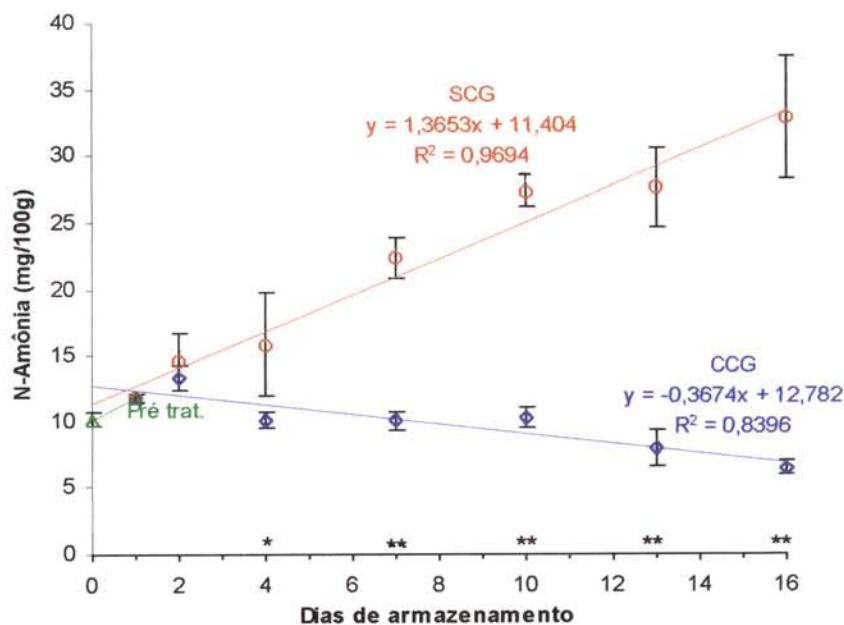


Figura 22. Variação nos teores de Amônia em lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Estão apresentadas as equações das regressões lineares e coeficiente de determinação de cada modelo. * e ** indicam diferença significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento e as barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Embora seja marcante a diferença entre os dois tratamentos ao final do experimento, nenhum dos dois havia ultrapassado o limite de 45mg de BNV/100g de músculo sugerido por KE et al. (1984) para o limite de aceitação para consumo humano de lulas da espécie *Illex illecebrosus*.

Em relação à amônia, diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos foram encontradas também a partir do 4º dia de armazenamento, com o tratamento SCG apresentando sempre as médias de período maiores (**Figura 22**). A grande correspondência entre as curvas obtidas para BNV e amônia se deve ao fato de que a amônia é o componente majoritário das BNV, principalmente nos estágios iniciais do processo de deterioração.

Os modelos de regressão linear apresentados foram estatisticamente adequados ($p < 0,01$) para representar o padrão de formação e ou perda de amônia em função do período de armazenamento.

Nas **Figuras 23 e 24** observa-se, respectivamente, as variações nos teores de BNV e amônia ocorridas em lulas durante o período de armazenamento em gelo no experimento LA, lotes A e B. Existe um contraste entre os dois tipos de tratamentos, consequência da intensa lixiviação das BNV, entre elas a amônia, que ocorre no tratamento CCG. No caso deste tratamento ocorreu também uma diminuição da concentração de BNV e amônia no início do armazenamento, provavelmente resultado de uma situação em que a perda destes compostos por lixiviação foi maior que sua produção por microrganismos ou sistemas enzimáticos proteolíticos endógenos; sendo que somente no 15º dia os teores desses compostos ultrapassaram os iniciais.

A ANOVA aplicada aos resultados das análises de BNV e amônia mostrou que houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre as médias dos tratamentos para os dois lotes de lulas. O teste de Tukey aplicado para as médias de cada período de amostragem mostrou que os teores de BNV e amônia das lulas submetidas ao tratamento SCG passaram a ser maiores ($p < 0,01$) que as do tratamento CCG a partir do quarto dia de armazenamento para os dois lotes de lulas examinados.

Ao término do experimento, no tratamento SCG as amostras dos dois lotes de lulas já apresentavam teores de BNV maiores que os 45mg/100g recomendados por KE et al. (1984).

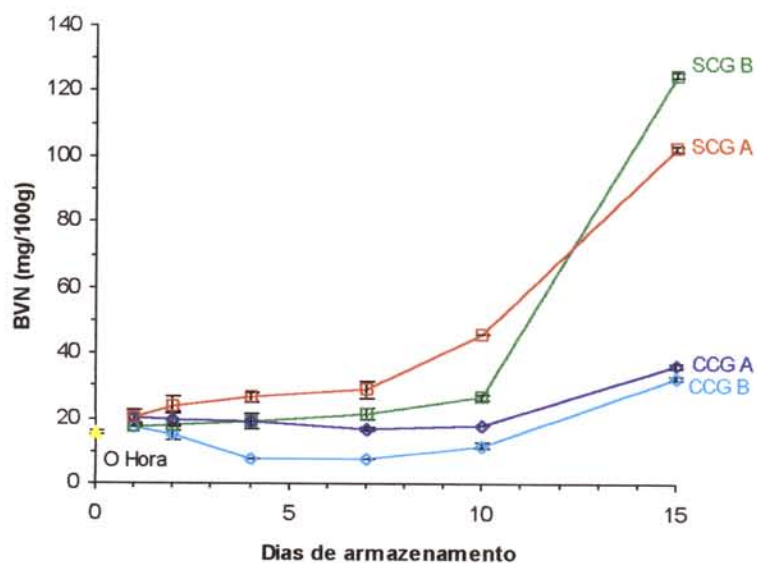


Figura 23. Variação nos teores de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) em dois lotes de lulas (A e B) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

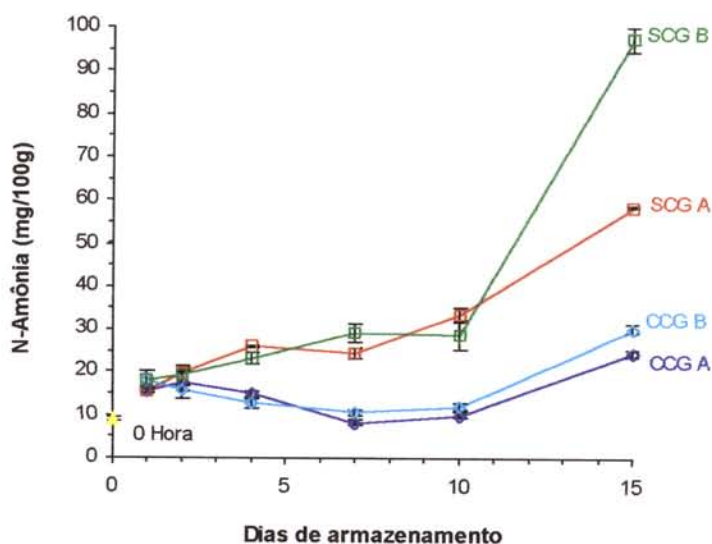


Figura 24. Variação nos teores de N-Amônia em dois lotes de lulas (A e B) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Em alguns períodos foram encontrados teores de amônia superiores aos de BNV, o que somente pode ser explicado por diferenças metodológicas, uma vez que as BNV são determinadas por titulação com HCl, enquanto que a amônia é determinada colorimetricamente.

No experimento LC, utilizando-se as equações ajustadas para cada tratamento e composto analisado, pode-se estimar que no 7º dia de armazenamento, quando as lulas ainda apresentavam uma boa qualidade sensorial, as amostras apresentavam 11,8 e 22,9mg de BNV/100g de músculo e 10,2 e 20,96mg de N-amônia/100g de músculo nos tratamentos CCG e SCG, respectivamente. No experimento LA, lote B, no 4º dia de armazenamento, as amostras apresentavam 7,6 e 19,2mg de BNV e 12,7 e 23,2mg de N-amônia/100g de amostra nos tratamentos CCG e SCG, respectivamente. Estes resultados sugerem que lulas da espécie *Loligo plei* com boa qualidade sensorial apresentam teores de BNV e N-amônia ainda bastante inferiores aos recomendados na literatura para limite de aceitação de lulas frescas.

Em relação a limites de segurança microbiológica os resultados deste estudo indicam que a utilização da análise de BNV como índice de frescor deve ser feita de modo muito cuidadoso. O valor de 36,0mg de BNV /100g de amostra estimado para o 16º dia de armazenamento no tratamento SCG do experimento LC, ainda poderia ser um valor aceitável, se considerarmos uma contaminação de 10^6 UFC/g como limite de aceitação. Por outro lado, no experimento LA, realizado com lulas adquiridas no comércio, a contaminação já havia atingido valores maiores que 10^6 UFC/g, quando o teor de BNV era de apenas 26,4mg/100g no lote B, tratamento SCG, no 10º dia de armazenamento.

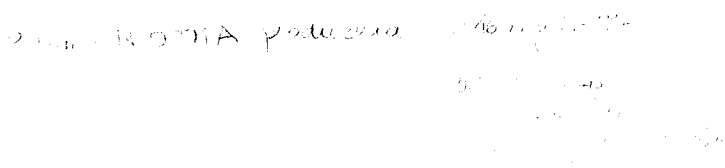
A diminuição inicial dos valores de BNV e amônia devido a lixiviação e posterior aumento quando a velocidade de produção suplanta a taxa de perda tornam a eficiência destas análises baixas quando as lulas são armazenadas em contato direto com gelo, pois em alguns casos, teores baixos poderiam retratar tanto uma amostra muito fresca, quanto uma já em vias de deterioração.

6.2.3.2. Análises de Trimetilamina (TMA) e Óxido de Trimetilamina (O-TMA)

A ANOVA indicou que as lulas armazenadas no tratamento SCG diferiram significativamente ($p < 0,01$) das armazenadas no tratamento CCG quanto ao conteúdo de N-TMA e de N-O-TMA. O teste de Tukey para médias de tratamento por período de amostragem mostrou que para N-TMA os tratamentos CCG e SCG passaram a diferir a partir do 4º dia (**Figura 25**), enquanto que para N-O-TMA a partir do 2º dia (**Figura 26**), com o tratamento SCG apresentando sempre médias maiores.

As lulas submetidas ao tratamento CCG não apresentaram um padrão definido de aumento ou diminuição de N-TMA ao longo do período de armazenamento. No tratamento SCG ocorreu um progressivo aumento dos teores de N-TMA que foi adequadamente representado ($p < 0,01$) pelo modelo de regressão linear indicado. No entanto é importante ressaltar que nos dois tratamentos o teor de N-TMA no músculo das lulas não ultrapassou 1mg/100g, provavelmente um reflexo da baixa contaminação microbiana que não chegou a atingir 10^6 UFC/g, valor aparentemente necessário para se verificar a produção de quantidades mais significativas de TMA.

Na **Figura 26** verifica-se que no tratamento SCG os resultados não permitiram a adequação de modelos estatísticos baseados em regressão linear, quadrática ou exponencial para as alterações dos teores de N-O-TMA. No tratamento CCG o modelo estatístico de equação exponencial foi adequado para representar a diminuição dos teores de O-TMA ao longo do armazenamento. Aos 16 dias de armazenamento, no tratamento CCG, somente restavam 2,46mg de O-TMA, o que representa 2,75% do teor encontrado no primeiro dia. Em função disso, mesmo que a carga microbiana atingisse valores maiores a partir deste dia, neste tipo de tratamento já não haveria substrato para a produção de grandes quantidades de TMA.



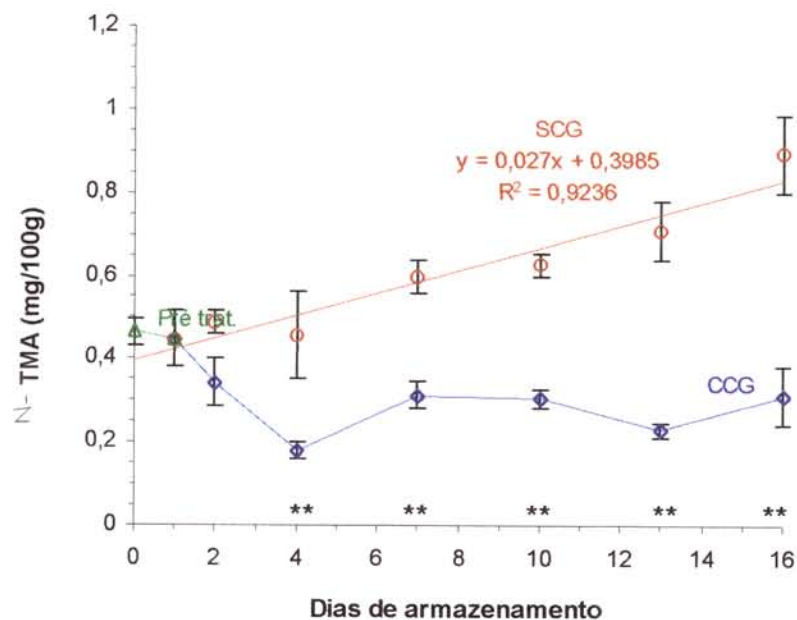


Figura 25. Variação nos teores de N-TMA em lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Está apresentada a equação da regressão linear e coeficiente de determinação do modelo para o tratamento SCG. ** indica diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

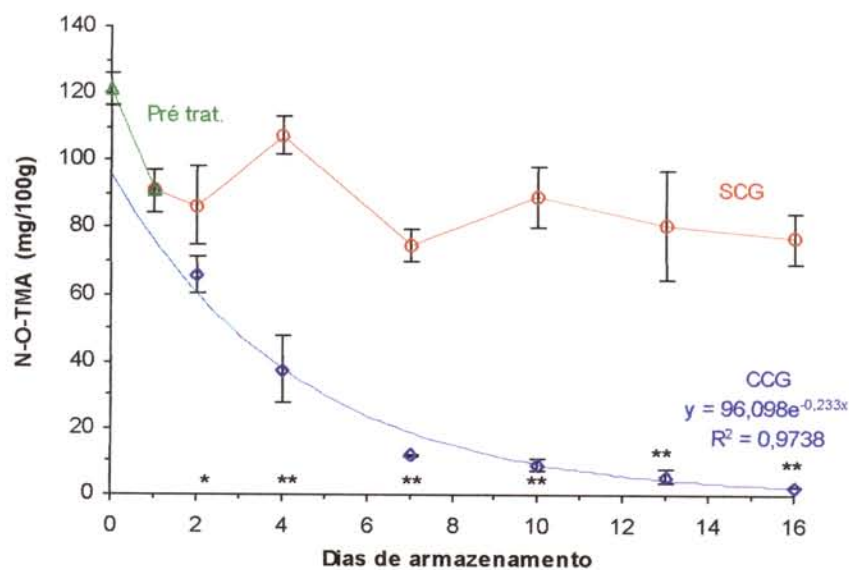


Figura 26. Variação nos teores de N-O-TMA em lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Está apresentada a equação exponencial e coeficiente de determinação do modelo para o tratamento CCG. * e ** indicam diferença significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

As variações nos teores de N-TMA e N-O-TMA ao longo do período de armazenamento em gelo dos lotes A e B de lulas, no experimento LA, estão apresentadas nas **Figuras 27 e 28**, respectivamente.

As curvas obtidas para N-TMA, quando analisadas em conjunto com N-O-TMA no tratamento CCG, mostram o efeito da lixiviação pois ocorre uma diminuição dos teores de N-O-TMA ao longo de todo o armazenamento, enquanto que o aumento de N-TMA somente é perceptível a partir do 10º dia, ou seja, a diminuição de O-TMA não ocorre pela sua conversão em TMA, mas sim devido ao arraste na água de degelo.

As variações nos teores de N-O-TMA do tratamento SCG até o décimo dia são anormais, pois não deveria ocorrer um aumento dos teores de N-O-TMA durante o armazenamento, isto somente poderia ser explicado por diferenças entre os indivíduos amostrados ou problemas analíticos.

A ANOVA aplicada aos resultados mostrou que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos CCG e SCG para os dois lotes de lulas analisados quanto ao teor de N-TMA. A Trimetilamina encontra-se ausente no lote A de lulas até o 2º dia de armazenamento. Os tratamentos CCG e SCG passaram a apresentar diferença significativa ($p < 0,01$) a partir do 7º dia no lote A e a partir do 4º dia no lote B. Valores maiores que 1mg/100g apareceram somente no 10º dia em amostras SCG e no 15º dia nas amostras CCG (**Anexo B**). A maior produção de TMA a partir do 10º dia deve estar relacionada a uma maior presença de bactérias produtoras de redutase de Óxido de TMA. De fato é a partir do 10º dia de armazenamento que a carga microbiana atinge um valor de 10^6 UFC/g nos tratamentos CCG e SCG.

A ANOVA aplicada aos teores de N-O-TMA determinados em lulas armazenadas em gelo, experimento LA, mostrou que houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos nos dois lotes de lulas examinados. Na lote A, o tratamento SCG passou a apresentar teores de N-O-

TMA maiores que os do tratamento CCG a partir do 7º dia e no lote B já a partir do 2º dia (**Anexo B**).

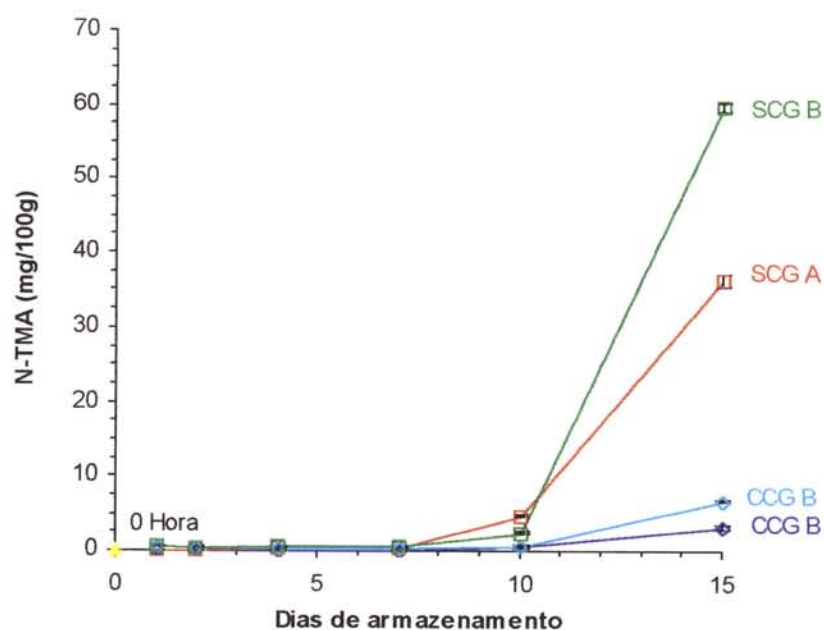


Figura 27. Variação nos teores de N-Trimetilamina (N-TMA) em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

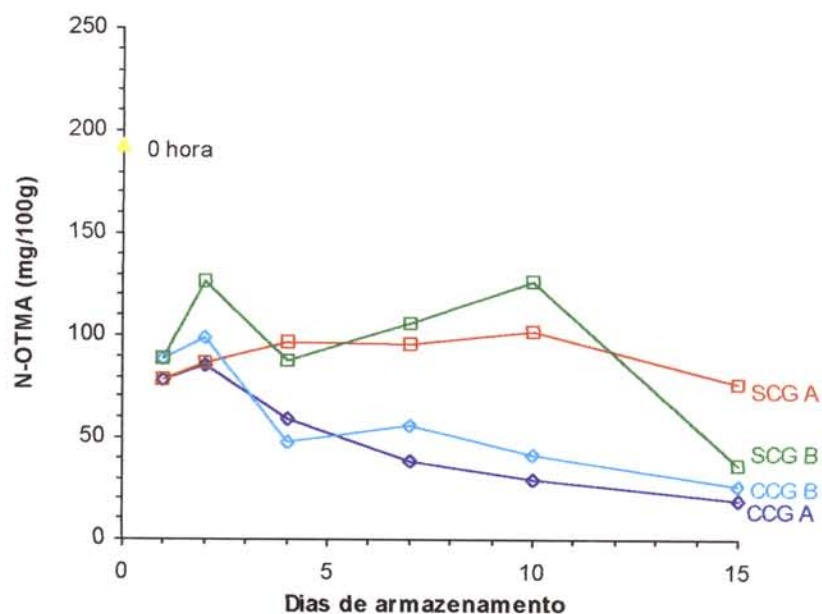


Figura 28. Variação nos teores de N-Óxido de Trimetilamina (N-O-TMA) em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos no comércio, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

As amostras 0 Hora coletadas nos anos de 1997 e 1998 apresentaram teores de 192,59 e 121,29mg N-O-TMA/100g de amostra, respectivamente, valores bastante contrastantes com o das amostras das lulas utilizadas no experimento LA que apresentaram valores de 78,37 e 88,31mg de N-O-TMA/100g para os lotes A e B, respectivamente, o que indica que uma intensa lixiviação já havia ocorrido nestes lotes antes do início do experimento.

ROMO et al. (1996) investigaram a formação de diversos metabólitos em lulas da espécie *Dosidicus gigas* armazenadas a temperatura ambiente e em gelo, concluindo que o gelo efetivamente diminuiu a velocidade de formação de BNV e amônia e praticamente suprimiu a formação de TMA.

O emprego da análise de TMA como índice de frescor em lulas armazenadas em contato direto com gelo também apresenta problemas como indicam os resultados obtidos neste estudo. A lixiviação provoca uma diminuição intensa do O-TMA, possibilitando uma situação em que teores baixos de TMA representem não a qualidade da amostra, mas sim uma situação em que não houve substrato para sua produção.

KE et al. (1984) recomendaram um valor máximo de 10mg N-TMA/100g como limite de aceitação de lulas da espécie *Illex illecebrosus* para consumo humano. Este valor parece ser muito elevado para *L. plei*, pois nos experimentos LC e LA os resultados indicaram que teores inferiores a 1mg/100g seriam adequados para limite de aceitação tanto sensorial quanto microbiológica desta espécie.

6.2.3.3. Análises de Nitrogênio Não Protéico (NNP) e Aminoácidos Livres Totais (AAL)

As variações nos teores de NNP e AAL ao longo do período de armazenamento de lulas em gelo, no experimento LC estão apresentadas nas **Figuras 29 e 30**, respectivamente.

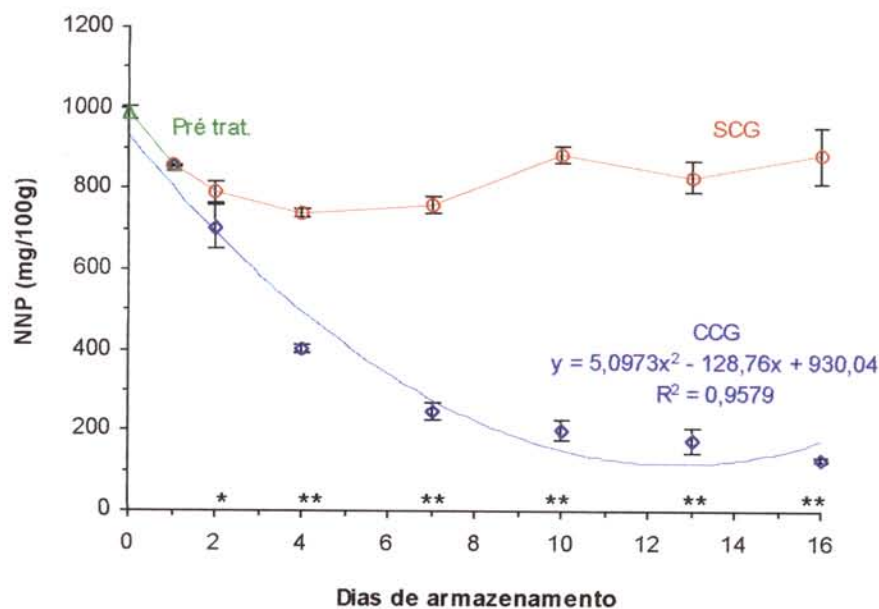


Figura 29. Variação nos teores de Nitrogênio não Protéico (NNP) em lulas (*Loligo plei*) coletadas, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC. Está apresentada a equação da regressão quadrática e coeficiente de determinação do modelo para o tratamento CCG. * e ** indicam diferença significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

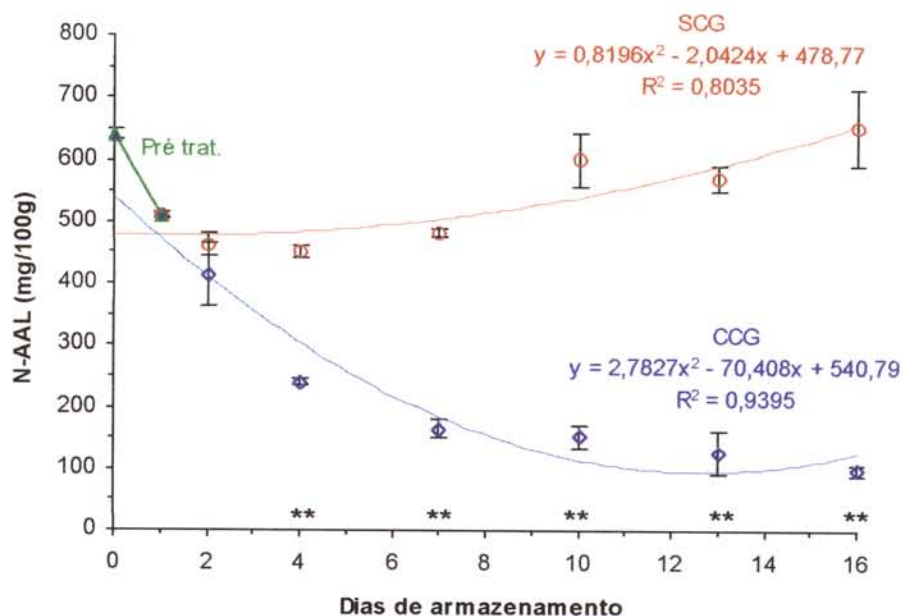


Figura 30. Variação nos teores de Aminoácidos Livres (AAL) em lulas (*Loligo plei*) coletadas, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC. Estão apresentadas as equações quadráticas e coeficiente de determinação de cada modelo. ** indica diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

A observação em conjunto dos dois gráficos mostra uma grande semelhança entre as curvas. Isto se deve ao fato de que os AAL representam uma elevada percentagem do NNP. O método utilizado na determinação de AAL neste estudo não detecta o aminoácido Prolina, portanto os valores reais para AAL devem ser ainda maiores.

A ANOVA indicou a ocorrência de diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos CCG e SCG quanto aos teores de NNP e também de AAL no músculo das lulas. Para NNP as médias de tratamento por período passaram a diferir a partir do 2º dia, enquanto que para AAL a partir do 4º dia, como indicam os sinais * e ** apresentados nos gráficos.

O tratamento SCG não apresentou um padrão definido de aumento ou diminuição de NNP ao longo do período de armazenamento examinado. No tratamento CCG ocorreu uma marcante diminuição dos teores de NNP nos primeiros dias que foi bem representada ($p < 0,01$) pelo modelo de regressão quadrática (**Figura 29**).

Esta diminuição do NNP no tratamento CCG está de acordo com os resultados encontrados por RAGHUNATH (1984) que estudou as perdas de nitrogênio solúvel de mantos sem pele de lulas da espécie *Loligo duvauceli* durante 8 horas de estocagem em gelo triturado. O autor verificou que a concentração de NNP na água de degelo aumentou de 0,23mg/ml para 3,05mg/ml enquanto que o NNP do manto das lulas caiu de 0,72 para 0,43g/100g neste curto período de armazenamento.

Na **Figura 30** verifica-se que modelos estatísticos de equações quadráticas foram adequados para representar a progressiva diminuição dos teores de AAL em função do período de armazenamento no tratamento CCG ($p < 0,01$), e seu aumento no tratamento SCG ($p < 0,05$). O ligeiro aumento dos teores de AAL no tratamento SCG sugere a ocorrência de hidrólise protéica durante o armazenamento.

OTSUKA et al. (1992) avaliando as mudanças nos teores de AAL e outros compostos em diversos invertebrados marinhos como camarão, caranguejo, lagosta, vieira, polvo e na lula da espécie *Doryteuthis bleekeri* armazenados em bolsas plásticas em gelo, concluíram que o conteúdo total de AAL diminuiu após o 1º dia em muitos casos e que para a lula, assim como para outros invertebrados, não ocorreram variações marcantes após este dia até o 15º dia de armazenamento. Os mesmos autores comentam que embora o aumento da concentração de AAL durante a estocagem “post-mortem” de animais domésticos seja bem conhecida, não foi observado um aumento óbvio no estudo com invertebrados.

No tratamento CCG do experimento LC, as equações ajustadas aos resultados obtidos permitem estimar que no quarto dia de armazenamento 52,58% dos AAL e 49,73% do NNP, em média, já haviam sido perdidos, seja por lixiviação, perda de capacidade de retenção de água e/ou consumo por microrganismos. Estes resultados são coerentes com outros encontrados na literatura. ROMO et al. (1996) determinaram que após 72 horas de armazenamento em gelo, lulas da espécie *Dosidicus gigas* haviam perdido 40% dos AAL, registrando que a perda maior ocorreu nas primeiras 24 horas, com as lulas ainda em estado fresco. Estes autores comentam que possivelmente nestes animais os fluídos musculares foram exsudados durante a evolução do “rigor mortis”. No presente estudo também ocorreu uma perda significativa de AAL durante as primeiras 24 horas.

As variações nos teores de NNP e AAL no músculo de lulas durante o armazenamento, no experimento LA, estão apresentadas nas **Figuras 31 e 32**. Tanto em relação ao NNP quanto ao AAL, a ANOVA indicou que os tratamentos CCG e SCG foram estatisticamente diferentes para os dois lotes de lulas examinados. O teste de Tukey detectou diferenças entre as médias de tratamento por período de amostragem já a partir do 2º dia de armazenamento, nos lotes A e B, sendo os teores de NNP e AAL no tratamento SCG maiores ($p < 0,05$) que os do tratamento CCG (**Anexo B**).

A expressiva diminuição dos AAL durante o armazenamento no tratamento CCG sugere que a intensidade de sabor destas lulas deve ter sido muito diminuída, afetando drasticamente a qualidade sensorial das mesmas.

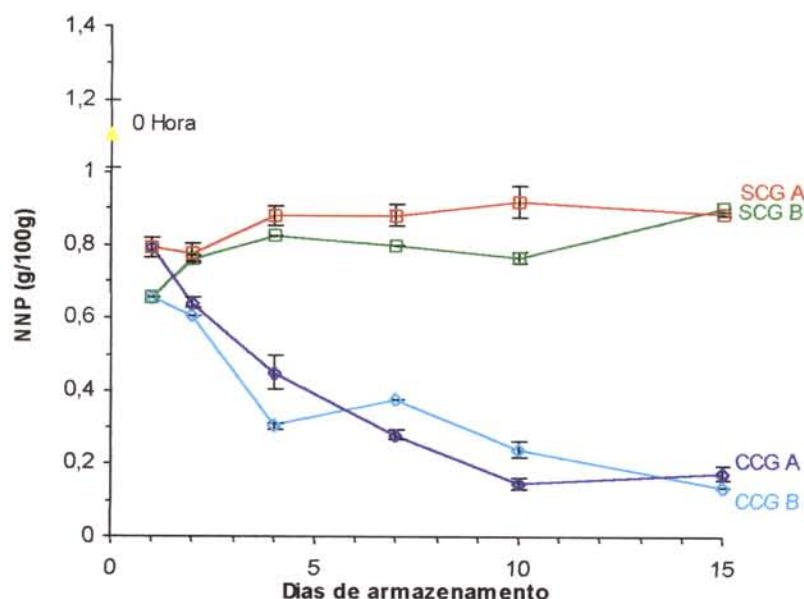


Figura 31. Variação nos teores de Nitrogênio não Protéico (NNP) em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos em estabelecimento comercial, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

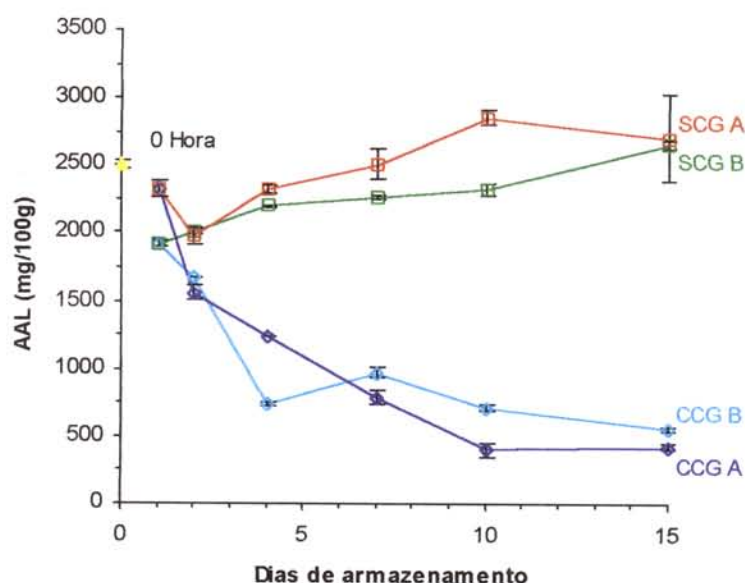


Figura 32. Variação nos teores de Aminoácidos Livres Totais* em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos em estabelecimento comercial, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA. * O método utilizado não determina Prolina. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

6.2.3.4. Análise de Triptofano Livre

No experimento LC, como pode ser observado na **Figura 33**, os teores de triptofano livre no músculo de lulas armazenadas em gelo nos tratamentos CCG e SCG passaram a diferir a partir do 7º dia de armazenamento.

No tratamento SCG ocorreu um progressivo aumento dos teores de triptofano ao longo do período de armazenamento que foi adequadamente representado ($p < 0,01$) pelo modelo de regressão linear indicado. O modelo estatístico de equação quadrática adequado ($p < 0,05$) para representar as variações nos teores de triptofano em função do período de armazenamento no tratamento CCG, sugere que após um aumento inicial, a concentração deste aminoácido volta a diminuir.

A exsudação e a lixiviação de compostos solúveis durante o armazenamento tornam difícil determinar se está ocorrendo hidrólise protéica. No entanto, a determinação de triptofano livre, encontrado em concentrações de apenas 2,06mg/100g na amostra 0 Hora coletada em 19/02/97 e de 1,45mg/100g na amostra coletada em 21/01/98, portanto pouco representativo do grupo de AAL neste período, revelou a existência de uma proteólise relativamente intensa. Utilizando-se o modelo de regressão linear ajustado obtido para o tratamento SCG para estimar a concentração de triptofano verifica-se que com 16 dias de armazenamento seu teor era de 14,28mg /100g, ou seja cerca de 10 vezes maior que o encontrado na amostra O Hora.

ROMO et al. (1996) investigando a formação de triptofano livre em *Dosidicus gigas* determinaram que amostra fresca continha 0,66mg de triptofano livre/100g, valor que aumentou para 2,44 em 72 horas.

Na **Figura 34** são apresentadas as variações nos teores triptofano livre ao longo do armazenamento de lulas em gelo no experimento LA.

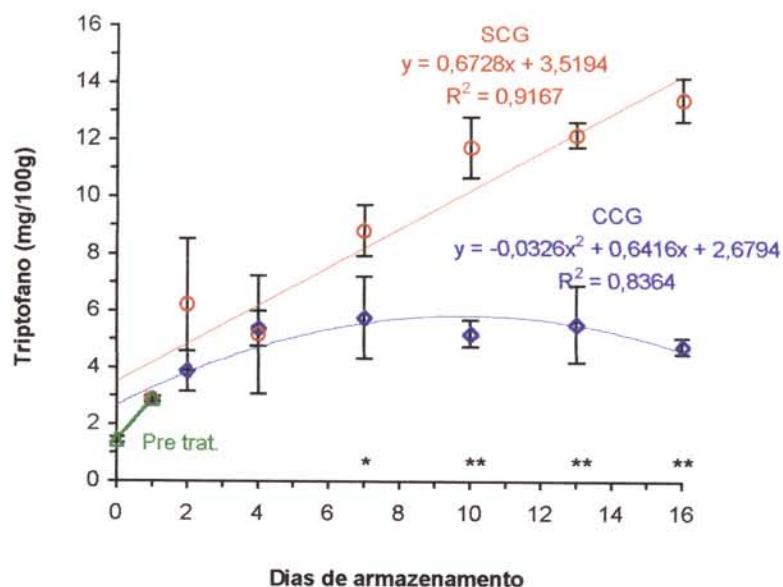


Figura 33. Variação nos teores de Triptofano livre em lulas (*Loligo plei*) coletadas, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC. Estão apresentadas as equações quadráticas e coeficiente de determinação de cada modelo. * e ** indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$ e $p \leq 0,01$, respectivamente) entre os tratamentos no correspondente período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

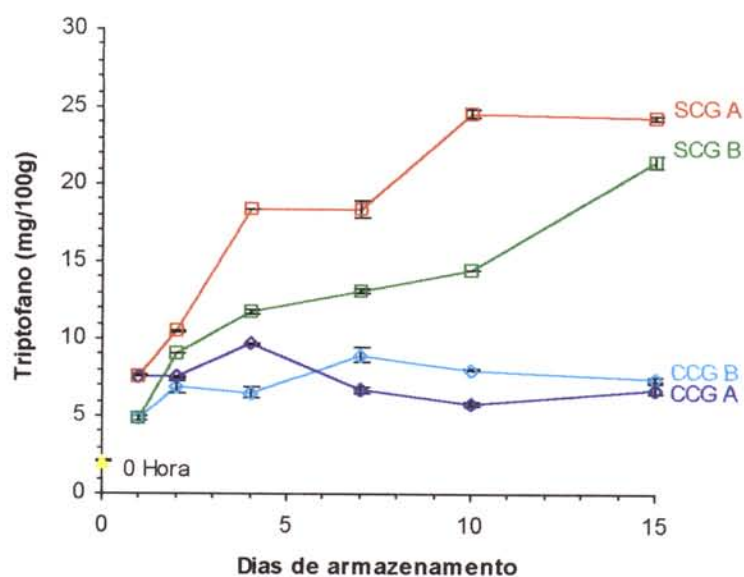


Figura 34. Variação nos teores de Triptofano em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos em estabelecimento comercial, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

No tratamento CCG, experimento LA, os teores de triptofano, nos dois lotes de lulas, não foram muito alterados durante o armazenamento. Estes resultados contrastaram com os obtidos para o tratamento SCG, onde ocorreu um progressivo aumento dos teores, atingindo-se ao final do armazenamento, valores de 21,5 e 24,3mg/100g para os lotes A e B de lulas, respectivamente, o que representou uma concentração aproximadamente 10 a 15 vezes maior que a encontrada nas amostras 0 Hora. As médias por período de amostragem do tratamento CCG foram menores ($p < 0,01$) que as do tratamento SCG a partir do 2º dia de armazenamento para os dois lotes de lulas (**Anexo B**).

A lixiviação diminuiu a eficiência desta determinação no acompanhamento da perda de frescor em lulas, pois teores baixos de triptofano livre foram encontrados tanto em amostras frescas quanto em deterioradas no tratamento CCG. Estes resultados indicam que esta determinação não seria um índice de frescor adequado para lulas armazenadas em contato direto com gelo.

Para lulas armazenadas sem contato direto com gelo concentrações de triptofano livre superiores a 10mg/100g poderiam ser consideradas indicativas de grande perda de qualidade sensorial, pois no tratamento SCG, experimento LC, no décimo dia de armazenamento, o teor de Triptofano livre era de 10,25mg/100g, enquanto no experimento LA o valor era de 13,12mg/100g no sétimo dia, períodos nos quais as lulas passaram a apresentar uma considerável queda da qualidade. Ainda para o tratamento SCG, valores próximos de 15mg de triptofano livre/100g foram detectados nos dois experimentos quando a carga microbiana atingiu cerca de 10^5 UFC/g, sugerindo que um teor ligeiramente maior deste aminoácido no músculo de *Loligo plei* ainda poderia ser considerado indicativo de lulas microbiologicamente seguras para consumo.

6.2.3.5. Análise de Uréia

As variações nos teores uréia ao longo do período de armazenamento de lulas em gelo no experimento LC estão apresentadas na **Figura 35**. Diferenças significativas entre os tratamentos passaram a ser detectadas a partir do 10º dia de armazenamento, como mostram os sinais ** apresentados no gráfico. Os modelos estatísticos mais significativos para representar as variações nos teores de uréia foram a regressão linear para o tratamento SCG ($p < 0,01$) e regressão quadrática para o tratamento CCG ($p < 0,05$). Assim como ocorreu com o triptofano, o modelo estatístico de equação quadrática adequado para representar as variações nos teores de uréia em função do período de armazenamento examinado no tratamento CCG, sugere que após um aumento inicial, os teores de uréia voltam a diminuir. Este padrão indica que a determinação de uréia não seria um índice adequado para o estimar a perda do frescor em lulas armazenadas em contato direto com gelo.

OTSUKA et al. (1992) avaliando as mudanças nos teores de uréia e outros compostos em diversos invertebrados marinhos como camarão, caranguejo, lagosta, vieira, polvo e na lula da espécie *Doryteuthis bleekeri* armazenados em bolsas plásticas em gelo, concluíram que a uréia poderia ser um bom índice de frescor para esta espécie de lulas pois seu teor aumentou gradualmente durante o período de estocagem. No trabalho realizado por estes autores a concentração de uréia no músculo das lulas passou de um valor inicial de $0,5\mu\text{mol/g}$ para $2,75\mu\text{mol/g}$ em 15 dias o que equivale a uma mudança de $3\text{mg}/100\text{g}$ para $16,5\text{mg}/100\text{g}$, respectivamente.

Em *Loligo plei*, após 16 dias de armazenamento em gelo no tratamento SCG, determinou-se um valor de $33,29\text{mg}$ de uréia/ 100g , o que representa uma concentração 7 vezes maior que a encontrada na amostra 0 Hora.

Na **Figura 36** observa-se a variação nos teores uréia ao longo do período de armazenamento de lulas em gelo, no experimento LA.

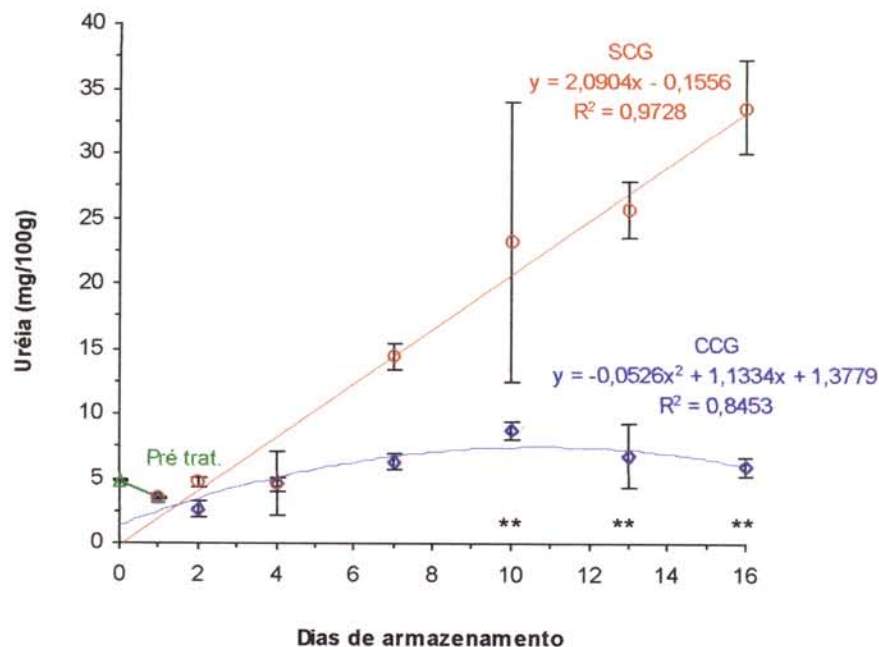


Figura 35. Variação nos teores de Uréia em lulas (*Loligo plei*) coletadas, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Estão apresentadas as equações das regressões linear e quadrática e coeficiente de determinação de cada modelo. ** indica diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

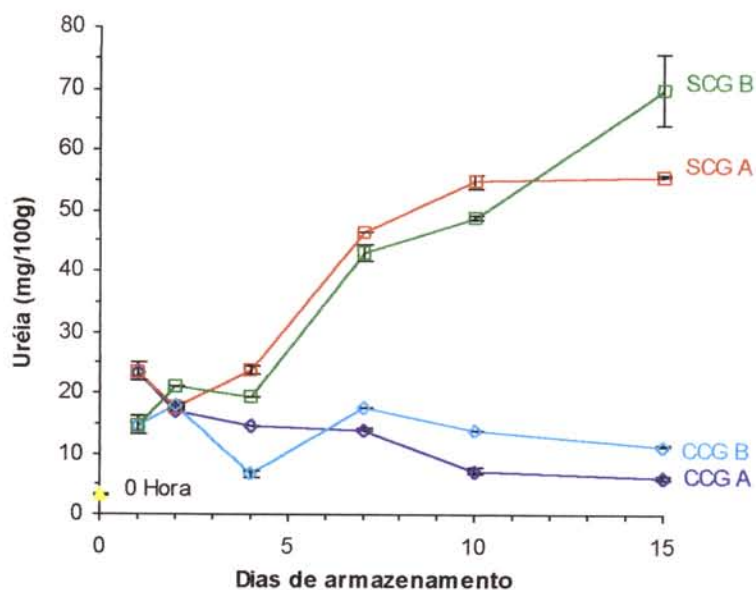


Figura 36. Variação nos teores de Uréia em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos em estabelecimento comercial, durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Verificou-se que nos tratamentos CCG, após algumas flutuações iniciais ocorre uma leve diminuição dos valores a partir do 7º dia, tendo portanto a perda de uréia suplantado a sua produção, enquanto que nos tratamentos SCG ocorreram flutuações nos valores entre o 1º e 4º dia e posteriormente um progressivo aumento dos valores.

A ANOVA indicou que os tratamentos CCG e SCG foram significativamente diferentes ($p < 0,01$) para os dois lotes de lulas examinados, sendo que diferenças estatisticamente significativas foram detectadas a partir do 2º dia de armazenamento, com o tratamento SCG sempre apresentando as médias maiores (**Anexo B**).

O padrão de produção de uréia, encontrado em *Loligo plei* no tratamento SCG sugere que este composto poderia ser um bom índice para avaliação do frescor desta espécie de lulas, se for utilizado um armazenamento que evite a lixiviação de compostos solúveis. Nesta situação uma concentração de 20mg de uréia/100g de músculo indicaria uma boa qualidade sensorial, pois nos períodos em que as amostras de lulas apresentaram uma significativa queda da qualidade nos experimentos LC e LA lote B as concentrações de uréia eram de 20,89 e 19,17mg/100g, respectivamente. Com relação a segurança microbiológica valores de uréia de 33,3mg/100g e entre 43,0 e 46,4mg/100g de músculo foram encontrados para os experimentos LC e LA, respectivamente, quando a carga microbiana atingiu 10^5 UFC/g nestes experimentos.

6.2.3.6. Análise de Nucleotídeos - Índices K e K1

A análise de nucleotídeos foi realizada somente para lulas coletadas, uma vez que era necessário conhecer com exatidão o tempo de armazenamento desde a captura, já que este tipo de análise tem utilidade para avaliar os estágios iniciais da perda de frescor. Foram determinadas as percentagens de adenosina trifosfato (ATP), adenosina difosfato (ADP), adenosina monofosfato (AMP), inosina monofosfato (IMP), inosina (INO) e hipoxantina (Hx) em relação ao total de

nucleotídeos e os índices K e K1. Estas determinações foram realizadas sem repetição, de modo que os resultados não foram analisados estatisticamente.

Na **Figura 37** podem ser observadas as alterações das percentagens de cada nucleotídeo em relação ao total durante as primeiras 24 horas de armazenamento, período no qual as lulas permaneceram em contato direto com gelo.

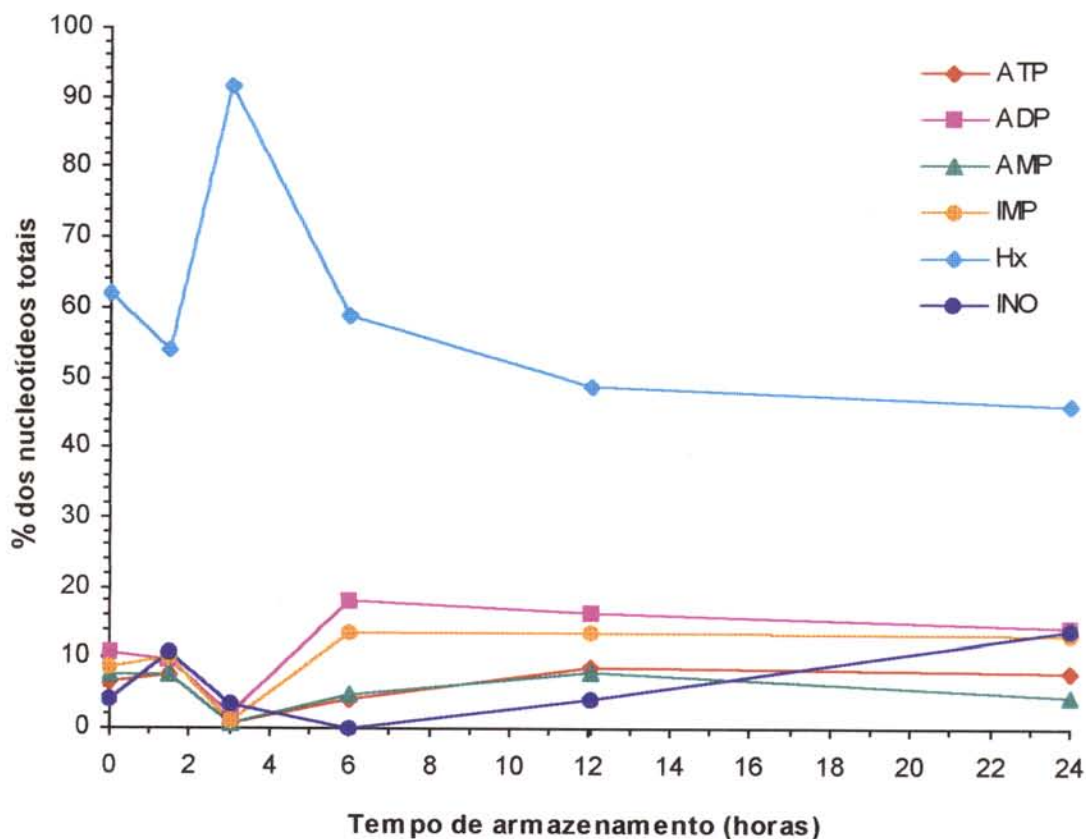


Figura 37. Variação na % dos compostos ATP, ADP, AMP, IMP, INO e Hx em relação aos nucleotídeos totais de músculo de lulas (*Loligo plei*) coletadas durante 24 horas de armazenamento em contato direto com gelo.

A hipoxantina representou percentagens muito elevadas durante todo o período, chegando a representar 91,7% dos nucleotídeos totais no músculo das lulas após 3 horas de armazenamento. Neste período, consequentemente, as percentagens de ATP, ADP, AMP e IMP foram as menores, mas se tornam maiores no período de amostragem 6 horas e permanecem pouco alteradas até

24 horas. Embora seja bastante conhecida a diversidade no padrão de catabolismo dos nucleotídeos, os resultados encontrados parecem incoerentes pois não poderia ocorrer síntese de compostos altamente energéticos, como o ATP e ADP, praticamente esgotados numa etapa anterior. Ao contrario dos trabalhos de OHASHI et al. (1991) e de YOKOYAMA et al. (1994) que amostraram pedaços de músculo das mesmas lulas durante todo o armazenamento para realizar a análise de nucleotídeos, neste trabalho a análise sempre foi realizada em músculo de lulas diferentes, e talvez a variabilidade individual tenha exercido alguma influência nos resultados.

Os índices K e K1 foram calculados da seguinte maneira:

$$K = \frac{(\text{hipoxantina} + \text{inosina})}{\text{nucleotídeos totais}} \times 100$$

$$K1 = \frac{(\text{hipoxantina} + \text{insina})}{\text{hipoxantina} + \text{inosina} + \text{IMP}} \times 100$$

e os resultados estão apresentados nas **Figuras 38 e 39**, respectivamente.

Nenhum dos dois índices foi adequado para avaliar o frescor de *L. plei*, neste estudo, pois ambos apresentaram variações contínuas durante o armazenamento, tanto no tratamento CCG quanto no SCG. Entre 0 e 3 horas os valores K e K1 se elevaram rapidamente atingindo valores de 73,8 e 93,8%, respectivamente, mas posteriormente caíram para valores de 52,9 e 72,4%, respectivamente, às 12 horas de armazenamento. No tratamento SCG o índice K atingiu os valores mais altos nos dias 2 e 10, enquanto o índice K1 apresentou um aumento dos valores entre o 2º e 4º dia e posteriormente uma queda até o 10º dia. No tratamento CCG os valores de K diminuíram progressivamente durante o armazenamento, e o maior valor K1 foi atingido no 4º dia. As variações nas percentagens individuais de cada nucleotídeo e a relação Hx/AMP durante o armazenamento também foram avaliadas, não sendo encontrados padrões que pudessem recomendar estas análises para avaliação do frescor em *L. plei*.

Num padrão normal de catabolismo de nucleotídeos ocorre uma diminuição rápida dos compostos mais energéticos, ATP e ADP, acompanhada por um aumento do AMP, IMP e ou adenosina ribose e INO após a morte do animal.

Posteriormente estes compostos também vão sendo esgotados e ocorre o acúmulo de hipoxantina e xantina. Em consequência disso os índices K e K1 devem ser baixos logo após a morte e atingir valores mais elevados a medida que prossegue o armazenamento. NAKAMURA et al. (1985), citado por OHASHI et al. (1991) e YOKOYAMA et al. (1994) relatam que o valor K não é adequado como índice de frescor de lulas, pois devido à diferença no padrão de degradação do ATP nestes animais o aumento do valor K é muito mais rápido que em peixes.

OHASHI et al. (1991), acompanhou as variações do índice K em lulas da espécie *Todarodes pacificus* armazenadas a 0, 5 e 10°C, relatando que o valor K inicial foi de cerca de 15% e aumentou para mais de 50% após 1 dia de estocagem a 5 e 10°C e após 7 dias com a temperatura de 0°C. Enquanto um valor K máximo próximo de 20% é recomendado para peixes, estes autores sugerem que para lulas deveria ser adotado um valor entre 40 - 50% e que a relação Hx/AMP seria mais adequada como índice de frescor. YOKOYAMA et al. (1994) estudaram a degradação de nucleotídeos em *Doryteuthis bleekeri* armazenada a 5°C, avaliando separadamente o músculo do manto, braços e nadadeira. Tais autores determinaram que os índices K e K1 foram iguais a 0% no primeiro dia de estocagem e aumentaram progressivamente até valores entre 60 e 80% em manto e nadadeira no 4º dia de armazenamento, quando as lulas ainda eram sensorialmente aceitáveis, concluindo que os índices K e K1 poderiam ser utilizados para avaliar o frescor no início da estocagem, enquanto as percentagens de hipoxantina e xantina e a relação Hx/AMP seriam melhores índices para um período maior pois aumentaram linearmente até 10 dias de estocagem. ROMO et al. (1996) acompanharam as alterações do valor K em *Dosidicus gigas* armazenada a 0 e 22°C durante 72 horas, determinando valores próximos de 0% no início da estocagem e de 20% ao final do período.

A comparação dos resultados destes autores com os obtidos para *L. plei* evidencia a necessidade de maiores investigações para concluir sobre a utilidade da análise de nucleotídeos e dos índices K e K1 para avaliação do frescor nesta espécie.

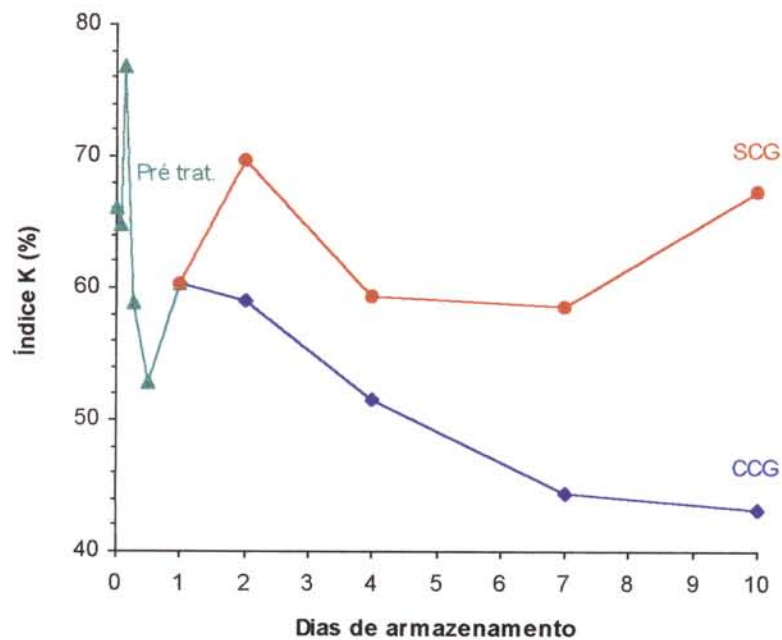


Figura 38. Variação no Índice K em lulas (*Loligo plei*) coletadas, durante o pré tratamento (Pré trat.) e o armazenamento com contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

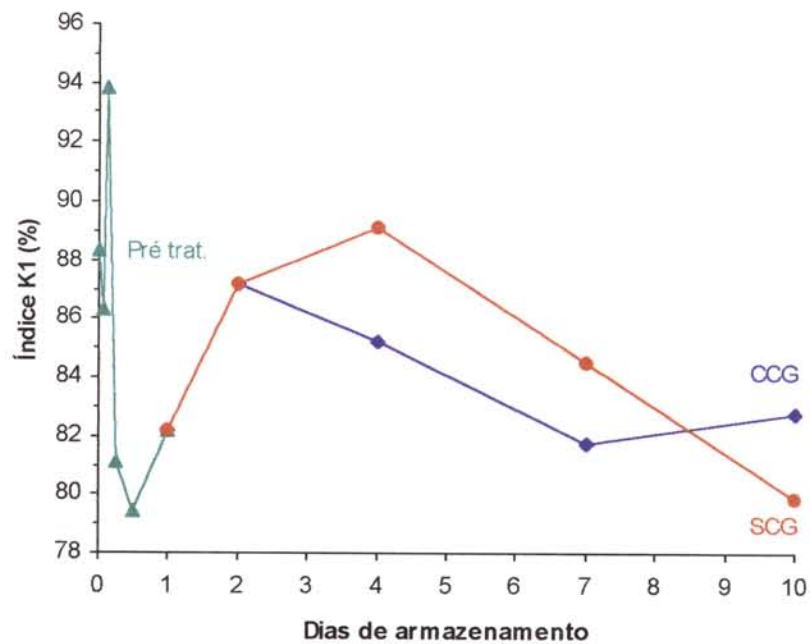


Figura 39. Variação no Índice K1 em lulas (*Loligo plei*) coletadas, durante o pré tratamento (Pré trat.) e o armazenamento com contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

6.2.3.7. Análise de pH

No experimento LC o pH do músculo das lulas nos tratamentos CCG e SCG foi significativamente diferente nos dias 4, 10 e 13 como verifica-se na **Figura 40**. No tratamento CCG o modelo de regressão quadrática foi adequado ($p < 0,01$) para representar as variações do pH durante o armazenamento. No tratamento CCG o valor mais alto de pH foi atingido no 10º dia e no SCG no 7º dia, havendo posteriormente uma queda dos valores nos dois tratamentos.

Embora a análise estatística tenha determinado a ocorrência de diferença entre os tratamentos é importante ressaltar que o aumento máximo do pH durante o armazenamento foi de apenas 0,24 unidades. O pH mínimo (6,26), que poderia ser um indicativo do final do *rigor-mortis*, foi atingido às 6 horas de armazenamento em gelo, durante o Pré tratamento.

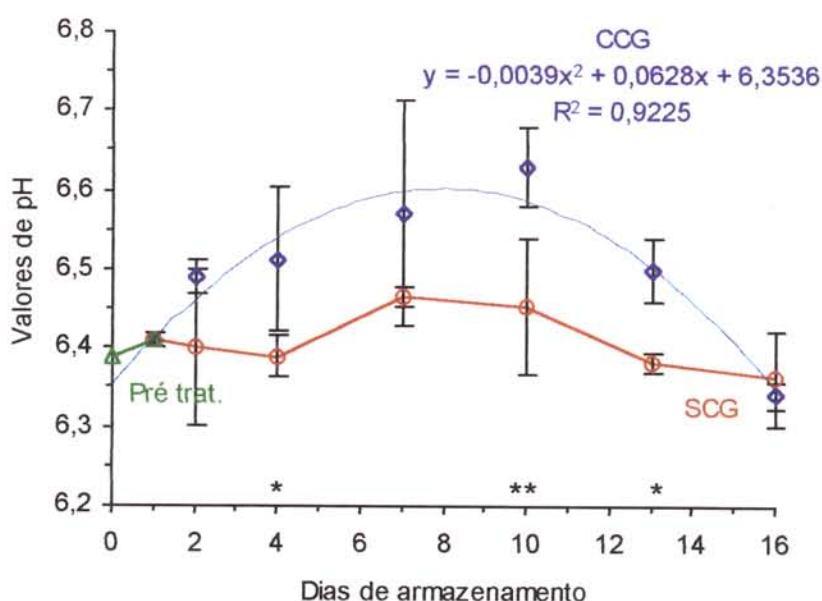


Figura 40. Variação nos valores de pH em lulas (*Loligo plei*) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Está representada a equação quadrática ajustada para os resultados obtidos no tratamento CCG e coeficiente de determinação do modelo. * e ** indicam diferença significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente) entre os tratamentos no correspondente período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Os valores médios de pH obtidos nos diversos períodos de amostragem do experimento LA, apresentados na **Tabela 7**, mostram que a partir um valor inicial de 6,61, igual para os dois lotes de lulas, ocorreram constantes flutuações até ser atingido, no 15º dia um valor médio de 7,16 para os tratamentos CCG e de 7,11 para os tratamentos SCG.

Tabela 7. Valores de pH determinados em dois lotes de lulas (A e B) armazenados com contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, no experimento realizado com lulas adquiridas em estabelecimento comercial (LA).

| PERÍODO (dias) | EXPERIMENTO LA | | | |
|-------------------|----------------|------|-------------------|-------------------|
| | LOTE A | | LOTE B | |
| | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 6,61 | 6,61 | 6,61 ^a | 6,61 ^a |
| 2 | 6,67 | 6,62 | 6,54 ^a | 6,49 ^b |
| 4 | 6,24 | 6,55 | 6,43 ^a | 6,35 ^a |
| 7 | 6,58 | 6,69 | 6,56 ^b | 6,60 ^b |
| 10 | 6,78 | 6,78 | 6,39 ^b | 6,54 ^a |
| 15 | 7,12 | 7,01 | 7,20 ^a | 7,21 ^a |

Médias do mesmo lote e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

Na espécie de lula *Doryteuthis bleekeri* estudada por OTSUKA et al. (1992) o pH inicial foi de 6,7, decresceu após um dia de estocagem e mesmo após 15 dias de armazenamento em gelo não atingiu o pH 7,0. OHASHI et al. (1991) relataram que quando músculo de lulas da espécie *Todarodes pacificus* foi armazenado a 0°C o pH se manteve muito estável não ocorrendo qualquer aumento durante 14 dias de estocagem. YAMANAKA et al. (1987) obtiveram resultados diferentes estudando a mesma espécie de lulas. Tais autores relataram que o pH se manteve ao redor de 6,40 até 6 dias de estocagem, alcançou o valor de 6,50 no 8º dia e a partir daí aumentou rapidamente, atingindo o valor 8,12 com 14 dias de estocagem a 0°C, concluindo que o pH poderia ser utilizado como índice no estágio de início da decomposição.

Concordando com os resultados de OTSUKA et al. (1992) e OHASHI et al. (1991) os resultados encontrados neste estudo sugerem que a determinação de pH não é um bom índice para a avaliação do frescor de *Loligo plei* armazenada em gelo.

6.2.3.8. Análise de Umidade

Nas amostras que foram mantidas em contato direto com gelo, no experimento LC, foi detectado um marcante aumento dos teores de umidade até o 4º dia de armazenamento. No período de Pré-tratamento (0 a 24 horas) ocorreu um aumento de 4,3% no teor de umidade das lulas. No início do experimento, as amostras armazenadas no tratamento SCG também apresentaram um relativo aumento da umidade e algumas flutuações, sem, no entanto, atingir os teores encontrados nas lulas do tratamento CCG, de modo que a partir do 4º dia e até o final do armazenamento o tratamento CCG apresentou médias de período estatisticamente maiores ($p < 0,01$) que as do tratamento SCG (**Figura 41**).

Na **Figura 42** estão apresentadas as variações nos teores de umidade de lulas do experimento LA, lotes A e B. No lote A ocorreram variações semelhantes às do experimento LC, sendo que o teor de umidade aumentou de 80,50% para 86,96% no tratamento CCG ao longo do armazenamento, enquanto no tratamento SCG ocorreu inicialmente uma queda dos teores de umidade até o quarto dia quando foi atingido o valor de 78,92%, e posteriormente elevando-se ligeiramente até o 15º dia. No lote B o teor inicial de umidade das lulas foi de 78,72% e embora tenham ocorrido algumas flutuações até o sétimo dia, ao final do experimento os teores de umidade para o mesmo tratamento nos lotes A e B se tornaram bastante semelhantes (**Anexo B**).

As percentagens de umidade das lulas no primeiro dia, 80,50% e 78,71% para os lotes A e B, respectivamente, eram maiores ($p < 0,01$) que as das amostras 0 Hora (74,24% e 74,94%), o que sugere que já havia ocorrido uma absorção de água durante o armazenamento no estabelecimento comercial.

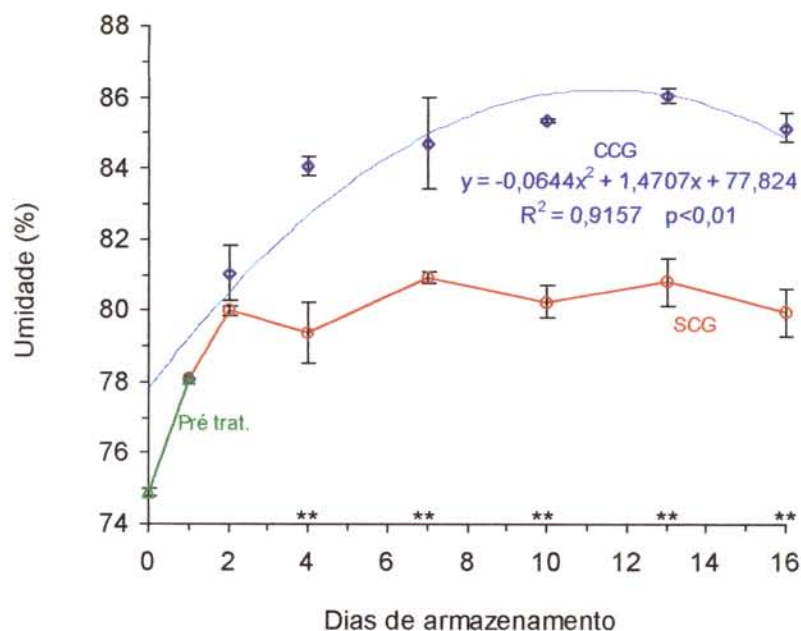


Figura 41. Variação nos teores de umidade em lulas (*Loligo plei*) durante o armazenamento em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Está representada a equação quadrática ajustada aos resultados do tratamento CCG e coeficiente de determinação do modelo. ** indica diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos no correspondente período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

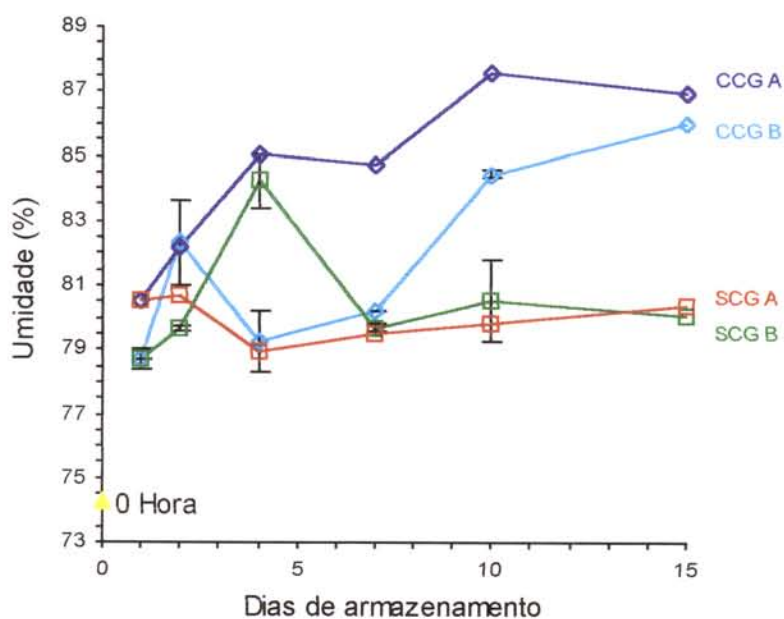


Figura 42. Variação nos teores de umidade em dois lotes de lulas (A e B) adquiridos em estabelecimento comercial, durante o armazenamento em contato direto com gelo (CCG) e sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Vários estudos relatam a ocorrência de um aumento da umidade quando lulas inteiras ou somente o manto, com ou sem pele, são armazenados em contato direto com gelo.

RAGHUNATH (1984) estudando as perdas de nitrogênio solúvel de mantos despelados de lulas da espécie *Loligo duvauceli* estocada em gelo triturado por 8 horas verificou que a umidade dos mantos aumentou de 78,33 para 83,08%, determinando também que 28g de sólidos, correspondendo a 3% do peso dos mantos, foram perdidos durante este período.

Verificando a qualidade de produtos congelados de cefalópodes comercializados na Índia, LAKSHMANAN et al. (1993) relataram que a umidade média era levemente menor nas amostras inteiras em comparação com os produtos limpos, variando entre 79,3 a 86,9% em várias amostras. Os autores comentaram que esta diferença poderia ser atribuída à diferença no pré-armazenamento em gelo das amostras frescas, sendo que quanto maior o período de armazenamento em gelo, maior a umidade.

BERG (1974), citado por LAKSHMANAN et al. (1993), observou que, em contato com água, a carne de lulas absorveu água e ganhou peso. Estes autores sugeriram que nos cefalópodes inteiros a pele poderia funcionar como uma barreira de proteção contra a absorção de água.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que em lulas da espécie *Loligo plei*, a pele não serve como proteção contra o ganho de umidade e correspondente perda de sólidos solúveis, pois mesmo sendo armazenadas inteiras ocorreu um marcante aumento de umidade e redução de NNP quando armazenadas em contato direto com gelo, tratamento CCG.

6.2.3.9. Expressão de resultados como % do NNP

O armazenamento de pescados de tamanho reduzido em contato direto com gelo apresenta a grande desvantagem de propiciar a lixiviação de compostos solúveis, principalmente componentes do NNP, e até mesmo proteínas na água formada no degelo. Em espécies de camarões este problema já foi pesquisado por COBB III et al.(1973), que discutiram a perda de qualidade e inviabilização de algumas determinações analíticas para acompanhamento do frescor. Em um trabalho posterior COBB III et al. (1976) propuseram um novo índice que relaciona o teor de BNV com o teor de aminoácidos livres para eliminar a influência da lixiviação.

Em espécies de lulas de pequeno tamanho, como é o caso de lulas do gênero *Loligo*, este problema ocorre de forma intensa, principalmente devido a estrutura do corpo, que permite que a água de degelo fique em contato com a parte externa e também interna do manto, gerando uma grande superfície pela qual pode haver a lixiviação de compostos solúveis.

De acordo com CONTRERAS (1994) expressar as determinações como quocientes de um parâmetro que varia simultaneamente com elas, diminui ou elimina a influência da lixiviação. O mesmo autor sugere que os teores de TMA e BNV poderiam ser expressos como % do NNP e assim torná-las aproveitáveis como índices de deterioração de pescados de tamanho pequeno conservados em gelo.

No presente trabalho os teores de BNV, amônia, TMA, O-TMA, triptofano, uréia e AAL usualmente expressos como % do músculo, foram re-calculados como % do NNP com o objetivo de verificar se deste modo seria eliminado o efeito da lixiviação, igualando os teores encontrados nos tratamentos CCG e SCG, e determinar a real eficiência destes testes para avaliar o frescor. Para realização dos cálculos, o conteúdo de nitrogênio relativo a concentração de cada composto em um determinado período de armazenamento foi dividido pelo conteúdo de NNP, ficando expresso em % do NNP.

No experimento LC, quando os teores de BNV foram expressos em % do NNP do músculo (% NNP) observou-se que os tratamentos CCG e SCG continuaram a apresentar diferença significativa, porém as lulas do tratamento CCG passaram a apresentar teores de BNV (% do NNP) maiores que as do tratamento SCG a partir do 4º dia de armazenamento. Modelos estatísticos de regressões linear e quadrática foram adequados para representar as variações nos tratamentos SCG e CCG, respectivamente (**Figura 43A**). No experimento LA, quando a comparação foi feita por período de amostragem diferenças significativas foram detectadas a partir do 4º dia no lote A e a partir do 10º dia no lote B, sendo que somente no dia 7, no lote B, o tratamento CCG apresentou um valor de BNV (% NNP) menor que no tratamento SCG (**Figura 44A e Anexo B**). Isto representa uma inversão em relação ao que ocorreu quando os teores de BNV foram expressos por 100g de amostra. Expressando os teores de BNV deste modo verificou-se que no experimento LC os teores aumentaram progressivamente desde o dia 0 nos dois tratamentos, mas no experimento LA, somente o lote A, no tratamento CCG, apresentou um aumento progressivo dos teores de BNV em relação ao NNP desde o início do armazenamento.

Para amônia foi encontrado um padrão semelhante a BNV quando seus teores foram expressos como % do NNP no experimento LC (**Figura 43B**) e no experimento LA (**Figura 44B**).

No experimento LC as lulas submetidas ao tratamento CCG apresentaram teores de N-TMA (% do NNP) maiores ($p < 0,01$) que as do tratamento SCG no 2º dia e a partir do 7º dia de armazenamento. Regressões lineares foram estatisticamente significativas para representar as variações ocorridas durante o armazenamento, mostrando que houve um progressivo aumento da N-TMA em relação ao NNP das lulas nos dois tipos de tratamentos (**Figura 43C**). No experimento LA, do mesmo modo que ocorreu para BNV e amônia, somente a partir do 7º dia verificou-se um aumento progressivo dos teores de N-TMA, expressos como % do NNP (**Figura 44C**); entretanto diferente do ocorrido no experimento LC, nos dois lotes de lulas os tratamentos SCG apresentaram teores

de N-TMA (% NNP) significativamente maiores ($p<0,01$) que os do tratamento CCG ao final do armazenamento (**Anexo B**).

No experimento LC, quanto os AAL foram expressos como % do NNP não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos através da ANOVA, e somente no 10º dia o tratamento CCG apresentou uma média de período maior ($p<0,05$) que o tratamento SCG (**Figura 43D**). Observou-se, também, que o aumento de N-AAL em relação NNP foi progressiva, revelando que uma intensa hidrólise protéica ocorreu nas lulas armazenadas nos dois tratamentos, como indicam as regressões apresentadas. No experimento LA o padrão não é tão claro, sendo que nos dois lotes de lulas em alguns períodos a média do tratamento CCG foi menor que a do tratamento SCG e em outros períodos ocorreu o inverso (**Figura 44D e Anexo B**).

No experimento LC, quando os teores de triptofano livre foram expressos como % do NNP o tratamento CCG passou a apresentar médias por períodos maiores ($p<0,01$) que as do tratamento SCG a partir do 4º dia de armazenamento, invertendo a situação encontrada quando se expressou o mesmo composto como % da amostra. Destaca-se também que utilizando este tipo de expressão detectou-se um aumento progressivo dos teores de triptofano, em relação ao NNP, no músculo de lulas, desde o início do experimento nos tratamentos CCG e SCG, como indicam as regressões linear e quadrática apresentadas (**Figura 43E**). No experimento LA, o tratamento CCG também apresentou médias por período maiores ($p<0,05$) que as do tratamento SCG para os dois lotes de lulas também a partir do 4º dia de armazenamento (**Anexo B**) e ocorreu um progressivo aumento dos teores de N-triptofano em relação ao NNP desde o início do armazenamento (**Figura 44E**).

Ao expressar os teores de uréia como % do NNP, o tratamento CCG passou a apresentar médias de período significativamente maiores que as do tratamento SCG nos dias 2, 4, 7 10 e 16 e foi detectado um aumento linear de sua concentração nos dois tratamentos desde o início do experimento LC (**Figura 43F**).

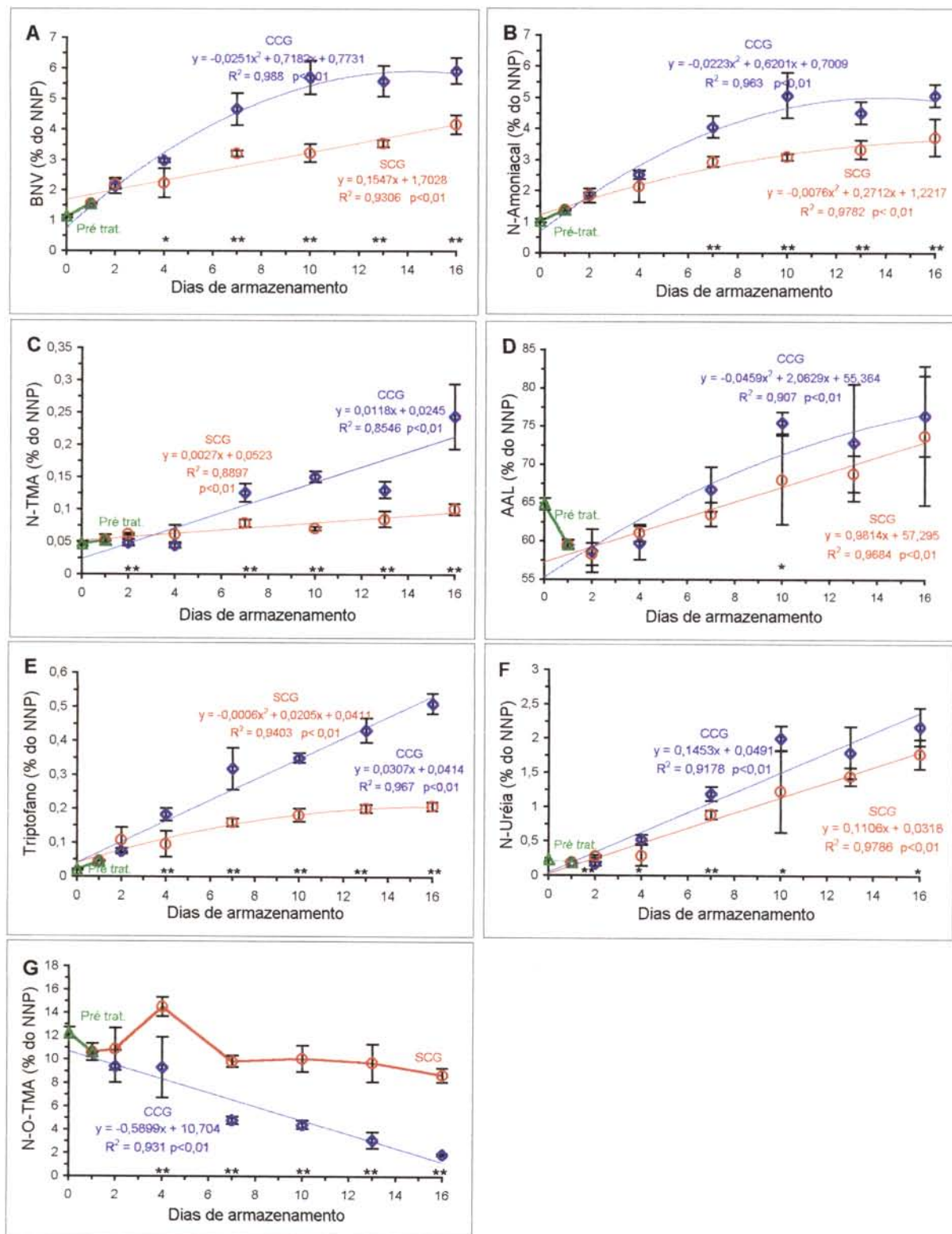


Figura 43. Variação nos teores de BNV (A), N-Amônia (B), N-TMA (C), N-AAL (D), N-Triptofano (E), N-Urêia (F) e O-TMA (G), expressos como % do NNP, em lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Estão representadas as equações dos modelos estatísticos significativos para cada tratamento. * e ** indicam diferença significativa ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

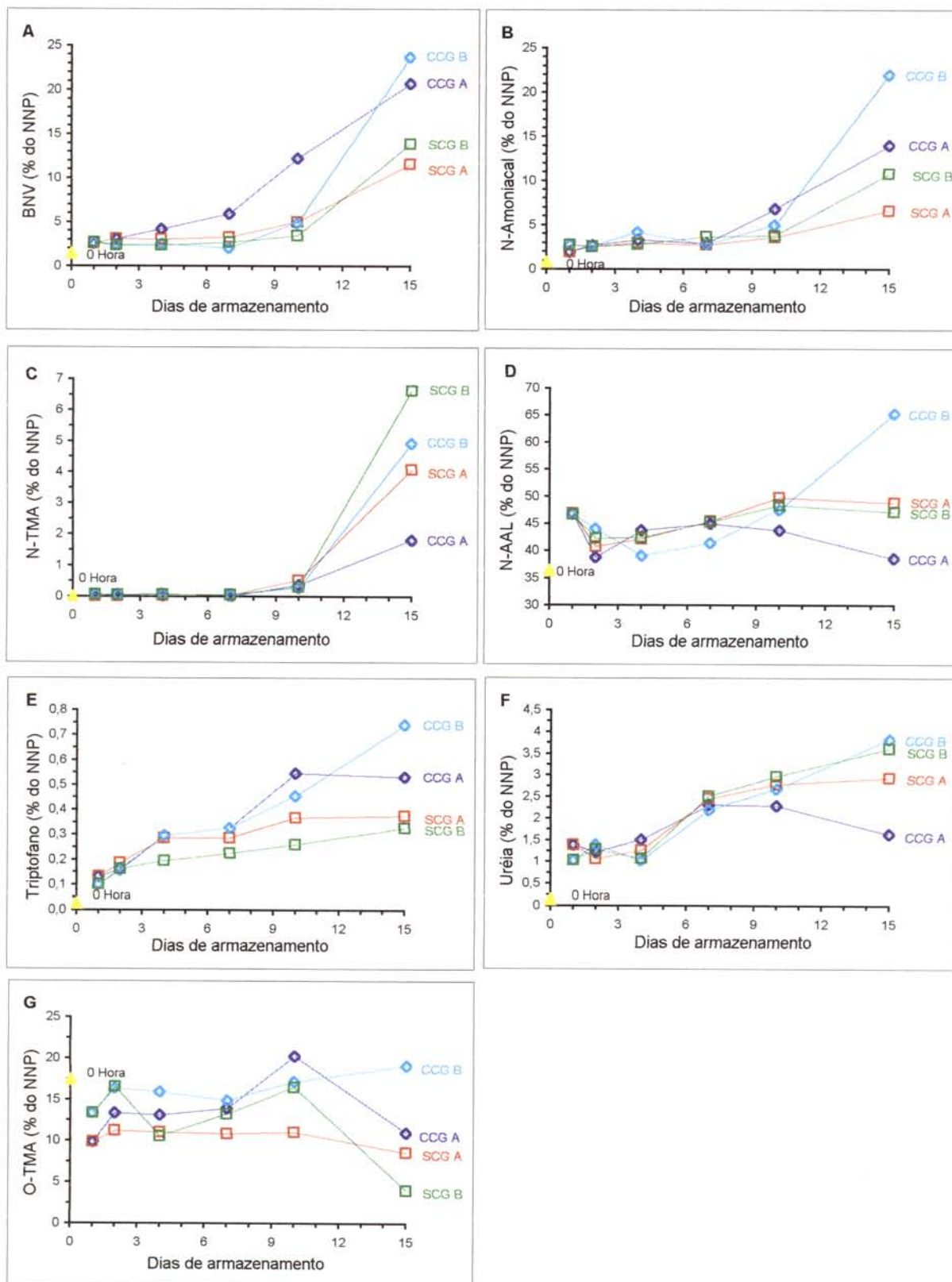


Figura 44. Variação nos teores de BNV (A), N-Amoniaco (B), N-TMA (C), N-AAL (D), N-Triptofano (E), N-Urêia (F) e N-O-TMA (G), expressos como % do NNP, em dois lotes de lulas (A e B) armazenados em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

No experimento LA, a expressão dos teores de uréia como % do NNP foi capaz de igualar estatisticamente os tratamentos CCG e SCG no lote B (**Anexo B**). Com exceção do tratamento CCG no lote A, os demais apresentaram um aumento progressivo dos teores de uréia a partir do 4º dia de armazenamento (**Figura 44F**).

No experimento LC, a expressão dos teores de O-TMA como % do NNP não alterou de modo significativo a diferença entre os tratamentos, de modo que o tratamento SCG continuou apresentando médias por período maiores ($p < 0,01$) que as do tratamento CCG a partir do 4º dia de armazenamento (**Figura 43G**). Um modelo de regressão linear foi adequado para representar a diminuição dos teores de O-TMA (% do NNP) no tratamento CCG, mas no tratamento SCG modelos de regressão linear, exponencial e quadrática não se adequaram de forma significativa. No experimento LA o tratamento CCG passou a apresentar médias maiores ($p < 0,01$) que as do tratamento SCG a partir do 10º dia para o lote A e nos dias 4 e 15 para o lote B de lulas quando os teores de O-TMA foram expressos como % do NNP (**Figura 44G e Anexo B**).

A expressão dos teores de BNV, amônia, TMA, AAL, triptofano e uréia como % do NNP fez com que o tratamento CCG apresentasse médias de períodos maiores que as do tratamento SCG na maioria dos casos no experimento LA e para todos os compostos no experimento LC, o que torna estes resultados coerentes com relação à contaminação microbiológica, que também foi maior no tratamento CCG. Isto sugere que no tratamento CCG a deterioração através da ação de enzimas bacterianas ou endógenas foi maior que nas lulas conservadas em embalagens plásticas, e que a produção dos compostos de deterioração superou a perda do NNP, como um todo, devido a lixiviação. No experimento LC, a perda de O-TMA no tratamento CCG, que no 1º dia representava 10,62% do NNP e que aos 16 dias foi reduzida a apenas 1,93% do NNP, pode explicar, ao menos em parte, o aumento da representatividade dos outros compostos, que estão sendo lixiviados mas também simultaneamente produzidos, na % do NNP.

O efeito mais importante ao se utilizar este tipo de expressão, que combina a análise de NNP com outra, é que, sendo a influência da lixiviação minimizada, as determinações que seriam inadequadas para utilização como índice de frescor para lulas armazenadas em contato direto com gelo, passam a ser eficientes. Se trata de um ponto de vista completamente novo que poderia ser explorado com peixes e outros invertebrados comercializados em gelo.

6.2.4. AVALIAÇÃO INSTRUMENTAL DA COR

No experimento LC, quando os parâmetros de cor, L^* , a^* e b^* , foram avaliados na pele das lulas, não foi detectada diferença ($p < 0,05$) entre as lulas armazenadas sob os tratamentos CCG e SCG, sugerindo que o armazenamento com contato direto com gelo (CCG) ou sem contato direto com gelo (SCG) não teve influência nas alterações da cor externa das lulas. No entanto, o armazenamento ocasionou uma significativa diminuição da luminosidade (**Figura 45A**) e acréscimo dos valores de a^* e b^* (**Figura 45C e 45E**), ou seja, a pele das lulas se tornou mais escura e houve uma intensificação do vermelho e amarelo. A cor da pele de lulas da espécie *Loligo plei* é naturalmente heterogênea, apresentando estrias longitudinais em relação ao maior eixo do manto e pequenos pontos, onde se concentra um maior quantidade de cromatóforos (células que armazenam pigmentos). Os grandes desvios padrão encontrados para as médias de L^* , a^* e b^* , em cada período de amostragem, podem estar relacionados a esta característica.

O músculo de lulas apresentou médias de L^* maiores ($p < 0,01$) no tratamento CCG em comparação com o tratamento SCG a partir do 4º dia de armazenamento, no experimento LC. No tratamento SCG as variações não permitiram detectar de forma significativa uma tendência de aumento ou diminuição dos valores de L^* , enquanto no tratamento CCG o acréscimo da luminosidade durante o armazenamento foi significativamente bem representado por uma equação de regressão quadrática (**Figura 45B**).

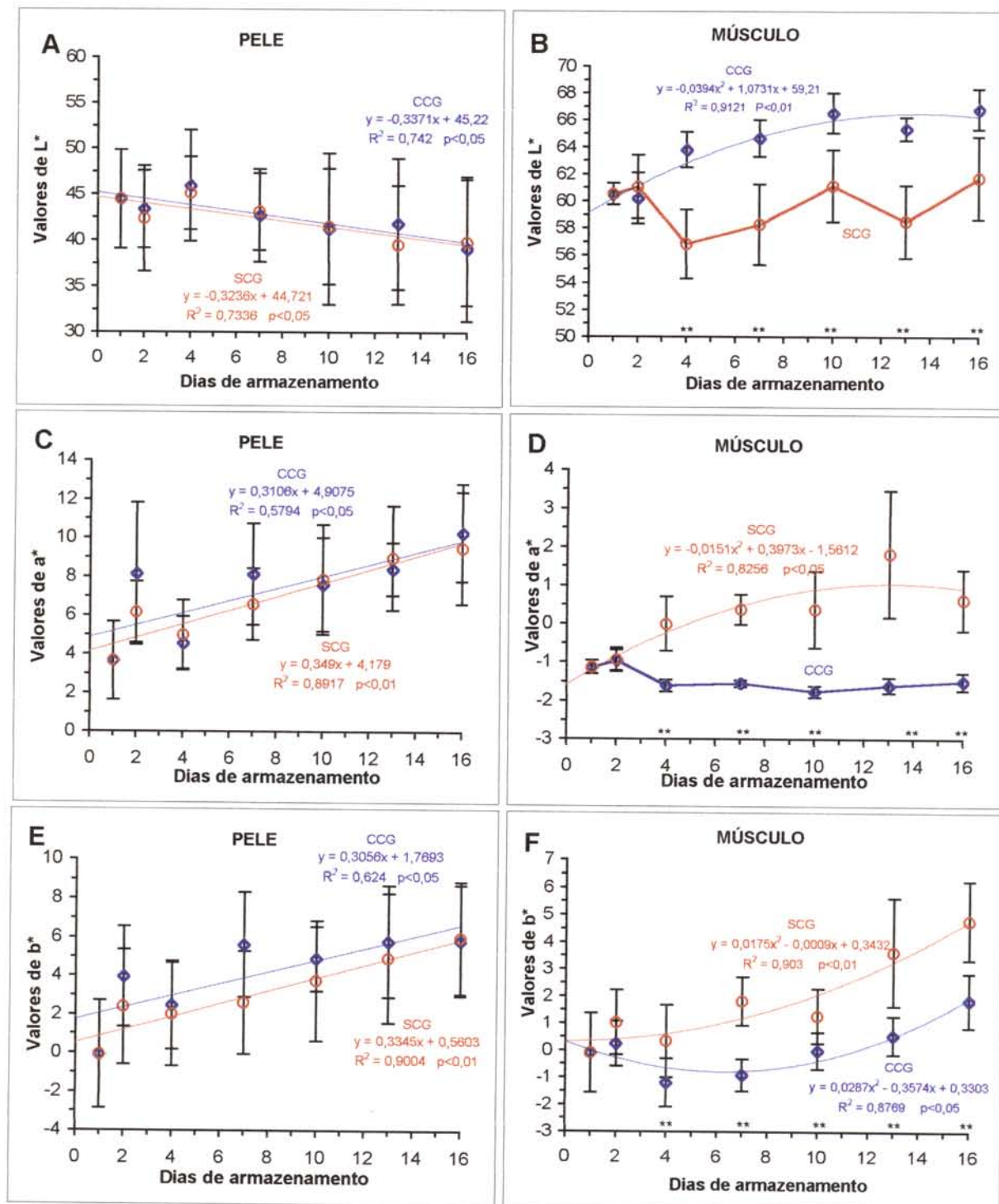


Figura 45. Variação nos parâmetros de cor L^* , a^* e b^* em lulas (*Loligo plei*) coletadas e armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC. Estão representadas as equações dos modelos estatísticos significativos para cada tratamento. ** indica diferença significativa ($p < 0,01$) entre os tratamentos no respectivo período de armazenamento. As barras verticais indicam o desvio padrão da média.

Os valores médios de a^* e b^* em músculo de lulas foram maiores ($p < 0,01$) no tratamento SCG em comparação com o tratamento CCG a partir do 4º dia de armazenamento. No tratamento CCG o parâmetro de cor a^* apresentou variações muito discretas durante o armazenamento, não apresentando tendência de aumento ou decréscimo dos valores e o parâmetro de cor b^* apresentou uma queda dos valores até o 7º dia e posteriormente um aumento que foi adequadamente representada por um modelo de regressão quadrática. Regressões quadráticas também foram estatisticamente adequadas para representar o aumento dos valores de a^* e b^* no tratamento SCG.

No experimento LA, quando a avaliação instrumental da cor foi feita na pele de lulas, o tipo de tratamento não teve influência sobre os valores de L^* , que foram iguais ($p > 0,05$) para os tratamentos CCG e SCG em todos os períodos de amostragem nos dois lotes de lulas (**Anexo B**). No entanto, assim como ocorreu no experimento LC, houve uma tendência de queda dos valores de L^* ao longo do armazenamento (**Figura 46A**). Os valores de a^* para pele de lulas no tratamento SCG apresentaram uma tendência de aumento dos valores até o 15º dia de armazenamento nos lotes A e B de lulas, enquanto no tratamento CCG após o 10º dia os valores de a^* se estabilizaram no lote B e diminuíram no lote A (**Figura 46C**). Foi detectada diferença entre os tratamentos quanto aos valores de a^* somente para o lote A de lulas, a partir do 4º dia de armazenamento. Os valores de b^* em pele de lulas do lote B aumentaram desde o início até o 15º dia de armazenamento no tratamento CCG, enquanto no tratamento SCG a partir do 10º dia ocorreu uma diminuição. No lote A ocorreu um marcante aumento dos valores de b^* até o 7º dia de armazenamento no tratamento SCG, ocorrendo posteriormente uma estabilização dos valores e no tratamento CCG o aumento dos valores ocorreu até o 10º dia e posteriormente houve uma diminuição do valor (**Figura 46E**). A única diferença significativa entre os tratamentos, quanto ao parâmetro b^* , foi detectada no lote B, no 4º dia de armazenamento, o que indica que o tratamento teve pouca influência no aumento dos valores deste parâmetro de cor (**Anexo B**).

No experimento LA, as lulas armazenadas sob os tratamentos CCG e SCG apresentaram valores de L^* em músculo significativamente diferentes ($p < 0,05$) em vários períodos de armazenamento. No lote A, as variações nos valores de L^* foram semelhantes ao que ocorreu no experimento LC (**Figura 45B**), com o tratamento CCG apresentando médias maiores ($p < 0,05$) que as do tratamento SCG durante a maior parte do armazenamento, embora de um modo geral a luminosidade tenha apresentado valores sempre mais baixos do que no tratamento com lulas coletadas. No lote B, os valores de L^* no início do experimento foram mais próximos dos encontrados em lulas coletadas, mas já a partir do 4º dia de armazenamento as médias de período variaram de modo a fazer o tratamento CCG apresentar às vezes valores mais altos e às vezes mais baixos que o tratamento SCG (**Figura 46B**). Estas variações nos valores de L^* estiveram intimamente relacionadas às alterações dos valores de a^* e b^* ocorridas no mesmo lote de lulas, sendo que quando os valores daqueles parâmetros aumentaram em um tratamento, o valor de L^* correspondente diminuiu e quando os valores diminuíram, o valor de L^* aumentou.

Os valores de a^* em músculo de lulas foram maiores ($p < 0,05$) para lulas armazenadas sem contato direto com gelo, tratamento SCG, a partir do 4º dia no lote A e a partir do 7º dia no lote B (**Anexo B**). No tratamento CCG ocorreu um aumento mais constante dos valores de a^* a partir do 7º dia, enquanto no tratamento SCG o aumento dos valores de a^* foi mais marcante e se iniciou antes da primeira semana de armazenamento (**Figura 46D**).

No lote A de lulas o tratamento CCG apresentou médias de b^* menores ($p < 0,05$) que as do tratamento SCG nos dias 2, 4 7 e 10, enquanto no lote B foi detectada diferença significativa entre as médias dos tratamentos somente no dia 2. No dois lotes de lulas ocorreu uma tendência de aumento dos valores de b^* desde o início do experimento LA (**Figura 46F**), assim como ocorreu no experimento LC.

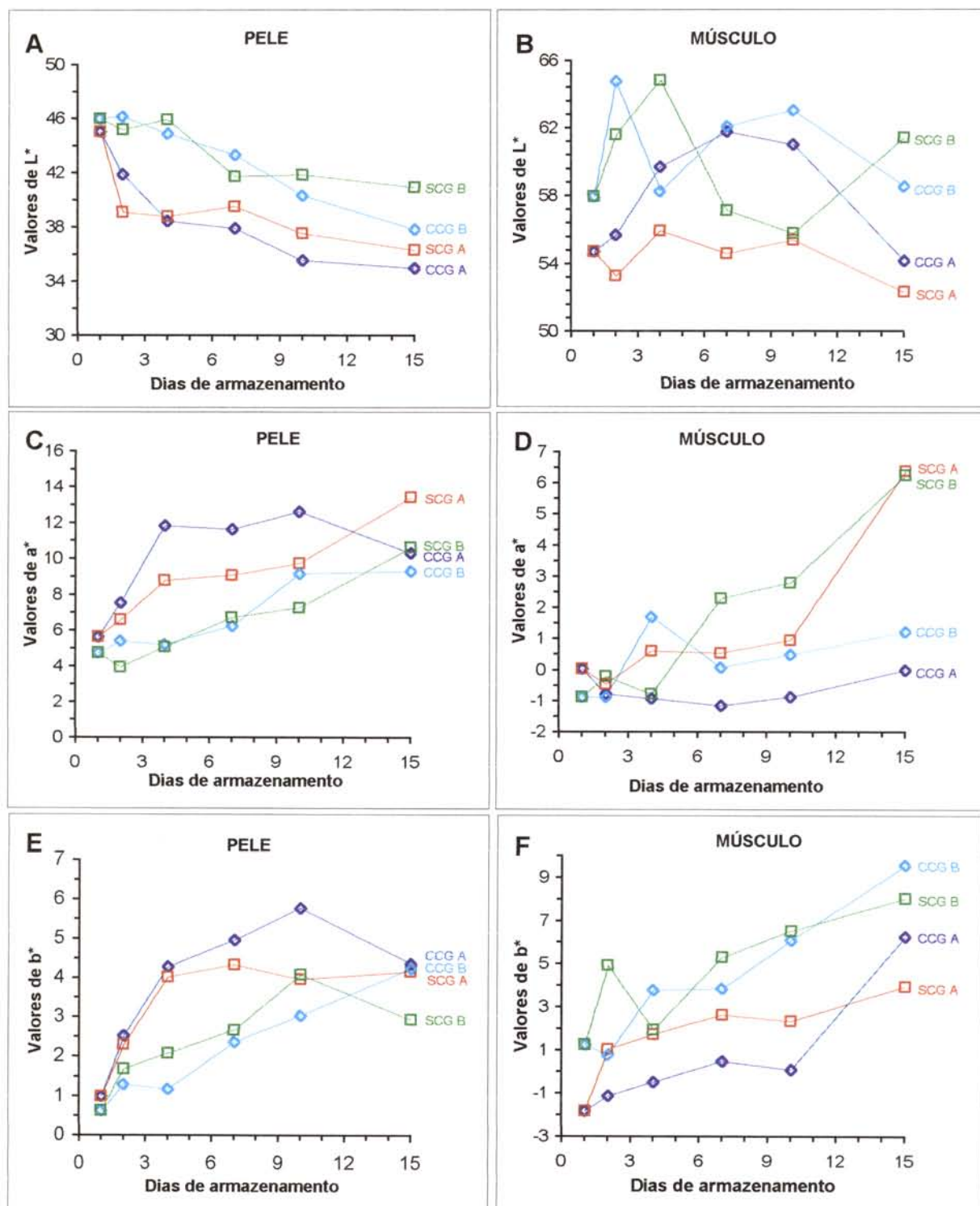


Figura 46. Variação nos parâmetros de cor L^* , a^* e b^* em dois lotes de lulas (A e B) armazenados em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimentos LA.

De um modo geral, os resultados da avaliação instrumental da cor em pele de lulas indicaram que a luminosidade diminui e que a intensidade da cor amarela aumenta durante o armazenamento, seja este realizado com contato direto com gelo (CCG) ou sem contato direto com gelo (SCG). Ocorre também um aumento da intensidade da cor vermelha da pele durante o armazenamento, mas neste caso os resultados do lote A de lulas utilizado no experimento LA indicaram que o tratamento CCG facilitou a ocorrência dessa alteração de cor. No músculo das lulas a avaliação instrumental da cor mostrou que ocorre uma progressiva diminuição da luminosidade nos dois tipos de tratamentos. A intensificação da cromaticidade das amostras, retratada por um aumento dos valores de a^* e b^* , ocorreu de forma mais intensa e rápida no tratamento SCG, portanto, o tratamento CCG, no qual as lulas ficaram armazenadas em contato direto com gelo, foi mais eficiente na preservação da cor natural do músculo. Uma hipótese que explicaria a menor cromaticidade, retratada pela menor presença de manchas escuras ou rosadas no músculo nas lulas armazenadas com contato direto com gelo, seria a solubilidade do pigmento da pele das lulas em água. Nesta situação, após o rompimento dos cromatóforos da pele das lulas durante o processo de deterioração, o contato direto com o gelo no tratamento CCG estaria causando a lixiviação dos pigmentos, que seriam transportados da pele diretamente para a água de degelo, minimizando o contato desses pigmentos com o músculo. No tratamento SCG, pelo contrário, os pigmentos liberados dos cromatóforos permaneceriam no líquido exsudado contido nas embalagens plásticas durante todo o período de armazenamento, facilitando o tingimento do músculo seja de forma homogênea ou com manchas localizadas.

6.2.5. ESTUDO DE CORRELAÇÕES

Segundo BHATTACHARYYA & JOHNSON (1977) métodos de regressão são apropriados quando uma variável aleatória Y depende de uma variável causal X que é controlada pelo experimentador e a análise é conduzida para determinar o efeito de X ou sua capacidade de prever Y . Em contraste, quando o objetivo é estudar a força da relação entre duas variáveis aleatórias deve ser efetuada uma

análise de correlação. O coeficiente de correlação (r) é uma medida da proximidade da relação à forma de uma linha reta, de modo que um r baixo indica uma falta de relação linear, mas não significa a inexistência de uma relação de outro tipo, ou seja não-linear. Por outro lado, um alto coeficiente de correlação não significa necessariamente uma relação causal entre duas variáveis, pois uma terceira variável pode estar causando a correlação observada, que neste caso é chamada correlação espúria. Determinar se uma correlação observada é verdadeira ou espúria depende mais de bom senso que da aplicação de estatística.

Assim, para o parâmetro sensorial cor característica (CORC), por exemplo, seria natural a existência de correlação linear negativa com a presença de manchas no músculo e com o espalhamento/intensificação da cor rosa da pele, as quais contribuem para a diminuição da CORC (cor branco-leitosa); com o pH, cuja elevação é associada ao rompimento de cromatóforos por alguns autores; com BNV, amônia, TMA, NNP, uréia, que contribuem para o aumento do pH; e finalmente com a contagem de psicotrófilos que determina em grande parte a produção dos compostos envolvidos na deterioração. Nota-se que o grau de dependência entre os parâmetros é variável, havendo uma dependência direta em alguns casos e indireta em outros. Poderia também ser detectada uma correlação positiva entre CORC e o aroma de pescado fresco (FRES), pois estas duas características das lulas diminuem durante o armazenamento, mas este seria um exemplo de correlação espúria, pois um parâmetro não tem influência sobre o outro, sendo apenas afetados por fatores em comum.

6.2.5.1. Correlações entre os resultados da análise sensorial e análise microbiológica

No experimento LC, tratamento CCG, foram detectadas correlações lineares negativas entre os atributos sensoriais CORC e MANC, CORC e ESIN e entre FRESC e DETE, e correlação positiva entre MANC e ESIN (**Tabela 8**), como havia indicado a ACP. As variações de notas atribuídas aos descritores CORC,

BRIL e FRES apresentaram alta correlação linear negativa com o aumento da contagem de psicrotrófilos (CPsi) nas lulas e os descritores MANC e DETE apresentaram altas correlações lineares positivas ($p < 0,05$). As correlações lineares positivas encontradas entre CPsi e ESIN, FLAC e OPAC foram menores que 0,7, apresentando $p > 0,05$.

Para o tratamento SCG (**Tabela 9**) foram confirmadas as correlações entre CORC e MANC, CORC e ESIN, MANC e ESIN, e entre FRES e DETE, sendo que todas apresentaram $r > 0,97$ e $p < 0,001$. Foi detectada correlação linear negativa significativa ($p < 0,05$) entre a CPsi e o descritor BRIL, enquanto os outros descritores apresentaram correlações lineares mais baixas e não significativas com a CPsi.

No experimento LA, tratamentos CCG e SCG, também foi confirmada a existência de correlações altas entre CORC e MANC, CORC e ESIN, MANC e ESIN, e entre FRES e DETE (**Tabelas 10 e 11**). No tratamento CCG correlações lineares superiores a 0,7 foram encontradas entre CPsi e FRES (correlação negativa), entre CPsi e DETE e entre CPsi e OPAC (correlações positivas). No entanto, mesmo estas correlações apresentaram $p > 0,05$ (**Tabela 10**). Para o tratamento SCG foi detectada correlação linear positiva entre a CPsi e o descritor OPAC com $r > 0,85$ e $p < 0,05$, e entre CPsi e DETE, ESIN e FLAC com $r > 0,7$, porém com $p > 0,05$ (**Tabela 11**).

Tabela 8. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) das lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LC.

| PARÂMETRO | Sensorial | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | CORC | MANC | BRIL | FRES | DETE | ESIN | FLAC | OPAC |
| Microbiológico | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICOTRÓFILOS | -0,9137 p=,004 | 0,911 p=,004 | -0,8297 p=,021 | -0,8481 p=,016 | 0,8709 p=,011 | 0,5924 p=,161 | 0,6966 p=,082 | 0,6231 p=,135 |
| Sensorial* | | | | | | | | |
| CORC | 1 p= --- | | | | | | | |
| MANC | -0,9869 p=,000 | 1 p= --- | | | | | | |
| BRIL | 0,9424 p=,001 | -0,9203 p=,003 | 1 p= --- | | | | | |
| FRES | 0,9768 p=,000 | -0,9491 p=,001 | 0,9242 p=,003 | 1 p= --- | | | | |
| DETE | -0,9843 p=,000 | 0,9256 p=,003 | -0,9264 p=,003 | -0,9886 p=,000 | 1 p= --- | | | |
| ESIN | -0,825 p=,022 | 0,7599 p=,047 | -0,8509 p=,015 | -0,8746 p=,010 | 0,8796 p=,009 | 1 p= --- | | |
| FLAC | -0,8934 p=,007 | 0,8441 p=,017 | -0,9148 p=,004 | -0,9272 p=,003 | 0,9331 p=,002 | 0,9868 p=,000 | 1 p= --- | |
| OPAC | -0,8318 p=,020 | 0,75 p=,052 | -0,8532 p=,015 | -0,8783 p=,009 | 0,8894 p=,007 | 0,9873 p=,000 | 0,9716 p=,000 | 1 p= --- |

Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4.

Tabela 9. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicotrófilos) das lulas (*Loligo plei*) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC.

| PARÂMETRO | Sensorial | | | | | | | |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | CORC | MANC | BRIL | FRES | DETE | ESIN | FLAC | OPAC |
| Microbiológico | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICOTRÓFILOS | -0,5332 p=,218 | 0,5134 p=,239 | -0,8313 p=,020 | -0,8524 p=,112 | 0,6468 p=,116 | 0,5873 p=,166 | 0,64 p=,122 | 0,6684 p=,101 |
| Sensorial* | | | | | | | | |
| CORC | 1 p= --- | | | | | | | |
| MANC | -0,997 p=,000 | 1 p= --- | | | | | | |
| BRIL | 0,3633 p=,423 | -0,3759 p=,406 | 1 p= --- | | | | | |
| FRES | 0,979 p=,000 | -0,9761 p=,000 | 0,4778 p=,278 | 1 p= --- | | | | |
| DETE | -0,9672 p=,000 | 0,9715 p=,000 | -0,4986 p=,255 | -0,9944 p=,000 | 1 p= --- | | | |
| ESIN | -0,9791 p=,000 | 0,9823 p=,000 | -0,4263 p=,340 | -0,9786 p=,000 | 0,979 p=,000 | 1 p= --- | | |
| FLAC | -0,984 p=,000 | 0,9735 p=,000 | -0,4371 p=,327 | -0,9857 p=,000 | 0,9673 p=,000 | 0,9796 p=,000 | 1 p= --- | |
| OPAC | -0,9473 p=,001 | 0,9487 p=,001 | -0,5077 p=,245 | -0,9683 p=,000 | 0,9688 p=,000 | 0,9891 p=,000 | 0,9719 p=,000 | 1 p= --- |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4.

Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 10. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotrófilos) para lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LA.

| PARÂMETRO | Sensorial | | | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | CORC | MANC | BRIL | FRES | DETE | ESIN | FLAC | OPAC |
| Microbiológico | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,6266 p=,183 | 0,6631 p=,151 | -0,3315 p=,521 | -0,7338 p=,097 | 0,7836 p=,065 | 0,5765 p=,231 | 0,6727 p=,143 | 0,7698 p=,073 |
| Sensorial* | | | | | | | | |
| CORC | 1,0000 p= --- | | | | | | | |
| MANC | -0,9974 p=,000 | 1,0000 p= --- | | | | | | |
| BRIL | 0,7633 p=,077 | -0,7702 p=,073 | 1,0000 p= --- | | | | | |
| FRES | 0,9135 p=,011 | -0,9324 p=,007 | 0,7909 p=,061 | 1,0000 p= --- | | | | |
| DETE | -0,8885 p=,018 | 0,9130 p=,011 | -0,7820 p=,066 | -0,9946 p=,000 | 1,0000 p= --- | | | |
| ESIN | -0,8116 p=,050 | 0,8247 p=,043 | -0,8755 p=,022 | -0,9434 p=,005 | 0,9348 p=,006 | 1,0000 p= --- | | |
| FLAC | -0,9338 p=,006 | 0,9442 p=,005 | -0,8763 p=,022 | -0,9773 p=,001 | 0,9698 p=,001 | 0,9596 p=,002 | 1,0000 p= --- | |
| OPAC | -0,9021 p=,014 | 0,9238 p=,008 | -0,8200 p=,046 | -0,9904 p=,000 | 0,9961 p=,000 | 0,9435 p=,005 | 0,9840 p=,000 | 1,0000 p= --- |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 11. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotrófilos) para lulas (*Loligo plei*) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA.

| PARÂMETRO | Sensorial | | | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | CORC | MANC | BRIL | FRES | DETE | ESIN | FLAC | OPAC |
| Microbiológico | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,6132 p=,195 | 0,6933 p=,127 | 0,2732 p=,600 | -0,6846 p=,134 | 0,7149 p=,110 | 0,7469 p=,088 | 0,7248 p=,103 | 0,8525 p=,031 |
| Sensorial* | | | | | | | | |
| CORC | 1,0000 p= --- | | | | | | | |
| MANC | -0,9942 p=,000 | 1,0000 p= --- | | | | | | |
| BRIL | 0,1433 p=,787 | -0,1022 p=,847 | 1,0000 p= --- | | | | | |
| FRES | 0,9724 p=,001 | -0,9805 p=,001 | -0,0056 p=,992 | 1,0000 p= --- | | | | |
| DETE | -0,9477 p=,004 | 0,9617 p=,002 | 0,0729 p=,891 | -0,9921 p=,000 | 1,0000 p= --- | | | |
| ESIN | -0,9373 p=,006 | 0,9601 p=,002 | -0,1552 p=,769 | -0,9617 p=,002 | 0,9489 p=,004 | 1,0000 p= --- | | |
| FLAC | -0,9747 p=,001 | 0,9882 p=,000 | -0,0555 p=,917 | -0,9927 p=,000 | 0,9874 p=,000 | 0,9795 p=,001 | 1,0000 p= --- | |
| OPAC | -0,8865 p=,019 | 0,9238 p=,008 | -0,0740 p=,889 | -0,8794 p=,021 | 0,8536 p=,031 | 0,9272 p=,008 | 0,9064 p=,013 | 1,0000 p= --- |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

6.2.5.2. Correlações entre os resultados das análises químicas e da análise microbiológica e entre os resultados das análises químicas e da análise sensorial

Seria natural a existência de correlações positivas entre CPsi e os compostos indicativos de deterioração, BNV, amônia, TMA e uréia, já que uma maior contaminação microbiológica deve promover uma maior produção destes compostos. Uma correlação positiva entre CPsi e pH também seria normal. A variação do O-TMA, pelo contrário, deveria apresentar uma correlação negativa com a CPsi, já que a transformação do O-TMA para TMA é efetuada pela enzima redutase da O-TMA, produzida por microrganismos. O triptofano livre, originário da hidrólise protéica, poderia apresentar uma correlação positiva com a CPsi. Quanto ao NNP e AAL, a produção e/ou consumo destes compostos devido à ação bacteriana torna difícil prever qual seria o tipo de correlação normal. Quanto aos descritores utilizados na análise sensorial, deveriam ocorrer correlações positivas entre os descritores MANC, DETE, ESIN, FLAC e OPAC e os compostos indicativos de deterioração e correlações negativas entre estes e CORC e FRES.

No experimento LC, tratamento CCG, BNV e amônia apresentaram correlações lineares negativas relativamente altas e significativas ($p < 0,05$) com a CPsi (**Tabela 12**), devido a progressiva diminuição destes compostos químicos causada pela lixiviação. É interessante notar que a lixiviação aparentemente não causa uma diminuição da CPsi, ao contrário do que ocorre com os compostos químicos, ocasionando as correlações negativas. No tratamento SCG (**Tabela 13**) as correlações lineares foram positivas, porém com $p > 0,05$. Quando a análise de correlação foi feita com os resultados de BNV e amônia expressos como % do NNP, obtiveram-se correlações lineares positivas com a CPsi com r entre 0,59 e 0,66 nos dois tipos de tratamentos, porém estas correlações apresentaram $p > 0,05$.

No experimento LA, as BNV, expressas como % do músculo ou como % do NNP apresentaram correlações lineares positivas muito altas ($r > 0,89$ e $p < 0,05$) com a CPsi nos dois lotes de lulas e nos dois tratamentos (**Tabelas 14, 15, 16 e 17**). Para amônia foram obtidos os mesmos resultados, exceto no caso do lote A

de lulas no tratamento CCG, onde a correlação com a CPsi foi positiva, porém não significativa. (**Tabela 14**). A deterioração das lulas no experimento LA, que atingiu um estágio bastante avançado, com produção de quantidades elevadas de amônia e de BNV após o décimo dia de armazenamento, mesmo no tratamento CCG, onde a produção destes compostos suplantou a taxa de perda por lixiviação, se refletiu nas correlações positivas mais fortes com a CPsi detectadas nesse experimento.

No experimento LC, tratamento CCG, a análise de TMA apresentou correlação linear positiva com a CPsi somente quando o resultado foi calculado como % do NNP (**Tabela 12**). No tratamento SCG do experimento LC (**Tabela 13**), e nos dois tratamentos no experimento LA (**Tabelas 14, 15, 16 e 17**) foram detectadas correlações lineares positivas entre TMA (% NNP) e CPsi e também entre TMA e CPsi, sendo que no experimento LA obtiveram-se $r > 0,98$ e $p < 0,001$ em todos os casos. A diminuição do O-TMA durante o armazenamento das lulas esteve relacionada de maneira fraca com o aumento da CPsi. O índice de correlação mais alto detectado foi de $r = -0,7851$ com $p > 0,05$ no tratamento SCG do experimento LA, lote B de lulas (**Tabela 17**).

A análise de pH não apresentou correlação linear significativa com a CPsi no experimento LC, mas no experimento LA as correlações entre pH e CPsi somente não foram significativas para o lote A de lulas submetido ao tratamento CCG (**Tabela 14**).

Na **Tabela 12** observa-se que existem correlações anômalas entre os compostos da deterioração e os descritores da análise sensorial, ou seja, correlações que deveriam ser positivas aparecem como negativas e vice-versa. Na mesma tabela verifica-se que a expressão dos teores de BNV, amônia, AAL e TMA como % do NNP normalizou estes resultados, e no caso do triptofano livre e uréia fez com que as correlações se tornassem mais altas. As análises de AAL, TMA, O-TMA, uréia e triptofano apresentaram correlações lineares ($p < 0,05$) com todos os descritores utilizados na análise sensorial quando os resultados foram expressos como % do NNP, no tratamento CCG. No tratamento SCG (**Tabela**

13), onde não existiu o efeito da lixiviação, a expressão dos parâmetros químicos como % do NNP não alterou os resultados das correlações, apenas ocorreram mudanças no nível de significância em alguns casos. NNP, O-TMA e O-TMA (% NNP) não apresentaram correlação com qualquer um dos descritores sensoriais utilizados, enquanto os outros parâmetros químicos apresentaram correlação linear ($p < 0,05$) com todos os descritores sensoriais, exceto brilho.

No experimento LA, tratamento CCG, a expressão de AAL e uréia como % do NNP também normalizou as correlações com os descritores sensoriais. No caso das análises de BNV, amônia, TMA e triptofano as correlações lineares se tornaram mais altas quando foi utilizada a % do NNP. Triptofano (% do NNP) apresentou correlações significativas com todos os descritores sensoriais exceto BRIL, e uréia (% do NNP) apresentou correlação com todos os descritores da aparência externa das lulas (**Tabela 16**).

No tratamento SCG (**Tabela 17**) verifica-se que as correlações que eram significativas entre AAL e os descritores sensoriais, passaram a ser não significativas quando os AAL foram expressos como % do NNP. Os parâmetros químicos triptofano e uréia, expressos como % do músculo ou como % NNP apresentaram correlações significativas com todos os descritores da análise sensorial, exceto BRIL.

As variações de pH que ocorreram nos dois experimentos, LA e LC, e nos dois tratamentos, CCG e SCG, não influenciaram significativamente a qualidade sensorial das lulas, pois a única correlação significativa detectada foi entre pH e BRIL, no tratamento SCG do experimento LC (**Tabela 13**), sendo que o descritor BRIL foi o descritor sensorial que apresentou menos correlações significativas com os compostos indicativos de deterioração avaliados.

De um modo geral, a TMA, expressa em mg/100g ou % do NNP, foi o composto cuja variação esteve mais fortemente correlacionada com a contagem de microorganismos psicrotófilos. Quando a TMA foi expressa como % do NNP, nos dois experimentos e para os dois tipos de tratamentos foram detectadas correlações lineares positivas, mostrando que o aumento da TMA em relação ao NNP esteve estreitamente ligado ao aumento da carga microbiana. No entanto, para determinar um valor de TMA que serviria como índice de aceitação para consumo humano de lulas da espécie *Loligo plei*, serão necessários mais estudos de vida de prateleira.

No experimento LC as variações dos teores de muitos parâmetros químicos durante o armazenamento de lulas mostraram uma forte correlação com a variação da qualidade sensorial, enquanto no experimento LA o número de correlações significativas foi menor, provavelmente porque muitos dos parâmetros químicos apresentaram um marcante aumento após o 10º dia de armazenamento, que não se refletiu na qualidade sensorial, a qual decresceu linearmente. Destaca-se que nos dois experimentos, as variações do triptofano livre e uréia, expressos como % do NNP, mostraram uma forte correlação linear positiva com todos os descritores de aparência externa das lulas nos tratamentos CCG e SCG, sendo que triptofano também apresentou correlação negativa com a CORC e MANC, indicando que estes dois compostos químicos poderiam ser utilizados para avaliar a qualidade sensorial de *Loligo plei*, em substituição a um painel de provadores.

Tabela 12. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotróficos) realizadas em lulas da espécie *Loligo plei* armazenadas em contato direto com gelo (CCG) no experimento LC.

| PARÂMETRO | Químico | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|---------|----------------|-------------------|----------------|------------------|------------------|---------|---------|----------------|-----------------|-----------------------|---------|------------------|---------|
| | BNV | BNV (% NNP) | AMÔNIA (% NNP) | TMA (% NNP) | O-TMA (% NNP) | O-TMA (% NNP) | NNP | AAL | AAL (% NNP) | TRIPTO- FANO | TRIPTOFANO (% NNP) | URÉIA | URÉIA (% NNP) | pH |
| Microbiológico | | | | | | | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICOTRÓFIOS | -0,8365 | 0,6545 | -0,7905 | 0,6526 | -0,0522 | 0,9043 | -0,5505 | -0,7241 | -0,5758 | 0,1283 | 0,7574 | 0,3507 | 0,7377 | -0,5489 |
| | p=0,019 | p=0,111 | p=0,034 | p=0,112 | p=0,912 | p=0,005 | p=0,200 | p=0,066 | p=0,176 | p=0,784 | p=0,049 | p=0,441 | p=0,058 | p=0,201 |
| Sensorial* | | | | | | | | | | | | | | |
| CORC | 0,8605 | -0,828 | 0,8499 | -0,8081 | 0,3151 | -0,9019 | 0,7616 | 0,8812 | 0,7681 | -0,8506 | -0,4028 | -0,8994 | -0,5068 | 0,3223 |
| | p=0,013 | p=0,021 | p=0,015 | p=0,028 | p=0,491 | p=0,005 | p=0,047 | p=0,009 | p=0,043 | p=0,015 | p=0,370 | p=0,006 | p=0,246 | p=0,481 |
| MANC | -0,7968 | 0,7413 | -0,7861 | 0,7183 | -0,2411 | 0,8598 | -0,6677 | -0,8228 | -0,6699 | 0,7781 | 0,2836 | 0,8285 | 0,3785 | -0,4134 |
| | p=0,032 | p=0,057 | p=0,036 | p=0,069 | p=0,602 | p=0,013 | p=0,101 | p=0,023 | p=0,100 | p=0,099 | p=0,523 | p=0,021 | p=0,403 | p=0,357 |
| BRIL | 0,7183 | -0,8492 | 0,6878 | -0,851 | 0,348 | -0,871 | 0,8091 | 0,8657 | 0,8003 | -0,8443 | -0,489 | -0,8583 | -0,5749 | 0,0812 |
| | p=0,069 | p=0,016 | p=0,081 | p=0,015 | p=0,444 | p=0,011 | p=0,028 | p=0,012 | p=0,031 | p=0,017 | p=0,265 | p=0,013 | p=0,177 | p=0,863 |
| FRES | 0,8615 | -0,9026 | 0,8517 | -0,8831 | 0,2905 | -0,9174 | 0,82 | 0,9481 | 0,8201 | -0,9242 | -0,4856 | -0,9442 | -0,6351 | 0,193 |
| | p=0,013 | p=0,005 | p=0,015 | p=0,008 | p=0,527 | p=0,004 | p=0,024 | p=0,001 | p=0,024 | p=0,027 | p=0,292 | p=0,001 | p=0,125 | p=0,678 |
| DETE | -0,8856 | 0,9241 | -0,8633 | 0,9145 | -0,2488 | 0,9641 | -0,8432 | -0,9654 | -0,845 | -0,8356 | 0,9445 | 0,961 | 0,6748 | -0,177 |
| | p=0,008 | p=0,003 | p=0,012 | p=0,004 | p=0,591 | p=0,000 | p=0,017 | p=0,000 | p=0,017 | p=0,019 | p=0,271 | p=0,001 | p=0,096 | p=0,704 |
| ESIN | -0,7745 | 0,9446 | -0,7917 | 0,9261 | -0,5745 | 0,7868 | -0,9773 | -0,9447 | -0,9646 | -0,9661 | 0,8327 | 0,9467 | 0,7302 | 0,1544 |
| | p=0,041 | p=0,001 | p=0,034 | p=0,003 | p=0,177 | p=0,036 | p=0,000 | p=0,001 | p=0,000 | p=0,000 | p=0,020 | p=0,001 | p=0,062 | p=0,741 |
| FLAC | -0,7985 | 0,943 | -0,8032 | 0,9282 | -0,4828 | 0,8551 | -0,9487 | -0,964 | -0,9356 | 0,864 | 0,7258 | 0,9574 | 0,8889 | 0,0461 |
| | p=0,031 | p=0,001 | p=0,030 | p=0,003 | p=0,272 | p=0,014 | p=0,001 | p=0,000 | p=0,002 | p=0,012 | p=0,065 | p=0,001 | p=0,087 | p=0,922 |
| OPAC | -0,8177 | 0,9689 | -0,8307 | 0,9539 | -0,6007 | 0,8054 | -0,9917 | -0,9421 | -0,9904 | -0,9896 | 0,8709 | 0,9649 | 0,7932 | 0,165 |
| | p=0,025 | p=0,000 | p=0,021 | p=0,001 | p=0,154 | p=0,029 | p=0,000 | p=0,002 | p=0,000 | p=0,011 | p=0,022 | p=0,000 | p=0,033 | p=0,724 |

Os significados das abreviações dos métodos estão no Anexo 1.

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4.
Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 13. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotrófilos) realizadas em lulas (*Loligo plei*) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC.

| PARÂMETRO | Químico | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---------|----------------|---------|-------------------|---------|----------------|---------|------------------|---------|---------|----------------|-----------------|-----------------------|---------|------------------|---------|
| | BNV | BNV (% NNP) | AMÔNIA | AMÔNIA (% NNP) | TMA | TMA (% NNP) | O-TMA | O-TMA (% NNP) | NNP | AAL | AAL (% NNP) | TRIPTO- FANO | TRIPTOFANO (% NNP) | URÉIA | URÉIA (% NNP) | pH |
| Microbiológico | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICOTRÓFILOS | 0,7152 | 0,6566 | 0,6551 | 0,5913 | 0,8263 | 0,7653 | -0,4012 | -0,4785 | 0,5052 | 0,7235 | 0,7394 | 0,5655 | 0,509 | 0,6927 | 0,6644 | -0,5483 |
| | p= 071 | p= 109 | p= 110 | p= 162 | p= 022 | p= 045 | p= 372 | p= 277 | p= 247 | p= 066 | p= 058 | p= 186 | p= 243 | p= 084 | p= 104 | p= 203 |
| Sensorial* | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CORC | -0,9628 | -0,9803 | -0,9777 | -0,992 | -0,8996 | -0,9196 | 0,5762 | 0,5678 | -0,3551 | -0,7544 | -0,9216 | -0,9822 | -0,9906 | -0,9515 | -0,9677 | 0,1103 |
| | p= 001 | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 006 | p= 003 | p= 176 | p= 184 | p= 434 | p= 050 | p= 003 | p= 000 | p= 000 | p= 001 | p= 000 | p= 814 |
| MIANC | 0,9552 | 0,9684 | 0,9699 | 0,9798 | 0,8954 | 0,9096 | -0,5808 | -0,5816 | 0,3757 | 0,76 | 0,916 | 0,9822 | 0,9885 | 0,9512 | 0,9671 | -0,1402 |
| | p= 001 | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 006 | p= 004 | p= 171 | p= 171 | p= 406 | p= 047 | p= 004 | p= 000 | p= 000 | p= 001 | p= 000 | p= 764 |
| BRIL | -0,5184 | -0,4722 | -0,4286 | -0,3731 | -0,6657 | -0,6254 | 0,4158 | 0,4393 | -0,3564 | -0,4882 | -0,4814 | -0,4166 | -0,3766 | -0,4886 | -0,4658 | 0,7568 |
| | p= 233 | p= 285 | p= 337 | p= 410 | p= 103 | p= 133 | p= 354 | p= 324 | p= 433 | p= 266 | p= 274 | p= 353 | p= 405 | p= 266 | p= 292 | p= 049 |
| FRES | -0,9663 | -0,973 | -0,9743 | -0,9786 | -0,9412 | -0,9521 | 0,5186 | 0,5274 | -0,3832 | -0,7929 | -0,9585 | -0,9539 | -0,9522 | -0,9626 | -0,9726 | 0,2831 |
| | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 002 | p= 001 | p= 233 | p= 224 | p= 396 | p= 033 | p= 001 | p= 001 | p= 001 | p= 001 | p= 000 | p= 538 |
| DETE | 0,9566 | 0,952 | 0,9643 | 0,9574 | 0,9421 | 0,938 | -0,5206 | -0,5529 | 0,4373 | 0,8196 | 0,9613 | 0,9463 | 0,9372 | 0,967 | 0,9746 | -0,3318 |
| | p= 001 | p= 001 | p= 000 | p= 001 | p= 002 | p= 002 | p= 231 | p= 198 | p= 327 | p= 024 | p= 001 | p= 001 | p= 002 | p= 000 | p= 000 | p= 467 |
| ESIN | 0,9664 | 0,9528 | 0,9809 | 0,9648 | 0,9119 | 0,8921 | -0,4867 | -0,5466 | 0,4785 | 0,8363 | 0,9545 | 0,9826 | 0,9672 | 0,9716 | 0,9744 | -0,2266 |
| | p= 000 | p= 001 | p= 000 | p= 000 | p= 004 | p= 007 | p= 268 | p= 204 | p= 277 | p= 019 | p= 001 | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 625 |
| FLAC | 0,977 | 0,9655 | 0,9657 | 0,9912 | 0,9244 | 0,936 | -0,5043 | -0,5109 | 0,3695 | 0,7811 | 0,947 | 0,9733 | 0,9722 | 0,9565 | 0,9643 | -0,186 |
| | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 000 | p= 003 | p= 002 | p= 248 | p= 241 | p= 415 | p= 038 | p= 001 | p= 000 | p= 000 | p= 001 | p= 000 | p= 690 |
| OPAC | 0,9622 | 0,9356 | 0,9692 | 0,9401 | 0,9224 | 0,8885 | -0,4241 | -0,5082 | 0,5096 | 0,8583 | 0,9611 | 0,9619 | 0,9351 | 0,9644 | 0,9586 | -0,32 |
| | p= 001 | p= 002 | p= 000 | p= 002 | p= 003 | p= 008 | p= 343 | p= 246 | p= 243 | p= 013 | p= 001 | p= 001 | p= 002 | p= 000 | p= 001 | p= 484 |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 14. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotrófilos) realizadas em lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), lote A, experimento LA.

| PARÂMETRO | Químico | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|----------------|--------|-------------------|--------|---------------|---------|-----------------|---------|---------------|---------|-----------------|---------------------------|---------|-----------------|--------|
| | BNV | BNV (% NNP) | AMÔNIA | AMÔNIA (% NNP) | TMA | TMA (%NNP) | O-TMA | O-TMA (%NNP) | AAL | AAL (%NNP) | NNP | TRÍPTO- FANO | TRÍPTO- FANO (%NNP) | URÉIA | URÉIA (%NNP) | pH |
| Microbiológico | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICOTRÓFIOS | 0,9768 | 0,8959 | 0,7743 | 0,9485 | 0,9931 | 0,9885 | -0,6291 | -0,3013 | -0,4968 | -0,6006 | -0,4867 | -0,2466 | 0,5963 | -0,6144 | -0,0581 | 0,7038 |
| | p=,001 | p=,016 | p=,071 | p=,004 | p=,000 | p=,000 | p=,181 | p=,562 | p=,316 | p=,207 | p=,328 | p=,638 | p=,212 | p=,194 | p=,913 | p=,119 |
| Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho | | | | | | | | | | | | | | | | |

Tabela 15. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotrófilos) realizadas em lulas (*Loligo plei*) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), lote A, experimento LA.

| PARÂMETRO | Químico | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---------|----------------|--------|-------------------|--------|----------------|---------|------------------|--------|--------|----------------|-----------------|-----------------------|--------|------------------|--------|
| | BNV | BNV (% NNP) | AMÔNIA | AMÔNIA (% NNP) | TMA | TMA (% NNP) | O-TMA | O-TMA (% NNP) | NNP | AAL | AAL (% NNP) | TRIPTO- FANO | TRIPTOFANO (% NNP) | URÉIA | URÉIA (% NNP) | pH |
| Microbiológico | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICOTRÓFIOS | 0,9970 | 0,9985 | 0,9710 | 0,9809 | 0,9927 | 0,9921 | -0,4789 | -0,8267 | 0,4122 | 0,5806 | 0,5890 | 0,6362 | 0,6598 | 0,6822 | 0,7002 | 0,9550 |
| | p=,000 | p=,000 | p=,001 | p=,001 | p=,000 | p=,000 | p=,337 | p=,042 | p=,417 | p=,227 | p=,219 | p=,174 | p=,154 | p=,135 | p=,121 | p=,003 |
| Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho | | | | | | | | | | | | | | | | |

Tabela 16. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotrófilos) realizadas em lulas da espécie *Loligo plei* armazenadas com contato direto com gelo (CCG), lote B, experimento LA.

| PARÂMETRO | Químico | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | BNV | BNV (% NNP) | AMÔNIA (% NNP) | TMA (% NNP) | O-TMA (% NNP) | O-TMA (% NNP) | NNP | AAL | AAL (% NNP) | TRIPTO- FANO | TRIPTOFANO (% NNP) | URÉIA | URÉIA (% NNP) | pH | |
| Microbiológico | | | | | | | | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTROFILOS | 0,9036 p=,013 | 0,9952 p=,000 | 0,9188 p=,010 | 0,9986 p=,000 | 0,9997 p=,000 | -0,5968 p=,211 | 0,7553 p=,082 | -0,6053 p=,203 | -0,4785 p=,337 | 0,9451 p=,004 | 0,1170 p=,825 | 0,8475 p=,033 | -0,2786 p=,593 | 0,8122 p=,050 | 0,9571 p=,003 |
| Sensorial | | | | | | | | | | | | | | | |
| CORC | -0,2553 p=,625 | -0,6360 p=,175 | -0,3022 p=,561 | -0,6817 p=,136 | -0,6049 p=,203 | -0,6297 p=,180 | 0,9688 p=,001 | -0,6902 p=,129 | 0,9652 p=,002 | -0,4454 p=,376 | -0,5269 p=,283 | -0,8780 p=,021 | 0,6054 p=,203 | -0,6904 p=,129 | -0,4377 p=,385 |
| MANC | 0,3091 p=,551 | 0,6762 p=,140 | 0,3495 p=,497 | 0,7185 p=,108 | 0,6444 p=,167 | 0,6670 p=,148 | -0,9782 p=,001 | 0,7089 p=,115 | -0,9576 p=,003 | 0,4989 p=,314 | 0,4989 p=,314 | 0,9023 p=,014 | -0,6061 p=,202 | 0,7223 p=,105 | 0,4739 p=,342 |
| BRIL | -0,0396 p=,941 | -0,3601 p=,483 | -0,0023 p=,997 | -0,3788 p=,459 | -0,3204 p=,536 | -0,3371 p=,513 | 0,8581 p=,029 | -0,3251 p=,530 | 0,7744 p=,071 | -0,2913 p=,575 | -0,6375 p=,173 | -0,6962 p=,124 | 0,2072 p=,694 | -0,6721 p=,144 | -0,1928 p=,714 |
| FRES | -0,4511 p=,369 | -0,7665 p=,075 | -0,4340 p=,390 | -0,7853 p=,064 | -0,7284 p=,101 | -0,7417 p=,091 | 0,9464 p=,004 | -0,8259 p=,043 | 0,9648 p=,002 | 0,9069 p=,013 | -0,5764 p=,231 | -0,9817 p=,001 | 0,3787 p=,459 | -0,9050 p=,013 | -0,5401 p=,289 |
| DETE | 0,5279 p=,282 | 0,8148 p=,048 | 0,5064 p=,305 | 0,8286 p=,042 | 0,7802 p=,067 | 0,7910 p=,061 | -0,9288 p=,007 | 0,8154 p=,048 | -0,9367 p=,006 | -0,8626 p=,027 | 0,5295 p=,280 | 0,9901 p=,000 | -0,3515 p=,495 | 0,9307 p=,007 | 0,6085 p=,200 |
| ESIN | 0,2946 p=,571 | 0,6100 p=,199 | 0,2416 p=,645 | 0,6182 p=,191 | 0,5699 p=,238 | 0,5836 p=,224 | -0,8701 p=,024 | 0,7026 p=,119 | -0,8867 p=,019 | -0,8448 p=,034 | 0,5438 p=,265 | 0,8977 p=,015 | -0,1063 p=,841 | 0,9109 p=,012 | 0,4071 p=,423 |
| FLAC | 0,3469 p=,497 | 0,6939 p=,126 | 0,3402 p=,509 | 0,7172 p=,109 | 0,6593 p=,154 | 0,6775 p=,139 | -0,9583 p=,003 | 0,7128 p=,112 | -0,9546 p=,003 | -0,9159 p=,010 | 0,5759 p=,232 | 0,9442 p=,005 | -0,3349 p=,516 | 0,8738 p=,023 | 0,5027 p=,309 |
| OPAC | 0,4983 p=,314 | 0,7961 p=,058 | 0,4805 p=,335 | 0,8118 p=,050 | 0,7632 p=,077 | 0,7760 p=,070 | -0,9391 p=,005 | 0,7717 p=,072 | -0,9362 p=,006 | -0,8680 p=,025 | 0,7054 p=,117 | 0,9816 p=,001 | -0,3403 p=,509 | 0,9234 p=,009 | 0,6054 p=,203 |

Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais são:

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 17. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados dos parâmetros: análises químicas, descritores da análise sensorial e análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrotrófilos) realizadas em lulas da espécie *Loligo plei* armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), lote B, experimento LA.

| PARÂMETRO | Químico | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------|---------|----------------|---------|-------------------|---------|---------------|---------|-----------------|---------|---------|---------------|-----------------|---------------------------|---------|-----------------|---------|
| | BNV | BNV (% NNP) | AMÔNIA | AMÔNIA (% NNP) | TMA | TMA (%NNP) | O-TMA | O-TMA (%NNP) | NNP | AAL | AAL (%NNP) | TRIPTO- FANO | TRIPTO- FANO (%NNP) | URÉIA | URÉIA (%NNP) | pH |
| Microbiológico | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICOTROFILOS | 0,9923 | 0,9933 | 0,9889 | 0,9915 | 0,9866 | 0,9875 | -0,7851 | -0,8115 | 0,7010 | 0,8713 | 0,4725 | 0,8524 | 0,8058 | 0,8525 | 0,7878 | 0,9419 |
| | p=,000 | p=,000 | p=,000 | p=,000 | p=,000 | p=,000 | p=,064 | p=,050 | p=,121 | p=,024 | p=,344 | p=,031 | p=,053 | p=,031 | p=,063 | p=,006 |
| Sensorial* | | | | | | | | | | | | | | | | |
| CORC | -0,5628 | -0,5551 | -0,6303 | -0,6312 | -0,5265 | -0,5284 | 0,2008 | 0,3193 | -0,6556 | -0,8511 | -0,5234 | -0,8584 | -0,9029 | -0,9321 | -0,9511 | -0,5627 |
| | p=,245 | p=,253 | p=,180 | p=,179 | p=,263 | p=,281 | p=,703 | p=,537 | p=,158 | p=,032 | p=,287 | p=,029 | p=,014 | p=,007 | p=,004 | p=,245 |
| MANC | 0,6455 | 0,6383 | 0,7070 | 0,7077 | 0,6113 | 0,6132 | -0,2902 | -0,4033 | 0,6976 | 0,8977 | 0,5405 | 0,9014 | 0,9359 | 0,9643 | 0,9726 | 0,6340 |
| | p=,166 | p=,173 | p=,116 | p=,116 | p=,197 | p=,195 | p=,577 | p=,428 | p=,123 | p=,015 | p=,268 | p=,014 | p=,006 | p=,002 | p=,001 | p=,176 |
| BRIL | 0,2462 | 0,2640 | 0,1707 | 0,1850 | 0,2601 | 0,2618 | 0,0702 | 0,1434 | -0,1681 | -0,0862 | 0,1000 | -0,0363 | -0,0372 | 0,0531 | 0,0533 | 0,2819 |
| | p=,636 | p=,613 | p=,746 | p=,726 | p=,619 | p=,616 | p=,895 | p=,786 | p=,750 | p=,871 | p=,851 | p=,946 | p=,944 | p=,920 | p=,920 | p=,588 |
| FRES | -0,6181 | -0,6133 | -0,6715 | -0,6739 | -0,5816 | -0,5843 | 0,2121 | 0,3237 | -0,6603 | -0,8832 | -0,5806 | -0,8934 | -0,9416 | -0,9535 | -0,9725 | -0,5860 |
| | p=,191 | p=,195 | p=,144 | p=,142 | p=,226 | p=,223 | p=,687 | p=,531 | p=,154 | p=,020 | p=,227 | p=,016 | p=,005 | p=,003 | p=,001 | p=,222 |
| DETE | 0,6425 | 0,6424 | 0,6877 | 0,6957 | 0,6067 | 0,6099 | -0,2354 | -0,3250 | 0,5991 | 0,8699 | 0,6659 | 0,8718 | 0,9215 | 0,9584 | 0,9821 | 0,6270 |
| | p=,169 | p=,169 | p=,131 | p=,125 | p=,202 | p=,199 | p=,653 | p=,530 | p=,209 | p=,024 | p=,149 | p=,024 | p=,009 | p=,003 | p=,000 | p=,183 |
| ESIN | 0,6650 | 0,6864 | 0,7511 | 0,7483 | 0,6613 | 0,6634 | -0,4021 | -0,5188 | 0,7686 | 0,9600 | 0,5459 | 0,9516 | 0,9766 | 0,9513 | 0,9458 | 0,6195 |
| | p=,125 | p=,132 | p=,085 | p=,087 | p=,153 | p=,151 | p=,429 | p=,292 | p=,074 | p=,002 | p=,262 | p=,003 | p=,001 | p=,003 | p=,004 | p=,190 |
| FLAC | 0,6650 | 0,6608 | 0,7197 | 0,7234 | 0,6297 | 0,6322 | -0,3061 | -0,4093 | 0,6762 | 0,9133 | 0,6148 | 0,9106 | 0,9496 | 0,9726 | 0,9848 | 0,6397 |
| | p=,150 | p=,153 | p=,107 | p=,104 | p=,180 | p=,178 | p=,555 | p=,420 | p=,140 | p=,011 | p=,194 | p=,012 | p=,004 | p=,001 | p=,000 | p=,171 |
| OPAC | 0,8406 | 0,8275 | 0,8873 | 0,8774 | 0,8194 | 0,8198 | -0,5744 | -0,6895 | 0,8779 | 0,9729 | 0,3588 | 0,9763 | 0,9598 | 0,9488 | 0,9032 | 0,7721 |
| | p=,036 | p=,042 | p=,018 | p=,022 | p=,046 | p=,046 | p=,233 | p=,130 | p=,021 | p=,001 | p=,485 | p=,001 | p=,002 | p=,004 | p=,014 | p=,072 |

Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais são encontrados no Anexo 1.

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

6.2.5.3. Correlações entre os resultados da avaliação instrumental da cor e os resultados da análise microbiológica, análise sensorial e análise de pH.

Tanto no experimento realizado com lulas coletadas (LC), quanto no realizado com lulas adquiridas no comércio detectou-se uma correlação positiva ($p < 0,05$) entre os valores de b^* no músculo e a carga microbiana das amostras de lulas submetidas ao tratamento CCG (**Tabelas 18, 20, e 22**). No tratamento SCG do experimento LC o aumento dos valores de b^* no músculo de lulas também apresentou correlação com o aumento da carga microbiana (**Tabela 19**), mas no experimento LA foi o parâmetro de cor a^* , tanto na pele quanto no músculo de lulas, que esteve relacionado ao aumento da carga microbiana das amostras (**Tabelas 21 e 23**).

No tratamento SCG dos experimentos LC e LA (**Tabelas 19 e 23**) os resultados dos parâmetros de cor a^* e b^* , avaliados no músculo de lulas, apresentaram correlações lineares significativas, positivas e negativas, com as alterações dos descritores sensoriais MANC e CORC, respectivamente. No tratamento CCG detectou-se correlações lineares negativas entre a diminuição da cor característica e o aumento dos valores de b^* no experimento LC (**Tabela 18**) e entre cor característica e a^* e b^* no experimento LA (**Tabela 22**).

O aumento do espalhamento/intensificação da cor rosa na pele de lulas esteve fortemente correlacionado ao aumento dos valores de a^* e b^* na pele e também no músculo no tratamento SCG dos dois experimentos (**Tabelas 19 e 23**). Correlações negativas entre ESIN e L^* na pele também foram detectadas nos dois tipos de tratamentos e nos dois experimentos, porém o r não foi significativo no tratamento CCG, experimento LC.

As variações do descritor sensorial brilho apresentaram algumas correlações lineares significativas com os valores de L^* , a^* e b^* na pele e L^* no músculo somente no tratamento CCG do experimento LC (**Tabela 18**), não sendo estas correlações detectadas no tratamento SCG ou no experimento LA.

De um modo geral, as correlações detectadas entre os resultados da análise instrumental da cor e os descritores da análise sensorial de lulas da espécie *Loligo plei* sugerem que a diminuição da cor característica e aumento da presença de manchas no músculo de lulas durante o armazenamento foi causada pelo aumento dos valores de a^* e b^* . Do mesmo modo, o espalhamento/intensificação da cor rosa, avaliado na pele de lulas, esteve fortemente correlacionado com o aumento dos valores de a^* e b^* e com a diminuição da luminosidade (L^*) das amostras durante o armazenamento. Estes resultados confirmam a capacidade dos provadores de perceber bastante bem as alterações de cor em pele e músculo de lulas durante o armazenamento. Estes resultados são também coerentes com os relatos de WOYEWODA & KE (1980) e de KE et al. (1984) de que a qualidade das lulas pode ser inicialmente avaliada pela coloração externa e que a intensidade da cor vermelha é um indicador da qualidade das lulas.

SIKORSKI & KOLODZIEJSKA (1986) relatam que quando ocorre deterioração das lulas frescas, o pH da carne se torna alcalino, solubilizando pigmentos na epiderme que fazem o músculo tornar-se avermelhado. No presente estudo o pH mudou pouco, detectando-se correlações lineares positivas entre pH e valores de a^* na pele e no músculo de lulas somente no tratamento SCG do experimento LA (**Tabelas 21 e 23**). Assim, estes resultados sugerem que o aumento da cor vermelha no músculo e na pele de lulas da espécie *Loligo plei* é independente do aumento do pH do músculo.

Tabela 18. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrófilos) e pH de lulas (*Loligo plei*) coletadas e armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LC.

| PARÂMETRO | Análise Instrumental da Cor | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | PELE | | | MÚSCULO | | |
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| Microbiológico | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,8488 p=,016 | 0,6659 p=,102 | 0,5005 p=,253 | 0,6489 p=,115 | -0,2727 p=,554 | 0,8543 p=,014 |
| Sensorial* | | | | | | |
| CORC | 0,8828 p=,008 | -0,8219 p=,023 | -0,7545 p=,050 | -0,7637 p=,046 | 0,4167 p=,352 | -0,8066 p=,028 |
| MANC | -0,8781 p=,009 | 0,8406 p=,018 | 0,7212 p=,067 | 0,6509 p=,113 | -0,2669 p=,563 | 0,87 p=,011 |
| BRIL | 0,8802 p=,009 | -0,8894 p=,007 | -0,8467 p=,016 | -0,7798 p=,039 | 0,4476 p=,314 | -0,6957 p=,083 |
| ESIN | -0,7154 p=,071 | 0,813 p=,026 | 0,9471 p=,001 | 0,8793 p=,009 | -0,6885 p=,087 | 0,3827 p=,397 |
| Físico-Químico | | | | | | |
| pH | 0,2153 p=,643 | -0,0735 p=,876 | 0,2243 p=,629 | 0,1764 p=,705 | -0,4486 p=,313 | -0,6366 p=,124 |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 19 Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrófilos) e pH de lulas (*Loligo plei*) coletadas e armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LC.

| PARÂMETRO | Análise Instrumental da Cor | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | PELE | | | MÚSCULO | | |
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| Microbiológico | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,5445 p=,206 | 0,5975 p=,157 | 0,6717 p=,098 | 0,4823 p=,273 | 0,2466 p=,594 | 0,7637 p=,046 |
| Sensorial* | | | | | | |
| CORC | 0,8402 p=,018 | -0,9604 p=,001 | -0,9441 p=,001 | -0,0916 p=,845 | -0,892 p=,007 | -0,8781 p=,009 |
| MANC | -0,8708 p=,011 | 0,9683 p=,000 | 0,9467 p=,001 | 0,103 p=,826 | 0,9035 p=,005 | 0,8845 p=,008 |
| BRIL | 0,6151 p=,142 | -0,5437 p=,207 | -0,6063 p=,149 | -0,4971 p=,256 | -0,1458 p=,755 | -0,7295 p=,063 |
| ESIN | -0,8761 p=,010 | 0,9686 p=,000 | 0,9617 p=,001 | 0,1893 p=,684 | 0,8584 p=,013 | 0,8745 p=,010 |
| Físico-Químico | | | | | | |
| pH | 0,3331 p=,465 | -0,2436 p=,599 | -0,356 p=,433 | -0,083 p=,860 | -0,1588 p=,734 | -0,4482 p=,313 |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 20. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrótrofos) e pH de lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LA, lote A.

| PARÂMETRO | Análise Instrumental da Cor | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | PELE | | | MÚSCULO | | |
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| Microbiológico | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,5392 p=,270 | 0,1003 p=,850 | 0,1918 p=,716 | -0,4846 p=,330 | 0,5747 p=,233 | 0,9655 p=,002 |
| Físico-Químico | | | | | | |
| pH | -0,2818 p=,588 | -0,1772 p=,737 | 0,0267 p=,960 | -0,5172 p=,293 | 0,4702 p=,347 | 0,6393 p=,172 |

Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 21. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrótrofos) e pH de lulas (*Loligo plei*) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA, lote A.

| PARÂMETRO | Análise Instrumental da Cor | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | PELE | | | MÚSCULO | | |
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| Microbiológico | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,5886 p=,219 | 0,8789 p=,021 | 0,3972 p=,436 | -0,6455 p=,166 | 0,9826 p=,000 | 0,6429 p=,168 |
| Físico-Químico | | | | | | |
| pH | -0,5969 p=,211 | 0,8636 p=,027 | 0,437 p=,386 | -0,6276 p=,182 | 0,9108 p=,012 | 0,6789 p=,138 |

Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 22. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrófilos) e pH de lulas (*Loligo plei*) armazenadas em contato direto com gelo (CCG), experimento LA, lote B.

| PARÂMETRO | Análise Instrumental da Cor | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | PELE | | | MÚSCULO | | |
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| Microbiológico | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,7776 p=,069 | 0,6489 p=,163 | 0,7764 p=,069 | -0,3691 p=,471 | 0,4368 p=,387 | 0,8132 p=,049 |
| Sensorial* | | | | | | |
| CORC | 0,7935 p=,060 | -0,669 p=,146 | -0,763 p=,078 | 0,3282 p=,525 | -0,9158 p=,010 | -0,8954 p=,016 |
| MANC | -0,8268 p=,042 | 0,7041 p=,118 | 0,7882 p=,063 | -0,3485 p=,498 | 0,9046 p=,013 | 0,9223 p=,009 |
| BRIL | 0,7571 p=,081 | -0,689 p=,130 | -0,7113 p=,113 | 0,1775 p=,737 | -0,5573 p=,251 | -0,7561 p=,082 |
| ESIN | -0,9335 p=,006 | 0,9114 p=,011 | 0,9476 p=,004 | 0,0762 p=,886 | 0,5472 p=,261 | 0,8981 p=,015 |
| Físico-Químico | | | | | | |
| pH | -0,6128 p=,196 | 0,4613 p=,357 | 0,6327 p=,178 | -0,3969 p=,436 | 0,2251 p=,668 | 0,6408 p=,170 |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho

Tabela 23. Coeficientes de correlação e nível de p determinados entre os resultados da análise instrumental da cor e os resultados da análise sensorial, análise microbiológica (Contagem de Microrganismos Psicrófilos) e pH de lulas (*Loligo plei*) armazenadas sem contato direto com gelo (SCG), experimento LA, lote B.

| PARÂMETRO | Análise Instrumental da Cor | | | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| | PELE | | | MÚSCULO | | |
| | L* | a* | b* | L* | a* | b* |
| Microbiológico | | | | | | |
| CONTAGEM DE PSICROTRÓFILOS | -0,6596 p=,154 | 0,9196 p=,009 | 0,4042 p=,427 | 0,1168 p=,826 | 0,8934 p=,016 | 0,7197 p=,107 |
| Sensorial* | | | | | | |
| CORC | 0,9863 p=,000 | -0,828 p=,042 | -0,8553 p=,030 | 0,3647 p=,477 | -0,8958 p=,016 | -0,891 p=,017 |
| MANC | -0,986 p=,000 | 0,8802 p=,021 | 0,8412 p=,036 | -0,3105 p=,549 | 0,9355 p=,006 | 0,9055 p=,013 |
| BRIL | 0,0632 p=,905 | -0,0117 p=,982 | -0,0889 p=,867 | -0,0136 p=,980 | 0,1048 p=,843 | 0,2979 p=,566 |
| ESIN | -0,9152 p=,010 | 0,9183 p=,010 | 0,8651 p=,026 | -0,1685 p=,750 | 0,9182 p=,010 | 0,8282 p=,042 |
| Físico-Químico | | | | | | |
| pH | -0,6484 p=,164 | 0,8679 p=,025 | 0,221 p=,674 | -0,0493 p=,926 | 0,8577 p=,029 | 0,6574 p=,156 |

* Os significados das abreviações dos parâmetros sensoriais se encontram na Tabela 4. Correlações significativas e correspondentes níveis de p estão grafados em vermelho.

7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

- A composição centesimal de músculo de lulas frescas da espécie *Loligo plei* é bastante similar à de um peixe magro.
- A contagem de microrganismos psicrotrófilos foi maior ($p < 0,05$) em lulas adquiridas no comércio quando armazenadas em contato direto com gelo, tratamento CCG. Embora esta tendência não tenha sido estatisticamente confirmada para lulas coletadas, o tratamento SCG parece ser mais eficaz em prolongar a qualidade microbiológica das lulas ao proporcionar uma menor exposição a agentes contaminantes externos.
- Lulas da espécie *Loligo plei* quando coletadas, manipuladas e armazenadas em condições adequadas e a temperaturas entre 0 e 1°C, apresentaram contagem de microrganismos psicrotrófilos inferior a 10^6 UFC/g mesmo aos 16 dias de armazenamento, permanecendo microbiologicamente seguras para consumo humano.
- Até o 7º dia de armazenamento as lulas coletadas se caracterizaram por apresentar cor característica, aroma de pescado fresco e brilho, mas, a partir do 10º dia aumentaram drasticamente a presença de manchas, aroma de pescado deteriorado, flacidez, opacidade dos olhos e espalhamento/intensificação da cor rosa. Com lulas adquiridas no comércio as características desejáveis mantiveram-se somente até o quarto dia de armazenamento em gelo.
- Nas lulas coletadas armazenadas no tratamento SCG, os teores de BNV, amônia, N-TMA, triptofano livre e uréia aumentaram linearmente, sendo que teores entre 22-27mg de BNV/100g, entre 21-23mg de amônia/100g, inferiores a 0,5mg de TMA/100g, entre 10-12mg de triptofano livre/100g e entre 14-19mg de uréia/100g foram indicativos de boa qualidade sensorial em *L. plei*.

- No tratamento CCG os teores de NNP, AAL e O-TMA diminuíram rapidamente logo no início do armazenamento, indicando que a lixiviação de compostos solúveis é muito intensa em lulas da espécie *Loligo plei*, diminuindo a eficiência dos índices químicos para avaliação de frescor.
- A lixiviação de compostos solúveis no tratamento CCG foi acompanhada por um significativo aumento da umidade no músculo das lulas.
- A expressão dos teores de BNV, amônia, N-TMA, N-AAL, triptofano livre e uréia como % do NNP fez com que o tratamento CCG apresentasse médias de período maiores ($p < 0,05$) que as do tratamento SCG na maioria dos casos no experimento LA e para todos estes compostos no experimento LC, sugerindo que a deterioração ocorre mais intensamente nas lulas em contato direto com gelo, o que é coerente com a contaminação microbiana um pouco maior neste tratamento.
- Os teores de BNV, amônia, N-TMA, triptofano livre e uréia podem ser bons índices de frescor para lulas armazenadas com ou sem contato direto com gelo quando expressos em termos de % do NNP do músculo.
- A determinação de pH, assim como a análise de nucleotídeos e os índices K e K1 não se mostraram adequados para avaliar o frescor de lulas da espécie *L. plei*, armazenadas em gelo.
- Quando os teores de TMA foram expressos em termos de % do NNP, nos dois experimentos e para os dois tipos de tratamento, foram detectadas correlações lineares positivas bastante altas ($p < 0,05$) com a contagem de microrganismos psicrófilos em lulas, mostrando que o aumento da TMA em relação ao NNP esteve estreitamente ligado ao aumento da carga microbiana.

- Nos dois experimentos e para os dois tipos de tratamentos as variações nos teores de triptofano livre (% do NNP) mostraram uma forte correlação linear com todos os descritores sensoriais, exceto Brilho.
- O armazenamento de lulas em gelo provocou uma diminuição da luminosidade e aumento da cromaticidade da pele nos dois tipos de tratamentos. O aumento dos valores de a^* , ou seja, da cor vermelha na pele parece ser favorecido pelo contato direto com gelo. O aumento da cromaticidade no músculo de lulas foi maior ($p < 0,05$) no tratamento SCG.
- Os tratamentos CCG e SCG apresentaram diferentes vantagens na preservação da qualidade de lulas. O tratamento CCG foi mais eficaz que o tratamento SCG na manutenção das características relacionadas à qualidade visual do músculo das lulas. No entanto a rápida perda dos AAL neste tratamento pode ter ocasionado uma intensa diminuição do sabor das amostras que não foi avaliada neste estudo. O tratamento SCG, por outro lado parece ser vantajoso ao evitar uma maior contaminação das lulas por agentes externos.
- Os resultados obtidos mostraram que vários compostos podem ser promissores como índices de frescor de lulas da espécie *L. plei*, no entanto mais estudos serão necessários para definir com segurança os teores limites aceitáveis para cada índice e quais seriam operacionalmente mais convenientes para avaliações rotineiras.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADLER-NISSEN, J. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.27, n.6, p.1256-1262, 1979.
2. ARAI, K. Nucleotides in the muscle of marine invertebrates: a review. **Bulletin of Japanese Society of Science of Fishery**, v.44, p.1123-1126, 1978.
3. ASTM. **Standard guide for the shelf life determination of consumer products by sensory evaluation**. Philadelphia, 1993 10p. (ASTM E 18.06.07).
4. AUSTRALIAN Fisheries. The technique of squid jigging. n. 5, p.15-17, 1993.
5. BARNES, R. D. Os moluscos. In: BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados**. Tradução de Jesus E. de Paula Assis, Lea M. K. de Almeida e Vera Yukie Kuwajima, 4ª ed., São Paulo: Roca, 1984. c.10, p.339-502.
6. BERG, Z. **Processing squid for food**. Cambridge, Mass., Massachusetts Institute of Technology. Cambridge, MA, 1974. *Apud*: LAKSHMANAN, P. T.; VARMA, P. R. G.; IYER, T. S. G. Quality of commercially frozen cephalopod products from India. **Food Control**, v.4, n.3, p.159-164, 1993.
7. BHATTACHARYYA, G.K.; JOHNSON, R. A. **Statistical Concepts and Methods**. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons, 1977. 639p.
8. BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911, 1959.
9. BOITSOVA, T. M.; GORDIEVSKAYA, V. S. Characteristics of post-mortem changes in Bartram's squid. **Rybnoe-Khozyaistvo**, v.8, p.74-75, 1983.
10. BORDERIAS, J. A. Technology of squid in Spain. In: **Proceedings of the International Squid Symposium**. August 9-12 Boston, Mass: p 287-294, 1982.
11. CLARKE, M. R. Cephalopod biomass estimation from predation. **Memoirs of the National Museum Victoria**, v.44, p.95-107, 1983.

12. CLEMENTE, E. S. **Caracterização química, nutricional, física e sensorial de dois cultivares de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* baron e *Brassica oleracea* L. var. *italica* ramoso-Piracicaba): um estudo de vida de prateleira.** Campinas, 1998. 160p Tese (Mestre em Ciência da Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
13. COBB III, B. F.; ALANIZ, I.; THONSON, C. A. Biochemical and microbiological studies on shrimp: volatile nitrogen and aminonitrogen analysis. **Journal of Food Science**, v.38, n.3, p.431-436, 1973.
14. COBB III, B. F.; VANDERZANT, C.; HANNA, M. O.; YEH, C. S. Effect of ice storage on microbiological and chemical changes in shrimp in melting ice in a model system. **Journal of Food Science**, v.41, n.1, p.24-29, 1976.
15. CONTRERAS, G. E. **Bioquímica de pescados e derivados.** Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FUNEP), 1994. 409p.
16. CONTRERAS, G. E.; ROMO, C. R.; FARINHA, O. R. M.; VASQUEZ, J. E. A. **Utilización Integral de Cefalópodos.** Relatório do Projeto da Comunidade Econômica Européia, Informe Final da Contribuição Chilena, Maio, 1996. 57p.
17. CONTRERAS, G. E.; LAPA GUIMARÃES, J. G. Determinação rápida de triptofano por reação com antrona. Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 12., 1989, Rio de Janeiro. **Livro de Resumos.** Rio de Janeiro, SBCTA, 1989. p.152.
18. COURT, W. G. Japan's squid marked. In: **Proceedings of the International Squid Symposium**, August 9-12, Boston, Mass: p 295-314, 1982.
19. DAMÁSIO, M. H.; COSTELL, L. Análisis sensorial descriptivo: generación de descriptores y selección de catadores. **Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos**, v.31, n.2 p.165-178, 1991.
20. DYER, W. J. Amines in fish muscle. 1. Colorimetric determination of TMA as picrat salt. **Journal of the Fisheries Research Board Canada**, v.6, p.351-358, 1945.

21. EHIRA, S.; UCHIYAMA, H. Determination of freshness using the K value and comments on some other biochemical changes in relation to freshness. In: D. E. KRAMER & J. LISTON. **Seafood quality determination**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., p. 185-207, 1987.
22. ENDO, K.; HUJITA, M.; SIMIDU, W. Studies on muscle of aquatic animals 30: Free aminoacids, trimetilamine oxide and betain in squids. **Bulletin of Japanese Society of Science of Fishery**, v.28, n.8, p.833-836, 1962.
23. ESKIN, N. A. M.; HENDERSON, H. M.; TOWNSEND, R.J. **Biochemistry of Foods**. New York: Academic Press, 1971.
24. EXCEL – User's Guide – Versão 5, © 1993-1994 Microsoft Corporation. 786p.
25. FRAZIER, W. C.; WESTHOOF, D. C. Contaminación, conservación y alteraciones del pescado y otros productos marinos. In: **Microbiología de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1978.
26. FU, B.; LABUZA, T. P. Shelf-life prediction: theory and application. **Food Control**, v.4, n.3, p.125-133, 1993.
27. GACULA, M. C.; SINGH, J. **Statistical Methods in Food and Consumer Research**. Academic Press Inc., 1984. 503p.
28. GRAM, L. Bacteriological changes. In: HUSS, H. H. **Quality and quality changes in fresh fish**. FAO Fisheries Technical Papers, p.348-356, 1995.
29. GRAN, L.; TROLLE, G.; HUSS, H. H. Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0°C) and high (20°C) temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, v.4, n.1, p.65, 1987.
30. GREENE, D. H.; BABBITT, J. K.; REPPOND, K. D. Patterns of nucleotide catabolism as freshness indicators in flatfish from the Gulf of Alaska. **Journal of Food Science**, v.55, n.5, p.1236-1238, 1990.
31. GUERRA, D. H. Cephalopod resources of the world: A present day view. **The Second World Cephalopod Conference. Squid**. November 11-13 Madrid (Spain): p.1-10, 1991.

32. GUERRA, D. H. Explotación mundial de cefalópodos. **II Jornadas Internacionales sobre la utilización de cefalópodos: aspectos científicos y tecnológicos.** Madrid, 1996.
33. GURHWORTH, M. S.; TINKER, B. L.; LEARSON, R. J. Textural evaluation of squid (*Illex illecebrosus*) as effected by cooking time: Sensory and instrumental analysis. In: **Proceedings of the International Squid Symposium.** August 9-12, Boston, Mass: p 223-233, 1982.
34. HALASZ, A.; BARATH, A.; SIMON-SRKADI, L.; HOLZAPFEL, W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. **Trends in Food Science and Technology**, v.5, n.2, p.42, 1994.
35. HORWITZ, W. **Official Methods off Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 13^º ed., Washington D.C., A.O.A.C. 1980.
36. HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Torry Research Station.** Aberdeen, TD 564, Appendix 4, 1976.
37. IGUCHI, S. M.; TSUCHIYA, T.; MATSUMOTO, J. J. Studies on freeze denaturation of squid actomyosin. **Bulletin of Japanese Society of Science of Fishery**, v.47, n.11, p.499-506, 1981.
38. JHAVERI, S. N.; KARAKOLTSIDIS, P. A.; MONTECALVO Jr., J.; CONSTANTINIDES, S. M. Chemical composition and protein quality of some southern New England marine species. **Journal of Food Science**, v.49, n.1 , p.110-113, 1984.
39. JONES, N. R.; MURRAY, J. Rapid measure of nucleotide dephosphorilation in iced fish muscle, their value as indices of freshness and of inisine 5'-monophosphate concentration. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 15, p.684-690, 1964.
40. KARUBE, I.; MATSUOKA, H.; SUSUKI, S.; WATANABE, E.; TOYAMA, K. Determination of fish freshness with an enzyme sensor system. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.32, p.314-319, 1984.
41. KE, P. J.; BURNS, B. G.; WOYEWODA, A. D. Recommended procedures and guidelines for quality evaluation of atlantic short-fin squid (*Illex illecebrosus*). **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v.17, n.5, p. 276-281, 1984.

42. KE, P. J.; FIERHELLER, M.; LEMON, D.W. Studies on processing technology for atlantic short-fin squid (*Illex illecebrosus*). **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v.24, n.4, p.328-333, 1991.
43. KONOSU, S.; YAMAGUSHI, K. The flavor components in fish and shellfish. In: **Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products**. Westport: Avi Publishing Company, 1982.
44. KREUZER, R. Cephalopods: handling, processing and products. **FAO Fisheries Technical Paper 254**, Roma, 1984.
45. KUO, J. D.; HULTIN, H. O. ATALLAH, M. T.; PAN, B. S. Role of collagen and contractile elements in ultimate tensile strength of squid mantle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, n.6, p.1149-1154, 1991.
46. LABUZA, T. P. **Shelf-life dating of foods**. Westport: Food & Nutrition Press Inc., 1982. 500p.
47. LABUZA, T. P.; SCHMIDL, M. K. Use of sensory data in the shelf life testing of foods: principles and graphical methods for evaluation. **Cereal Foods World**, v.33, n.2, p.193-203, 1988.
48. LAKSHMANAN, P. T.; VARMA, P. R. G.; IYER, T. S. G. Quality of commercially frozen cephalopod products from India. **Food Control**, v.4, n.3, p.159-164, 1993.
49. LISTON, J. Microbiology in fishery science. In: CONNELL, J. J. **Advances in fisheries science and technology**. Farnham: News Book, 1980. 138p.
50. MATSUMOTO, J. J. On streaming birefringence of the aqueous extracts of squid muscle fraction of the dissolved protein by dialysis. **Bulletin of Japanese Society of Science of Fishery**, v.23, n.1, p.47-52, 1957.
51. MIGITA, M.; MATSUMOTO, J. J.; AOE, A. On the nature of the streaming birefringence observed in aqueous extracts of squid muscle. **Bulletin of Japanese Society of Science of Fishery**, v.20, n.7, p. 641-652, 1954.
52. MOLTENO, C.; CONTRERAS-GUZMÁN, E.; REPOSI, J.; ALIAGA, H. Composición química del destilado de agua de cola y su utilización en calderas. **Instituto de Fomento Pesquero**, n.18, Santiago de Chile, 1968.

53. MOSKOWITZ, H. R. **Product testing and sensory evaluation of foods.** Westport: Food & Nutrition Press, 1983. 605p.
54. MUNOZ, A. M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation in quality control.** New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 240p.
55. MURRAY, C. K.; GIBSON, D. M. An investigation of the method of determining trimethylamine in fish muscle extracts by the formation of its picrate salt. Part I. **Journal of Food and Technology**, v.7, n.1, p.35-46, 1972.
56. NAKAMURA, K.; ISHIKAWA, S.; KIMOTO, K.; MIZUNO, Y. Changes in freshness of japanese common squid during cold storage. **Bulletin Tokai Reg. Fishery Research Lab.** V.118, p.45, 1985.
57. OHASHI, E.; OKAMOTO, M.; OZAWA, A.; FUGITA, T. Characterization of common squid using several freshness indicators. **Journal of Food Science**, v.56, n.1, p.161-163, 1991.
58. OTSUKA, Y.; TANAKA, S.; NISHIGAKY, K.; MIYAGAWA, M. Change in the contents of arginine, ornithine and urea in the muscle of marine invertebrates stored in ice. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.56, n.6, p.863-866, 1992.
59. OTWELL, W. S.; GIDDINGS, G. G. Scanning electron microscopy of squid, *Loligo pealei*: raw, cooked, and frozen mantle. **Marine Fisheries Review**, n.4, p.67-73, 1980.
60. PARTMAN, W. Changes in proteins, nucleotides and carbohydrates during rigor mortis. In: KREUZER, R. **The technology of fish utilization.** London: Fishing News Books, 1965.
61. PEPPARD, T. The use of principal component analysis in monitoring quality of beer. In: LINSKENS, H. F. & JACKSON, J. F. **Modern methods of plant analysis.** Germany: Springer-Verlag, 1988. p.267-279.
62. POLO VILLAR, L. M. HERRERA MARTEACHE, A.; POZO LORA, R. Investigaciones sobre la calidad microbiológica de los cefalópodos: resultados em presentaciones comerciales de cefalópodos congelados, com envoltentes flexibles protectores, y comercializados en régimen de supermercado. **Anales de Bromatologia** v.31, n.2, p.173-179, 1979.

63. RAGHUNATH, M. R. Soluble nitrogen losses in squids (*Loligo duvauceli*) during storage in slush ice. **Journal of Science and Technology**, v.21, n.1, p. 50-52, 1984.
64. REGENSTEIN, J. M.; REGENSTEIN, C. E. **Introduction to fish technology**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 269p.
65. RIOS, E. C. **Seashells of Brazil**. Rio Grande: Editora da FURG, 1994.
66. ROMO, C.; ASTUDILLO, J.; MUÑOZ, O.; CONTRERAS, E. Determinación de índices bioquímicos y funcionales relevantes para evaluar la conservación de jibia (*Dosidicus gigas*) a bordo. In: **Proceedings of a workshop on fish and mollusc larviculture**, Santiago, p.197-213, 1996.
67. ROPER, C. F., SWEENEY, M. J.; NAUEN, C. E. **FAO Species Catalogue**. Cephalopods of the world. v. 3, 1984. 277p.
68. RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. Moluscos. In: RUPPERT, E. E. & BARNES, R. D. **Zoologia dos invertebrados**. 6ª ed. São Paulo: Roca, 1996. c. 10, p. 353-484.
69. RYDER, J. M. Determination of adenosine triphosphate and its breakdown products in fish muscle by high performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.33, n.4, p.678-680, 1985.
70. SAITO, T.; ARAI, K.; MATSUYOSHI, M. A new method for estimating the freshness of fish. **Bulletin of Japanese Society of Science Fishery**, v.24, p.749, 1959.
71. SAS. **User's guide: Statistics**. Cary: SAS Institute, 1985. 441p.
72. SHEWAN, J. M. The bacteriology of fresh and spoiling fish and some related chemical changes. In: HOWTHORN, J. & MUILEITCH, J. **Recent advances in food science**. 1962.
73. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A. Métodos de análise microbiológica em alimentos. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Manual técnico n.14, p.21-29, Campinas, 1995.
74. SIMIDU, W. Nonprotein nitrogenous compounds. In: BORGSTROM, G. **Fish as food**. New York: Academic Press/ London: Academic Press, 1961.

75. SIKORSKI, Z. E.; KOLODZIEJSKA, I. The composition and properties of squid meat. **Food Chemistry**, v.20, n.3, p.213-224, 1986.
76. SOUDAN, F. **La conservation par le froid des poissons, crustaces et mollusques**. Paris: Baillieue, J. B. et fils, 1965.
77. STANLEY, D. W.; HULTIN, H. O. Quality factors in cooked North Atlantic squid. **Canadian Institute of Food and Technology Journal**, v.15, n.4, p.277-282, 1982.
78. STONE, E. F. Enzimatic determination adenine monophosphate (AMP), adenosine and adenine in salmon, crab and scallop muscle extracts. **Journal of Food Science**, v.5, p. 565-567, 1970.
79. STONE, H.; SIDEL, J. L.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R. C. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v.28, n.11, p.24-34, 1974.
80. STROUD, G. D. Squid. **Torry Advis**, Note 77:6, 1978.
81. SUYAMA, M.; KOBAYASHI, H. Free aminoacids and quaternary amonium bases in mantle muscle of squid. **Bulletin Japanese of Society of Science of Fishery**, v.35 p.405-409, 1980.
82. SUGIYAMA, M. S.; KONOSU, M.; HANABE, M.; OKUDA, Y. **Utilization of squid (Ika no Riyo)**. Translated from japanesse by the National Marine Fisheries Service an published by Amerind Publishing Co. Put. Ltd. New Delhi, 251p, 1989.
83. TARR, H. L. A. Post-mortem changes in glycogen, nucleotides, sugar phosphates and sugars in fish muscle. **Journal of Food Science**, v.31, p.846, 1966.
84. THROWER, S. J. Catching and handling squid. **Australian Fisheries**, v.37, n.9, p.20-25, 1978.
85. WOYEWODA, A. D.; KE, P. J. Laboratory quality assesment of Canadian Atlantic squid (*Illex illecebrosus*). **Tech. Rep. Fish. Mar. Serv. Can.**, v.902, p.26-31, 1980. *Apud: Lebensmittel Wissenschaft & Technologie*, v.17, n.5, p.276-281, 1984.
86. YAMANAKA, H. Polyaminas as potential index for freshness of fish and squid. **Food Reviews International**, v.6, n.4, p.591, 1990.

87. YAMANAKA, H.; SHIMAKURA, K.; SHIOMI, K.; KIKUCHI, T. & OKUZUMI, M.
Changes in polyamine contents of common squid and scallop during storage.
Journal of the Food Hygienic Society of Japan, v.30, n.4, p.289-294, 1989.
88. YAMANAKA, H.; SHIOMI, K. & KIKUCHI, T. Agmatine as a potential index for
freshness of common squid (*Todarodes pacificus*). **Journal of Food Science**,
v.52, n.4, p.936-938, 1987.
89. YEN, G. C. & HSIEH, C. L. Simultaneous analysis of biogenic amines in canned fish by
HPLC. **Journal of Food Science**, v.56, n.1, p.158-160, 1991.
90. YOKOYAMA, Y.; TAKAHASHI, S.; SAKAGUCHI, M.; KAWAI, F. & KANAMORI, M.
Postmortem changes of ATP and its related compounds and freshness indices in
spear squid *Doyteuthis bleekeri* muscles. **Fisheries Science**, v.60, n.5, p.583-587,
1994.

ANEXO A - MÉTODOS DE ANÁLISE QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DE BASES NITROGENADAS VOLÁTEIS

1. Fundamento

O método para análise de BNV permite determinar o teor de substâncias básicas voláteis, geralmente amônia e aminas de cadeia curta que se acumulam nos músculos dos pescados após a morte. Nos peixes frescos, o teor de BNV encontra-se entre 5 e 10mg/100g de músculo. A legislação brasileira considera que o valor de 30mg/100g é o valor limite de aceitação para o consumo humano.

2. Materiais e Reagentes

2.1. Materiais

- a) Liquidificador com copos invertidos
- b) Destilador próprio para BNV
- c) Vidraria e equipamentos comuns de laboratório

2.2. Reagentes

- a) Ácido tricloroacético 10%
- b) Solução de ácido bórico 4% em água destilada,
- c) Solução de vermelho de metila 0,1% em etanol,
- d) Solução de verde de bromocresol 0,1% em etanol,
- e) Óxido de magnésio,
- f) Indicador misto para receber a amônia destilada: pipetar 3ml de vermelho de metila e 21ml de verde de bromocresol em balão volumétrico de 1000ml e completar o volume com ácido bórico 4%,
- g) Ácido clorídrico (HCl) aproximadamente 0,02N: medir 1,7ml de HCl concentrado (36%) em balão volumétrico de 1000ml e completar o volume com água destilada; padronizar com NaOH 0,02N e calcular a normalidade até a quarta cifra decimal

3. Procedimento

3.1. Extração:

Pesar 25g de músculo de pescado no copo invertido do liquidificador e adicionar 150ml de ácido tricloroacético 10% (p/v). Homogenizar completamente, deixar repousar por no mínimo 2 horas em geladeira e então filtrar cerca de 80-100ml. Reservar o filtrado para testes posteriores.

3.2. Determinação química:

Pipetar 25ml do filtrado no balão do aparelho destilador e adicionar aproximadamente 1g de óxido de magnésio (se necessário testar com fenolftaleína para verificar se o meio ficou básico). Para receber as BNV destiladas, colocar um erlenmeyer com 15ml do indicador misto. Destilar aproximadamente 100ml de líquido e então titular com HCl 0,02N até o aparecimento da cor lilás róseo.

4. Cálculos

$$\text{BNV (mgN/100g)} = \frac{\text{volume de HCl (ml)} \times \text{Normalidade do HCl} \times 14 \times \text{vol. extr. TCA} \times 100}{25 \times \text{peso de amostra}}$$

onde:

vol. Extr. TCA = volume do extrato em TCA, obtido da soma de volume de solução TCA + volume de água contida na amostra

peso da amostra = peso da amostra utilizada para fazer o extrato.

REFERÊNCIA

HOWGATE, P. Determination of total volatile bases. **Torry Research Station**. Aberdeen, TD 564, Appendix 4, 1976.

DETERMINAÇÃO DE AMÔNIA

1. Fundamento

A amônia representa a maior parte das bases nitrogenadas voláteis (BNV), podendo ser determinada, juntamente com as outras BNV após a destilação de uma alíquota de extrato desproteínizado. Nesta metodologia a amônia destilada é determinada colorimetricamente após complexação com ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS).

2. Materiais e Reagentes

2.1. Materiais:

- a) Liquidificador com copos invertidos pequenos;
- b) Aparelho destilador para bases nitrogenadas voláteis;
- c) Banho-maria a 60°C;
- d) Espectrofotômetro a 420nm;
- e) Vidraria e materiais comuns de laboratório.

2.2. Reagentes:

- a) Ácido tricloroacético (TCA) 10%: pesar 100g de ácido tricloroacético e diluir com água destilada em balão volumétrico de 1L;
- b) Ácido bórico 4%: pesar 20g de ácido bórico em bequer de vidro termorresistente, adicionar cerca de 300ml de água destilada e dissolver em placa de aquecimento. Resfriar um pouco, transferir para balão volumétrico de 500ml e completar o volume com água destilada;
- c) Tampão borato com pH=9,2;
- d) Ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) 0,1% em HCl 0,1N: pesar 25mg de TNBS em balão volumétrico de 25ml, dissolver e completar o volume com HCl 0,1N;
- e) Padrão de Amônia estoque (1mg de N amoniacal/ml): pesar 382,14mg de NH₄Cl em balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água destilada; a partir desta solução preparar padrões de trabalho com 2,5, 5, 10, 20 e 40µg de N amoniacal/ml;
- f) Tolueno.

3. Procedimento

3.1. Extração:

Pesar 25 g de músculo de pescado no copo de um homogenizador e adicionar 150ml de ácido tricloroacético 10% (p/v). Homogenizar completamente, deixar repousar por no mínimo 2 horas e então filtrar cerca de 80-100ml. Reservar o filtrado para testes posteriores.

3.2. Destilação:

Transferir 25ml do filtrado para o balão do aparelho destilador e adicionar cerca de 1g de óxido de magnésio para neutralizar o TCA e deixar a solução básica (condição necessária para que a amônia seja liberada). Receber o condensado em 20ml de ácido bórico 4%. Destilar cerca de 150ml e então transferir para um balão de 200ml e completar o volume com água destilada. Misturar bem.

3.3. Reação química:

Pipetar em tubos de ensaio com tampa 2ml do destilado, dos padrões e de água destilada (branco); adicionar em todos os tubos 4ml do tampão borato e 1ml de TNBS. Tampar e agitar os tubos e colocá-los em banho-maria a 60°C por 15 minutos. Resfriar os tubos em água com gelo e então adicionar 5ml de tolueno e agitar energeticamente por 1 minuto. O complexo amarelo de amônia e TNBS fica na camada de tolueno, que deve ser transferida para outros tubos e então faz-se a leitura da absorbância a 420nm. **Observação:** após a colocação dos tubos no banho de gelo deve-se trabalhar com rapidez, portanto não é recomendável trabalhar com muitas amostras ao mesmo tempo.

4. Cálculos

$$\text{mg de N amoniacal/100g de amostra} = \frac{\mu\text{g de N} \times 200 \times \text{vol. extr. TCA} \times 100}{1000 \times 25 \times \text{peso da amostra}}$$

onde:

$\mu\text{g de N}$ = $\mu\text{g de N amoniacal/ml}$ do destilado diluído, obtido da curva padrão ou de comparação direta com padrão de absorbância semelhante,
 vol. extr. TCA = volume do extrato de TCA, obtido da soma do volume de solução de TCA + volume de água contida na amostra,
 peso da amostra = peso da amostra utilizada para fazer o extrato.

REFERÊNCIA

ADLER-NISSEN, J. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.*, v.27, n.6, p.1256-1262, 1979.

DETERMINAÇÃO DE TRIMETILAMINA E ÓXIDO DE TRIMETILAMINA

1. Fundamento

O óxido de trimetilamina (O-TMA) está presente em pescados de origem marinha onde desempenha as funções de regulador osmótico, agente detoxificante e estabilizante de macromoléculas. Durante o processo de deterioração o O-TMA pode ser transformado em trimetilamina (TMA) pela ação da enzima O-TMA redutase de origem bacteriana ou endógena, havendo uma forte correlação entre o teor de TMA e a contaminação microbiológica. Nesta metodologia determina-se o O-TMA e TMA num extrato desproteinizado, sendo inicialmente o O-TMA reduzido a TMA com cloreto de titânio. Após a separação e reação com ácido pícrico, a TMA é determinada colorimetricamente como picrato de TMA.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais

Liquidificador com copos invertidos

Espectrofotômetro

Vidraria e equipamentos comuns de laboratório

2.2. Reagentes

a) Ácido tricloroacético 10%

b) Heptano

c) Solução de K_2CO_3 50%: pesar 100g de K_2CO_3 e dissolver com 100ml de água destilada

d) Solução de tricloreto de titânio ($TiCl_3$) 1,5%: diluir 1ml da solução comercial (15%) com 9ml de água destilada

e) Tolueno

f) Solução de ácido pícrico 0,02% em tolueno: pesar 50mg de ácido pícrico e dissolver em 25ml de tolueno; a partir desta solução preparar uma diluição 1/10 no momento da análise e adicionar Na_2SO_4 anidro para sequestrar quaisquer traços de água da solução.

g) Solução padrão de TMA (1mg de N-TMA/ml): pesar 682,6mg (696,6mg se 98%) de Trimetilamina-hidrocloreto $\{(CH_3)_3NH.HCl\}$ em balão volumétrico de 100ml, adicionar 80ml de água destilada, 2 gotas de HCl concentrado (como conservante) e completar o volume com água destilada. A partir desta solução preparar diluições com 2, 5, 10, 20 e 30 μg N-TMA/ml, completando o volume com TCA 5%.

3. Procedimento

3.1. Extração:

Pesar 25 g de músculo de peixe no copo de um homogenizador e adicionar 150ml de ácido tricloroacético 10% (p/v). Homogenizar completamente, deixar repousar por no mínimo 15 minutos e então filtrar cerca de 80-100ml. Reservar o filtrado para testes posteriores.

3.2. Redução da O-TMA para TMA:

Medir 1ml dos extratos em TCA 10% e diluir com 4ml de TCA 10% puro. Pipetar 1ml das diluições em tubos de ensaio com tampa e adicionar 1,5ml de $TiCl_3$. Tampar e agitar os tubos e colocá-los em um banho-maria a 80°C por 5 minutos. Retirar do banho, resfriar e prosseguir a análise como para TMA, porém adicionando somente 1,5 ml de água destilada.

3.3. Determinação química:

Medir 2ml do extrato em TCA, dos padrões e do branco (TCA 10%) em tubos de ensaio com tampa. Adicionar 2ml de água destilada, 3ml de heptano e 4ml de K_2CO_3 em todos os tubos. Tampar e agitar vigorosamente por 1 minuto. Deixar separar as camadas ou centrifugar. Transferir 1ml da camada superior (heptano) para tubos de ensaio comuns e adicionar 3ml de ácido pícrico 0,02%. Agitar e ler a absorbância a 410nm.

4. Cálculos

$$\text{mg de N-TMA (ou O-TMA)/100g de amostra} = \frac{\mu g \text{ de N} \times \text{vol. extr. TCA} \times 100}{1000 \times \text{peso da amostra}}$$

onde:

μg de N = μg de N-TMA(ou N-O-TMA)/ml do extrato, obtido da curva padrão ou de comparação direta com padrão de absorbância semelhante,

vol. extr. TCA = volume do extrato de TCA, obtido da soma do volume de solução TCA + volume de água contida na amostra,

peso da amostra = peso da amostra utilizada para fazer o extrato.

REFERÊNCIA

MURRAY, C. K. & GIBSON, D. M. An investigation of the method of determining trimethylamine in fish muscle extracts by the formation of its picrate salt. Part I. *J. Food Technol.*, 7:35-46, 1972.

DETERMINAÇÃO DE NITROGENIO NÃO PROTÉICO

1. Fundamento

O Nitrogênio Não Protéico (NNP) é constituído por uma grande variedade de compostos orgânicos e inorgânicos tais como: aminoácidos livres, bases nitrogenadas voláteis (principalmente amônia), taurina, nucleotídeos e compostos relacionados com as bases purinas. Compreendem entre 0,5 e 1,0% do peso total do músculo dos pescados. O NNP é obtido após separação da fração protéica, a qual é precipitada por ácido tricloroacético, e no filtrado podem ser determinados os compostos mais importantes, ou o NNP total, sendo necessário, neste caso, realizar a digestão de uma alíquota do filtrado e proceder como para a determinação de nitrogênio total.

2. Materiais e Reagentes

2.1. Materiais

Liquidificador com copos invertidos
Tubos para digestão de proteínas
Bloco digestor
Destilador para proteínas
Vidraria e equipamentos comuns de laboratório

2.2. Reagentes

- Ácido tricloroacético 10%
- Ácido sulfúrico concentrado
- Catalisador para a digestão: moer uma mistura feita com 95g de sulfato de potássio e 5g de sulfato de cobre pentahidratado e guardar em frasco fechado,
- Solução de ácido bórico 4% em água destilada,
- Solução de vermelho de metila 0,1% em etanol,
- Solução de verde de bromocresol 0,1% em etanol,
- Indicador misto para receber a amônia destilada: pipetar 3ml de vermelho de metila e 21ml de verde de bromocresol em balão volumétrico de 1000ml e completar o volume com ácido bórico 4%,
- Solução de NaOH 50%: pesar 100g de NaOH e dissolver com 100ml de água destilada,
- Ácido clorídrico (HCl) aproximadamente 0,02N: medir 1,7ml de HCl concentrado (36%) em balão volumétrico de 1000ml e completar o volume com água destilada; padronizar com NaOH 0,02N e calcular a normalidade até a quarta cifra decimal

3. Procedimento

3.1. Extração:

Pesar 25 g de músculo de pescado no copo de um homogenizador e adicionar 150ml de ácido tricloroacético 10% (p/v). Homogenizar completamente, deixar repousar por no mínimo 2 horas e então filtrar cerca de 80-100ml. Reservar o filtrado para testes posteriores.

3.2. Determinação química:

Pipetar 2ml do filtrado em tubos para digestão de proteínas, adicionar aproximadamente 1g de mistura catalisadora e 2ml de ácido sulfúrico concentrado. Levar ao bloco digestor para proteínas e efetuar a digestão até obter um líquido transparente de cor verde azulada. Destilar o material digerido em destilador para proteínas, usando NaOH 50% para neutralizar o ácido sulfúrico, e receber o condensado em um erlenmeyer com 15ml de ácido bórico 4% com indicador misto (verde de bromocresol + vermelho de metila). Destilar aproximadamente 100ml de líquido e então titular com HCl 0,02N até o aparecimento da cor lilás róseo.

4. Cálculos

$$\text{NNP (mg N/100g)} = \frac{\text{volume de HCl (ml)} \times \text{Normalidade do HCl} \times 14 \times \text{vol. extr. TCA} \times 100}{2 \times \text{peso de amostra}}$$

onde:

vol. Extr. TCA = volume do extrato em TCA, obtido da soma de volume de solução TCA + volume de água contida na amostra

peso da amostra = peso da amostra utilizada para fazer o extrato.

REFERÊNCIA

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, 13^o ed., Washington D.C., A.O.A.C. 1980.

DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES TOTAIS (PELA FORMAÇÃO DE COMPLEXOS COM ÁCIDO TRINITROBENZENOSULFÔNICO - TNBS)

1. Fundamento

Todos os aminoácidos (exceto prolina) e algumas aminas (primárias) formam um complexo de cor amarela com o TNBS. A cor pode ser avaliada a 420nm ou em comprimentos de onda menores. A reação é 250 vezes mais sensível que a obtida com formação de complexos com cobre, portanto pode ser usada quando os teores de aminoácidos são muito baixos. Para teores altos as amostras em TCA devem ser diluídas antes da reação.

2. Materiais e Reagentes

2.1. Materiais:

Balança analítica

Espectrofotômetro

Liquidificador com copos invertidos

Vidraria comum de laboratório

2.2. Reagentes:

a) Solução de Ácido tricloroacético (TCA) 10%,

b) Solução de TNBS 0,1% em HCl 0,1 N,

c) Tampão de Borato de sódio 0,5 M, pH 9,5: pesar 30,9g de ácido bórico, adicionar cerca de 900ml de água destilada e acertar o pH com NaOH 50%,

d) Padrão de glicina: pesar 75mg de glicina em balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água destilada. Preparar um padrão de trabalho rediluído 5ml em 100ml. Este padrão possui uma concentração de 0,007mg de N/ml. OBS.: é recomendável preparar o padrão com a composição mais aproximada possível da composição de aminoácidos da amostra, para lulas, por exemplo, utilizar padrão que contenha prolina, glicina e alanina.

e) Solução para o "branco": diluir a solução 1 na proporção de 1x20 com água destilada,

f) Solução de HCl 0,6 N.

3. Procedimento

3.1. Extração:

Pesar 25 g de músculo de pescado no copo de um homogenizador e adicionar 150ml de ácido tricloroacético 10% (p/v). Homogenizar completamente, deixar repousar por no mínimo 2 horas e então filtrar cerca de 80-100ml. Reservar o filtrado para testes posteriores.

3.2. Reação química:

Diluir os extratos em TCA na proporção de 1x20 (1ml + 19ml de água destilada). Pipetar em tubos de ensaio 1ml das amostras, do padrão e do branco, adicionar 3ml do tampão borato e 1ml de solução de TNBS. Misturar e deixar em repouso em local escuro, por 2 horas a temperatura ambiente. Adicionar 5ml de HCl 0,6 N e misturar. Ler a absorbância a 420nm.

4. Cálculos

$$\text{mg de AAL/100g de amostra} = \frac{\mu\text{g de N-AAL} \times 100 \times 20 \times \text{vol. extr. TCA} \times 6,25}{1000 \times \text{peso de amostra}}$$

onde:

$\mu\text{g de N-AAL}$ = $\mu\text{g de N-AAL/ml}$ do destilado diluído, obtido da curva padrão ou de comparação direta com padrão de absorbância semelhante,

vol. extr. TCA = volume do extrato de TCA, obtido da soma do volume de solução TCA + volume de água contida na amostra,

peso de amostra = peso da amostra utilizada para fazer o extrato.

REFERÊNCIA

ADLER-NISSEN, J. Determination of degree of hydrolysis of food protein hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 27(6):1256-1262, 1979.

DETERMINAÇÃO DE TRIPTOFANO LIVRE OU EM PROTEÍNAS PELO MÉTODO DE ANTRONA (9,10 dihidro - 9 cetoantraceno)

1. Fundamento

Neste método o aminoácido triptofano é determinado colorimetricamente após reação com antrona em ambiente ácido, na presença de Fe^{+2} e Fe^{+3} . O complexo colorido formado absorve fortemente a 545nm e é estável por várias horas. Uma grande vantagem deste método é que a determinação pode ser realizada na própria proteína, sem necessidade de hidrólise alcalina ou enzimática, apenas sendo necessária a dissolução das proteínas em NaOH.

2. Materiais e Reagentes

2.1. Materiais:

Espectrofotômetro

Vidraria comum de laboratório

2.2. Reagentes:

- Solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 62,5% (v/v) em água destilada
- Solução ferroso/férrica: pesar 100mg de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 100mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e dissolver em 100ml de água destilada
- Solução de antrona 0,02% em ácido sulfúrico
- Soluções de hidróxido de sódio (NaOH) 1,0 e 4,0N
- Solução de ácido tricloroacético (ATC) 10% (p/v) em água
- Mistura de antrona 0,02%: H_2SO_4 62,5% na proporção 1:3 (v/v)
- Soluções padrão de triptofano: preparar padrões com concentrações de 5,0; 10,0; 20,0 e 40ug triptofano/ml de solução de NaOH 1,0N para determinação de Triptofano Total ou em TCA 10% para determinação de Triptofano Livre.
- Ácido acético glacial.

3. Procedimento

3.1. Para determinação de Triptofano total

Pesar entre 30 e 100mg de amostra bem homogenizada em tubo de ensaio com tampa e adicionar 5ml de NaOH 4,0N. Aquecer em banho fervente misturando ocasionalmente durante 30 minutos para dispersar e desnaturar as proteínas. Resfriar e adicionar 15ml de água destilada para deixar a amostra convenientemente diluída em NaOH 1,0N.

Reação: Medir em tubos de ensaio 4ml da mistura (f). Colocar a grade com os tubos de ensaio em um banho de água e gelo e adicionar lentamente, pela parede dos tubos 1ml de amostra dissolvida em NaOH, dos padrões em NaOH ou de NaOH 1,0N (branco). Adicionar 0,5ml da solução (b) e então tirar a grade do banho e agitar a grade com os tubos energicamente até o completo desenvolvimento da cor. É IMPORTANTE QUE NÃO OCORRA A REAÇÃO ENQUANTO OS TUBOS ESTIVEREM NO BANHO E QUE A AGITAÇÃO SEJA IDÊNTICA PARA TODOS OS TUBOS. Após um repouso de 10 minutos fazer a leitura das absorbâncias a 545nm.

3.2. Para determinação de Triptofano livre

Homogenizar 25g de amostra com 150g de solução de ATC 10%, deixar em repouso por 10 minutos e filtrar o extrato.

Reação: Realizar a reação como descrita acima, apenas substituindo as amostras, padrões e branco pelos feitos em TCA 10%. Antes de realizar a leitura verificar se ocorreu o aparecimento de turidez nas soluções coloridas. Em caso positivo adicionar 5,5ml de ácido acético glacial em todos os tubos e agitar até a completa mistura. Após o desaparecimento das bolhas ler as absorbâncias a 545nm.

4. Cálculos

Triptofano Total:

$$\text{mg de Triptofano}/100\text{g} = \frac{\mu\text{g de Trp/ml} \times 15 \times 100}{1000 \times \text{peso da amostra (g)}}$$

Triptofano Livre:

$$\text{mg de Triptofano}/100\text{g} = \frac{\mu\text{g de Trp/ml} \times \text{vol. extr. TCA} \times 100}{1000 \times \text{peso da amostra TCA (g)}}$$

onde:

$\mu\text{g de Trp/ml}$ = $\mu\text{g de Triptofano/ml}$, obtido da curva padrão ou de comparação direta com padrão de absorbância semelhante,

vol. extr. TCA = volume do extrato de TCA, obtido da soma do volume de TCA + volume de água contida na amostra,

peso da amostra TCA = Peso da amostra utilizada para fazer o extrato em TCA.

REFERÊNCIA

CONTRERAS, G. E. & LAPA, J. G. Determinação rápida de triptofano por reação com antrona. ^{12º} Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rio de Janeiro. Livro de Resumos p 152, 1989.

DETERMINAÇÃO DE URÉIA

1. Fundamento

A uréia é determinada em um extrato desproteínezado após reação com diacetil (formado a partir de diacetilmonoxima em meio ácido) originando uma diazina púrpura com absorbância máxima a 545nm.

2. Materiais e Métodos

2.1. Materiais:

Liquidificador com copos invertidos

Tubos de ensaio de 20 ou 30ml com tampa que feche hermeticamente

Espectrofotômetro

Vidraria e equipamentos comuns de laboratório

2.2. Reagentes:

a) Solução de ácido sulfúrico 1:1: medir 50ml de água destilada e juntar lentamente 50ml de ácido sulfúrico concentrado

b) Solução de cloreto férrico e ácido fosfórico: pesar 0,075g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em béquer de 50ml, adicionar 3ml de H_3PO_4 85% e 4,5ml de água destilada e misturar até dissolver

c) Solução de diacetilmonoxima 2,5%: pesar 0,25g e dissolver em 10ml de água destilada

d) Solução de tiosemicarbazida 0,5%: pesar 0,05g e dissolver em 10ml de água destilada

e) Mistura 1: misturar 20ml de a) + 0,1ml de b) e completar o volume para 50ml com água destilada

f) Mistura 2: misturar 3,5ml de c) + 3,5ml de d) e completar o volume para 50ml com água destilada

g) Solução padrão de Uréia 1mg/ml: pesar 100mg de uréia seca em estufa em balão volumétrico de 100ml e completar o volume com água destilada. A partir desta solução preparar diluições com concentrações de 2, 5, 10, 20 e 40 $\mu\text{g/ml}$.

h) Solução de ácido tricloroacético 10%

Obs.: as misturas devem ser feitas somente na ocasião da análise.

3. Procedimento

3.1. Extração:

Pesar 25 g de músculo de pescado no copo de um homogenizador e adicionar 150ml de ácido tricloroacético 10% (p/v). Homogenizar completamente, deixar repousar por no mínimo 2 horas e então filtrar cerca de 80-100ml. Reservar o filtrado para testes posteriores.

3.2. Determinação química:

Em tubos de ensaio com tampa medir 2,5ml da Mistura 1, 0,5ml do extrato em TCA, padrões ou branco (TCA 5% puro) e 2,5ml da Mistura 2. Agitar levemente e deixar em banho fervente por 10 minutos. Resfriar e ler a 545nm.

4. Cálculos

$$\text{mg de Uréia/100g de amostra} = \frac{\mu\text{g de U} \times \text{vol. extr. TCA} \times 100}{1000 \times \text{peso da amostra}}$$

onde:

$\mu\text{g de U}$ = $\mu\text{g de Uréia/ml}$ do extrato, obtido da curva padrão ou de comparação direta com padrão de absorbância semelhante,

vol. extr. TCA = volume do extrato de TCA, obtido da soma do volume de solução de TCA + volume de água contida na amostra,

peso da amostra = peso da amostra utilizada para fazer o extrato.

REFERÊNCIA

Kit UREA NITROGEN Cat. nº 535A da Sigma Chemical Company

**ANEXO B - RESULTADOS DAS ANÁLISES SENSORIAIS, MICROBIOLÓGICA,
QUÍMICAS E INSTRUMENTAL**

ANÁLISE DE PSICOTRÓFILOS

Valores médios por período de amostragem determinados para a contagem de microrganismos psicrotrófilos (UFC/g) em lulas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| PERÍODO (dias) | TRATAMENTO | |
|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | CCG | SCG |
| 1 | 8.3×10^2 ^a | 8.3×10^2 ^a |
| 2 | 8.3×10^2 ^a | 6.8×10^2 ^a |
| 4 | 1.6×10^3 ^a | 8.5×10^2 ^a |
| 7 | 4.1×10^3 ^a | 1.0×10^3 ^b |
| 10 | 1.4×10^5 ^a | 1.0×10^4 ^a |
| 13 | 1.3×10^5 ^a | 1.3×10^4 ^a |
| 16 | 5.5×10^5 ^a | 2.5×10^5 ^a |

Médias na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

Valores médios por período determinados para a contagem de microrganismos psicrotrófilos (UFC/g) nos lotes A e B de lulas de procedência comercial armazenadas com contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

| PERÍODO (dias) | LOTE A TRATAMENTO | | LOTE B TRATAMENTO | |
|----------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 1.3×10^4 ^a | 1.3×10^4 ^a | 1.0×10^4 ^a | 1.0×10^4 ^a |
| 2 | 3.1×10^4 ^a | 2.6×10^4 ^a | 4.9×10^3 ^b | 1.9×10^4 ^a |
| 4 | 4.6×10^4 ^a | 4.9×10^4 ^a | 1.2×10^5 ^a | 7.6×10^4 ^b |
| 7 | 7.4×10^5 ^a | 5.4×10^5 ^b | 1.1×10^6 ^a | 4.0×10^5 ^b |
| 10 | 4.6×10^6 ^a | 5.0×10^6 ^a | 4.9×10^6 ^a | 2.6×10^6 ^a |
| 15 | 7.5×10^7 ^a | 2.0×10^7 ^b | 2.1×10^8 ^a | 1.2×10^7 ^b |

Médias do mesmo lote e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

ANÁLISE SENSORIAL

Variação na média de notas atribuídas pelos provadores aos diversos descritores sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| DESCRITOR/PERÍODO (dias) | | TRATAMENTO | |
|--------------------------|--|-------------------|-------------------|
| COR CARACTERÍSTICA | | CCG | SCG |
| 1 | | 8,04 ^a | 8,04 ^a |
| 2 | | 7,28 ^a | 6,58 ^a |
| 4 | | 7,43 ^a | 6,16 ^a |
| 7 | | 7,26 ^a | 4,05 ^b |
| 10 | | 6,58 ^a | 3,31 ^b |
| 13 | | 5,99 ^a | 2,20 ^b |
| 16 | | 4,93 ^a | 1,82 ^b |
| PRESEÇA DE MANCHAS | | CCG | SCG |
| 1 | | 0,77 ^a | 0,77 ^a |
| 2 | | 1,88 ^a | 2,33 ^a |
| 4 | | 1,22 ^b | 2,49 ^a |
| 7 | | 1,44 ^b | 4,60 ^a |
| 10 | | 2,08 ^b | 5,55 ^a |
| 13 | | 2,98 ^b | 7,07 ^a |
| 16 | | 4,26 ^b | 6,84 ^a |
| BRILHO | | CCG | SCG |
| 1 | | 4,91 ^a | 4,91 ^a |
| 2 | | 3,31 ^a | 3,83 ^a |
| 4 | | 3,83 ^a | 5,04 ^a |
| 7 | | 3,46 ^b | 5,20 ^a |
| 10 | | 2,46 ^b | 5,35 ^a |
| 13 | | 2,74 ^a | 4,24 ^a |
| 16 | | 1,46 ^b | 2,61 ^a |
| AROMA PESCADO FRESCO | | CCG | SCG |
| 1 | | 7,39 ^a | 7,39 ^a |
| 2 | | 6,53 ^a | 6,65 ^a |
| 4 | | 6,89 ^a | 5,76 ^a |
| 7 | | 5,91 ^a | 4,80 ^a |
| 10 | | 4,88 ^a | 4,22 ^a |
| 13 | | 3,69 ^a | 2,85 ^a |
| 16 | | 5,19 ^a | 2,14 ^a |

Médias do mesmo descritor e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Variação na média de notas atribuídas pelos provadores aos diversos descritores sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| DESCRITOR/PERÍODO (dias) | | TRATAMENTO | |
|---------------------------------|--|-------------------|-------------------|
| AROMA PESCADO DETERIORADO | | CCG | SCG |
| 1 | | 0,56 ^a | 0,56 ^a |
| 2 | | 1,18 ^a | 1,12 ^a |
| 4 | | 1,16 ^a | 1,92 ^a |
| 7 | | 2,40 ^a | 2,84 ^a |
| 10 | | 3,26 ^a | 3,76 ^a |
| 13 | | 3,69 ^b | 5,64 ^a |
| 16 | | 5,19 ^a | 6,10 ^a |
| ESPALHAM./INTENSIF. DA COR ROSA | | CCG | SCG |
| 1 | | 1,17 ^a | 1,17 ^a |
| 2 | | 3,71 ^a | 2,67 ^a |
| 4 | | 3,21 ^a | 3,21 ^a |
| 7 | | 6,66 ^a | 4,33 ^b |
| 10 | | 6,24 ^a | 6,81 ^a |
| 13 | | 7,67 ^a | 7,74 ^a |
| 16 | | 7,72 ^a | 8,29 ^a |
| FLACIDEZ | | CCG | SCG |
| 1 | | 1,16 ^a | 1,16 ^a |
| 2 | | 3,40 ^a | 2,80 ^a |
| 4 | | 3,42 ^a | 3,71 ^a |
| 7 | | 5,30 ^a | 5,07 ^a |
| 10 | | 5,24 ^a | 6,19 ^a |
| 13 | | 6,22 ^a | 6,74 ^a |
| 16 | | 7,00 ^b | 8,19 ^a |
| OPACIDADE DOS OLHOS | | CCG | SCG |
| 1 | | 0,94 ^a | 0,94 ^a |
| 2 | | 2,88 ^a | 2,41 ^a |
| 4 | | 4,69 ^a | 2,99 ^b |
| 7 | | 6,21 ^a | 3,16 ^b |
| 10 | | 6,67 ^a | 5,81 ^a |
| 13 | | 7,52 ^a | 6,33 ^a |
| 16 | | 7,84 ^a | 7,67 ^a |

Médias do mesmo descritor e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente (p<0,05) entre si.

ANÁLISE SENSORIAL

Variação na média de notas atribuídas pelos provadores aos diversos descritores sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA, lote B.

| DESCRITOR/PERÍODO (dias) | | TRATAMENTO | |
|--------------------------|----|-------------------|-------------------|
| COR CARACTERÍSTICA | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 8,73 ^a | 8,73 ^a |
| 2 | 4 | 8,58 ^a | 6,72 ^b |
| 4 | 7 | 3,69 ^b | 7,02 ^a |
| 7 | 10 | 4,80 ^a | 1,77 ^b |
| 10 | 15 | 4,71 ^a | 2,07 ^b |
| 15 | | 1,97 ^a | 1,17 ^a |
| PRESENÇA DE MANCHAS | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 0,43 ^a | 0,43 ^a |
| 2 | 4 | 0,32 ^b | 2,24 ^a |
| 4 | 7 | 4,65 ^a | 2,10 ^b |
| 7 | 10 | 3,55 ^b | 6,61 ^a |
| 10 | 15 | 3,96 ^b | 6,63 ^a |
| 15 | | 6,47 ^b | 8,21 ^a |
| BRILHO | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 4,31 ^a | 4,31 ^a |
| 2 | 4 | 5,96 ^a | 5,37 ^a |
| 4 | 7 | 3,46 ^a | 2,98 ^a |
| 7 | 10 | 1,66 ^a | 2,72 ^a |
| 10 | 15 | 1,68 ^b | 4,36 ^a |
| 15 | | 2,08 ^b | 4,61 ^a |
| AROMA PESCADADO FRESCO | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 8,60 ^a | 8,60 ^a |
| 2 | 4 | 8,14 ^a | 6,52 ^a |
| 4 | 7 | 5,46 ^a | 6,81 ^a |
| 7 | 10 | 5,06 ^a | 3,28 ^a |
| 10 | 15 | 3,13 ^a | 1,39 ^b |
| 15 | | 0,87 ^a | 1,00 ^a |

Médias do mesmo descritor e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

Variação na média de notas atribuídas pelos provadores aos diversos descritores sensoriais durante o período de armazenamento de lulas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA, lote B.

| DESCRITOR/PERÍODO (dias) | | TRATAMENTO | |
|---------------------------------|----|-------------------|-------------------|
| AROMA PESCADADO DETERIORADO | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 0,21 ^a | 0,21 ^a |
| 2 | 4 | 0,18 ^b | 1,62 ^a |
| 4 | 7 | 2,47 ^a | 1,08 ^a |
| 7 | 10 | 3,24 ^a | 4,57 ^a |
| 10 | 15 | 5,09 ^b | 7,28 ^a |
| 15 | | 7,78 ^a | 7,57 ^a |
| ESPALHAM./INTENSIF. DA COR ROSA | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 0,40 ^a | 0,40 ^a |
| 2 | 4 | 1,17 ^a | 1,29 ^a |
| 4 | 7 | 2,61 ^a | 3,54 ^a |
| 7 | 10 | 5,92 ^a | 5,61 ^a |
| 10 | 15 | 7,09 ^a | 7,02 ^a |
| 15 | | 7,78 ^b | 8,67 ^a |
| FLACIDEZ | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 0,67 ^a | 0,67 ^a |
| 2 | 4 | 0,63 ^b | 1,91 ^a |
| 4 | 7 | 3,61 ^a | 2,31 ^a |
| 7 | 10 | 4,95 ^a | 5,90 ^a |
| 10 | 15 | 5,41 ^b | 7,34 ^a |
| 15 | | 7,52 ^a | 8,38 ^a |
| OPACIDADE DOS OLHOS | | CCG | SCG |
| 1 | 2 | 1,59 ^a | 1,59 ^a |
| 2 | 4 | 1,27 ^b | 3,05 ^a |
| 4 | 7 | 3,65 ^a | 3,45 ^a |
| 7 | 10 | 4,64 ^a | 5,25 ^a |
| 10 | 15 | 5,70 ^a | 4,54 ^a |
| 15 | | 8,16 ^a | 7,82 ^a |

Médias do mesmo descritor e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

ANÁLISES QUÍMICAS

Valores médios de BNV, Amônia, N-Trimetilamina, N-Óxido de Trimetilamina (mg/100g) e umidade (%) determinados em lulas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| PARÂMETRO/PERÍODO (dias) | | TRATAMENTO | |
|--------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| BNV | | CCG | SCG |
| 1 | 13,23 ^a | 13,23 ^a | 13,23 ^a |
| 2 | 15,06 ^a | 17,47 ^a | 17,47 ^a |
| 4 | 12,01 ^b | 16,53 ^a | 16,53 ^a |
| 7 | 11,58 ^b | 24,34 ^a | 24,34 ^a |
| 10 | 11,59 ^b | 28,51 ^a | 28,51 ^a |
| 13 | 9,82 ^b | 29,37 ^a | 29,37 ^a |
| 16 | 7,58 ^b | 36,81 ^a | 36,81 ^a |
| AMÔNIA | | CCG | SCG |
| 1 | 11,80 ^a | 11,80 ^a | 11,80 ^a |
| 2 | 13,31 ^a | 14,59 ^a | 14,59 ^a |
| 4 | 10,14 ^b | 15,82 ^a | 15,82 ^a |
| 7 | 10,07 ^b | 22,32 ^a | 22,32 ^a |
| 10 | 10,30 ^b | 27,24 ^a | 27,24 ^a |
| 13 | 7,92 ^b | 27,61 ^a | 27,61 ^a |
| 16 | 6,47 ^b | 32,81 ^a | 32,81 ^a |
| N-TRIMETILAMINA | | CCG | SCG |
| 1 | 0,45 ^a | 0,45 ^a | 0,45 ^a |
| 2 | 0,34 ^a | 0,49 ^a | 0,49 ^a |
| 4 | 0,18 ^b | 0,46 ^a | 0,46 ^a |
| 7 | 0,31 ^b | 0,60 ^a | 0,60 ^a |
| 10 | 0,31 ^b | 0,63 ^a | 0,63 ^a |
| 13 | 0,23 ^b | 0,71 ^a | 0,71 ^a |
| 16 | 0,31 ^b | 0,89 ^a | 0,89 ^a |
| N-ÓXIDO DE TRIMETILAMINA | | CCG | SCG |
| 1 | 90,91 ^a | 90,91 ^a | 90,91 ^a |
| 2 | 66,82 ^b | 86,39 ^a | 86,39 ^a |
| 4 | 37,64 ^b | 107,65 ^a | 107,65 ^a |
| 7 | 11,90 ^b | 74,94 ^a | 74,94 ^a |
| 10 | 9,03 ^b | 89,23 ^a | 89,23 ^a |
| 13 | 5,50 ^b | 80,86 ^a | 80,86 ^a |
| 16 | 2,46 ^b | 77,00 ^a | 77,00 ^a |
| UMIDADE | | CCG | SCG |
| 1 | 78,10 ^a | 78,10 ^a | 78,10 ^a |
| 2 | 81,05 ^a | 79,99 ^a | 79,99 ^a |
| 4 | 84,04 ^a | 79,37 ^b | 79,37 ^b |
| 7 | 84,68 ^a | 80,90 ^b | 80,90 ^b |
| 10 | 85,34 ^a | 80,25 ^b | 80,25 ^b |
| 13 | 86,01 ^a | 80,80 ^b | 80,80 ^b |
| 16 | 85,14 ^a | 79,95 ^b | 79,95 ^b |

Médias do mesmo parâmetro e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Valores médios de Nitrogênio não Protéico, Aminoácidos livres, Triptofano livre, Uréia (mg/100g) e pH em lulas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| PARÂMETRO/PERÍODO (dias) | | TRATAMENTO | |
|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO | | CCG | SCG |
| 1 | 856,04 ^a | 856,04 ^a | 856,04 ^a |
| 2 | 705,23 ^b | 705,23 ^b | 705,23 ^b |
| 4 | 403,00 ^b | 740,81 ^a | 740,81 ^a |
| 7 | 248,01 ^b | 759,91 ^a | 759,91 ^a |
| 10 | 203,13 ^b | 882,69 ^a | 882,69 ^a |
| 13 | 175,71 ^b | 829,55 ^a | 829,55 ^a |
| 16 | 127,86 ^b | 883,28 ^a | 883,28 ^a |
| N-AMINOÁCIDOS LIVRES | | CCG | SCG |
| 1 | 510,00 ^a | 510,00 ^a | 510,00 ^a |
| 2 | 414,20 ^a | 462,78 ^a | 462,78 ^a |
| 4 | 240,87 ^b | 452,42 ^a | 452,42 ^a |
| 7 | 165,50 ^b | 482,23 ^a | 482,23 ^a |
| 10 | 153,29 ^b | 600,63 ^a | 600,63 ^a |
| 13 | 128,07 ^b | 571,06 ^a | 571,06 ^a |
| 16 | 97,66 ^b | 651,69 ^a | 651,69 ^a |
| TRIPTOFANO LIVRE | | CCG | SCG |
| 1 | 2,88 ^a | 2,88 ^a | 2,88 ^a |
| 2 | 3,86 ^a | 6,21 ^a | 6,21 ^a |
| 4 | 5,37 ^a | 5,15 ^a | 5,15 ^a |
| 7 | 5,76 ^a | 8,81 ^a | 8,81 ^a |
| 10 | 5,19 ^b | 11,71 ^a | 11,71 ^a |
| 13 | 5,53 ^b | 12,16 ^a | 12,16 ^a |
| 16 | 4,76 ^b | 13,38 ^a | 13,38 ^a |
| URÉIA | | CCG | SCG |
| 1 | 3,49 ^a | 3,49 ^a | 3,49 ^a |
| 2 | 2,58 ^a | 4,73 ^a | 4,73 ^a |
| 4 | 4,55 ^a | 4,61 ^a | 4,61 ^a |
| 7 | 6,32 ^a | 14,40 ^a | 14,40 ^a |
| 10 | 8,72 ^b | 23,19 ^a | 23,19 ^a |
| 13 | 6,77 ^b | 25,71 ^a | 25,71 ^a |
| 16 | 5,95 ^b | 33,58 ^a | 33,58 ^a |
| pH | | CCG | SCG |
| 1 | 6,41 ^a | 6,41 ^a | 6,41 ^a |
| 2 | 6,49 ^a | 6,40 ^a | 6,40 ^a |
| 4 | 6,51 ^a | 6,39 ^b | 6,39 ^b |
| 7 | 6,57 ^a | 6,47 ^a | 6,47 ^a |
| 10 | 6,63 ^a | 6,45 ^b | 6,45 ^b |
| 13 | 6,50 ^a | 6,38 ^b | 6,38 ^b |
| 16 | 6,34 ^a | 6,36 ^b | 6,36 ^b |

Médias do mesmo parâmetro e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente (p<0,05) entre si.

ANÁLISES QUÍMICAS

Valores médios de BNV, Amônia, N-Trimetilamina, N-Óxido de Trimetilamina (mg/100g) e umidade (%) determinados em lulas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

| PARÂMETRO/PERÍODO (dias) | | LOTE A | | LOTE B | |
|--------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | | TRATAMENTO | | TRATAMENTO | |
| BNV | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 20.43 ^a | 20.43 ^a | 17.68 ^a | 17.68 ^a | 17.68 ^a |
| 2 | 19.71 ^a | 24.05 ^a | 14.85 ^a | 17.96 ^a | 17.96 ^a |
| 4 | 18.94 ^b | 26.56 ^b | 7.65 ^b | 19.23 ^a | 19.23 ^a |
| 7 | 16.64 ^b | 28.91 ^a | 7.67 ^b | 21.36 ^a | 21.36 ^a |
| 10 | 17.93 ^b | 45.93 ^a | 11.76 ^b | 26.46 ^a | 26.46 ^a |
| 15 | 36.34 ^b | 102.73 ^a | 32.56 ^b | 125.14 ^a | 125.14 ^a |
| AMÔNIA | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 15.62 ^a | 15.62 ^a | 18.13 ^a | 18.13 ^a | 18.13 ^a |
| 2 | 17.40 ^a | 19.89 ^a | 16.04 ^a | 19.20 ^a | 19.20 ^a |
| 4 | 14.92 ^b | 26.02 ^a | 12.68 ^b | 23.21 ^a | 23.21 ^a |
| 7 | 8.24 ^b | 24.42 ^a | 10.60 ^b | 29.28 ^a | 29.28 ^a |
| 10 | 10.00 ^b | 33.38 ^a | 12.02 ^b | 28.83 ^a | 28.83 ^a |
| 15 | 24.53 ^b | 58.50 ^a | 30.20 ^b | 97.26 ^a | 97.26 ^a |
| N-TRIMETILAMINA | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 0.47 ^a | 0.47 ^a | 0.47 ^a |
| 2 | 0.00 ^a | 0.00 ^a | 0.38 ^a | 0.40 ^a | 0.40 ^a |
| 4 | 0.12 ^a | 0.26 ^a | 0.23 ^b | 0.53 ^a | 0.53 ^a |
| 7 | 0.00 ^a | 0.38 ^a | 0.19 ^b | 0.55 ^a | 0.55 ^a |
| 10 | 0.56 ^b | 4.73 ^a | 0.66 ^b | 2.40 ^a | 2.40 ^a |
| 15 | 3.19 ^b | 36.21 ^a | 6.76 ^b | 59.62 ^a | 59.62 ^a |
| N-ÓXIDO DE TRIMETILAMINA | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 78.37 ^a | 78.37 ^a | 88.31 ^a | 88.31 ^a | 88.31 ^a |
| 2 | 85.82 ^a | 87.24 ^a | 99.21 ^b | 126.32 ^a | 126.32 ^a |
| 4 | 59.12 ^a | 97.30 ^a | 48.45 ^b | 87.74 ^a | 87.74 ^a |
| 7 | 39.23 ^b | 96.30 ^a | 56.06 ^b | 106.10 ^a | 106.10 ^a |
| 10 | 29.76 ^b | 101.69 ^a | 41.46 ^b | 126.71 ^a | 126.71 ^a |
| 15 | 19.30 ^b | 76.20 ^a | 26.31 ^a | 36.37 ^a | 36.37 ^a |
| UMIDADE | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 80.50 | 80.50 | 78.72 ^a | 78.72 ^a | 78.72 ^a |
| 2 | 82.17 | 80.67 | 82.32 ^a | 79.64 ^b | 79.64 ^b |
| 4 | 85.03 | 78.92 | 79.26 ^b | 84.23 ^a | 84.23 ^a |
| 7 | 84.75 | 79.49 | 80.23 ^a | 79.66 ^a | 79.66 ^a |
| 10 | 87.60 | 79.82 | 84.43 ^a | 80.53 ^b | 80.53 ^b |
| 15 | 86.96 | 80.34 | 85.99 ^a | 80.02 ^b | 80.02 ^b |

Médias do mesmo parâmetro e do mesmo lote, e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente (p<0,05) entre si.

Valores médios de Nitrogênio não Protéico (mg/100g), Aminoácidos livres, Triptofano livre, Uréia (mg/100g) e pH em lulas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA.

| PARÂMETRO/PERÍODO (dias) | | LOTE A | | LOTE B | |
|--------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | TRATAMENTO | | TRATAMENTO | |
| NITROGÊNIO NÃO PROTÉICO | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 0.79 ^a | 0.79 ^a | 0.79 ^a | 0.66 ^a | 0.66 ^a |
| 2 | 0.64 ^b | 0.78 ^a | 0.76 ^a | 0.61 ^b | 0.76 ^a |
| 4 | 0.45 ^b | 0.88 ^a | 0.83 ^a | 0.30 ^b | 0.83 ^a |
| 7 | 0.28 ^b | 0.88 ^a | 0.88 ^a | 0.38 ^b | 0.80 ^a |
| 10 | 0.15 ^b | 0.92 ^a | 0.92 ^a | 0.24 ^b | 0.77 ^a |
| 15 | 0.18 ^b | 0.89 ^a | 0.89 ^a | 0.14 ^b | 0.90 ^a |
| N-AMINOÁCIDOS LIVRES | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 2322.18 ^a | 2322.18 ^a | 1921.71 ^a | 1921.71 ^a | 1921.71 ^a |
| 2 | 1557.69 ^b | 1976.26 ^a | 1670.28 ^b | 2012.54 ^a | 2012.54 ^a |
| 4 | 1231.29 ^b | 2320.32 ^a | 742.81 ^b | 2196.32 ^a | 2196.32 ^a |
| 7 | 790.14 ^b | 2508.10 ^a | 972.64 ^b | 2262.69 ^a | 2262.69 ^a |
| 10 | 400.97 ^b | 2854.87 ^a | 716.38 ^b | 2320.11 ^a | 2320.11 ^a |
| 15 | 424.33 ^b | 2707.45 ^a | 560.80 ^b | 2655.04 ^a | 2655.04 ^a |
| TRIPTOFANO LIVRE | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 7.63 ^a | 7.63 ^a | 4.87 ^a | 4.87 ^a | 4.87 ^a |
| 2 | 7.53 ^b | 10.52 ^a | 6.91 ^b | 9.00 ^a | 9.00 ^a |
| 4 | 9.71 ^b | 18.32 ^a | 6.55 ^b | 11.74 ^a | 11.74 ^a |
| 7 | 6.70 ^b | 18.39 ^a | 8.96 ^b | 13.12 ^a | 13.12 ^a |
| 10 | 5.85 ^b | 24.61 ^a | 8.01 ^b | 14.50 ^a | 14.50 ^a |
| 15 | 5.85 ^b | 24.27 ^a | 7.42 ^b | 21.45 ^a | 21.45 ^a |
| URÉIA | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 23.56 ^a | 23.56 ^a | 14.73 ^a | 14.73 ^a | 14.73 ^a |
| 2 | 16.85 ^b | 17.65 ^a | 18.04 ^b | 21.07 ^a | 21.07 ^a |
| 4 | 14.59 ^b | 23.85 ^a | 6.67 ^b | 19.17 ^a | 19.17 ^a |
| 7 | 13.97 ^b | 46.41 ^a | 17.71 ^b | 42.99 ^a | 42.99 ^a |
| 10 | 7.21 ^b | 54.86 ^a | 13.84 ^b | 48.79 ^a | 48.79 ^a |
| 15 | 6.15 ^b | 55.73 ^a | 11.28 ^b | 69.84 ^a | 69.84 ^a |
| pH | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 6.61 | 6.61 | 6.61 ^a | 6.61 ^a | 6.61 ^a |
| 2 | 6.87 | 6.87 | 6.54 ^a | 6.49 ^b | 6.49 ^b |
| 4 | 6.24 | 6.55 | 6.43 ^b | 6.35 ^a | 6.35 ^a |
| 7 | 6.58 | 6.69 | 6.56 ^b | 6.60 ^a | 6.60 ^a |
| 10 | 6.78 | 6.78 | 6.39 ^b | 6.54 ^a | 6.54 ^a |
| 15 | 7.12 | 7.01 | 7.20 ^a | 7.21 ^a | 7.21 ^a |

Médias do mesmo parâmetro do mesmo lote, e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente (p<0,05) entre si.

ANÁLISES QUÍMICAS

Teores de N-BNV, N-Amônia, N-TMA, N-AAL, N-Triptofano, N-Uréia e N-O-TMA, expressos como % do NNP de lulas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| PARÂMETRO/PERÍODO | TRATAMENTO | |
|---------------------|--------------------|--------------------|
| N-BNV | CCG | SCG |
| 1 | 1,55 ^a | 1,55 ^a |
| 2 | 2,14 ^a | 2,20 ^a |
| 4 | 2,98 ^a | 2,23 ^b |
| 7 | 4,67 ^a | 3,20 ^b |
| 10 | 5,71 ^a | 3,23 ^b |
| 13 | 5,59 ^a | 3,54 ^b |
| 16 | 5,93 ^a | 4,17 ^b |
| N-Amônia | CCG | SCG |
| 1 | 1,38 ^a | 1,38 ^a |
| 2 | 1,89 ^a | 1,84 ^a |
| 4 | 2,52 ^a | 2,14 ^a |
| 7 | 4,06 ^a | 2,94 ^b |
| 10 | 5,07 ^a | 3,09 ^b |
| 13 | 4,51 ^a | 3,33 ^b |
| 16 | 5,06 ^a | 3,71 ^b |
| N-TMA | CCG | SCG |
| 1 | 0,05 ^a | 0,05 ^a |
| 2 | 0,05 ^b | 0,06 ^a |
| 4 | 0,04 ^a | 0,06 ^a |
| 7 | 0,13 ^a | 0,08 ^b |
| 10 | 0,15 ^a | 0,07 ^b |
| 13 | 0,13 ^a | 0,09 ^b |
| 16 | 0,24 ^a | 0,10 ^b |
| N-AAL | CCG | SCG |
| 1 | 59,58 ^a | 59,58 ^a |
| 2 | 58,73 ^a | 58,30 ^a |
| 4 | 59,77 ^a | 61,07 ^a |
| 7 | 66,73 ^a | 63,46 ^a |
| 10 | 75,46 ^a | 68,04 ^b |
| 13 | 72,89 ^a | 68,84 ^a |
| 16 | 76,38 ^a | 73,78 ^a |
| N-Triptofano | CCG | SCG |
| 1 | 0,05 ^a | 0,05 ^a |
| 2 | 0,08 ^a | 0,11 ^a |
| 4 | 0,18 ^a | 0,10 ^b |
| 7 | 0,32 ^a | 0,16 ^b |
| 10 | 0,35 ^a | 0,18 ^b |
| 13 | 0,43 ^a | 0,20 ^b |
| 16 | 0,51 ^a | 0,21 ^b |
| N-Uréia | CCG | SCG |
| 1 | 0,19 ^a | 0,19 ^a |
| 2 | 0,17 ^a | 0,28 ^b |
| 4 | 0,53 ^a | 0,29 ^b |
| 7 | 1,19 ^a | 0,88 ^b |
| 10 | 2,00 ^a | 1,22 ^b |
| 13 | 1,80 ^a | 1,44 ^a |
| 16 | 2,17 ^a | 1,77 ^b |
| N-O-TMA | CCG | SCG |
| 1 | 10,62 ^a | 10,62 ^a |
| 2 | 9,33 ^a | 10,88 ^a |
| 4 | 9,34 ^b | 14,53 ^a |
| 7 | 4,80 ^b | 9,86 ^a |
| 10 | 4,44 ^b | 10,11 ^a |
| 13 | 3,13 ^b | 9,75 ^a |
| 16 | 1,93 ^b | 8,72 ^a |

Médias do mesmo parâmetro e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

ANÁLISES QUÍMICAS

Teores de N-BNV, N-Amônia, N-TMA, N-AAL, N-Triptofano, N-Uréia e N-O-TMA, expressos como % do NNP de lulas armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA, lotes A e B.

| PARÂMETROS/PERÍODO (dias) | LOTE A | | LOTE B | |
|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | TRATAMENTO | | TRATAMENTO | |
| N-BNV | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 2,58 ^a | 2,58 ^a | 2,68 ^a | 2,68 ^a |
| 2 | 3,07 ^a | 3,10 ^a | 2,45 ^a | 2,36 ^a |
| 4 | 4,20 ^a | 3,02 ^b | 2,52 ^a | 2,32 ^b |
| 7 | 5,92 ^a | 3,27 ^b | 2,04 ^b | 2,67 ^a |
| 10 | 12,23 ^a | 5,00 ^b | 4,87 ^a | 3,45 ^b |
| 15 | 20,69 ^a | 11,58 ^b | 23,70 ^a | 13,90 ^b |
| N-Amônia | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 1,97 ^a | 1,97 ^a | 2,75 ^a | 2,75 ^a |
| 2 | 2,71 ^a | 2,56 ^a | 2,65 ^a | 2,52 ^a |
| 4 | 3,31 ^a | 2,96 ^a | 4,18 ^a | 2,81 ^b |
| 7 | 2,93 ^a | 2,77 ^a | 2,82 ^b | 3,66 ^a |
| 10 | 6,82 ^a | 3,64 ^b | 4,98 ^a | 3,76 ^b |
| 15 | 13,97 ^a | 6,60 ^b | 21,99 ^a | 10,80 ^b |
| N-TMA | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 0,00 ^a | 0,00 ^a | 0,07 ^a | 0,07 ^a |
| 2 | 0,00 ^a | 0,00 ^a | 0,06 ^a | 0,05 ^a |
| 4 | 0,03 ^a | 0,03 ^a | 0,08 ^a | 0,06 ^b |
| 7 | 0,00 ^a | 0,04 ^a | 0,05 ^b | 0,07 ^a |
| 10 | 0,38 ^a | 0,52 ^a | 0,27 ^a | 0,31 ^a |
| 15 | 1,81 ^b | 4,08 ^a | 4,92 ^b | 6,62 ^a |
| N-AAL | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 46,90 ^a | 46,90 ^a | 46,69 ^a | 46,69 ^a |
| 2 | 38,80 ^b | 40,77 ^a | 44,09 ^a | 42,25 ^b |
| 4 | 43,73 ^a | 42,22 ^b | 39,13 ^b | 42,47 ^a |
| 7 | 44,96 ^a | 45,45 ^a | 41,44 ^a | 45,31 ^a |
| 10 | 43,76 ^a | 49,76 ^a | 47,51 ^a | 48,41 ^a |
| 15 | 38,65 ^a | 48,85 ^a | 65,32 ^a | 47,19 ^b |
| N-Triptofano | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 0,13 ^a | 0,13 ^a | 0,10 ^a | 0,10 ^a |
| 2 | 0,16 ^b | 0,19 ^a | 0,16 ^a | 0,16 ^a |
| 4 | 0,30 ^a | 0,29 ^b | 0,30 ^a | 0,19 ^b |
| 7 | 0,33 ^a | 0,29 ^b | 0,33 ^a | 0,23 ^b |
| 10 | 0,55 ^a | 0,37 ^b | 0,46 ^a | 0,26 ^b |
| 15 | 0,53 ^a | 0,38 ^b | 0,74 ^a | 0,33 ^b |
| N-Uréia | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 1,39 ^a | 1,39 ^a | 1,04 ^b | 1,04 ^b |
| 2 | 1,22 ^a | 1,06 ^b | 1,39 ^a | 1,29 ^b |
| 4 | 1,51 ^a | 1,26 ^b | 1,02 ^a | 1,06 ^a |
| 7 | 2,32 ^b | 2,45 ^a | 2,20 ^b | 2,51 ^a |
| 10 | 2,29 ^b | 2,79 ^a | 2,67 ^b | 2,97 ^a |
| 15 | 1,63 ^b | 2,93 ^a | 3,83 ^a | 3,62 ^a |
| N-O-TMA | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | 9,89 ^a | 9,89 ^a | 13,41 ^a | 13,41 ^a |
| 2 | 13,36 ^a | 11,25 ^a | 16,37 ^a | 16,57 ^a |
| 4 | 13,12 ^a | 11,06 ^a | 15,95 ^a | 10,60 ^b |
| 7 | 13,95 ^a | 10,91 ^a | 14,93 ^a | 13,28 ^a |
| 10 | 20,30 ^a | 11,08 ^b | 17,19 ^a | 16,52 ^a |
| 15 | 10,99 ^a | 8,59 ^b | 19,15 ^a | 4,04 ^b |

Médias do mesmo lote e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

ANÁLISE INSTRUMENTAL DA COR

Valores de L*, a* e b* em pele e músculo de lulas, armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LC.

| PELE | | | |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--|
| PARÂMETRO/PERÍODO (dias) | TRATAMENTO | | |
| L* | CCG | SCG | |
| 1 | 44,45 ^a | 44,45 ^a | |
| 2 | 43,37 ^a | 42,34 ^a | |
| 4 | 45,94 ^a | 45,13 ^a | |
| 7 | 42,70 ^a | 43,08 ^a | |
| 10 | 41,28 ^a | 41,52 ^a | |
| 13 | 41,81 ^a | 39,53 ^a | |
| 16 | 39,11 ^a | 39,83 ^a | |
| a* | CCG | SCG | |
| 1 | 3,68 ^a | 3,68 ^a | |
| 2 | 8,16 ^a | 6,16 ^a | |
| 4 | 4,56 ^a | 5,01 ^a | |
| 7 | 8,12 ^a | 6,58 ^a | |
| 10 | 7,59 ^a | 7,86 ^a | |
| 13 | 8,40 ^a | 8,97 ^a | |
| 16 | 10,28 ^a | 9,49 ^a | |
| b* | CCG | SCG | |
| 1 | -0,06 ^a | -0,06 ^a | |
| 2 | 3,96 ^a | 2,39 ^a | |
| 4 | 2,48 ^a | 2,02 ^a | |
| 7 | 5,62 ^a | 2,62 ^a | |
| 10 | 4,89 ^a | 3,75 ^a | |
| 13 | 5,81 ^a | 4,93 ^a | |
| 16 | 5,87 ^a | 5,99 ^a | |
| MÚSCULO | | | |
| PARÂMETRO/PERÍODO (dias) | TRATAMENTO | | |
| L* | CCG | SCG | |
| 1 | 60,52 ^a | 60,52 ^a | |
| 2 | 60,20 ^a | 61,05 ^a | |
| 4 | 63,80 ^a | 56,85 ^b | |
| 7 | 64,65 ^a | 58,28 ^b | |
| 10 | 66,52 ^a | 61,13 ^b | |
| 13 | 65,36 ^a | 58,51 ^b | |
| 16 | 66,80 ^a | 61,72 ^b | |
| a* | CCG | SCG | |
| 1 | -1,13 ^a | -1,13 ^a | |
| 2 | -0,95 ^a | -0,94 ^a | |
| 4 | -1,61 ^b | 0,00 ^a | |
| 7 | -1,55 ^b | 0,38 ^a | |
| 10 | -1,76 ^b | 0,37 ^a | |
| 13 | -1,59 ^b | 1,82 ^a | |
| 16 | -1,49 ^b | 0,62 ^a | |
| b* | CCG | SCG | |
| 1 | -0,10 ^a | -0,10 ^a | |
| 2 | 0,24 ^a | 1,02 ^a | |
| 4 | -1,19 ^b | 0,33 ^a | |
| 7 | -0,91 ^b | 1,82 ^a | |
| 10 | -0,02 ^b | 1,26 ^a | |
| 13 | 0,56 ^b | 3,62 ^a | |
| 16 | 1,85 ^b | 4,79 ^a | |

Médias do mesmo parâmetro e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.

ANÁLISE INSTRUMENTAL DA COR

Valores de L*, a* e b* em músculo e pele de lulas, armazenadas em contato direto (CCG) e sem contato direto (SCG) com gelo, experimento LA, lotes A e B.

| PARÂMETROS/PERÍODO (dias) | | MÚSCULO | | | |
|---------------------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | LOTE A | | LOTE B | |
| | | TRATAMENTO | | TRATAMENTO | |
| L* | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | | 54,34 ^a | 54,34 ^a | 57,96 ^a | 57,96 ^a |
| 2 | | 55,70 ^a | 53,31 ^a | 64,77 ^a | 61,60 ^b |
| 4 | | 59,70 ^a | 55,95 ^b | 58,27 ^b | 64,83 ^a |
| 7 | | 61,79 ^a | 54,60 ^b | 62,08 ^a | 57,15 ^b |
| 10 | | 61,01 ^a | 55,41 ^b | 63,04 ^a | 55,80 ^b |
| 15 | | 54,19 ^a | 52,33 ^a | 58,55 ^b | 61,43 ^a |
| a* | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | | 0,04 ^a | 0,04 ^a | -0,87 ^a | -0,87 ^a |
| 2 | | -0,77 ^a | -0,46 ^a | -0,87 ^a | -0,20 ^a |
| 4 | | -0,92 ^b | 0,60 ^a | 1,70 ^a | -0,78 ^b |
| 7 | | -1,15 ^b | 0,54 ^a | 0,07 ^b | 2,30 ^a |
| 10 | | -0,87 ^b | 0,95 ^a | 0,49 ^b | 2,80 ^a |
| 15 | | -0,01 ^b | 6,38 ^a | 1,23 ^b | 6,26 ^a |
| b* | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | | -1,81 ^a | -1,81 ^a | 1,25 ^a | 1,25 ^a |
| 2 | | -1,10 ^b | 1,03 ^a | 0,76 ^b | 4,94 ^a |
| 4 | | -0,47 ^b | 1,74 ^a | 3,80 ^a | 1,96 ^a |
| 7 | | 0,50 ^b | 2,64 ^a | 3,87 ^a | 5,31 ^a |
| 10 | | 0,11 ^b | 2,36 ^a | 6,10 ^a | 6,53 ^a |
| 15 | | 6,27 ^a | 3,95 ^a | 9,57 ^a | 8,03 ^a |

| PARÂMETROS/PERÍODO (dias) | | PELE | | | |
|---------------------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | LOTE A | | LOTE B | |
| | | TRATAMENTO | | TRATAMENTO | |
| L* | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | | 45,06 ^a | 45,06 ^a | 46,00 ^a | 46,00 ^a |
| 2 | | 41,88 ^a | 39,11 ^a | 46,14 ^a | 45,19 ^a |
| 4 | | 38,44 ^a | 38,81 ^a | 44,89 ^a | 45,92 ^a |
| 7 | | 37,91 ^a | 39,51 ^a | 43,32 ^a | 41,73 ^a |
| 10 | | 35,55 ^a | 37,55 ^a | 40,31 ^a | 41,84 ^a |
| 15 | | 35,00 ^a | 36,33 ^a | 37,86 ^a | 40,94 ^a |
| a* | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | | 5,64 ^a | 5,64 ^a | 4,75 ^a | 4,75 ^a |
| 2 | | 7,54 ^a | 6,60 ^a | 5,41 ^a | 3,95 ^a |
| 4 | | 11,84 ^a | 8,80 ^b | 5,22 ^a | 5,08 ^a |
| 7 | | 11,65 ^a | 9,08 ^b | 6,25 ^a | 6,73 ^a |
| 10 | | 12,62 ^a | 9,75 ^b | 9,16 ^a | 7,25 ^a |
| 15 | | 10,31 ^b | 13,43 ^a | 9,31 ^a | 10,65 ^a |
| b* | | CCG | SCG | CCG | SCG |
| 1 | | 0,99 ^a | 0,99 ^a | 0,63 ^a | 0,63 ^a |
| 2 | | 2,53 ^a | 2,30 ^a | 1,30 ^a | 1,69 ^a |
| 4 | | 4,28 ^a | 4,02 ^a | 1,18 ^a | 2,08 ^b |
| 7 | | 4,96 ^a | 4,34 ^a | 2,37 ^a | 2,67 ^a |
| 10 | | 5,77 ^a | 3,96 ^a | 3,04 ^a | 4,09 ^a |
| 15 | | 4,36 ^a | 4,17 ^a | 4,24 ^a | 2,94 ^a |

Médias do mesmo lote e na mesma linha, seguidas de letras distintas, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si.