

Influência da embalagem a vácuo e do processamento a alta pressão na estabilidade do carapau seco

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre na área de
Tecnologia Alimentar

Vanessa Andreia da Silva Rodrigues

Orientador (es)

Orientador: Doutor António José Faria Raimundo

Co-orientador: Mestre Cristina Maria Carruço Laranjeira

Co-orientador: Mestre Maria Gabriela de Oliveira Lima

Basto de Lima

Agradecimentos

Ao apresentar este trabalho gostaria de expressar o meu reconhecimento a todos aqueles que contribuíram para a sua realização. Em especial quero agradecer:

À Frubaça pela oportunidade de realizar o meu estágio nas suas instalações;

À Raimundo & Maia pela disponibilidade na colaboração deste trabalho, disponibilizado o equipamento de vácuo para efetuar os ensaios;

Ao meu orientador, professor Doutor António Raimundo, pela disponibilidade prestada em todas as minhas solicitações, colaboração, conhecimentos transmitidos e capacidade de estímulo ao longo da realização deste trabalho.

À Eng.^a Carla Raimundo e Eng.^a Sara Silva, pela amizade, apoio, conhecimentos transmitidos e pela disponibilidade prestadas que sempre demonstraram;

Ao Eng.^o Hugo Almeida, pela sua colaboração e disponibilidade prestadas;

À minha co-orientadora Mestre Cristina Maria C. Laranjeira, pela amizade, apoio e disponibilidade que sempre demonstrou;

À minha co-orientadora Mestre Maria Gabriela O. L.B. Lima, minha, pela amizade, disponibilidade, sugestões e apoio prestados na realização das análises físico-químicas e no tratamento estatístico dos resultados obtidos;

A todos os funcionários da Frubaça que de alguma forma me apoiaram e colaboraram com a sua participação nos questionários e na análise sensorial;

A todos aqueles que tive a oportunidade de conhecer, conviver e trabalhar ao longo deste percurso académico, pela amizade, compreensão, apoio, paciência e pelos momentos agradáveis e inesquecíveis;

Aos meus pais e ao meu irmão pelo carinho, confiança, força e incentivo que sempre me transmitiram, pois sem o esforço deles não seria possível estar onde estou;

Ao Paulo Horta por estar sempre nos bons e maus momentos, pelo apoio, paciência, incentivo, compreensão e carinho ao longo deste percurso académico.

A todos bem hajam e Obrigado!

Resumo

Para valorização do carapau seco e rentabilização de equipamento para processamento a alta pressão (HPP), estudaram-se as influências do embalamento a vácuo, ou deste com HPP (400 MPa, 5 min), na estabilidade do produto, aos trinta dias após processamento.

Para avaliação da estabilidade realizaram-se análises físico-químicas (cor, textura, pH, ABVT, cinza total, cloreto de sódio e humidade), microbiológicas (contagem de microrganismos a 30°C) e análise sensorial.

Entre carapaus, carapaus embalados a vácuo e carapaus embalados a vácuo e submetidos a HPP: o ABVT foi superior no embalado a vácuo; a humidade foi mais elevada nos carapaus não processados; o sal foi reduzido pelo HPP, que aumentou o brilho e tornou os carapaus esverdeados e amarelados; o vácuo aumentou a intensidade da cor; e foram preferidos os carapaus não processados.

Os valores do ABVT e da contagem de microrganismos a 30°C indicam que o HPP retardou a degradação microbiológica.

Palavras-chave: carapau; salga; secagem; processamento por alta pressão (HPP); embalagem a vácuo; qualidade.

Abstract

To add value to horse mackerel and to maximize use of high pressure processing equipment (HPP), we studied the influence of vacuum packaging alone or combined with HPP (400 Mpa, 5 min.) on the product's stability, 30 days post processing.

To evaluate stability physicochemical (colour, texture, pH, TVB – N, ash, sodium chloride and humidity), microbiological (total count at 30°C) and sensory analyses were carried out.

Between mackerel, vacuum packed mackerel and vacuum packed and HPP processed mackerel: TVB–N was higher in vacuum packaging; humidity was higher in non processed mackerel; salt was reduced by HPP, which increased brightness and turned the fish greenish and yellowish; vacuum increased colour intensity; non processed mackerel was preferred.

TVB–N and total count at 30°C showed that HPP delayed microbiological deterioration.

Keywords: horse mackerel; salting; drying; high pressure processing (HPP); vacuum packaging; quality.

Índice geral

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract	III
Índice geral.....	IV
Índice de figuras	VIII
Índice de quadros	X
Lista de símbolos e abreviaturas	XIII
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E CARACTERIZAÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO.....	1
1.1. Introdução	1
1.2. Objetivos	3
1.3. Caracterização dos locais de estágio	4
CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Consumo de peixe.....	5
2.2. Características gerais do carapau	7
2.3. Valor do pH.....	8
2.4. Microbiologia do peixe	9
2.5. Alterações da qualidade do pescado	11
2.5.1. Alterações microbiológicas	11
2.5.2. Alterações químicas	12
2.5.3. Alterações enzimáticas.....	13
2.6. Processos de conservação.....	14
2.6.1. A desidratação.....	14
2.6.2.1. A salga	15
2.6.2.2. Secagem	16

2.6.2.	Armazenamento a vácuo.....	17
2.6.2.1.	Características do material de embalagem.....	18
2.6.3.	Tecnologia de alta-pressão.....	19
2.6.3.1.	Método Hidrostático.....	23
2.6.3.2.	Equipamento de alta pressão	24
2.6.3.3.	Efeito da alta pressão nos microrganismos	25
2.6.3.4.	Efeito da alta pressão nas proteínas e enzimas.....	27
2.6.3.5.	Efeito da alta pressão nos lípidos	29
2.6.3.6.	Efeito da alta pressão na cor	29
2.6.3.7.	Efeito da alta pressão na textura	30
2.7.	Parâmetros da qualidade.....	30
2.7.1.	Cor	30
2.7.1.1.	Medição da cor.....	31
2.7.1.2.	Sistema CIELab.....	32
2.7.2.	Textura	34
2.7.3.	Análise sensorial	35
CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS.....		37
3.1.	Ensaio prévio.....	37
3.1.1.	Processo aplicados.....	38
3.1.1.1.	Escolha, preparação, salga e secagem	39
3.1.1.2.	Parâmetros biométricos (pesagem e medição).....	40
3.1.1.3.	Embalagem (com e sem vácuo) e aplicação de HPP	40
3.1.1.4.	Exame organolético sumário	42
3.1.1.5.	Avaliação da estabilidade	42
3.2.	Ensaio experimental	43
3.2.1.	Processos aplicados.....	43
3.2.1.1.	Escolha, preparação, salga e secagem	44
3.2.1.2.	Parâmetros biométricos (pesagem e medição).....	45
3.2.1.3.	Embalagem (com e sem vácuo) e aplicação de HPP	45

3.2.1.4.	Avaliação da estabilidade e exame organolético sumário.....	45
3.3.	Métodos analíticos.....	46
3.3.1.	Avaliação física e química.....	46
3.3.2.1.	Determinação da cor.....	46
3.3.2.2.	Determinação da textura.....	47
3.3.2.3.	Determinação do valor do pH.....	48
3.3.2.4.	Determinação do teor de azoto básico volátil.....	49
3.3.2.5.	Determinação do teor de cinza total.....	49
3.3.2.6.	Determinação do teor cloretos de sódio.....	49
3.3.2.7.	Determinação do teor de humidade.....	50
3.3.2.	Avaliação microbiológica.....	50
3.3.2.1.	Contagem de microrganismos a 30°C.....	50
3.3.3.	Avaliação sensorial.....	50
3.3.4.	Análise e tratamento estatístico dos resultados.....	51
CAPÍTULO 4 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....		52
4.1.	Ensaio prévio.....	52
4.1.1.	Parâmetros biométricos.....	52
4.1.2.	Exame organolético sumário.....	52
4.1.2.1.	Exame organolético sumário no 1º dia.....	52
4.1.2.2.	Exame organolético sumário no 30º dia.....	53
4.1.3.	Contagem de microrganismos a 30°C ao 33º dia.....	54
4.1.4.	Conclusões do ensaio prévio.....	55
4.2.	Ensaio experimental.....	55
4.2.1.	Avaliação física e química.....	55
4.2.1.1.	Parâmetros biométricos.....	55
4.2.1.2.	Cor.....	56
4.2.1.3.	Textura.....	61
4.2.1.4.	Valor do pH.....	66
4.2.1.5.	Teor de azoto básico volátil total (ABVT).....	68

4.2.1.6.	Teor de cinza total	70
4.2.1.7.	Teor de cloreto de sódio	71
4.2.1.8.	Teor de humidade	73
4.2.2.	Avaliação microbiológica	74
4.2.2.1.	Contagem de microrganismos a 30°C	74
4.2.3.	Análise sensorial	75
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS		79
CAPÍTULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		80
Apêndice I - Resultados obtidos na determinação de parâmetros biométricos		89
Apêndice II - Quadros obtidos experimentalmente no colorímetro		94
Apêndice III - Gráficos obtidos experimentalmente no texturómetro		96
Apêndice IV - Análise de variância.....		99
Apêndice V - Questionário de pré-seleção.....		104
Apêndice V I - Folheto de análise sensorial		106
Apêndice VII - Ficha de análise sensorial		108

Índice de figuras

Figura 1 – Consumo de peixe por habitante/ por país e na EU a 27.	5
Figura 2 - Distribuição geográfica do carapau (<i>Trachurus trachurus</i>).....	7
Figura 3 – Utilização do tratamento HPP em diferentes segmentos industriais.....	20
Figura 4 - Diagrama de funcionamento do equipamento de processamento de alta pressão.....	25
Figura 5 – Equipamento de processamento de alta pressão.....	25
Figura 6 – Mecanismo proposto para a estabilização por pressão das enzimas. As interações entre as de proteína e moléculas água.....	27
Figura 7 - Espectro eletromagnético mostrando as bandas de comprimento de onda principais e a banda correspondente à luz visível.	31
Figura 8 - Sistema de coordenadas CIELab.	33
Figura 9 – Fatores que afetam a percepção das sensações.....	35
Figura 10 – Fluxograma de fabrico do ensaio prévio.	38
Figura 11 – “Estindarte” de secagem no peixe, na zona de secagem da Nazaré.	39
Figura 12 - Medidas comuns nos peixes.....	40
Figura 13 – Embaladora a vácuo.	41
Figura 14 – Fluxograma de fabrico para o ensaio experimental.....	44
Figura 15 - Colorímetro Minolta CR 400 e zonas de medição na amostra a analisar.	46
Figura 16 - Texturómetro Stevens Mechtric QTS 25.....	47
Figura 17 - Zonas de medição e ensaio de penetração.	48
Figura 18 – Organização da prova de análise sensorial.....	51
Figura 19 – Alterações de cor no carapau salgado seco, sem qualquer processamento ulterior, depois de submetido a vácuo ou a diferentes tratamentos de alta pressão, ou ambos.....	54
Figura 20 – Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro L* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	57
Figura 21 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro a* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	58
Figura 22 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro b* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	59
Figura 23 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro C* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	60
Figura 24 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro H ⁰ para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	61

Figura 25 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de fraturabilidade e dureza para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	62
Figura 26 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de módulo aparente (Map N.s ⁻¹) para os três lotes de carapau seco estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	64
Figura 27 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de força adesiva para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	64
Figura 28 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de adesividade para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	65
Figura 29 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do pH para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	67
Figura 30 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores para o parâmetro ABVT para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	69
Figura 31 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de cinza para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	71
Figura 32 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de cloreto de sódio para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	72
Figura 33 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de umidade para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	73
Figura 34 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de microrganismos a 30°C para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.	75
Figura 35 - Distribuição da classificação dos parâmetros de análise sensorial para os três lotes em estudo.	76
Figura 36 - Apreciação global do painel de provadores relativamente aos três lotes de carapau seco em estudo.	78
Figura 37 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o padrão, no 2º dia após embalagem.	97
Figura 38 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o Lote 1, no 2º dia após embalagem.	97
Figura 39 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o Lote 2, no 30º dia após embalagem.	98
Figura 40 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o Lote 3, no 30º dia após embalagem.	98

Índice de quadros

Quadro 1 – Quantidades de pesca descarregada por espécie, em Portugal e no Porto de Nazaré em 2011.	6
Quadro 2 – Composição nutricional do carapau cru.....	8
Quadro 3 – Bactérias patogénicas presentes no pescado.	10
Quadro 4 – Capacidade de desenvolvimento de bactérias não halófilas.....	10
Quadro 5 - Capacidade de desenvolvimento de bactérias halófilas.	10
Quadro 6 - Principais métodos de salga utilizados no processamento alimentar.	16
Quadro 7 - Condições de alta pressão aplicadas em diversos peixes.....	22
Quadro 8 – Resultados microbiológicos obtidos em diversos peixes com e sem aplicação do tratamento HPP.	26
Quadro 9 - O efeito do processamento de alta pressão em algumas enzimas em peixe.	28
Quadro 10 – Classificação de métodos de teste para a avaliação sensorial.	36
Quadro 11 - Condições de ensaio para determinar a textura.	47
Quadro 12 - Valores médios, mínimos, máximos e desvios padrões (δ) do comprimento total, á furca e standard, da largura e do peso individual para as 26 amostras do ensaio prévio.....	52
Quadro 13 - Contagem de microrganismos a 30°C em carapau seco embalado a vácuo com cerca de 33 dias após o início do ensaio prévio.	54
Quadro 14 – Valores médios e desvios padrões (δ) do comprimento total, á furca e standard, da largura e do peso individual para os lotes de carapau seco em estudo.	56
Quadro 15 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros da cor L*, a*, b*, C* e H° e cor média para os três lotes de carapau seco em estudo.	57
Quadro 16 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros de textura para os três lotes de carapau seco em estudo.	61
Quadro 17 - Valores médios e desvios padrão dos valores do pH obtidos para as duas metodologias realizadas.	66
Quadro 18 – Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro ABVT para os três lotes em estudo.....	68
Quadro 19 - Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro cinza total para os três lotes em estudo.	70
Quadro 20 - Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro cloreto de sódio para os três lotes em estudo.	71
Quadro 21 - Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro humidade para os três lotes em estudo.	73

Quadro 22 - Valores médios e desvios padrão dos valores obtidos na contagem de microrganismos a 30°C para os três lotes em estudo.	74
Quadro 23 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, á furca e standard, da largura e do peso individual) para os grupos de amostras do ensaio prévio.	90
Quadro 24 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, á furca e standard, da largura e do peso individual) para as amostras do Lote 1.	91
Quadro 25 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, á furca e standard, da largura e do peso individual) para as amostras do Lote 2.	92
Quadro 26 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, á furca e standard, da largura e do peso individual) para as amostras do Lote 3.	93
Quadro 27 - Valores obtida no colorímetro para o Lote 1, no 2º dia após embalagem. .	95
Quadro 28 - Valores obtidos no colorímetro para o Lote 2, no 30º dia após embalagem.	95
Quadro 29 – Valores de L*, a*, b*, ΔL*, Δa*, Δb*, ΔE obtidos no colorímetro e ce C* e Hº calculados para o Lote 3, no 30º dia após embalagem.	95
Quadro 30– Efeito do lote e da amostra (<i>Test de Wilks, One Way</i>), para as medidas biométricas dos lotes de carapau seco em estudo.....	100
Quadro 31 - Grupos homogêneos para o comprimento total (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.	100
Quadro 32 - Grupos homogêneos para o comprimento à furca (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.	100
Quadro 33 - Grupos homogêneos para o comprimento standard (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.	100
Quadro 34 - Grupos homogêneos para a largura (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	100
Quadro 35 - Grupos homogêneos para o peso individual (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	100
Quadro 36 – Efeito do lote e da amostra (<i>Test de Wilks, One Way</i>), para a cor e textura dos lotes de carapau seco em estudo.....	101
Quadro 37 - Grupos homogêneos para o parâmetro L* (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	101
Quadro 38 - Grupos homogêneos para o parâmetro a* (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	101
Quadro 39 - Grupos homogêneos para o parâmetro b* (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	101

Quadro 40 - Grupos homogêneos para o parâmetro C* (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	101
Quadro 41 - Grupos homogêneos para a fraturabilidade (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	101
Quadro 42 - Grupos homogêneos para a dureza (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	101
Quadro 43 - Grupos homogêneos para o módulo aparente (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.	102
Quadro 44 - Grupos homogêneos para a força adesiva (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	102
Quadro 45 - Grupos homogêneos para a adesividade (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	102
Quadro 46 - Efeito do lote e da amostra (<i>Test de Wilks, One Way</i>), para o valor do pH dos lotes de carapau seco em estudo.	102
Quadro 47 - Grupos homogêneos para a metodologia 1 (com H ₂ O) (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	102
Quadro 48 - Grupos homogêneos para a metodologia 2 (com KCl) (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	102
Quadro 49– Efeito do lote e da amostra (<i>Test de Wilks, One Way</i>), para o ABVT, cinza total, cloretos, microrganismos a 30°C, humidade dos lotes de carapau seco em estudo.	102
Quadro 50 - Grupos homogêneos para o ABVT (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.	103
Quadro 51 - Grupos homogêneos para a cinza total (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	103
Quadro 52 - Grupos homogêneos para os cloretos (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.....	103
Quadro 53 - Grupos homogêneos para a contagem de microrganismos a 30°C (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.	103
Quadro 54 - Grupos homogêneos para a contagem de microrganismos a 30°C (LSD Fischer <i>Post Hoc</i>) para os três lotes de carapau seco.	103

Lista de símbolos e abreviaturas

ABVT	Azoto básico volátil total
CO₂	Dióxido de carbono
DMA	Dimetilamina
EAM	Embalagem em atmosfera modificada
EV	Embalagem a vácuo
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations – (Organização para a Alimentação e Agricultura das Nações Unidas)
HPP	High-Pressure Processing - (Processamento por alta pressão)
INE	Instituto Nacional de Estatística
INSA	Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
MPa	Mega-Pascal
N-TMA	Azoto de trimetilamina
NEF	New Economics Foundation
NP	Norma portuguesa
OPA	Oriented polyamida - (poliamida orientada)
PE	Polietileno
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TMA	Trimetilamina
TMAO	Óxido de trimetilamina
TPC	Total place count - (contagem dos microrganismos totais)
UE	União Europeia
Ufc	Unidades formadoras de colónias

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E CARACTERIZAÇÃO DOS LOCAIS DE ESTÁGIO

1.1. Introdução

O carapau que se encontra na costa continental portuguesa é um teleósteo membro da grande família *Carangidae* e pertencente ao género *Trachurus*. Este género, identificado por Rafinesque em 1810, compreende a uma grande variedade de espécies, distribuídas praticamente por todos os mares do mundo (Costa, 2001).

A espécie *Trachurus trachurus L.*, tem o nome vulgar carapau branco e encontra-se distribuído pelo Oceano Atlântico - desde a Noruega ao Senegal, pelo Mar Mediterrâneo e pelo Mar Negro (Costa, 2001). Esta espécie de carapau é a espécie que sofre a tradicional secagem ao Sol, na região da Nazaré, e noutras regiões costeiras de Portugal.

Segundo o site MatrizNet (2012), a ação de secar o peixe é uma das mais tradicionais formas de conservar o pescado. Na Nazaré, tal como noutras localidades, é um saber feminino, transmitido informalmente, que continua a ter lugar de uma forma quotidiana e ao longo de todo o ano, no "estindarte" (estendal) localizado na zona sul do areal da Nazaré. São as mulheres quem compram o peixe, o amanhã, secam e vendem. O peixe é comprado na lota da Nazaré ou a intermediários. Pode ser comprado especificamente para esta finalidade ou ser colocado a secar pela peixeira pelo facto de não o ter vendido no mercado.

De acordo com Aubourg, Rodríguez, Sierra, Tabilo-Munizada, & Pérez-Won (2013 a), durante o armazenamento refrigerado de peixe, perdas significativas de valores sensoriais e nutricionais foram detetadas como resultado da atividade enzimática endógena, desenvolvimento microbiano e da oxidação lipídica.

Segundo Özogul, Polat & Özogul (2004), o peixe é um dos produtos alimentares mais altamente perecíveis e o prazo de validade de tais produtos é limitado na presença de ar atmosférico, por efeitos químicos de oxigénio e pelo crescimento de microrganismos de deterioração aeróbica. A modificação da atmosfera dentro da embalagem através da diminuição da concentração de oxigénio e, o aumento do teor de dióxido de carbono e/ou azoto, foi mostrado para prolongar significativamente a vida de prateleira de produtos alimentares perecíveis, a temperaturas de refrigeração. A

embalagem em atmosfera modificada (EAM) e a embalagem a vácuo (EV), juntamente com refrigeração, tornaram-se técnicas de preservação cada vez mais populares, que trouxeram grandes mudanças no armazenamento, distribuição e comercialização de produtos crus e processados para atender às procuras dos consumidores.

O efeito conservante específico do EAM em peixe está diretamente relacionada com as espécies de peixes, teor de gordura, conteúdo humidade, contagem microbiana inicial, pH, etc.. (Goulas & Kontominas, 2007).

Erkan *et al.* (2011 a) refere que o processamento de alta pressão é uma tecnologia que, potencialmente, aborda muitos, dos mais recentes desafios enfrentados pela indústria de peixes. Pode facilitar a produção de produtos alimentares que tenham a qualidade de alimentos frescos, e ainda a conveniência e rentabilidade associada a extensão da vida útil.

As vantagens da tecnologia HPP incluem efeitos mínimos sobre o sabor e atributos nutricionais no produto final. Alguns estudos efetuados em carnes e peixes têm mostrado que o HPP pode ser uma ferramenta útil para o processamento de tais produtos (Erkan, Üretener & Alpas, 2010 a). No entanto, a tecnologia também pode induzir a alterações importantes na textura e aparência.

Tendo em conta que este produto que é comercializado na zona da Nazaré, confeccionado apenas por alguns restaurantes da região e comprado por consumidores finais, surge a possibilidade de dar uma nova visão deste produto que é identitário da cultura nazarena através, se possível, da aplicação de vácuo e/ou da conjugação da aplicação de vácuo e da tecnologia de alta pressão.

1.2. Objetivos

Este trabalho teve como objetivo aliar um produto regional (carapau seco da Nazaré) a uma tecnologia emergente, a alta pressão após embalagem a vácuo, com o intuito de preservar as características organolépticas iniciais do carapau seco.

Com o intuito de valorizar este produto nacional, efetuou-se:

- Análise de técnicas populares de secagem do carapau;
- Análise das características do produto;
- Testes prévios das condições HPP;
- Fabrico de lotes definidos;
- Aplicação de embalagem a vácuo e do tratamento HPP;
- Análises físicas, químicas e microbiológicas;
- Análise sensorial dos lotes, de forma a determinar o que tem maior

aceitabilidade;

Com a finalidade de verificar os efeitos das tecnologias que se pretendem aplicar no produto, avaliou-se a influência do embalagem a vácuo e da conjugação do embalagem a vácuo com o processamento a alta pressão, ao fim de trinta dias após a sua aquisição e, comparou-se com o carapau seco *in natura* avaliado dois dias após aquisição (controlo). Para tal recorreram-se aos seguintes parâmetros:

- Análises físicas e químicas: parâmetros biométricos, cor, textura, pH, azoto básico volátil total (ABVT), cinza total, cloreto de potássio e o teor de humidade;
- Análises microbiológicas: contagem de microrganismos a 30°C;
- Análise sensorial.

1.3. Caracterização dos locais de estágio

Para o desenvolvimento desta dissertação, o género alimentício em estudo teve necessidade de passar por várias entidades: Raimundo & Maia, Lda.; Frubaça, CRL e Escola superior agrária de Santarém (ESAS).

A empresa Raimundo & Maia situada em Alcobaça (coordenadas GPS: N +39° 32' 45.46"; W -8° 57' 26.64"; latitude: 39.611137827170595; longitude: -8.99055540561676) foi fundada em maio de 1946 e, desde o seu início, teve como principal negócio os legumes secos. Os frutos secos constituem a segunda linha de produtos que comercializa.

A Frubaça, CRL é uma Cooperativa de Produtores de Fruta e Produtos Hortícolas sedeadada no Acipreste, a cerca de 6 km de Alcobaça (coordenadas GPS: N +39° 28' 29.57"; W 9° 1' 1.85"; latitude: 39.501552; longitude: -9.023266). Esta cooperativa foi fundada em 1986, iniciando a sua atividade em 1992 com a construção de uma Central Fruteira, criada com o intuito específico: de rececionar, de selecionar, de embalar, de conservar e de comercializar os produtos hortofrutícolas produzidos pelos seus associados. Mais tarde, em 2001 foi criada uma Unidade de Transformação de sumos naturais e purés de fruta, criada com o propósito de agregar valor à produção agrícola dos seus associados.

CAPÍTULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Consumo de peixe

Segundo a organização para a alimentação e agricultura das Nações Unidas (FAO), o consumo mundial de peixe alcançou níveis históricos ao contabilizar um consumo médio de 17 quilos por pessoa em 2010. De acordo com o estudo divulgado pelas Nações Unidas, para três milhões de pessoas o peixe representa 15% da dieta média de proteínas de origem animal, sendo que os valores conseguidos devem-se ao contínuo aumento da produção por aquicultura (Protege o que é bom, 2012).

O consumo de peixe em Portugal, dada a sua localização junto ao Oceano Atlântico, sempre teve um papel relevante na alimentação da população, sendo que o peixe ao longo da história não foi consumido apenas em fresco, mas também nas suas diversas formas de conservação (seco, salgado e fumado).

De acordo com Mendes, Costa & Leal (2012), os portugueses são os terceiros maiores consumidores de peixe no mundo e os primeiros da União Europeia (UE). Como se pode observar na **Figura 1**, o consumo de peixe em Portugal (55,6 kg/per capita/ano) é mais do dobro do consumo médio na EU-27. Na UE o consumo anual *per capita* é de, em média de 17 kg.

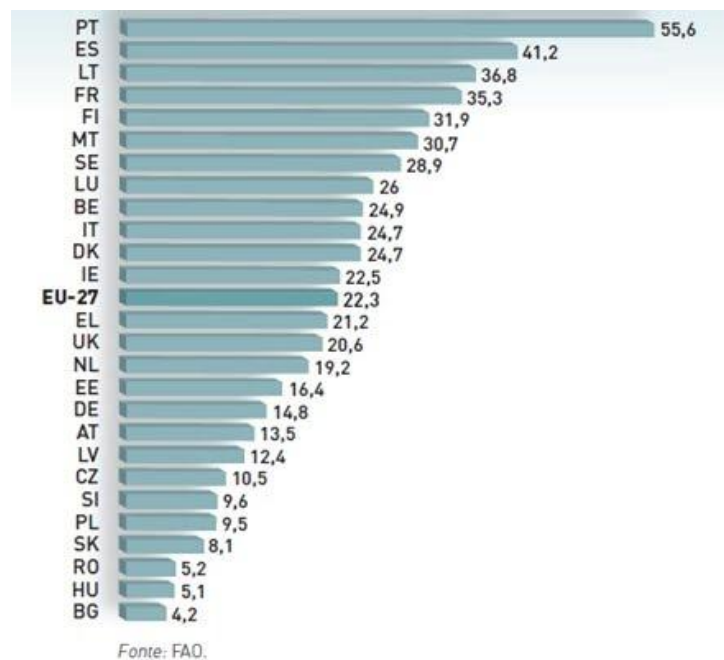


Figura 1 – Consumo de peixe por habitante/ por país e na EU a 27. Adaptado de Doca Pesca (2012).

Segundo relatório divulgado pela New Economics Foundation (NEF) e pela Transforming European fisheries (OCEAN2012), citado por Mendes *et al.* (2012), Portugal é um dos países da União Europeia (UE) mais dependente do pescado. O consumo nacional é superior ao que a frota portuguesa consegue pescar dentro da UE, o que torna o nosso país dependente da importação de peixe de países não comunitários.

Atualmente, não existe nenhum estudo sobre o padrão de consumo dos produtos da pesca existindo, apenas, dados relativos à pesca descarregada para as espécies principais, e por porto de descarga (**Quadro 1**). Do pescado fresco e refrigerado desembarcado pela frota nacional destacam-se, como mais abundantes, a sardinha, o carapau, a cavala e o polvo. O carapau é o peixe que mais prevalece nas descargas efetuadas no Porto da Nazaré.

Quadro 1 – Quantidades de pesca descarregada por espécie, em Portugal e no Porto de Nazaré em 2011.

Espécies	Portugal (ton.)	Nazaré (ton.)
Peixes marinhos	147 971	3 426
Atum e similares	13 877	9
Biqueirão	3 280	0
Carapau	10 024	1 398
Carapau negrão	4 265	191
Cavala	31 089	296
Congro ou safio	1 871	60
Peixe Espada Preto	5 556	0
Pescadas	2 223	275
Raias	1 535	101
Sarda	959	57
Sardinha	55 222	417
Sargos	881	42
Faneca	2 229	143
Linguado e azevia	1 021	28
Goraz	721	8
Moluscos	14 223	349
Ameijoas	992	0
Berbigão	1 617	0
Choco	1 522	11
Lulas	992	34
Polvos	7 272	297
Total	164 236	3 784

Adaptado de Instituto Nacional de Estatística (INE, 2012).

2.2. Características gerais do carapau

O carapau que se encontra na costa continental portuguesa é um teleósteo membro da grande família *Carangidae* e pertencente ao género *Trachurus* (Costa, 2001).

De acordo com Ângelo (2010), os carapaus da espécie *Trachurus trachurus* possuem um corpo fusiforme, comprimido lateralmente com uma tonalidade azul esverdeada no dorso, flancos prateados e ventre branco. A linha lateral é predominantemente formada por escamas em forma de escudos ósseos, podendo atingir um comprimento máximo de 45 cm mas em regra tem entre 10 e 30 cm.

De acordo com Ângelo (2010), o carapau distribui-se predominantemente pelas zonas subtropicais do Atlântico Nordeste, da Islândia à Ilha de Cabo Verde, Mar Mediterrâneo e Mar Marmara e raramente no Mar Negro. Também o podemos encontrar no Atlântico Oeste, Índico e Pacífico Oeste (**Figura 2**).

Sendo uma espécie oceânica pelágica e de nível trófico variável em função da quantidade de alimento disponível, encontra-se usualmente entre os 100 e os 200 m de profundidade, podendo ir até aos 500 m, formando grandes cardumes em áreas costeiras com fundos arenosos (Ângelo, 2010).

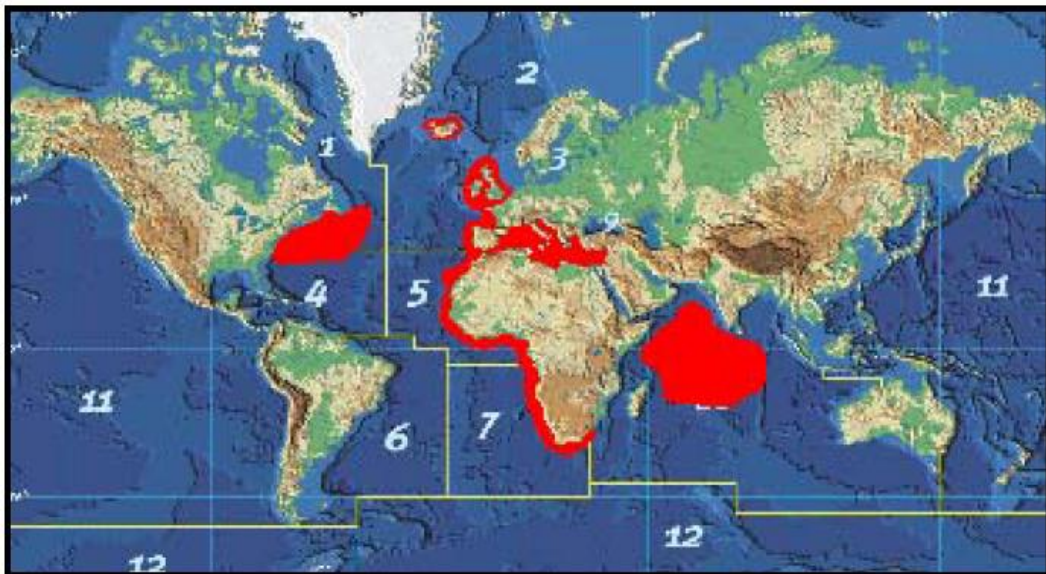


Figura 2 - Distribuição geográfica do carapau (*Trachurus trachurus*). Adaptado de Ângelo (2010).

Zonas de Pesca: (1) Atlântico Noroeste (FAO 21); (2) Atlântico Nordeste (FAO 27); (3) Mar Báltico (FAO 27); (4) Atlântico Centro-Oeste (FAO 31); (5) Atlântico Centro-Este (FAO 34); (6) Atlântico Sudoeste (FAO 41); (7) Atlântico Sudeste (FAO 47); (8) Mar Mediterrâneo (FAO 37); (9) Mar Negro (FAO 37); (10) Oceano Índico (FAO 51, 57); (11) Oceano Pacífico (FAO 61, 67, 71, 77, 81, 87); (12) Antártico (FAO 48, 58, 88).

De acordo com o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA, 2013), no **Quadro 2** encontra-se a quantidade de macroconstituintes para o carapau cru. Pode-se constatar que o carapau é um peixe magro, sendo por isso de mais fácil digestão, mas menos ricos em vitaminas e também em calorias.

Quadro 2 – Composição nutricional do carapau cru.

Componentes	Por 100 g	Por porção recomenda
Energia (kcal)	105	32
Energia (kJ)	439	132
Água (g)	75,6	22,7
Proteína (g)	19,7	5,9
Gordura total (g)	2,9	0,9
Total de Hidratos de Carbono disponíveis (g)	0	0
Total de Hidratos de Carbono expresso em monossacáridos (g)	0	0
Mono e dissacáridos (g)	0	0
Ácidos orgânicos (g)	0	0
Álcool (g)	0	0
Amido (g)	0	0
Oligossacáridos (g)	0	0
Fibra alimentar (g)	0	0

Adaptado de INSA (2013).

2.3. Valor do pH

Os processos de decomposição seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, alteram o valor de pH. O valor de pH em pescados e derivados é um dado indicativo do estado de conservação (Lutz, 1985, citado por Tete, 2012).

Após a morte ocorrem fenómenos de glicólise anaeróbia que resultam na acumulação de ácido láctico e, por essa via, reduzem os valores do pH muscular dos peixes e contração da musculatura, criando uma certa resistência à proliferação bacteriana e um aumento do tempo de conservação (Teixeira, 2012; Tete, 2012).

Segundo Huss (1995) e Howgate (2009), citado por Teixeira (2012), para além do nível de glicogénio presente inicialmente no músculo, o estado nutricional, a condição física e o stress anterior à morte têm efeito nos níveis de glicogénio armazenado e, conseqüentemente, no pH final do músculo após a morte. O valor de pH de um peixe fresco oscila comumente entre 6,0-6,5 (Tete, 2012).

Segundo Okeyo *et al.* (2009), a elevação do valor do pH indica a acumulação dos produtos de natureza básica, tais como a trimetilamina, a dimetilamina, amoníaco e algumas bases orgânicas, derivadas das ações microbianas e de enzimas endógenas (citado por Tete, 2012).

De acordo com Ray & Bhunia (2008), citado por Vieira (2010), o efeito do pH sobre o crescimento e viabilidade das células microbianas é bastante acentuado, na

medida que para cada espécie microbiana existe um valor do pH ideal dentro de uma gama de valores que favorecem o seu crescimento. Numa forma generalizada, os fungos (pH 1,5-9,0) e as leveduras (pH 2,0-8,5) comparativamente com as bactérias têm a capacidade de crescer a valores mais baixos do pH e são mais tolerantes a variações do mesmo. No entanto, as bactérias Gram-negativas (pH 4,5-9,0) são mais sensíveis a um pH baixo do que as bactérias Gram-positivas (pH 4,0-8,5).

Quanto mais baixo o pH do músculo, menor será o crescimento bacteriano (efeito desejável), mas também menor será a capacidade de retenção de água das proteínas musculares (efeito indesejável), pelo que interessa que haja um equilíbrio entre estes dois efeitos de redução do pH (Vaz-Pires, 2006).

2.4. Microbiologia do peixe

A carga microbiana inicial dependerá do grau de contaminação da água do mar, espécie de peixe e da arte de pesca utilizada para a captura (Santos, 2011). Segundo Frazier & Westhoof (1918), o número de bactérias do muco e da pele dos peixes marinhos pode variar entre 100 ufc a vários milhões por cm² e o fluido intestinal pode conter 10³ a 10⁸ ufc/ml (Santos, 2011).

De acordo com Huss (1997), no **Quadro 3** encontram-se representados os grupos de bactérias que podem estar presentes na microbiota do pescado ou amplamente distribuídos no meio aquático (bactérias indígenas) e os grupos de bactérias que se encontram no pescado, mas que no entanto não são naturalmente pertencentes a esse meio (bactérias não indígenas).

Segundo Huss (1997), a temperatura da água tem naturalmente um efeito seletivo. Assim, os organismos mais psicrótrópicos (*C. botulinum* e *Listeria spp.*) são frequentes no Ártico e nos climas mais frios, por outro lado os tipos mais mesofílicos (*V. cholerae* e *V. parahaemolyticus*) representam parte da flora natural do peixe de ambientes costeiros e estuarinos de zonas temperadas ou tropicais quentes.

Dependendo da espécie, os microrganismos diferem quanto à necessidade de oxigénio, existindo bactérias que prevalecem em meios sem oxigénio (bactérias anaeróbias) como bactérias que necessitam da presença de oxigénio (bactérias aeróbias) para sobreviverem e se desenvolverem.

Quadro 3 – Bactérias patogênicas presentes no pescado.

Grupo	Bactérias	Modo de atuação		Estabilidade térmica da toxina	Dose infecciosa mínima
		Infeção	Toxina pré-formada		
Bactérias indígenas	<i>Clostridium botulinum</i>	+	+	Baixa	-
	<i>Vibrio</i> sp.	+			Alta
	<i>V. cholerae</i>				-
	<i>V. parahaemolyticus</i>				(>10 ⁶ /g)
	outros vibrios ¹				-
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	+			Não conhecida
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	+			Não conhecida
	<i>Listeria monocytogenes</i>	+			Não conhecida/ Variável
Bactérias não indígenas	<i>Salmonella</i> sp.	+			desde <10 ² até >10 ⁶
	<i>Shigella</i>	+			10 ¹ -10 ²
	<i>E. coli</i>	+			10 ¹ -10 ³ ²
	<i>Staphylococcus aureus</i>		+	Alta	

¹Outros vibrios são: *V. vulnificus*, *V. hollisae*, *V. furnsii*, *V. mimicus*, *V. fluvialis*.

²Para a estirpe 0157:H7 produtora de verotoxina.

Adaptado de Huss (1997).

A concentração de sais é outro fator com grande influência no desenvolvimento de microrganismos, principalmente o cloreto de sódio (NaCl). O **Quadro 4** e **5** mostram a capacidade de alguns microrganismos se desenvolverem em determinadas concentrações de sal (Teixeira, 2012).

Segundo Jay (2000); Lacasse (1995), citado por Teixeira (2012), muitas bactérias anaeróbias formadoras de esporos (*Clostridium*) são sensíveis ao sal e muitas aeróbias formadoras de esporos (*Bacillus*) são tolerantes ao sal. As bactérias marinhas e a bactéria *Vibrio parahaemolyticus* são fracamente halófilas. Como exemplo de bactérias halófilas moderadas pode-se citar os *Microoccus* e algumas espécies de *Vibrio*. Quanto à halófilas extremas, o mais expressivo é o género *Halobacterium*, encontrado em salinas.

Quadro 4 – Capacidade de desenvolvimento de bactérias não halófilas.

Bactéria não halófila	Capacidade de desenvolvimento
Bactéria sensível ao sal	Não se desenvolve em concentrações de sal > 2%
Bactéria tolerante ao sal	Pode desenvolver-se em concentrações de sal > 2% mas o seu desenvolvimento é favorecido em concentrações < 2%

Adaptado de Teixeira (2012).

Quadro 5 - Capacidade de desenvolvimento de bactérias halófilas.

Bactéria halófila	Capacidade de desenvolvimento
Bactéria fracamente halófila	Concentração ótima para desenvolvimento é 2 a 5%
Bactéria halófila moderada	Concentração ótima para desenvolvimento é 5 a 20%
Bactéria halófila extrema	Concentração ótima para desenvolvimento é 20 a 30%

Adaptado de DasSarma & Arora (2001).

De acordo com Teixeira (2012), a concentração de hidrogeniões (pH) do ambiente tem grande influência no desenvolvimento dos microrganismos. Em geral, o limite de pH ácido para o desenvolvimento de bactérias é entre 4 a 5 e, o pH ótimo situa-se entre 7 e 8. No caso de leveduras e fungos, o limite é de cerca de 2 com o pH ótimo entre 4 a 6.

Segundo Gumus *et al.*, (2008), citado por Nunes (2001), o peixe seco-salgado é um produto relativamente estável, porém durante a conservação é possível ocorrer a sua deterioração microbiana. Para a evitar é fundamental que exista uma embalagem que proporcione uma barreira efetiva contra a humidade e a presença de oxigénio.

2.5. Alterações da qualidade do pescado

O peixe é um dos produtos que mais facilmente se deteriora. A sua deterioração inicia-se logo após a morte devido à combinação de vários processos físicos, químicos, biológicos e bioquímicos. A deterioração microbiológica, química e enzimática resultam em desnaturação/hidrólise de proteínas, oxidação lipídica e formação de compostos que conferem odor e sabor desagradável ao peixe como também alterações na textura (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006; Zare, 2004, citado por Fidalgo, 2011).

Estas alterações podem ser intensificadas por certas circunstâncias tais como: exposição ao sol, as chuvas, às poeiras, aos fumos industriais, aos insetos e aos ratos; a falta de evisceração ou evisceração incompleta; danos provocados durante o manuseamento; adição de sais marinhos ou gelo sujo; desidratação; transporte em embalagens em mau estado; o mau acondicionamento do pescado no transporte; a pressão e calor excessivos (Tete, 2012; Zare, 2004).

2.5.1. Alterações microbiológicas

Os constituintes do peixe (por exemplo, hidratos de carbono, proteínas e lípidos) servem como substrato para a proliferação de microrganismos presentes no peixe, que juntamente com enzimas endógenas, produzem compostos de sabor desagradável, provocam a deterioração da textura, descoloração e outras alterações adversas no músculo do peixe (Zare, 2004).

De acordo com Zare (2004) e Fidalgo (2011), muitas bactérias têm a capacidade de reduzir o óxido de trimetilamina (TMAO) a trimetilamina (TMA), através da enzima N-óxido de trimetilamina redutase (TMAO redutase). A atividade desta enzima é que

provoca o odor a peixe estragado, sendo um bom indicador da deterioração microbiológica dos peixes. O TMAO também é um precursor da formação de dimetilamina (DMA) e formaldeído, sendo a reação catalisada pela enzima N-óxido de trimetilamina aldolase (TMAO aldolase). A DMA é uma amina secundária com odor mais suave que a TMA, no entanto, o formaldeído é altamente reativo e afeta fortemente a textura da carne de peixe, tornando-a mais dura, fibrosa e menos suculenta.

Segundo Mossel *et al.* (1995), citado por Santos (2011), os parâmetros que afetam a proliferação dos microrganismos nos produtos da pesca podem ser agrupados em quatro grupos:

(1) Parâmetros intrínsecos - são as propriedades químicas, físicas e estruturais do alimento (potencial redox, acidez, disponibilidade de água, etc.);

(2) Parâmetros extrínsecos - são fatores no ambiente onde o alimento é armazenado (temperatura, humidade, etc.);

(3) Práticas de processamento e preservação - tratamentos químicos ou físicos que alteram frequentemente a estrutura do alimento determinando desta forma a microbiota associada ao produto.

(4) Parâmetros implícitos - são influências simultâneas, sinérgicas e antagonistas. Estas são o resultado do desenvolvimento de microrganismos que podem ter um efeito sinérgico ou antagonista na atividade microbiana de outros microrganismos presentes nos alimentos.

2.5.2. Alterações químicas

De acordo com Zare (2004), a deterioração química do peixe pode acontecer por hidrólise ou oxidação de compostos presentes no músculo provocando alterações sensoriais e nutricionais que muitas vezes são desagradáveis para o consumidor. As principais consequências são: perda de água, vitaminas, proteínas importantes, alteração de odor e sabor por formação de compostos voláteis e formação de ranço.

Segundo Zare (2004) e Fidalgo (2001), a deterioração química dos lípidos pode ocorrer por acastanhamento não-enzimático ou rancidez (hidrolítica ou oxidativa). O acastanhamento não enzimático provoca alteração na cor do músculo e basicamente deve-se a reação entre lípidos oxidados e proteínas. A rancidez hidrolítica deve-se a ação de agentes químicos que hidrolisam as ligações éster nos lípidos, formando ácidos gordos livres saturados ou insaturados; enquanto a rancidez oxidativa envolve a oxidação dos ácidos gordos insaturados que estão presente nos lípidos, pela via da formação de radicais livres. A oxidação dos lípidos é afetada por vários fatores: grau de saturação dos

ácidos gordos, temperatura, luz, atividade da água e pH. A oxidação dos lípidos também pode ser afetada por substâncias conhecidas por pro-oxidantes, que têm a capacidade de acelerar o processo de oxidação. Substratos como os aminoácidos, compostos hémicos, ácidos orgânicos e pigmentos são capazes de catalisar a reação de oxidação em associação com alguns iões (sendo os mais importantes: Cu^{2+} , Fe^{2+} e Fe^{3+}).

De acordo com Howgate (2009) e Huss (1995), o ABVT é constituído pela trimetilamina que tem a sua origem na degradação microbiológica, dimetilamina que é produzida por reações autolíticas de degradação durante o armazenamento, amónia (provém da desaminação dos aminoácidos e catabolitos de nucleótidos), entre outros compostos nitrogenados básicos voláteis associados à degradação do pescado (citado por Teixeira, 2012)

Segundo Cascado (2005), a utilização do teor de ABVT, azoto de trimetilamina (N-TMA) e histamina como índice de degradação tem como limitação as diferenças que se podem encontrar entre espécies, época do ano, habitat e modo de captura (citado por Teixeira, 2012).

2.5.3. Alterações enzimáticas

A alta perecibilidade do pescado é explicada pela sua grande susceptibilidade às alterações provocadas por enzimas autolíticas e pela ação de microrganismos. O peixe passa por três fases desde a sua captura até à putrefação: pré -*rigor mortis*, *rigor mortis* e pós-*rigor mortis*. Na primeira fase (pré-*rigor*) os músculos do pescado são flácidos, ocorre a glicólise anaeróbica, a qual se manifesta pela formação de ácido láctico e, conseqüentemente, diminuição do pH do músculo, de aproximadamente 7,2, para valores de pH mais ácidos (5,3-5,8) (Fidalgo, 2010; Damasceno, 2009).

Segundo Damasceno (2009), ocorre a degradação do ATP por desfosforilação e desaminação, que leva à fusão irreversível da actina e da miosina (sarcómeros contraídos), estabelecendo, assim, o *rigor mortis*. O esforço que o peixe realiza para libertar-se da rede, do anzol, da lança e de outros métodos de captura consome parte de suas reservas energéticas, esgotando as substâncias necessárias para a contração muscular. A glicogenólise desencadeia o rompimento das paredes dos lisossomas, liberando as enzimas neles contidos, iniciando-se, então, a hidrólise de proteínas e gorduras no tecido muscular, o que se constitui no fenómeno da autólise, a qual gera substratos para a ação bacteriana, ou seja, aminoácidos e outras substâncias nitrogenadas não-proteicas presentes no músculo, como o óxido de trimetilamina, ureia e histidina.

Decorrido certo tempo, o peixe ingressa no pós-*rigor*, os músculos amolecem, em consequência das proteólises nos miofilamentos e no estroma, tem-se o desdobramento da adenosina-trifosfato (ATP) e formação de amônia (além de outros compostos voláteis), com notável aumento de bactérias e de suas enzimas, cujas atividades são predominantemente proteolíticas e lipolíticas (Damasceno, 2009).

Os ácidos gordos polinsaturados presentes no peixe também podem ser oxidados por ação de enzimas oxidativas, originando odores e sabores por vezes desagradáveis. Após a morte do peixe, estes lípidos podem sofrer dois tipos de alterações: lipólise e oxidação. Os lípidos podem ser hidrolisados por enzimas lipolíticas (lípases) originando glicerol e ácidos gordos polinsaturados, que são facilmente oxidados por enzimas oxidativas. Estas enzimas podem ter origem endógena ou microbiológica (Zare, 2004; Fidalgo, 2011). As lipases são relativamente ativas em baixa atividade de água, embora o aumento nas condições de atividade de água aumente a ação enzimática. As lipases são enzimas exocelulares, que podem atuar na gordura do alimento, mesmo após a destruição da célula microbiana, por processos tecnológicos (Damasceno, 2009).

Qualquer processo de diminuir a quantidade e/ou a disponibilidade de água de um alimento permite atrasar a atividade das enzimas (também elas dependentes da água para atuar) e o desenvolvimento de microrganismos e, conseqüentemente, o aumento do tempo de conservação desse alimento (Vaz-Pires, 2006).

2.6. Processos de conservação

O carapau seco é tradicionalmente submetido a salga e a desidratação física ao sol. Neste trabalho utilizou-se a embalagem a vácuo procedendo-se de seguida a submissão à tecnologia de alta pressão (HPP). Todos estes processos envolvidos são processos de conservação do produto em estudo.

2.6.1. A desidratação

A desidratação é um método de conservação que permite reduzir o teor de humidade, que pode ser efetuada quer por meios físicos ou químicos (agentes químicos), ou pela combinação dos dois meios.

A redução do teor de água no alimento torna inativos os microrganismos, desacelerando as reações enzimáticas e químicas de alteração.

Os principais métodos de desidratação são: salga, a secagem natural, secagem artificial, fumagem e a liofilização.

2.6.2.1. A salga

A salga é um dos processos de conservação mais tradicionais utilizados em alimentos, remontando a sua aplicação a civilizações do antigo Egito e da Mesopotâmia, há 4.000 anos A. C.. Atualmente, este processo demonstra uma ampla aplicabilidade, quer por razões económicas devido ao baixo custo quer por atender a hábitos de consumo (Lemos, 2004, citado por Boscolo & Feiden, 2007).

O processo de salga baseia-se no princípio da desidratação osmótica. Os tecidos do peixe vivo atuam como membranas semipermeáveis e após a morte do animal, estas se tornam permeáveis, permitindo assim, a entrada do sal por difusão, à medida que ocorre a desidratação dos tecidos. Portanto, na salga ocorre a remoção de água dos tecidos e a sua parcial substituição por sal, visando diminuir ou até mesmo impedir a decomposição do pescado, seja por autólise, seja pela ação dos microrganismos (Boscolo & Feiden, 2007).

A salga permite o aumento do prazo de validade dos alimentos devido à redução da atividade da água, como também à diminuição do valor de pH (Lauritzsen, 2004). Ocorre a inibição da atividade enzimática, tanto de enzimas próprias do pescado como as produzidas por bactérias e, há ainda uma redução no desenvolvimento de microrganismos aeróbicos, em face da diminuição da solubilidade do oxigénio na salmoura, ou pela desinfecção direta do produto com iões Cl⁻. Porém o princípio consiste na retirada de humidade tissular, paralelamente a entrada de sal (Ogawa & Maia, 1999; citado por Boscolo & Feiden, 2007).

Durante a salga ocorre desnaturação das proteínas do pescado, verificando-se o desdobraimento destas em peptídeos e aminoácidos, este facto também é observado para as gorduras do pescado (Bastos, 2008).

Os métodos de salga aplicados diferem em relação ao mecanismo de transferência de massa e aos rendimentos de peso final existentes (Thorarinsdottir, 2010, citado por Fidalgo 2011). Entre os vários métodos de salga que existem atualmente (**Quadro 6**), salientam-se: a salga húmida (*picke salting*), a salga seca (*dry salting ou kench curing*), a injeção de salmoura (*injection salting*), a salga em salmoura (*brine salting*) e a salga em vácuo (*vacuum salting*) (Fidalgo, 2011).

Quadro 6 - Principais métodos de salga utilizados no processamento alimentar.

Tipo de salga	Características
Salga húmida (<i>pickle salting</i>)	O peixe é sobreposto em camadas alternadas com sal. A entrada de sal é iniciada por extração do líquido do músculo do peixe e solubilização do sal. Uma salmoura saturada é formada na superfície dos filetes que extrai mais humidade do músculo. O sal difunde da superfície para o interior do músculo, enquanto a água migra na direção oposta (do interior para o exterior).
Salga seca (<i>dry salting</i> ou <i>kench curing</i>)	É caracterizado pela distribuição do sal pela superfície do peixe, que tal como acontece na salga húmida, forma-se uma salmoura a superfície, mas neste caso é escoada da superfície. Durante o processo de salga as proteínas solúveis passam do músculo para a salmoura, pois o sal que difunde forma complexos com as proteínas.
Injeção de salmoura (<i>injection salting</i>)	O músculo adquire uma concentração homogénea de sal num curto espaço de tempo comparado com os outros métodos. As injeções são realizadas utilizando uma máquina específica, que é programada antecipadamente com o número de injeções e a pressão a realizar. No entanto existe o risco de contaminação microbiológica e possível dano da estrutura muscular devido a pressão aplicada.
Salga em salmoura (<i>brine salting</i>)	É caracterizada pela imersão dos filetes dentro numa salmoura preparada com sal e água da torneira (numa concentração aproximada de 18-25% NaCl). A difusão do sal no músculo depende de vários fatores, como a concentração e composição da salmoura, a forma e espessura do produto, etc. A temperatura deve ser baixa (2-4°C) para minimizar o crescimento microbiológico.
Salga em vácuo (<i>vacuum salting</i>)	Este tipo tem sido utilizado e tem resultado numa entrada de sal e água muito mais rápida do que a salga seca.

Adaptado de Fidalgo (2011).

A salga poderá ser influenciada por diversos fatores, relacionados com o próprio sal, com a matéria-prima destinada à salga e até com fatores climáticos. Entre estes fatores relacionados com o sal, temos a pureza, a concentração granulométrica e de microflora do sal; os fatores relacionados com a matéria-prima: o índice de frescura, conteúdo de gordura, espessura do músculo; entre os fatores relacionados com o clima temos a temperatura ambiente e a humidade relativa (Bastos, 2008).

2.6.2.2. Secagem

A secagem pode ser efetuada por métodos naturais e/ou artificiais. No primeiro caso a secagem se realiza expondo-se o pescado ao sol e ao vento, enquanto a secagem artificial é procedida em secadores onde as condições termodinâmicas são pré-estabelecidas.

Secagem natural ou tradicional

Segundo Sanchez (1965), citado por Bastos (2008), a secagem natural do pescado é procedida mediante exposição da matéria-prima a radiação solar e ao vento. Este método é antigo e depende de condições climáticas para a sua realização. Em dias

de intenso calor e sol brilhante não se deve expor o pescado à radiação solar e sim à sombra. Deve-se também proteger o pescado contra humidade de qualquer origem. A operação de secagem realiza-se durante o dia, enquanto à noite o pescado é empilhado. Na secagem natural ou ao ar livre é impossível controlar as condições termodinâmicas de secagem (temperatura, humidade relativa e velocidade do ar), porém em certas épocas do ano tais condições são bastante apropriadas para a secagem natural.

Secagem artificial

A secagem controlada do pescado foi iniciada em 1940, pela Torry Research Station (Inglaterra), mediante o uso de equipamento dotado de condições termodinâmicas de secagem controladas (Bastos, 2008).

A secagem artificial do pescado é efetuada em secadores artificiais projetados para operar em condições termodinâmicas que permitam um processo artificial de secagem adequado. No referido secador, a temperatura, a velocidade do ar e a humidade relativa podem ser ajustadas para operarem em faixas de valores perfeitamente controladas, levando-se em consideração a matéria-prima (Furuya, 1958, citado por Bastos, 2008). De acordo com alguns autores, a temperatura de secagem dentro do secador deverá estar na faixa de 30 a 40°C, a velocidade do ar entre 2 e 3 m/s e a humidade relativa deverá ser de 45 a 55% (Jason, 1965 e Wirth, 1975, citado por Bastos, 2008).

2.6.2. Armazenamento a vácuo

A embalagem a vácuo (EV) é definida como o acondicionamento do produto em embalagens com barreira aos gases nas quais o ar é removido para prevenir o crescimento de organismos deteriorantes, a oxidação e a descoloração do produto. De acordo com a maioria dos pesquisadores, esse tipo de embalagem é considerado uma forma de EAM, visto que ao remover o ar, a atmosfera no interior da embalagem é modificada. Sob estas condições, o O₂ residual é utilizado pela microbiota aeróbica residente, produzindo CO₂ (10-20%) e fazendo com que o potencial redox tenda a ficar negativo. Estas mudanças no potencial redox e na composição da atmosfera suprimem o crescimento de bactérias aeróbias deteriorantes que produzem a viscosidade,

rancificação e descoloração indesejáveis no produto (Blakistone, 1999; Mantilla, Mano, Vital & Franco, 2010).

A EV possui a vantagem de ser uma técnica simples, porém, a compressão que causa no alimento pode diminuir sua forma original e/ou aumentar o exsudado da carne, perda por gotejamento, descoloração, e produção de histamina são os principais problemas potenciais durante o armazenamento de peixes, moluscos e crustáceos em EAM (Mantilla *et al.*, 2010; Özogul *et al.*, 2004).

A EV juntamente com refrigeração tornaram-se técnicas de preservação cada vez mais populares, que trouxeram grandes mudanças no armazenamento, distribuição e comercialização de produtos crus e processados para atender às exigências dos consumidores.

Sistemas EAM poderiam proporcionar melhoria na vida de prateleira aos produtos marinhos, nomeadamente às suas características. No entanto, sem dúvida, a preocupação mais importante com o uso de atmosfera modificada e produtos de EV é o potencial para o crescimento e a produção de toxinas (*Clostridium botulinum* do tipo E), que pode crescer a temperaturas baixas (Church, 1998; citado por Özogul *et al.*, 2004).

A vida de prateleira dos produtos da pesca no EAM pode ser estendida, dependendo da matéria-prima, da temperatura, do gás das misturas e os materiais de embalagem (Özogul *et al.*, 2004).

2.6.2.1. Características do material de embalagem

O sucesso da utilização da EAM - em que se inclui a embalagem a vácuo - está intimamente relacionado com a qualidade dos materiais utilizados na embalagem do produto. Estes têm como finalidade manter a atmosfera interna isolada do ambiente externo, e devem possuir características específicas como: resistência à abrasão, rutura e perfuração; espessura adequada a fim de evitar micróporos e transparência permitindo sempre a visualização do produto (Salgado, 2006).

Os polímeros mais utilizados em EAM são o polietileno, a poliamida, o polipropileno, o poliestireno, o cloreto de polivinil (PVC), o cloreto polivinileno, o poliéster, o etilvinilálcool, e as combinações entre estes, com o intuito de melhorar a eficiência da película (Stammen, 1990; citado por Salgado, 2006).

Neste trabalho para embalar os carapaus secos a vácuo utilizaram-se sacos de plástico, compostos por poliamida orientada (OPA) e polietileno (PE).

As poliamidas (PA) são mundialmente utilizadas, sobretudo devido à alta resistência à tenacidade, ao impacto, à flexão, à perfuração e à abrasão, à boa

resistência térmica, química e à gordura. Elas podem ser termoformáveis, além de possuírem boas propriedades de barreira a gases e aromas. As PA são muito permeáveis ao vapor de água e a humidade absorvida exerce efeito plastificante no polímero, promovendo alterações nas propriedades mecânicas e nas propriedades de barreira, com considerável aumento de permeabilidade ao oxigénio (Félix, Manzoli, Padula & Monteiro, 2008).

O PE de baixa densidade é utilizado em vários plásticos por ser muito versátil, porém sua permeabilidade é moderadamente baixa para o vapor de água, mas alta para o O₂; também apresenta um reduzido efeito de barreira contra os odores (Mantilla *et al.*, 2010).

2.6.3. Tecnologia de alta-pressão

Atualmente, o consumidor procura produtos que sejam frescos e saudáveis. Face a esta exigência cada vez maior por parte dos consumidores têm-se verificado uma tendência do mercado alimentar que vai de encontro a produtos pouco ou nada processados.

Na sequência desta tendência, têm surgido novas tecnologias para pasteurizar alimentos com o mínimo de processamento possível, que tentaram evitar o recurso ao aquecimento como meio de pasteurização.

A alta pressão é uma das tecnologias emergentes que se destaca pelo facto de processar os alimentos a frio, não ficando estes “cozidos”, preservando a cor, aroma e os compostos nutritivos (normalmente termosensíveis) (Salvador, 2009).

Apesar das tentativas iniciais de aplicar a tecnologia de alta pressão (HPP) no processamento de alimentos remontar para o final do século XIX, o verdadeiro potencial da tecnologia HPP na indústria alimentar ocorreu no final da década de 1980 (Erkan *et al.*, 2010 a). Tornou-se uma tecnologia implementada comercialmente, espalhando-se desde as suas origens no Japão, seguido pelos EUA e Europa, dada a sua aceitação pelo mundo teve um aumento quase exponencial desde 2000 (Erkan *et al.*, 2011 a).

O HPP é utilizado em diversos segmentos da indústria alimentar (**Figura 3**) sendo que, quase metade representa carne, produtos de carne, peixe e produtos do mar (Heiny & Buckow, 2009).



Figura 3 – Utilização do tratamento HPP em diferentes segmentos industriais. Adaptado de Campus (2010).

O tratamento HPP tem sido testado, para diversos fins e em diversos peixes e em diversas condições, conforme pode ser observado no quadro-resumo que se segue (**Quadro 7**).

Quadro 7 - Condições de alta pressão aplicadas em diversos peixes.

Referências bibliográficas	Produto	Condições HPP	Total tratamentos aplicados	Melhores condições	Parâmetros avaliados
Erkan <i>et al.</i> , (2011 a)	Carapau (<i>trachurus trachurus</i>) Peso médio: 40,12 ± 4.94 g Comprimento médio: 17.03 ± 1.22 cm	Pressão: 220, 250 e 330 MPa Tempo: 5 e 10 mim Temperatura: 7, 15 e 25°C	18	- 250 MPa, 7-15° C, 5 mim; - 220 MPa, 15-25°C, 5 mim; - 250 MPa, 15°C, 10 mim; - 330 MPa, 25°C, 10 mim;	- Ácido tiobarbitúrico(TBA) - Aminoácidos livres - Azoto trimetilamina (TMA-N) - Cor
Erkan <i>et al.</i> , (2011 b)	Salmão fumado, dividido em porções de 15g	Pressão: 220, 250 e 330 MPa Tempo: 5 e 10mim Temperatura: 3,7, 15 e 25°C	24	- 220 MPa, 3° C, 5 mim; - 250 MPa, 3°C, 5 mim; - 330 MPa, 15°C, 5 mim; - 250 MPa, 25°C, 10 mim; <u>Amostras com shelf life de 8 semana (+ 2 semanas amostras s/HPP):</u> - 250 MPa, 3°C, 5 mim; - 250 MPa, 25°C, 10 mim;	- Ácido tiobarbitúrico (TBA) - Ácidos livres - Análise microbiológica (TPC) - Análise sensorial - Azoto básico volátil total (TVB-N) - Azoto trimetilamina (TMA-N) - Cor - pH
Erkan <i>et al.</i> , (2010 b)	Robalo (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	Pressão: 220, 250 e 330 MPa Tempo: 5 e 10mim Temperatura: 3,7, 15 e 25°C	24	- 220 MPa, 25°C, 5 mim;	- Ácido tiobarbitúrico(TBA) - Azoto trimetilamina (TMA-N) - Cor
Aubourg <i>et al.</i> , (2013 a)	Salmão (<i>Oncorhynchus kisutch</i>) Comprimento: 50-52 cm Peso: 2,8-3,0 kg Dividido em pedaços de 125 - 150 g	Pressão: 135, 170 e 200 MPa Tempo: 30s Temperatura: 15±2	3	- 135 MPa, 30s	- Análise sensorial - Cor - Textura
Kaur <i>et al.</i> , (2012)	Camarão tigre preto (<i>Penaeus monodon</i>) (25 – 35 g)	Pressão: 100, 270 e 435 MPa Tempo: 5 mim Temperatura: 25±2	3	- 435 MPa, 5 mim; Estendeu a validade 15 dias em relação a 5 dias da amostra sem HPP.	- Ácidos gordos livres - Análise microbiológica (TPC, <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>) - a _w - Azoto básico volátil total (TVB-N) - Azoto trimetilamina (TMA-N) - Cor - pH - Teor de cinzas - Teor de humidade - Teor de proteína bruta -Textura

Referências bibliográficas	Produto	Condições HPP	Total tratamentos aplicados	Melhores condições	Parâmetros avaliados
Gou <i>et al.</i> , (2010)	Lulas (<i>Todarodes pacificus</i>) Peso: 0,7 kg Comprimento: aprox. 35 cm Amostras foram evisceradas e divididas em porções de 25g	Pressão: 300 MPa Tempo: 0, 5, 10 e 20mim Temperatura: 20°C	4	- 300 MPa, 20°C, 20 mim	- Análise microbiológica (TPC) - Dimetilamina (DMA) - TMAOase (extração e atividade) - Trimetilamina (TMA) -pH
Erkan <i>et al.</i> , (2010 a)	Salmonete (<i>Mullus surmelutus</i>) Peso: 43.12 ± 9.94 g Comprimento: 13.09 ± 1.18 Amostras foram evisceradas e divididas em porções de 15 g de amostra	Pressão: 220, 250 e 330 MPa Tempo: 5 e 10 mim Temperatura: 3, 7, 15 e 25 °C	24	- 220 MPa, 25° C, 5 mim; - 330 MPa, 3°C, 5 mim;	- Ácido tiobarbitúrico (TBA) - Análise microbiológica (bactérias psicotrópicas e bactérias aeróbias mesófilas) - Azoto trimetilamina (TMA-N) - Cor - Teor de cinzas - Teor de humidade - Teor de lípidos - Teor de proteína bruta
Matějková <i>et al.</i> , (2012)	Truta (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Peso: 250 – 310 g Porções de 20 g	Pressão: 300 e 500 MPa Tempo: 10 mim Temperatura: 20 °C	2	- 300 MPa melhor correlação entre teores e a análise sensorial.	- Aminas biogénicas - Análise sensorial
Montiel <i>et al.</i> , (2012)	Bacalhau fumado (<i>Gadus morhua</i> L.)	Pressão: 400, 500 e 600 MPa Tempo: 5 e 10 mim Temperatura: 11 °C	6	- 400 MPa, 10 mim; - 500 MPa, 5 mim;	- Ácido tiobarbiturico (TBA) - Aminas biogénicas - Análise sensorial - a_w - Cor, - Textura -pH

Em geral, o tratamento de alta pressão refere-se ao processo que submete os alimentos (acondicionados em embalagens flexíveis ou num sistema de bomba asséptica) a pressões que variam de 100-900 MPa, ainda que o nível de pressão mais frequentemente utilizados em aplicações comerciais varie de pressões de 400-600 MPa, dependendo do produto (Campus, 2010). Este tratamento permite a inativação de microrganismos e enzimas a baixas temperaturas como mínimo de efeitos nos atributos nutricionais e no *flavour* do produto (Erkan *et al.*, 2010 b).

A preservação de vitaminas e compostos responsáveis pelo aroma e sabor deve-se ao facto de a alta pressão não afetar as ligações químicas covalentes, e somente ligações responsáveis pela estabilização de estruturas tridimensionais de moléculas como proteínas e polissacarídeos (Rosenthal & Silva, 1997).

Atualmente, têm sido investigados dois métodos de processamento de alimentos a alta pressão:

- O método hidrostático (Ultra Alta Pressão - UAP) – consiste em submeter o produto à alta pressão dentro de um vaso pressurizado, utilizando um meio que transfere a pressão ao produto (normalmente é utilizada água potável como meio).

- O método da homogeneização (Homogeneização a Alta Pressão - HAP) - é um processo contínuo que utiliza fundamentalmente um homogeneizador de alta pressão com o intuito de romper células, princípio largamente utilizado nas aplicações de biotecnologia (Campos, Dosualdo & Cristianni, 2003).

Estes dois métodos de processamento baseiam-se na Lei de Pascal, em que a pressão é aplicada igualmente em todas as direções. Isto é, o efeito da pressão da superfície é igual ao efeito no interior do produto (Salvador, 2009).

2.6.3.1. Método Hidrostático

O método hidrostático baseia-se em dois princípios gerais:

- O Princípio de *Le Chatelier*: segundo o qual qualquer fenómeno (transição de fase, mudança de conformação molecular ou reação química) acompanhado por uma redução de volume é favorecido pelo aumento de pressão (e vice-versa) (Campos *et al.*, 2003).

- O Princípio isostático, que indica que a pressão transmitida de uma forma uniforme e quase instantânea através de uma amostra biológica. O processo de pressurização é, portanto independente do volume e da forma da amostra, ao contrário

do processamento térmico. No processo de alta pressão é utilizado um líquido de baixa compressibilidade como a água.

No processamento isostático, o produto é embalado num material flexível e colocado no interior do vaso de pressão para ser processado. Contudo, o processamento de produtos líquidos pode ser realizado através de um sistema semi-contínuo (fora da embalagem) utilizando três vasos de pressão e um sistema de válvulas automáticas, de modo que na primeira câmara a pressão do produto é aumentada até a pressão de processo, quando é descarregado; na segunda câmara o produto fica sob a pressão e tempo especificados para o processo; e na terceira câmara o produto é descomprimido e encaminhado para enchimento asséptico (Campos *et al.*, 2003).

2.6.3.2. Equipamento de alta pressão

O modo de compressão pode ser gerado de duas formas, pelo método indireto e método direto. No caso do sistema de compressão direta, o vaso é preenchido com o meio de pressurização, sendo depois comprimido por pistão de grande diâmetro e movido por bomba de baixa pressão. O sistema de compressão indireta contém um intensificador de alta pressão que é utilizado para bombear o meio de pressurização do reservatório para o vaso até que se alcance o nível de pressão desejado (Salvador, 2009).

O equipamento de pressurização utilizado contém um vaso de pressão, gerador de pressão, unidade de controlo/comando, unidade de aquecimento/arrefecimento, dispositivo de controlo da temperatura. O vaso de pressurização é cilíndrico, constituído em aço inoxidável de alta resistência à pressão e o fluido de transmissão da pressão utilizado é a água.

O diagrama da **Figura 4** representa esquematicamente como funciona a aplicação da alta pressão. O produto é introduzido no vaso de pressão, enche-se com água e é fechado em ambas as extremidades, um intensificador de pressão continua a introdução de água no recipiente até que a pressão desejada seja atingida. O produto permanece neste alta pressão durante um determinado tempo de retenção. Após esse período, a água é escoada do recipiente através de uma válvula que é aberta, a fim de eliminar a pressão no interior (Alegre, Bravo & Preciado, 2007).

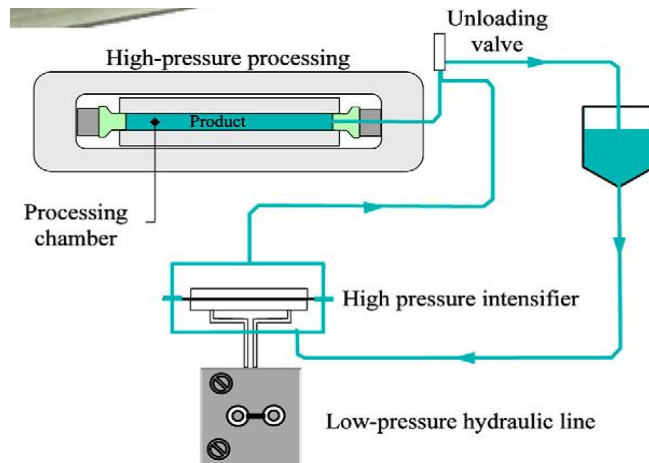


Figura 4 - Diagrama de funcionamento do equipamento de processamento de alta pressão. Adaptado de Alegre *et al.* (2007).

Na **Figura 5** encontra-se um equipamento de HPP semelhante ao equipamento utilizado no presente trabalho experimental.



Figura 5 – Equipamento de processamento de alta pressão. Adaptado de Avure (2013).

2.6.3.3. Efeito da alta pressão nos microrganismos

A capacidade de inativação por HPP depende do tipo de microrganismo, da sua fase de crescimento, da pressão aplicada, do tempo de processamento, da composição dos alimentos, da temperatura, pH e da atividade da água (Campus, 2010).

Muitos estudos têm demonstrado que as pressões na gama de 300-600 MPa podem inativar muitos fungos e bactérias vegetativas, no entanto os microrganismos podem diferir muito na sua suscetibilidade intrínseca. As bactérias, em particular, demonstram uma ampla gama de resistência ao HPP (Murchie *et al.*, 2005). As bactérias gram-negativas são menos resistentes ao HPP do que as bactérias gram-

positivas, o que pode ser explicado pela complexidade das membranas celulares gram-negativas (Kaur, Kaushik, Rao & Chauhan, 2012), contudo há muitas exceções a essa generalização, por exemplo, certas estipes de *E. coli* O157 que são extremamente resistentes à pressão (Murchie *et al.*, 2005).

Os esporos bacterianos, em comparação com as células vegetativas exibem consideravelmente maior resistência à temperatura e alta pressão (Heiny & Buckow, 2009), devido ao facto de as proteínas estarem mais protegidas da solvatação e ionização e devido à estrutura e maior espessura da cápsula dos esporos. No entanto, o risco de contaminação por esporos pode ser minimizado através do uso tratamentos HPP oscilatórios, onde um pré-tratamento com pressão induz a germinação e um ciclo subsequente permite facilitar a sua inativação (Murchie *et al.*, 2005).

Os vírus, independentemente do seu tipo, mostram uma ampla variedade de sensibilidades em resposta ao HPP (Heiny & Bucknow, 2009). Tem sido sugerido que a resistência de poliovírus pode estar relacionada com o tamanho e forma ou com a sua elevada estabilidade termodinâmica (Murchie *et al.*, 2005).

A eficácia do HPP para reduzir ou inativar o crescimento microbiano em produtos do mar tem sido relatado em camarão tigre preto (Kaur *et al.*, 2012), salmão fumado (Erkan *et al.*, 2011 b), salmonete (Erkan *et al.*, 2010 a), lulas (Gou, Lee, & Ahn, 2009) e em bacalhau (Montiel, Alba, Bravo, Gaya & Medina, 2012) (**Quadro 8**).

Quadro 8 – Resultados microbiológicos obtidos em diversos peixes com e sem aplicação do tratamento HPP.

Referências bibliográficas	Produto	Embalamento	Microorganismos	Tempo de armazenamento	Condições HPP	Resultados (log ufc/g)
Erkan <i>et al.</i> , (2011 b)	Salmão fumado	Filme de plástico flexível	Contagens totais	8 semanas	Sem HPP	5,89
					250MPa/ 3°C/ 5 mim	<3
Kaur <i>et al.</i> , (2011)	Camarão tigre preto (<i>Penaeus monodon</i>)	Vácuo	Contagens totais	20 dias	250MPa/ 25°C/ 10 mim	<3
					Sem HPP	12,8 ± 0,74
					100 MPa/ 25±2°C/ 5 mim	7,65 ± 0,42
Erkan <i>et al.</i> , (2010 a)	Salmonete (<i>Mullus surmelutus</i>)	Filme de plástico flexível	Psicotróficos	17 dias	270 MPa/ 25±2°C/ 5 mim	7,24 ± 0,09
					330MPa/ 3°C/ 5 mim	635 ± 0,07
					435 MPa/ 25±2°C/ 5 mim	6,17 ± 0,06
Gou <i>et al.</i> , (2010)	Lulas (<i>Todarodes pacificus</i>)	Vácuo	Contagens totais	12 dias	Sem HPP	7,28 ± 0,12
					300MPa/ 20°C/ 5 mim	3,69 ± 0,20
					300MPa/ 20°C/ 10 mim	3,56 ± 0,11
					300MPa/ 20°C/ 20 mim	2,70 ± 0,09

2.6.3.4. Efeito da alta pressão nas proteínas e enzimas

A aplicação de alta pressão induz a mudanças na estrutura da proteína que podem levar a desnaturação (Pflanzer *et al.*, 2008). Os efeitos da pressão nas estruturas e funções das proteínas podem variar dramaticamente dependendo da magnitude da de pressão, o mecanismo de reação (no caso de enzimas), e o equilíbrio global de forças responsáveis pela manutenção da estrutura da proteína. As interações entre a proteína e solvente são também cruciais para determinar a resposta de uma proteína para pressão (Boonyaratanakornkit, Park, & Clark, 2002).

A desnaturação pode ocorrer devido à quebra de ligações hidrofóbicas e de pares iônicos. As altas pressões as proteínas oligoméricas tendem a dissociarem-se em subunidades tornando-se mais vulneráveis à proteólise. As proteínas monoméricas não apresentam mudanças na sua vulnerabilidade à proteólise com o aumento da pressão (Thakur & Nelson, 1998; Fidalgo, 2011).

Pressões superiores a 300 MPa induzem a desnaturação irreversível de proteínas e a inativação de enzimas, por outro lado, a pressão inferiores a 300 MPa afetam a aceleração de ação da enzima devido a interações químicas fracas, provocando a desnaturação reversível (Thakur & Nelson, 1998; Campo *et al.*, 2003).

Segundo Chéret, Chapleau, Delbarre-Ladrat, Verrez-Bagnis & Lamballeie (2005), a desnaturação irreversível das proteínas que podem atingir uma gelificação que permite uma melhor retenção de água natural. Tratamentos de alta pressão acima de 200 MPa induzem a alterações da atividade de proteases, causando indiretamente um aumento da retenção de água.

Na **Figura 6** encontra-se um modelo geral da indução da pressão na estabilização nas proteínas.

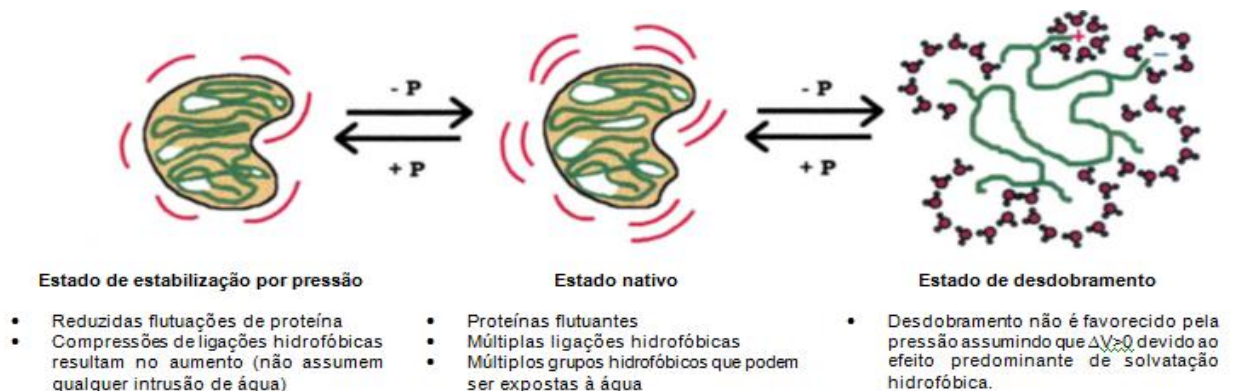


Figura 6 – Mecanismo proposto para a estabilização por pressão das enzimas. As interações entre as de proteína e moléculas água. Adaptado de Boonyaratanakornkit *et al.* (2002).

As enzimas proteólicas relacionadas com a deterioração de peixes são mais suscetíveis ao HPP, uma vez que os peixes estão adaptados a ambientes frios e as suas enzimas tendem a ter uma estrutura mais flexível (Campus, 2010).

No que diz respeito à inativação por pressão, distingue-se quatro grupos de enzimas, baseando-se na perda e recuperação da atividade: (i) inativação completa e irreversível, (ii) inativação completa e reversível, (iii) inativação incompleta e irreversível, (iv) inativação incompleta e reversível (Campos, *et al.*, 2003).

Na **Quadro 9**, encontra-se o efeito da tecnologia HPP em algumas enzimas de peixe.

Quadro 9 - O efeito do processamento de alta pressão em algumas enzimas em peixe.

Amostra	Condições	Enzimas	Resultados mais relevantes	Referência
Atum (músculo)	- 150-220 MPa - 15 e 30 min. - 20°C	- Atividade proteolítica geral	- Amostras tratadas a 220 MPa/30 minutos ocorre aumento da atividade ao fim de 22 dias de conservação; - Amostras não tratadas, ocorre aumento da atividade ao 14º dia de conservação.	(Zare, 2004)
Bacalhau (músculo)	- 100-800 MPa - 20 min. - 20°C	- Atividade Proteolítica geral	- pH 6,6: a atividade diminui acima dos 200 MPa; - pH 3,3 e 9,0: a atividade aumenta até os 200 MPa e diminui em pressões superiores; - 800 MPa não inativa completamente a enzima.	(Angsupanich <i>et al.</i> , 1998)
Robalo (músculo e extrato sarcoplasmático)	- 0,1-500 MPa - 5 min. - 10°C	- Calpaínas	- Músculo: diminui atividade acima dos 100 MPa e perda total acima dos 350 MPa; - Extrato sarcoplasmático: diminui atividade acima dos 150 MPa e perda total acima dos 450 MPa.	(Chéret <i>et al.</i> , 2007)
Salmão fumado (extrato sarcoplasmático)	- 0,1-300 MPa - 20 min. - 9°C	- Atividade proteolítica geral - Catepsina B e B+L - Calpaínas	- Catepsina B e B+L: atividade diminui até os 300 MPa; - Calpaínas: diminui atividade até os 100 MPa e depois mantém-se constante até os 300 MPa; diminuição da atividade de todas as enzimas com armazenamento até os 18 dias.	(Lakshmanan, Patterson & Piggott, 2005)
“Bluefish” (<i>P. saltatrix</i>) e “sheephead” (<i>S. pulcher</i>) (extrato sarcoplasmático)	- 100-300 MPa, - 30 min. - Temperatura ambiente	- Catepsina C - Colagenase - Quimiotripsina - Tripsina	- Diminuição da atividade em todas as enzimas.	(Ashie & Simpson, 1996)

Adaptado de Fidalgo (2011).

2.6.3.5. Efeito da alta pressão nos lípidos

A temperatura de fusão dos lípidos (triglicerídeos) aumenta de forma reversível, a temperaturas superiores a 10°C e a pressões de 100 MPa. Assim, os lípidos presentes no estado líquido à temperatura ambiente cristalizam sob pressão. A pressão favorece a formação de cristais mais densos e mais estáveis (aqueles com menor nível de energia e maior temperatura de fusão) (Cheftel & Culioli, 1997). A espécie e as condições de pressurização, assim como as diferenças no conteúdo de lípidos e composição lipídica em espécies de peixes diferentes podem conduzir a resposta diferente a pressurização peixe (Montiel *et al.*, 2012).

Foi demonstrado que pressões abaixo dos 400 MPa têm um pequeno efeito na oxidação lipídica do músculo do bacalhau, mas pressões superiores afetam a oxidação. Estes resultados sugerem que a aceleração da oxidação pode ser devida a desnaturação de proteínas hémicas pela pressão, por libertação de iões que promovem a auto-oxidação dos lípidos (Erkan, Üretener, & Alpas, 2010 b; Fidalgo, 2011).

Os valores de ácido tiobarbitúrico (TBA) para peixes e produtos derivados de peixe aumentam com a pressão e o tempo de pressão do tratamento (Sequeira-Munoz *et al.* 2006; Yağız *et al.* 2007, citado por Erkan *et al.*, 2010 b).

A remoção do oxigénio ou adição de dióxido de carbono antes da pressurização pode ser útil para prevenir a indução da pressão na oxidação lipídica (Campus, 2010).

2.6.3.6. Efeito da alta pressão na cor

A alta pressão também tem um grande efeito sobre a cor do peixe, tendo como resultado da perda de translucidez da carne devido à desnaturação das proteínas miofibrilares e sarcoplasmático. Dependendo da pressão, o peixe obtém um aspeto cozinhado, que influencia a aplicação do HPP em diversos produtos. Esta mudança é variável consoante as espécies de peixes (Master, Stegeman, Kals, & Bartels, 2000).

Segundo Chéret *et al.* (2005) a cor do peixe está relacionada com pigmento à base de heme, com a estrutura muscular física e com a quantidade de água livre que influencia de dispersão da luz.

As mudanças de cor são normalmente marcadas por um aumento da luminosidade (L^*) e amarelecimento (b^*) com uma diminuição da vermelhidão (a^*). Este facto tem sido relatado em várias espécies de peixe, tais como robalo (Erkan *et al.*, 2010

b), salmonete (Erkan *et al.*, 2010 a), carapau (Erkan *et al.*, 2011 a), bacalhau (Montiel *et al.*, 2012), e em sarda (Aubourg, Torres, Saraiva, Guerra-Rodríguez & Vázquez, 2013 b).

2.6.3.7. Efeito da alta pressão na textura

A pressão aumenta a dureza, o que sugere uma relação entre a compactação da fibra muscular e aumento da dureza músculo sob tratamento por pressão. Pressões superiores a 200 MPa, pode provocar a gelificação de proteína, dando origem a uma estrutura mais densa, o que leva ao aumento dos valores de dureza (Kaur *et al.*, 2012). No entanto, tratamento com 800 MPa diminuiu a dureza, devido à deterioração muscular (Montiel *et al.*, 2012).

Os valores de elasticidade diminuem com o aumento da pressão de tratamento (Campus, 2010), enquanto a firmeza aumenta (Aubourg *et al.*, 2013 b).

Segundo Aubourg *et al.* (2013 b), a aplicação do tratamento HPP leva a um aumento significativo na mastigabilidade para níveis elevados de pressão e tempos de retenção longos.

Em geral, condições mais severas de tratamento levam a maiores modificações na textura (Aubourg *et al.*, 2013 a).

2.7. Parâmetros da qualidade

2.7.1. Cor

A cor afeta a aceitação dos alimentos. Diz-se, que nós comemos com os olhos, porque a primeira impressão do alimento é formado pela sua aparência, que inclui cor, forma e aroma. A primeira atração ou rejeição de alimentos depende de sua aparência. A maioria dos nossos conceitos de cores tradicionais pode afetar nossa reação à comida (Mudambi, Rao & Rajagopal, 2006).

A cor é uma percepção visual provocada pela ação de um feixe de fótons sobre células especializadas da retina, que transmitem através de informação pré-processada no nervo óptico, impressões para o sistema nervoso.

A razão para a percepção das cores pelo olho humano é devido aos comprimentos de onda específicos que estimulam a retina, órgão responsável pela visão. O espectro de

luz visível pode então assumir diversas cores (desde o violeta até ao vermelho), em função do comprimento de onda (Ortolan, 2006).

O olho humano é sensível a uma faixa de comprimentos de onda que vão aproximadamente de 400 a 700 nanómetros (**Figura 7**). O espectro visível representa somente uma pequena fração do total do espectro eletromagnético (Ortolan, 2006).

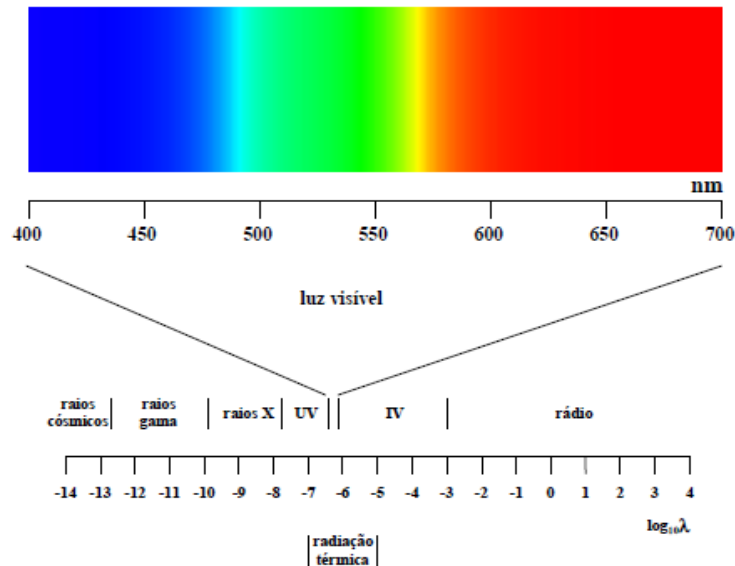


Figura 7 - Espectro eletromagnético mostrando as bandas de comprimento de onda principais e a banda correspondente à luz visível. Adaptado de Lopes (2003).

2.7.1.1. Medição da cor

Existem fundamentalmente dois métodos de medição da cor: o método espectrofotométrico e o método colorimétrico.

O método espectrofotométrico é realizado com um espectrofotómetro de reflectância, que mede a transmitância, calculando a densidade óptica e pode-se relacionar com as coordenadas do sistema CIELab. Este método é utilizado geralmente para produtos líquidos (Lima, 2009).

No método colorimétrico é utilizado o colorímetro de reflectância, onde a radiação refletida pelo objeto é filtrada, separando-se as frações correspondentes aos comprimentos de onda do vermelho, verde e azul. Com base na intensidade relativa de cada um desses comprimentos de onda e do modelo escolhido, CIELAB ou HUNTERLAB, os parâmetros L^* , a^* , b^* são calculados e utilizados para se identificar a cor do objeto, ou seja medem as coordenadas de vários sistemas de quantificação de cor (Lima, 2009).

O colorímetro utiliza iluminantes normalizados, como é o caso do iluminante D65. Este método é mais utilizado para medir produtos sólidos, mas também pode ser usado para medir produtos líquidos (Lima, 2009).

Com base nestes dois métodos de medição de cor, os principais instrumentos de medição são os espectrofotômetros e os colorímetros. Os colorímetros medem de maneira direta a cor de um objeto usando filtros que reproduzem a resposta do olho humano, por isso são aparelhos muito simples e que fornecem dados rápidos (Ortolan, 2006).

2.7.1.2. Sistema CIELab

Em 1976, a Comissão Internacional de Iluminação (C.I.E.) recomendou o seguimento da ideia de um “observador padrão”, cuja visão é representativa das pessoas com visão normal. Definiu também a noção de iluminante *standart* como sendo D65 que corresponde à luz do dia. Foram então definidas e normalizadas várias fontes de iluminação que representam diversos tipos de luz (Lima, 2009).

O espaço de cores CIELab baseia-se nos seguintes princípios fundamentais:

- Cor é uma sensação resultante da combinação de uma luz, um objeto, e um observador.
- A fonte de luz ilumina um objeto.
- Um objeto modifica a luz, e reflete (ou transmite) para um observador.
- Um observador deteta a luz refletida.
- Valores tristímulos que são coordenadas de sensação de cor, calculados a partir dos dados CIE (luz, objeto e observador) (Datacolor, 2009)

Quanto ao observador *standart* este foi definido com base na teoria de que a cor pode ser definida através da combinação de três cores primárias (azul, verde e vermelho). Foram feitos testes e determinou-se a sensibilidade a cada uma das cores empíricas primárias. A esses valores médios x , y , z , foi dado o nome de “valores tristímulos”. Estas cores podem ser interpretadas como x - vermelho, y - verde, z - azul.

No sistema CIELab (**Figura 8**), estabelecem-se coordenadas uniformes no espaço tridimensional de cores, em que estas são descritas com base em coordenadas retangulares (L^* , a^* e b^*) ou com coordenadas cilíndricas (L^* , H° , C^*), onde:

- L^* mede a variação da luminosidade entre o preto (0) e o branco (100) claro e escuro (*Value*);

- a^* e o b^* são coordenadas de cromaticidade que representam a quantidade de croma: em que o a^* define a cor vermelha para valores positivos e a cor verde para

valores negativos, enquanto que o b^* define a cor amarela para valores positivos e a cor azul para valores negativo;

- H° determina a tonalidade (*Hue*);
- C^* corresponde à pureza (*Chroma*).

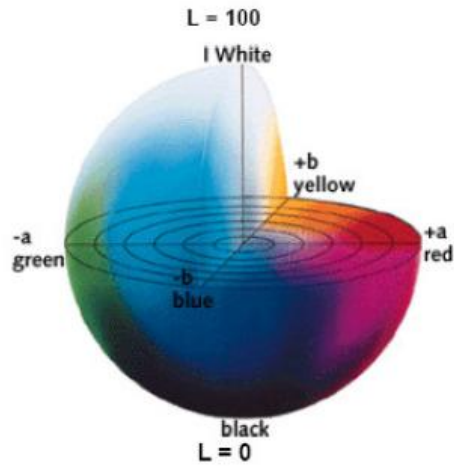


Figura 8 - Sistema de coordenadas CIELab.
Adaptado de Lima (2009).

No espaço CIELab é possível quantificar as diferenças existentes em termos psicrométricos de ΔL^* , Δa^* , Δb^* e ΔE^* ou ΔL^* , ΔC^* , ΔH^* e ΔE^* . As variações de cor entre as amostras e os padrões podem ser quantificadas no diagrama $L^*a^*b^*$.

Estas diferenças podem ser calculadas de acordo com as equações a seguir apresentadas:

$$\Delta L^* = L^*_{amostra} - L^*_{padr\tilde{a}o}$$

$$\Delta a^* = a^*_{amostra} - a^*_{padr\tilde{a}o}$$

$$\Delta b^* = b^*_{amostra} - b^*_{padr\tilde{a}o}$$

$$\Delta C_{ab}^* = C^*_{ab, amostra} - C^*_{ab, padr\tilde{a}o}$$

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

$$\Delta H^*_{ab} = [(\Delta E^*_{ab})^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C_{ab}^*)^2]^{1/2}$$

em que, ΔE^* - diferença total de cor; ΔL^* - diferença de claro/escuro; Δa^* - diferença vermelho/verde; Δb^* - diferença de amarelo/azul;

2.7.2. Textura

A textura é um dos atributos de qualidade chave utilizados na indústria de alimentos frescos e processados para avaliar a qualidade do produto e aceitabilidade. Os atributos de textura também são utilizados ao longo da cadeia de valor alimentar para monitorar e controlar a qualidade, desde a decisão sobre o início de colheita, para avaliar os impactos do manuseio pós-colheita e operação de processamento sobre a vida de prateleira do produto e para avaliar preferência do consumidor e aceitabilidade. Manuseio pós-colheita e as condições de operação, tais como a temperatura de armazenamento geralmente têm efeitos distintos sobre as propriedades de textura dos alimentos (Chen & Opara, 2013).

A textura é uma propriedade difícil de definir. Pode ser considerada como a manifestação sensorial da estrutura da comida e a maneira pela qual esta estrutura reage a forças aplicadas, sendo os sentidos específicos envolvidos a visão, audição e cinestesia (Szczeniak, 1990, citado por Bourne, 2002).

Segundo a ISO 11036:1994, a textura são todos os atributos mecânicos, geométricos e de superfície de um produto, perceptíveis por meios mecânicos, tácteis e quando apropriado, por recetores visuais e auditivos.

O texturómetro é um equipamento constituído por um dinamómetro, que fornece energia mecânica, a velocidade constante. Mede e regista num diagrama Força *versus* Tempo ou Distância; os valores obtidos dependem do contacto das várias sondas com a amostra, efetuando ensaios de compressão, penetração, corte, flexão, punção, extrusão, entre outros (Lima, 2009).

Neste trabalho os parâmetros analisados foram os seguintes:

- Dureza – força necessária para provocar determinada deformação;
- Fraturabilidade – força para a qual o material fratura com elevado grau de dureza e baixo grau de coesividade;
- Módulo Aparente – declive inicial da curva de deformação provocada pela força, associada à rigidez.
- Força Adesiva – máximo de força negativa;
- Adesividade – trabalho necessário para superar as forças de atracção entre a superfície do alimento e a superfície de outro material em contacto com ele;

2.7.3. Análise sensorial

A avaliação sensorial é uma disciplina científica, usada para evocar, medir, analisar e interpretar características do alimento detetadas através dos cinco sentidos (vista, olfato, tato, gosto e audição) (Lawless & Heymann, 2010).

Análise adequada dos dados é uma parte crítica do teste sensorial. Os dados gerados a partir de observadores humanos são muitas vezes altamente variáveis. Existem muitas fontes de variação nas respostas humanas que não podem ser completamente controlados num teste sensorial (Lawless & Heymann, 2010). A resposta sensorial é influenciada por diversos fatores (**Figura 9**), podendo dividir-se em dois grupos: uns dependentes do indivíduo, e outros relacionados com o ambiente.

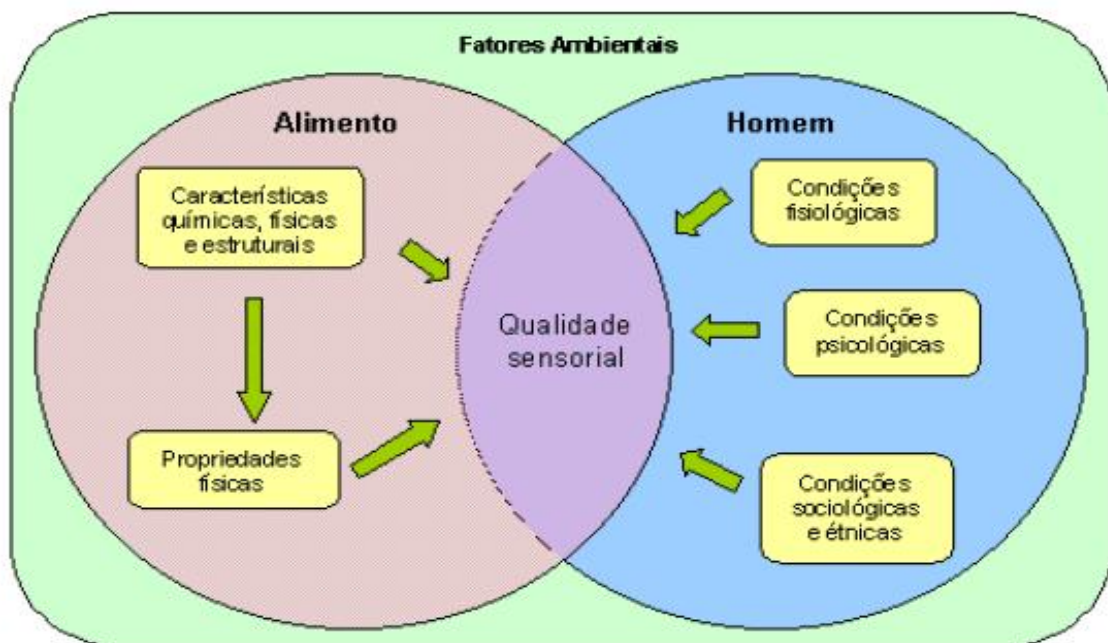


Figura 9 – Fatores que afetam a percepção das sensações.
Adaptado de Lima (2009).

A análise sensorial é uma ferramenta moderna utilizada para o desenvolvimento de novos produtos, reformulação dos produtos já estabelecidos no mercado, estudo de vida de prateleira (*shelf life*), determinação das diferenças e similaridades apresentadas entre produtos concorrentes, identificação das preferências dos consumidores por um determinado produto e, finalmente, para a otimização e melhoria da qualidade.

Uma das etapas no planeamento da análise sensorial é a seleção de provadores. Esta seleção deve ser efetuada de forma a eliminar os voluntários inaptos para a avaliação sensorial. O recrutamento pode ser interno, externo ou misto (interno e externo). O tipo de teste a seguir na análise sensorial depende do objetivo pretendido.

De acordo com Institute of Food Science and Technology (IFT), os testes sensoriais classificam-se: testes afetivos e testes analíticos (**Quadro 10**) (Lima, 2009).

Os testes afetivos consistem na manifestação subjetiva do provador sobre o produto testado, demonstrando se tal produto agrada ou desagrade, se é aceite ou não, se é preferido a outro. Por advir de uma manifestação pessoal, essas provas são as que apresentam maior variabilidade nos resultados, sendo mais difíceis de serem interpretadas. São provas realizadas com o objetivo de verificar a preferência e o grau de satisfação com um novo produto (testes de preferência), e/ou a probabilidade de adquirir o produto testado (testes de aceitação) (Lima, 2009; Teixeira, 2009). Os testes mais utilizados para a realização destas provas são: ordenação hedónica e escala hedónica.

Os testes analíticos são normalmente utilizados para painéis de provadores treinados, ou para a seleção de provadores, por isso os resultados que dele se obtêm podem ser usados como resultado analítico exato. Subdividem-se em dois grupos: discriminatórios e descritivos. Os testes discriminatórios baseiam-se na percepção que o provador tem da diferença qualitativa e/ou quantitativa entre produtos. Os testes descritivos permitem indicar além das possíveis diferenças entre amostras, a magnitude dessas diferenças, sua caracterização e descrição. Ou seja, envolve a deteção e descrição qualitativa e quantitativa dos diferentes atributos sensoriais de um alimento (Lima, 2009).

Quadro 10 – Classificação de métodos de teste para a avaliação sensorial.

Testes	Questões de interesse	Tipo de testes	Características do painel sensorial
Discriminatórios	Produtos diferentes	perceivelmente Analítico	Selecionados pela acuidade sensorial, orientado para método de teste, às vezes treinados
Descritivos	Como diferem os produtos que diferem em características sensoriais específicas	Analítico	Selecionados pela acuidade sensorial e motivação, painel treinado ou altamente treinados
Afetivos	Qual a preferência e gosto pelos produtos	Hedónico	Selecionados de acordo com os produtos, painel sensorial não treinado

Adaptado de Lawless & Heymann (2010).

Os produtos da pesca são avaliados e classificados em termos de grau de frescura, seguindo determinados parâmetros de carácter organolético (Regulamento (CE) nº 2406 de 1996). A análise sensorial após tratamento térmico é igualmente importante, permitindo-nos uma avaliação de determinados descritores referentes ao pescado, de importância capital para a aceitabilidade por parte do consumidor (Santos, 2010).

CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do estudo foram utilizados lotes/amostras de carapau (*Trachurus trachurus*) seco comprado na Nazaré, sempre à mesma produtora. Nos atos de compra dos lotes/amostras de carapau, para garantir controlo da amostra a escolha dos carapaus foi efetuada de forma aleatória, e foi assegurado que os mesmos tinham a mesma data da captura e duração de secagem. Ao serem adquiridos à mesma produtora haveria maior possibilidade das condições de produção serem quase uniformes em todos os lotes, nomeadamente a quantidade de sal.

3.1. Ensaio prévio

Conforme passamos a descrever, efetuou-se um ensaio prévio de forma a poder definir a pressão do tratamento HPP a aplicar no carapau seco, depois de analisado o comportamento do mesmo face às diferentes condições a que foram submetidos no mesmo ensaio prévio.

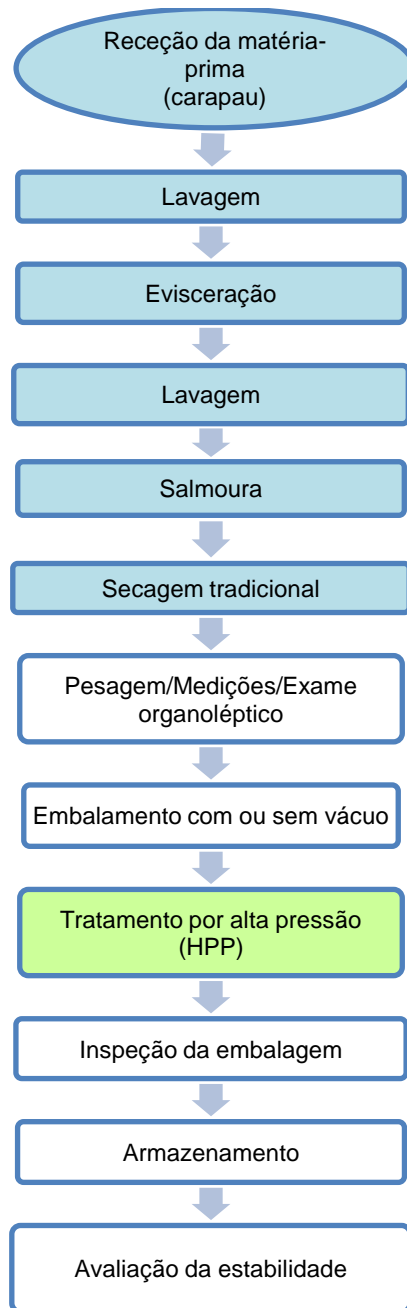
Neste ensaio foram utilizados 26 carapaus, com cerca de dois dias de secagem que foram medidos e pesados individualmente, após o que foram uns colocados em sacos individuais (polietileno) (Grupo I) e outros foram embalados a vácuo (Grupo II e III).

Com o intuito de definir a pressão do tratamento HPP a aplicar criaram-se três grupos de amostras:

- Grupo I - sem vácuo e sem HPP (2 carapaus);
- Grupo II - com vácuo e sem HPP (6 carapaus);
- Grupo III - com vácuo e com HPP (18 carapaus), em que foram submetidos a diferentes pressões durante 5 minutos, que se seguem abaixo:
 - 3 carapaus foram submetidos à pressão de 250 MPa;
 - 3 carapaus foram submetidos à pressão de 300 MPa;
 - 3 carapaus foram submetidos à pressão de 350 MPa;
 - 3 carapaus foram submetidos à pressão de 400 MPa;
 - 3 carapaus foram submetidos à pressão de 450 MPa;
 - 3 carapaus foram submetidos à pressão de 500 MPa.

3.1.1. Processo aplicados

Os carapaus analisados neste ensaio foram processados de acordo com um esquema de produção constante na **Figura 10**, que inclui etapas ocorridas na produção antes da compra.



- Etapas antes da compra
- Etapa efetuada apenas nas amostras do Grupo III.

Figura 10 – Fluxograma de fabrico do ensaio prévio.

3.1.1.1. Escolha, preparação, salga e secagem

Do levantamento efetuado junto das produtoras dos carapaus secos, constatou-se que os peixes são escolhidos e depois eviscerados. Para se proceder à evisceração efetuou-se um corte longitudinal no ventre do peixe e removeram-se as vísceras cuidadosamente, de modo a não romper a vesícula biliar.

Após evisceração efetuou-se a lavagem com água de forma a remover a sujidade resultante da etapa anterior.

A salmoura efetuou-se por imersão do carapau numa solução salina de aproximadamente 4 % de sal durante cerca de 10 minutos. Após a salmoura os peixes foram escalados.

No fim dos peixes escalados, efetuou-se uma secagem tradicional na zona de secagem da Nazaré, na qual os carapaus foram colocados verticalmente, com a pele assente na rede do “estindarte”, que depois erguidos na vertical (**Figura 11**). Desta forma ficaram expostos ao sol e às condições ambientais durante cerca de dois dias. Este processo é fundamental para imobilizar parcialmente a água na sua composição por ação do sal e estabilizar o nível de humidade no peixe, apesar de não se conseguir atingir um teor de humidade igual ou inferior a 47 % (m/m), conforme o indicado pelo Decreto-Lei n.º 25/2005, de 28 de Janeiro, que estabelece as condições a que deve obedecer a comercialização de bacalhau salgado e de espécies afins salgadas.



Figura 11 – “Estindarte” de secagem no peixe, na zona de secagem da Nazaré.

Todas as etapas do fluxograma descritas até aqui foram efetuadas pela produtora da Nazaré.

3.1.1.2. Parâmetros biométricos (pesagem e medição)

Efetuar-se as pesagens (individuais) e as medições (comprimento total, comprimento à furca, comprimento standard e largura) individuais dos carapaus. Estas pesagens e medições serviram para calcular os parâmetros biométricos para o produto em estudo, uma vez que na literatura não existe valores de referência.

As medições biométricas foram efetuadas de acordo com o descrito por Florida Fish and Wildlife Conservation Commission (2013) (**Figura 12**).

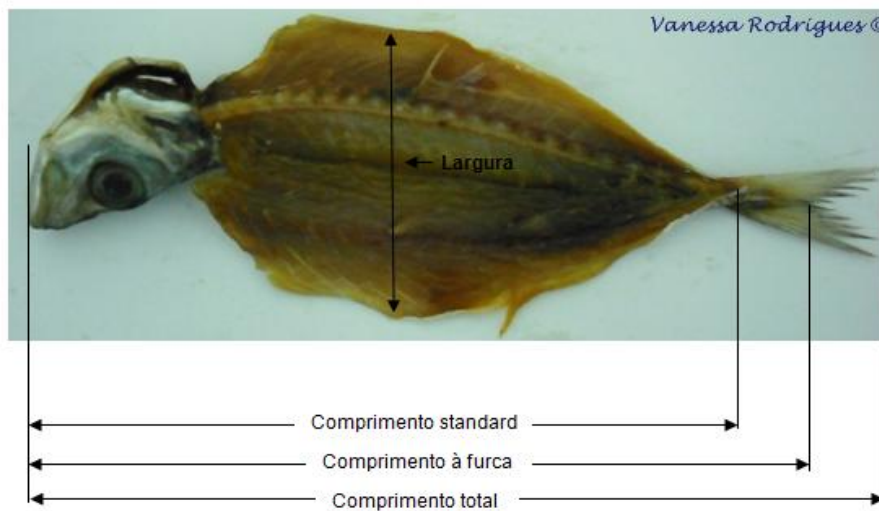


Figura 12 - Medidas comuns nos peixes.
Adaptado de Florida Fish and Wildlife Conservation Commission (2013).

A pesagem foi efetuada numa balança da marca Mettler Toledo, modelo PB1501, com precisão e exatidão ambas de 0,1g.

A par da pesagem e medição efetuou-se um exame organolético inicial de forma a verificar a integridade e o estado higio-sanitário do carapau seco.

3.1.1.3. Embalagem (com e sem vácuo) e aplicação de HPP

Para os grupos de carapaus definidos para este ensaio procedeu-se como se passa a descrever:

Grupo I

Como antes indicado, os carapaus que não foram submetidos a vácuo foram colocados individualmente em sacos de polietileno, mantidos numa câmara a cerca de

5°C, até se proceder ao exame organolético sumário ao fim de 30 dias, após a colocação nos sacos.

Grupo II

Neste grupo os carapaus foram objeto dum exame organolético antes e depois de embalados a vácuo em sacos de plástico - compostos por poliamida orientada (OPA) e polietileno (PE) - no equipamento de vácuo INEINI, modelo Pack VIG 500 (**Figura 13**). Na embaladora a vácuo a termosoldadura foi regulada para o nível 3 e o vácuo regulado para o nível 3,5. A conservação foi feita na câmara frigorífica, a cerca de 5°C.



Figura 13 – Embaladora a vácuo.

Grupo III

Neste grupo o embalamento foi efetuado a vácuo, como se encontra descrito acima para o Grupo II.

Após o embalamento este grupo de amostras foi submetido a tratamento HPP, otimizando o binómio tempo/pressão, de forma a garantir a eliminação de microrganismos presentes e prolongar o tempo de vida útil deste produto. O tratamento foi aplicado por um equipamento de HPP, da marca Avure Technologies, que utiliza a água como meio de transmissão da pressão. Este aparelho tem um vaso com capacidade para 100 L, tendo 306 mm de diâmetro e 1,420 mm de comprimento. Pode atingir uma pressão máxima de 600 MPa e temperatura máxima de 50°C. Neste estudo, o efeito da pressão foi transmitido a uma temperatura de $17 \pm 2^\circ\text{C}$.

O produto acabado foi sujeito a uma inspeção da embalagem, com a finalidade de verificar se a embalagem se encontrava íntegra após aplicação da pressão a que foi sujeita durante o tratamento. Após inspeção o produto foi armazenado numa câmara de refrigeração, a cerca de 5° C.

3.1.1.4. Exame organolético sumário

Para avaliar a integridade e as características sensoriais do produto, os carapaus secos dos três grupos foram submetidos a um exame organolético decorridos trinta dias após o seu primeiro exame prévio aquando da pesagem e medição, da embalagem e do processamento HPP, consoante os três grupos em que foram separados.

3.1.1.5. Avaliação da estabilidade

A avaliação da estabilidade consistiu na contagem de microrganismos a 30°C, análise sensorial e exame organolético sumário após trinta dias.

3.1.1.5.1. Contagem de microrganismos a 30°C

Ainda no sentido de se poder definir a pressão a aplicar no tratamento HPP no ensaio experimental, procedeu-se à contagem dos microrganismos a 30°C a uma amostra (um carapau) do grupo I e uma do grupo II e, dentro do grupo III a um carapau de cada tratamento aplicado. Esta contagem foi realizada 33 dias após a embalagem e tratamento HPP, num laboratório externo e de acordo a ISO 4833:2003.

3.2. Ensaio experimental

A partir dos resultados do ensaio prévio foi possível decidir acerca da pressão julgada adequada para efetuar o tratamento do carapau seco.

Para avaliação dos efeitos da pressão de 400 MPa conjugada com a embalagem a vácuo, foram criados e comparados os seguintes três lotes:

- Lote 1 – 40 carapaus embalados em sacos e sem HPP, para avaliar os carapaus *in natura* e, assim, funcionarem como controlo dos potenciais efeitos da embalagem a vácuo (Lote 2) ou os efeitos da embalagem a vácuo conjugada com HPP (Lote 3);

- Lote 2 – 40 carapaus embalados a vácuo e sem HPP, para comparação com os potenciais efeitos introduzidos pela conjugação deste tipo de embalagem com o HPP (Lote 3);

- Lote 3 – 40 carapaus embalados a vácuo e com HPP, submetidos a 400 MPa, durante 5 minutos (tratamento alvo deste estudo).

O Lote 1 foi avaliado aos 1º (pesagem, medição e exame organolético) e 2º (cor, textura, ABVT, cinza total, cloreto de sódio, humidade, contagem de microrganismos a 30°C e análise sensorial) dias após a compra.

Os Lotes 2 (com vácuo e sem HPP) e 3 (com vácuo e com HPP) foram avaliados aos 1º (pesagem, medição e exame organolético) e 30º (cor, textura, ABVT, cinza total, cloreto de sódio, humidade, contagem de microrganismos a 30°C e análise sensorial) dias.

Os carapaus, sem vácuo e sem HPP (Lote 1), com vácuo e sem HPP (Lote 2) e os carapaus com vácuo e com HPP (Lote 3) estão identificados respetivamente por S, V e VHPP.

3.2.1. Processos aplicados

Os carapaus foram processados de acordo com o fluxograma de fabrico mostrado na **Figura 14**.

Todos os lotes formulados para o produto em estudo têm por base o mesmo processo de fabrico, diferenciando-se apenas na aplicação ou não aplicação das tecnologias em estudo (vácuo e HPP).

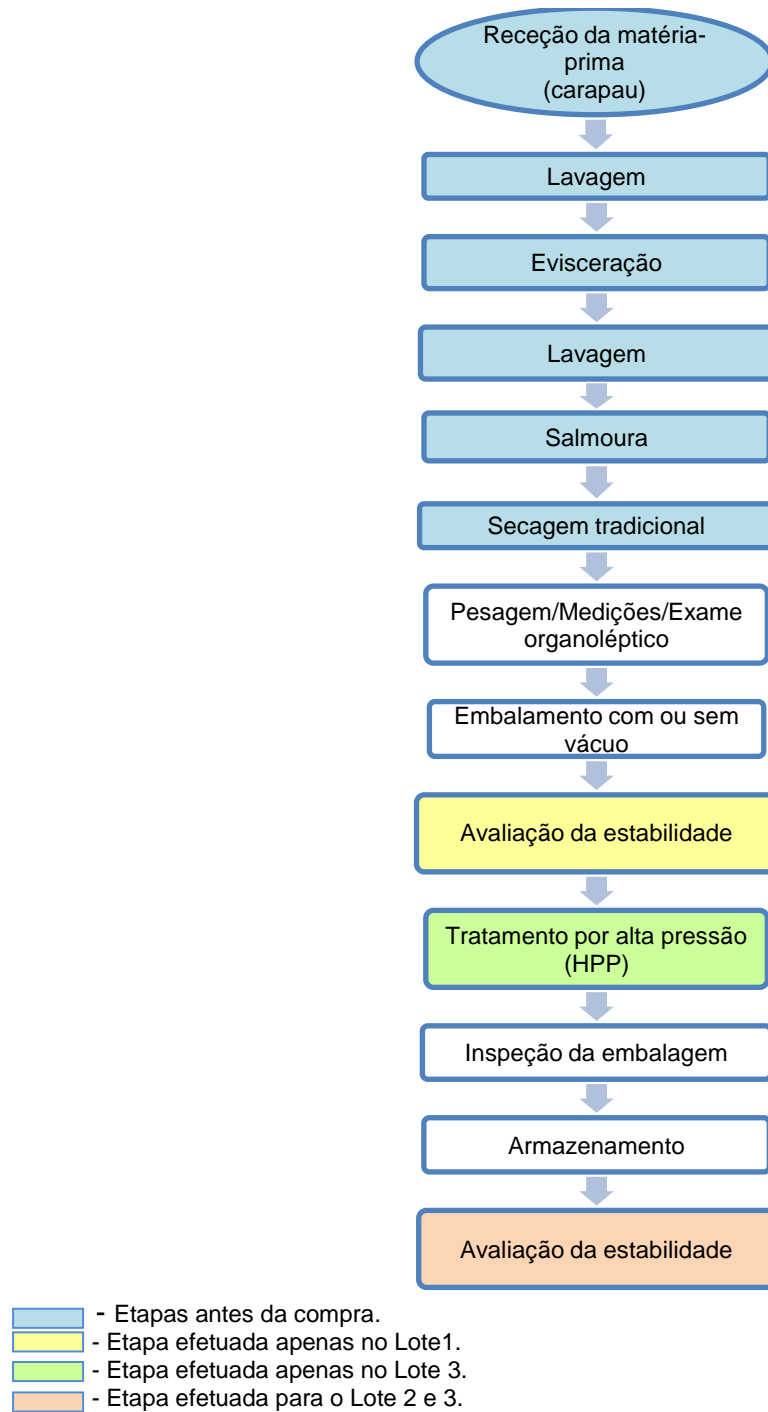


Figura 14 – Fluxograma de fabrico para o ensaio experimental.

3.2.1.1. Escolha, preparação, salga e secagem

As operações de escolha, preparação, salga e secagem foram efetuadas conforme descrito no ensaio prévio em 3.1.1.1.

3.2.1.2. Parâmetros biométricos (pesagem e medição)

Efetuar-se as pesagens e as medições individuais dos carapaus dos lotes em estudo neste ensaio, utilizando as mesmas condições descritas anteriormente em 3.1.1.2.

3.2.1.3. Embalagem (com e sem vácuo) e aplicação de HPP

No embalamento (com e sem vácuo) e na aplicação do HPP procedeu-se conforme o que se encontra descrito no ensaio prévio no ponto 3.1.1.3., correspondendo a descrição das etapas mencionadas no Grupo I ao Lote 1, no Grupo II ao Lote 2 e, por fim a descrição do Grupo III ao Lote 3.

Relativamente à inspeção da embalagem, procedeu-se como o indicado no ensaio prévio (ponto 3.1.1.3.).

3.2.1.4. Avaliação da estabilidade e exame organolético sumário

A avaliação da estabilidade consistiu na avaliação do seguinte: cor, textura, ABVT, cinza total, cloreto de sódio, humidade, contagem de microrganismos a 30°C e análise sensorial.

A metodologia utilizada é a que consta em 3.3. Métodos analíticos.

3.3. Métodos analíticos

3.3.1. Avaliação física e química

3.3.2.1. Determinação da cor

Para efetuar a medição dos parâmetros CIE $L^*a^*b^*$, utilizou-se o colorímetro de reflectância Konica Minolta Chomo meter, modelo CR 400 (**Figura 15**) com o iluminante D65 e um ângulo de visão de 0° . Este equipamento foi previamente calibrado com um azulejo branco (CRA44), com as coordenadas $y=93,8$; $x=0,3158$; $y=0,3322$.



Figura 15 - Colorímetro Minolta CR 400 e zonas de medição na amostra a analisar.

Efetuaram-se 3 medições em cada carapau ($n=3$) em locais com distância de cerca de 1 cm entre si (**Figura 15**).

Conectado ao equipamento existe um computador com um software, Spectra Magic NX, através do qual se registam os parâmetros em estudo. Os resultados das medições efetuadas utilizando o equipamento e processados por este software são apresentados em gráficos no **Apêndice II**.

Para reproduzir a cor média para cada lote (ver **Quadro 15**) introduziram-se os valores médios de L^* , a^* e b^* no programa Digital colour atlas 3.0.

3.3.2.2. Determinação da textura

Para fazer esta determinação utilizou-se o texturómetro Stevens Mechtric QTS 25 (**Figura 16**), que é um equipamento de medição com uma consola de comando. Acochado a este equipamento existe um computador com *software* onde se determinam as condições de ensaio (**Quadro 10**).



Figura 16 - Texturómetro Stevens Mechtric QTS 25.

Com este equipamento foram efetuados ensaios de penetração (**Figura 17**) em que se analisaram os seguintes parâmetros: fraturabilidade, dureza, módulo aparente, força adesiva, adesividade.

Estes ensaios foram feitos no segundo dia sem a aplicação de qualquer processamento (Lote 1), e ao fim de trinta dias após aplicação de vácuo (Lote 2) e de HPP conjugados (Lote 3), de modo a avaliar a evolução da textura no período de um mês de armazenamento.

O texturómetro foi previamente calibrado e foi-lhe aplicada uma sonda cilíndrica (ver **Quadro 11**) adequada ao produto.

Quadro 11 - Condições de ensaio para determinar a textura.

Condições de ensaio	
Tipo de ensaio	Penetração
Nº de ciclos de compressão	1 ciclo
Velocidade do teste	60 mm/min.
Tipo de sonda	Sonda metálica cilíndrica 4mm
Tipo de gráfico	Força (g) vs distância (mm)
Trigger point	1g
Distância a percorrer	16 mm
Nº de ensaios	9

Na região e nos três locais indicados por círculos na **Figura 17**, efetuaram-se 3 medições separadas, com cerca de 2 a 3 cm entre si, em 3 carapaus perfazendo um total de 9 ensaios em cada lote do ensaio.



Figura 17 - Zonas de medição e ensaio de penetração.

3.3.2.3. Determinação do valor do pH

O potenciómetro (HANNA instruments, modelo HI 2211) foi calibrado seguido as instruções de trabalho que o acompanham com o auxílio duas soluções tampão de referência (HANNA instruments), com as referências HI - 7004 e HI - 7007, para os valores de pH de 4,01 e 7,01, respetivamente.

A determinação do pH foi efetuada por duas metodologias diferentes:

- Amostra homogeneizada em água (*Metodologia 1*);
- Amostra homogeneizada em solução de cloreto de potássio (*Metodologia 2*);

como se descreve mais à frente.

Em cada uma das metodologias foram efetuadas 3 medições (uma em cada carapau) para cada lote em estudo. A cada amostra de carapau foram retiradas a cabeça, barbatanas, espinhas e a pele, isto é, foi apenas utilizada a massa muscular, que depois de ser separado em tiras foi triturada numa varinha (Braun, modelo MR 500).

Metodologia 1

De acordo com Teixeira (2012), num copo de laboratório de 100 ml juntaram-se (diluição 1:10) 5 g de músculo de peixe e 50 ml de água desionizada, previamente pesado numa balança da marca Mettler Toledo, modelo PB1501, com precisão e exatidão ambas de 0,1 g. Seguiu-se a picagem e a homogeneização da mistura na varinha no seu respetivo recipiente plástico.

Em cada homogeneizado obtido mergulhou-se o eléctrodo (HANNA instruments, modelo HI 1131B), com corpo de vidro, junção única, de enchimento, deixando-se estabilizar.

Metodologia 2

Efetuu-se homogeneização de cada amostra (1:10) com a varinha, colocando-se 5 g de amostra de carapau em 50 ml de soluto isotónico de cloreto de potássio (KCl) a 1 N ($M = 74,56\text{g/mol}$).

Em cada homogeneizado mergulhou-se o eléctrodo (referenciado na metodologia 1) e deixou-se estabilizar.

3.3.2.4. Determinação do teor de azoto básico volátil

A determinação do azoto básico volátil efetuou-se num laboratório externo, através de métodos internos do laboratório, baseados na norma de referência para produtos da pesca e da aquicultura, através do método de *Conway*, descrito na NP 2930 de 2009.

O valor de ABVT é utilizado como indicador bioquímico de qualidade para o peixe e produtos do mar. O regulamento (CE) nº 1022/2008 define o limite de ABVT, no entanto não define limites para peixe seco, desta forma consideramos o limite de 30 mg de azoto/100 g de tecido muscular para o produto em estudo.

3.3.2.5. Determinação do teor de cinza total

A determinação da cinza total foi efetuada por gravimetria num laboratório externo, através de métodos internos do laboratório, baseados na norma de referência para produtos da pesca e da aquicultura - NP 2032 de 2009.

3.3.2.6. Determinação do teor cloretos de sódio

A determinação dos cloretos efetuou-se num laboratório externo por volumetria de acordo com métodos internos do laboratório, baseados na norma de referência para produtos da pesca e da aquicultura - NP 2929 de 2009.

3.3.2.7. Determinação do teor de humidade

A determinação da humidade no peixe efetuou-se num laboratório externo por volumetria de acordo com métodos internos do laboratório baseados na norma de referência para produtos da pesca e da aquicultura - NP 2282 de 2009.

3.3.2. Avaliação microbiológica

Para efetuar a análise microbiológica do carapau seco foi realizada a contagem dos microrganismos a 30°C para os três lotes em estudo.

3.3.2.1. Contagem de microrganismos a 30°C

A contagem dos microrganismos a 30°C foi efetuada num laboratório externo de acordo a ISO 4833:2003. Para cada lote em estudo foram efetuadas três repetições, através dum homogenato dos carapaus de cada lote.

3.3.3. Avaliação sensorial

Esta análise foi efetuada por um painel de provadores fixo (n=15) previamente treinado.

Inicialmente realizou-se a seleção dos indivíduos/membros para a constituição do painel de provadores através de um questionário (**Apêndice V**). A seleção foi efetuada consoante o interesse, disponibilidade, restrições alimentares, hábitos dos indivíduos inquiridos. Efetuou-se o treino deste grupo de pessoas selecionadas com a finalidade de as familiarizar com o produto em questão e sensibilizar face aos diferentes atributos. Para esta familiarização com o produto efetuou-se a análise sensorial das amostras do ensaio prévio (*in natura*). Com este treino também se pretendeu uma otimização e uniformidade das respostas do painel de provadores.

Aos indivíduos constituintes do painel procedeu-se a um esclarecimento sobre este tipo de análise, tendo sido distribuído um folheto informativo (**Apêndice VI**), de modo a sensibilizar os provadores. Foram explicados todos os itens da ficha de prova (**Apêndice VII**) para que conceitos mais específicos fossem facilmente compreendidos,

por forma, a que as pessoas fossem o mais credíveis possível e que possuíssem uma maior capacidade discriminatória.

A análise sensorial do carapau seco foi efetuada no Lote 1 ao 2º dia e, nos lotes 2 e 3 ao 30º dia após embalamento.

A Ficha de Prova (**Apêndice VII**) criada é classificada como descritiva com escala numérica (1-6) que inclui - os parâmetros avaliados: aspeto (cor e aparência); aroma (característico, maresia, salgado, ranço, putrefação e agrado/desagrado); sabor (característico, salgado, amargo, ranço, oleosidade e agrado/desagrado); textura (global, consistência e resistência ao corte); sensação residual (salgado, amargo, ranço e oleosidade) e apreciação geral.

As provas de análise sensorial decorreram no refeitório da Frubça (sala sem temperatura controlada), às 16 horas, tendo as amostras e a Ficha de Prova sido disposta numa mesa (**Figura 18**). As amostras foram codificadas com respetivos lotes.

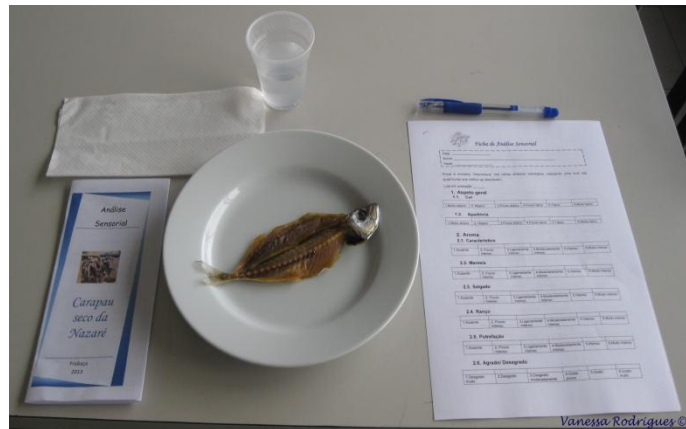


Figura 18 – Organização da prova de análise sensorial.

3.3.4. Análise e tratamento estatístico dos resultados

Os resultados dos parâmetros biométricos, cor, textura, valor do pH, ABVT, cinza total, cloreto de sódio, humidade e a contagem de microrganismos a 30°C, foram tratados utilizando o *Statistica* versão 6.0, *Stat Soft, Inc.*

Realizou-se o teste paramétrico de análise de variância (Anova/Manova), em que se usou o *Test de Wilks* (**Apêndice IV**). Posteriormente, efetuou-se o teste *Post Hoc* LSD *Fischer* (**Apêndice IV**) para efetuar comparações de médias e detetar a eventual existência de diferenças significativas entre grupos.

Diferentes caracteres em médias comparadas indicam a existência de diferenças significativas para um $p < 0,05$, e as letras iguais demonstram que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$).

CAPÍTULO 4 - APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

4.1. Ensaio prévio

4.1.1. Parâmetros biométricos

Na **Quadro 12**, para as 26 amostras (carapaus), apresentam-se os valores mínimos, máximos, médios e os desvios padrões obtidos na medição do comprimento total, comprimento à furca, comprimento standard, da largura e da pesagem individual do carapau.

Quadro 12 - Valores médios, mínimos, máximos e desvios padrões (δ) do comprimento total, à furca e standard, da largura e do peso individual para as 26 amostras do ensaio prévio.

Parâmetros biométricos	Comprimento total	Comprimento à furca	Comprimento standard	Largura	Peso
Mínimo (cm)	18,10	16,90	15,00	7,00	25,10
Máximo (cm)	23,00	20,70	19,90	8,60	44,60
Média (cm)	19,78	18,60	16,52	7,63	32,67
δ	1,13	1,02	1,08	0,45	4,56

Pode-se verificar que os carapaus apresentaram valores médios de comprimentos - total, à furca e standard – e de, largura e peso de, 19,78 cm, 18,60 cm, 16,52 cm, 7,63 cm e 32,67 cm, respetivamente (**Quadro 11**).

4.1.2. Exame organolético sumário

4.1.2.1. Exame organolético sumário no 1º dia

No exame organolético das duas amostras do Grupo I (sem vácuo e sem HPP), efetuado no primeiro dia de análise, após a sua aquisição - no decorrer da medição e pesagem - não se verificaram desvios ou anormalidades ao nível do aspeto e do cheiro.

No que diz respeito às amostras do Grupo II (com vácuo e sem HPP), após embalagem a vácuo não se observaram diferenças em relação às amostras do Grupo I, apenas a embalagem deu ao produto um aspeto mais brilhante.

Relativamente às amostras do Grupo III (com vácuo e com HPP), após terem sido submetidas a HPP observou-se que o músculo do peixe ficou ligeiramente mais pálido quando sujeito a pressões superiores a 350 MPa.

4.1.2.2. Exame organolético sumário no 30º dia

Ao fim de trinta dias após o início do ensaio prévio, as amostras do Grupo I (sem vácuo e sem HPP) apresentaram um cheiro e aspeto desagradáveis, por já se encontrarem deterioradas.

Quanto às amostras do Grupo II (com vácuo e sem HPP) e III (com vácuo e com HPP), nestas os carapaus continuaram com o mesmo aspeto que tinham no 1º dia.

À pressão de 250 MPa, não foi visível grande alteração e o cheiro manteve-se. O sabor foi agradável.

Com a pressão de 300 MPa não se constataram diferenças em relação as amostras submetidas a 250 MPa.

Relativamente às pressões de 350 e 400 Mpa, nestas constatou-se uma ligeira alteração de cor, com todo o músculo do peixe a apresentar-se ligeiramente mais pálido, com maior evidência junto à coluna vertebral do peixe, principalmente a 400 MPa. O cheiro foi agradável nas amostras submetidas a qualquer uma das pressões aplicadas.

As pressões de 450 e 500 MPa tornaram o músculo do peixe muito pálido em relação ao carapau seco *in natura*, atribuindo-lhe um aspeto de cozinhado. Desta forma, a aplicação destas pressões no carapau seco não é conveniente. O cheiro, por seu lado, continuou sem mostrar alteração.

Em algumas amostras, à superfície apareceram umas pintas brancas brilhantes, o que possivelmente estará relacionado com a migração do sal até a superfície, desnaturação irreversível de proteínas e com a saída de exsudado.

Com pressões mais elevadas (400-500 MPa) observaram-se em algumas amostras saída de exsudado do carapau para o saco e em termos sensoriais a textura do carapau tornou-se mais consistente/firme.

Na **Figura 19** é possível observar-se que a partir de 350 MPa se registam maiores diferenças de cor em relação ao padrão (sem vácuo e sem HPP, primeira foto, lado superior esquerdo).

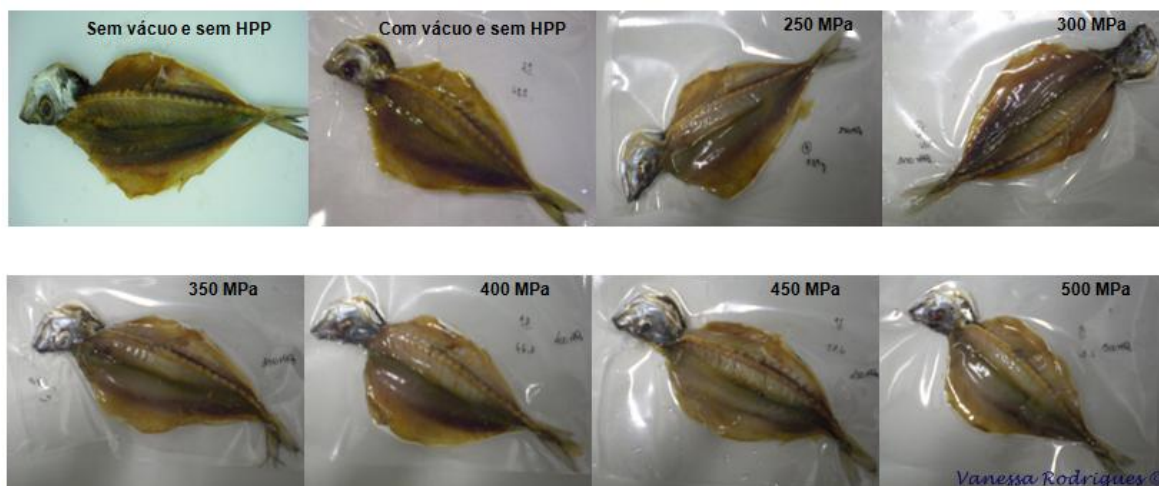


Figura 19 – Alterações de cor no carapau salgado seco, sem qualquer processamento ulterior, depois de submetido a vácuo ou a diferentes tratamentos de alta pressão, ou ambos.

Na prova sensorial as amostras submetidas às pressões de 250 e 300 MPa foram identificadas como as amostras mais semelhantes ao carapau *in natura* em todos os aspetos (aspeto geral, cheiro e sabor).

4.1.3. Contagem de microrganismos a 30°C ao 33º dia

Os resultados obtidos desta análise microbiológica a um carapau do Grupo I, a um do Grupo II e, dentro do Grupo III a um carapau de cada tratamento aplicado, encontram-se no **Quadro 13**, onde se pode observar uma grande variabilidade entre as amostras o que estará relacionado com a carga inicial e individual de cada carapau. No entanto, verificou-se uma redução mais elevada da carga microbiana a 350 e a 400MPa de pressão, sendo a pressão de 400 MPa a que revelou melhores resultados.

Quadro 13 - Contagem de microrganismos a 30°C em carapau seco embalado a vácuo com cerca de 33 dias após o início do ensaio prévio.

Identificação da amostra	Resultados (ufc/g)
Carapau seco embalado a vácuo s/ HPP	$1,7 \times 10^6$
Carapau seco embalado a vácuo a 250 MPa	$4,9 \times 10^6$
Carapau seco embalado a vácuo a 300 MPa	$1,5 \times 10^6$
Carapau seco embalado a vácuo a 350 MPa	$8,1 \times 10^4$
Carapau seco embalado a vácuo a 400 MPa	$1,3 \times 10^3$
Carapau seco embalado a vácuo a 450 MPa	$3,7 \times 10^5$
Carapau seco embalado a vácuo a 500 MPa	$2,5 \times 10^5$

4.1.4. Conclusões do ensaio prévio

Em suma, a pressão de 400 MPa demonstrou ser a pressão mais adequada a utilizar para a obtenção do produto final que é desejado. Apesar de se visualizar uma ligeira alteração de cor e de sensorialmente se afastar ligeiramente do sabor do carapau seco *in natura*, é a pressão que permite maior inativação microbiana, contudo há que ter em consideração que uma análise é pouco representativa de um conjunto de amostras.

À pressão de 250 MPa não terá permitido inativar a flora microbiana presente no carapau seco, uma vez que a pressão é relativamente baixa. De acordo com Murchie *et al.* (2005), as pressões na gama de 300-600 MPa podem inativar muitos fungos e bactérias vegetativas e, segundo Heinz & Buckow (2009), geralmente a inativação significativa de bactérias vegetativas, leveduras e bolores vírus pode ser observada dentro de minutos, à temperatura ambiente e pressões superiores 300 MPa. Segundo estes autores pode-se verificar que pressões superiores a 300 MPa permitem melhor inativação microbiológica.

Também é de salientar que pressões superiores a 300 MPa induzem a desnaturação irreversível de proteínas e a inativação de enzimas e por outro lado, a pressão inferiores a 300 MPa afetam a aceleração de ação da enzima devido a interações químicas fracas, provocando a desnaturação reversível (Thakur & Nelson, 1998; Campos, *et al.*, 2003).

4.2. Ensaio experimental

Conforme apresentado nos materiais e métodos, nesta avaliação os carapaus sem vácuo e sem HPP (Lote 1), com vácuo e sem HPP (Lote 2) e os carapaus com vácuo e com HPP (Lote 3) estão identificados respetivamente por S, V e VHPP.

4.2.1. Avaliação física e química

4.2.1.1. Parâmetros biométricos

Na **Quadro 14** apresentam-se os valores médios e os desvios padrões obtidos nas medições do comprimento total, comprimento à furca, comprimento standard, da

largura e na pesagem individual do carapau seco no dia seguinte à aquisição à produtora da Nazaré. Os valores mínimos e máximos obtidos nas medições e pesagens encontram-se no **Apêndice I**.

Da aplicação da análise estatística para analisar os parâmetros biométricos efetuou-se o estudo de acordo com a variável independente, os lotes (*One Way*) (**Apêndice IV**), verificando-se diferenças significativas no comprimento à furca. Os restantes parâmetros biométricos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Quadro 14 – Valores médios e desvios padrões (δ) do comprimento total, à furca e standard, da largura e do peso individual para os lotes de carapau seco em estudo.

Lote	n	Comprimento			Largura $\bar{x} \pm \delta$	Peso individual $\bar{x} \pm \delta$
		total $\bar{x} \pm \delta$	à furca $\bar{x} \pm \delta$	standard $\bar{x} \pm \delta$		
1 - S	40	18,44 ± 0,97 ^a	17,20 ± 0,90 ^a	15,07 ± 0,86 ^a	6,58 ± 0,54 ^a	25,63 ± 5,22 ^a
2 - V	40	18,67 ± 1,96 ^a	17,57 ± 0,75 ^b	15,23 ± 0,56 ^a	6,61 ± 0,52 ^a	25,51 ± 4,40 ^a
3 -VHPP	40	18,47 ± 0,92 ^a	17,36 ± 0,89 ^{a,b}	15,20 ± 0,83 ^a	6,71 ± 0,52 ^a	26,17 ± 5,50 ^a

De acordo com o anexo XII do Regulamento (CE) n.º 850/98, onde encontram estabelecidos tamanhos mínimos de captura para vários peixes, moluscos e crustáceos, pode-se verificar que o tamanho mínimo de captura definido para o carapau (*Trachurus spp.*) é de 15 cm (comprimento total). Através deste valor definido pela legislação constatou-se que a média dos valores do comprimento total foram superiores a 15 cm. No entanto, no Lote 2, um dos carapaus atingiu um valor mínimo de 13,50 cm. Há que ter em consideração que num sistema de pesca, como será de entender, em cardumes, muito dificilmente não haverá espécimes que não possam apresentar comprimentos ligeiramente inferiores ao legislado.

Analisando de forma sumária os valores dos parâmetros biométricos dos três grupos (ensaio prévio) observou-se que os valores são muito semelhantes entre lotes. Os valores obtidos foram expectáveis de acordo com aos valores obtidos no ensaio prévio, contudo os valores do ensaio prévio são ligeiramente superiores aos obtidos neste ensaio.

4.2.1.2. Cor

Na **Quadro 15** e nos gráficos das **Figuras 20, 21, 22, 23, 24** apresentam-se os valores médios e desvios padrões resultantes da avaliação da cor nos três lotes de carapau. No **Apêndice II** encontram-se os quadros obtidos experimentalmente do colorímetro.

Para analisar a cor do carapau seco efetuou-se o estudo de acordo com a variável independente, os lotes (*One Way*) (**Apêndice IV**). Através desta análise, pode-se constatar que L*, a*, b* e C* apresentaram diferenças significativas entre lotes ($p < 0,05$), por outro lado H^o não apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$).

Quadro 15 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros da cor L*, a*, b*, C* e H^o e cor média para os três lotes de carapau seco em estudo.

Lote	n	L* $\bar{x} \pm \delta$	a* $\bar{x} \pm \delta$	b* $\bar{x} \pm \delta$	C* $\bar{x} \pm \delta$	H ^o $\bar{x} \pm \delta$	Cor
1 - S	9	31,66 ± 2,98 ^a	5,77 ± 1,54 ^c	8,04 ± 2,62 ^a	10,00 ± 2,61 ^a	53,60 ± 8,94 ^a	
2 - V	9	34,62 ± 2,55 ^a	3,14 ± 0,51 ^b	6,25 ± 1,31 ^a	7,03 ± 1,17 ^b	62,64 ± 6,23 ^a	
3 - VHPP	9	41,17 ± 4,86 ^b	1,56 ± 1,01 ^a	10,40 ± 1,82 ^b	10,57 ± 1,73 ^a	60,99 ± 56,36 ^a	

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Com base na análise da **Figura 20**, verificou-se que relativamente ao parâmetro L* os lotes diferem entre si. Pode-se observar que os valores de L* aumentam com o embalamento a vácuo e/ou com a aplicação do tratamento HPP (Lotes 2 e 3). No entanto, através da análise (utilizando o teste *Post Hoc* LSD Fischer), apenas o Lote 3 apresentou diferenças significativas em relação aos outros lotes. Este facto manteve-se de acordo com o obtido no ensaio prévio, em que se verificou que à pressão de 400 MPa uma ligeira alteração de cor em todo o músculo do peixe, apresentou-se ligeiramente mais pálido.

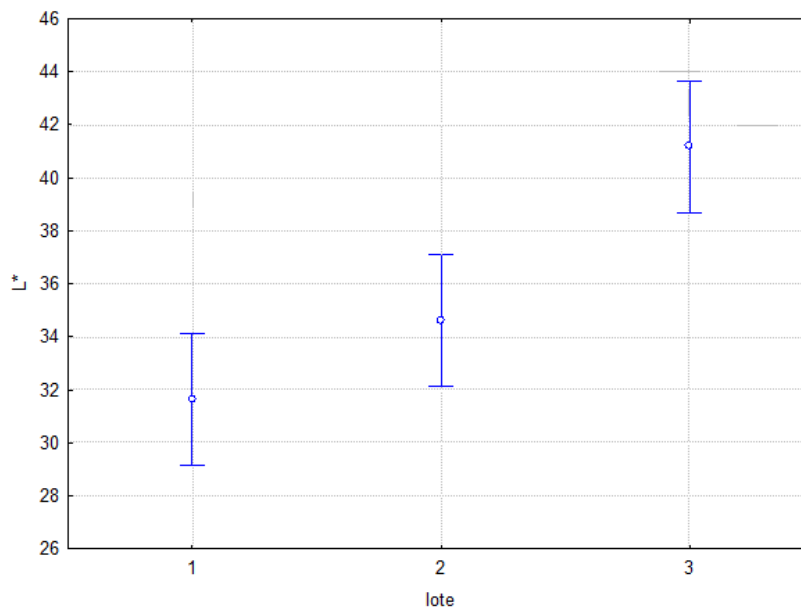


Figura 20 – Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro L* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Os carapaus sem vácuo e sem HPP (Lote 1) apresentaram os menores valores de L^* , o que indica, de acordo com o que Erkan *et al.* (2010 a) descreve para o salmonete, que o tratamento HPP atribuiu uma aparência mais brilhante e menos transparente. Isto, também demonstra que o Lote 1 é ligeiramente mais escuro (menos pálido) em relação aos outros dois lotes. Provavelmente, também o facto de ter havido produção de exsudado nos carapaus submetidos a HPP terá contribuído para uma maior reflexão e refração da luz com aumento do brilho e, conseqüentemente, da luminosidade.

Na **Figura 21**, relativamente ao parâmetro CIE Lab a^* , pode-se observar os lotes foram diferentes entre si. O Lote 2 apresentou valores mais baixos que o Lote 1, o que significa que o embalamento a vácuo torna o carapau seco ligeiramente mais esverdeado, o que se intensifica ligeiramente com a aplicação do tratamento HPP, verificando-se no Lote 3, os valores mais baixos deste parâmetro. Desta forma, as amostras do Lote 1 foram as mais avermelhadas. Contudo, não foi efetuado um período de oxigenação ou *bloom*, o que poderia ter levado a que ao fim de algum tempo na atmosfera ambiente os carapaus embalados a vácuo – depois de devidamente oxigenados - pudessem ter recuperado uma cor em que os valores de a^* se aproximassem dos valores apresentados pelos carapaus que não foram embalados a vácuo.

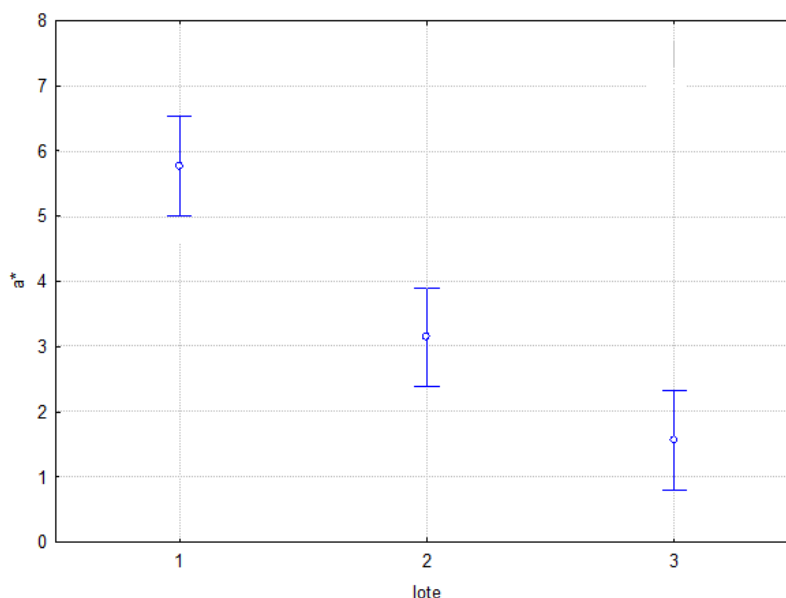


Figura 21 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro a^* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

No que diz respeito ao gráfico da **Figura 22**, relativamente ao parâmetro CIE Lab b^* , observa-se que o Lote 3 é o lote que apresentou valores de b^* superiores, o que demonstrou que as amostras submetidas a HPP se apresentaram mais amarelas. Por

outro lado o Lote 2 apresentou valores de b^* mais baixos que o Lote 1, o que demonstra que a submissão do produto apenas ao embalagem a vácuo tornou a amostra menos amarelada, sendo mais acinzentada.

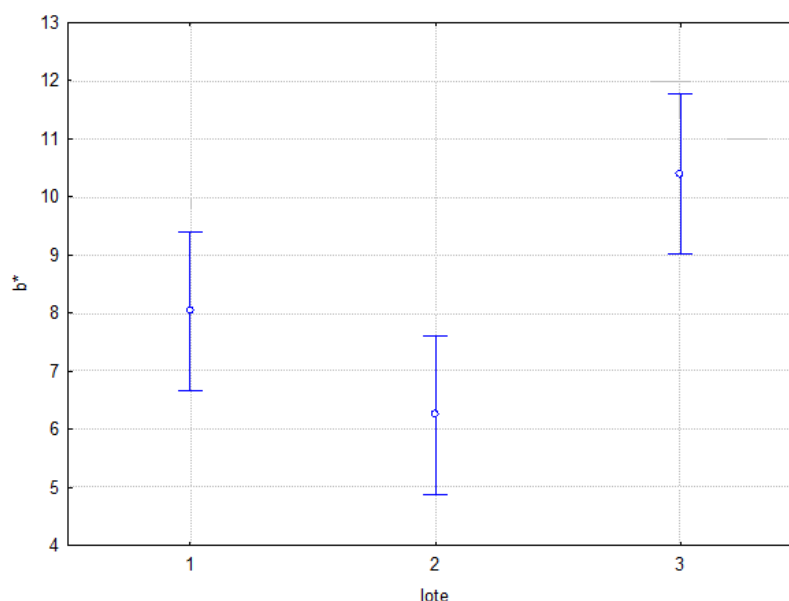


Figura 22 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro b^* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Verificou-se que a aplicação de HPP (Lote 3) ao produto, em comparação com o carapau seco sem embalagem a vácuo e sem HPP (Lote 1), provocou um aumento dos valores de L^* e b^* e uma diminuição dos valores de a^* , ou seja, os carapaus ganharam brilho, e tornaram-se mais amarelos e mais esverdeados. Resultados semelhantes para estes parâmetros têm sido relatados em diferentes peixes submetidos ao HPP, tais como, carapau (Erkan *et al.*, 2011 a), bacalhau fumado (Montiel *et al.*, 2012), salmonete (Erkan *et al.*, 2010 a), robalo (Erkan *et al.*, 2010 b), e também em marisco, camarão tigre preto (Kaur *et al.*, 2012).

A descoloração provocada pelo processo de alta pressão hidrostática pode ser explicada como resultado da oxidação da mioglobina, que passa da forma ferrosa para férrica, com conseqüente declínio dos valores de a^* e um aumento na proporção de metamioglobina em relação à oximioglobina (Carlez, *et al.*, 1995, citado por Canto, 2011). O aparecimento da luminosidade pode ser proveniente da desnaturação da globina e do deslocamento ou liberação (desprendimento) do grupo heme, assim como, por modificações nas proteínas miofibrilares e sarcoplasmáticas com conseqüentes alterações na superfície da carne (Jung *et al.*, 2003, citado por Canto, 2011).

Quanto ao croma (C^*) representado no gráfico da **Figura 23**, pode-se visualizar que o Lote 3 assemelhou-se ao Lote 1, sendo que estes dois lotes não apresentaram diferenças significativas entre eles, o que demonstrou que a aplicação do HPP tornou as

amostras mais semelhantes ao produto *in natura* (Lote 1). Apenas o Lote 2 (com o embalamento a vácuo) apresentou diferenças significativas em relação aos outros dois lotes (1 e 3), observando-se para o Lote 2 uma diminuição dos valores de croma, ou intensidade da cor, sendo as amostras deste lote as mais acinzentadas.

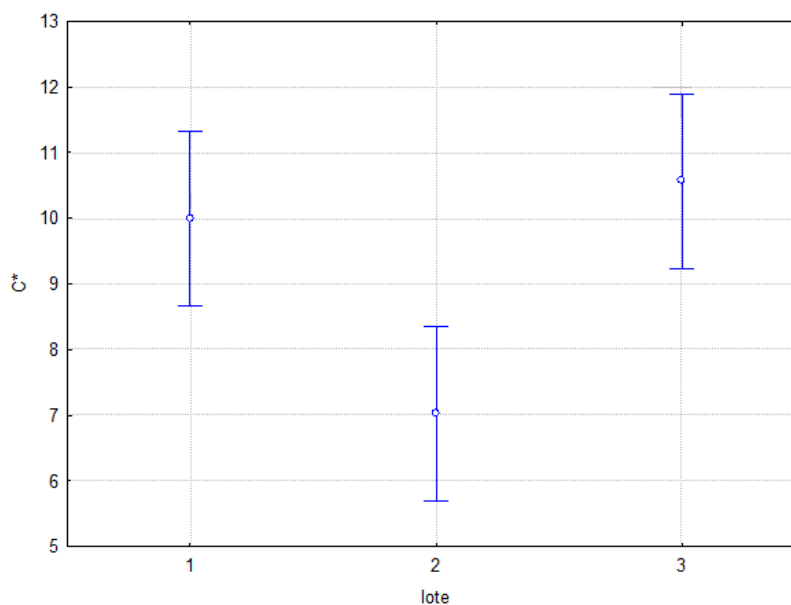


Figura 23 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro C* para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Chéret *et al.* (2005) obtiveram resultados de croma que mostraram que os valores de croma aumentam com a pressão. Tal facto também se verificou neste estudo, uma vez que o valor de croma apresentou-se superior no Lote 3 (com HPP) e o menor valor para o Lote 2 (sem HPP).

As modificações ocorridas na cor da carne durante o período de armazenamento podem ser associadas às reações enzimáticas e não enzimáticas, resultando na degradação das proteínas miofibrilares e desorganização das miofibrilas (Jung, 2003, citado por Canto, 2011).

Apesar de existirem diferenças significativas ($p < 0,05$) para os vários parâmetros de cor anteriormente mencionados, relativamente à tonalidade (H^0), pode observar-se na **Figura 24**, que não existiram diferenças significativas entre os lotes ($p > 0,05$). Todos os lotes foram muito semelhantes em termos de tonalidade.

Chéret *et al.* (2005) obtiveram resultados de tonalidade em robalo tratado a 400 MPa ao fim de 14 dias de $164,96 \pm 18,61$, sendo este valor inferior ao obtido no controlo (sem HPP) no primeiro dia ($168,25 \pm 16,14$). Tal facto não se constatou neste estudo, o valor obtido pelos autores diferem bastante dos valores obtidos neste estudo e, os valores de H^0 obtidos nos Lotes 2 e 3 foram superiores ao controlo (Lote 1), o que pode

estar relacionado: com espécie em estudo, uma vez que a matriz alimentar é diferente, e com o processamento térmico a que os carapaus foram sujeitos.

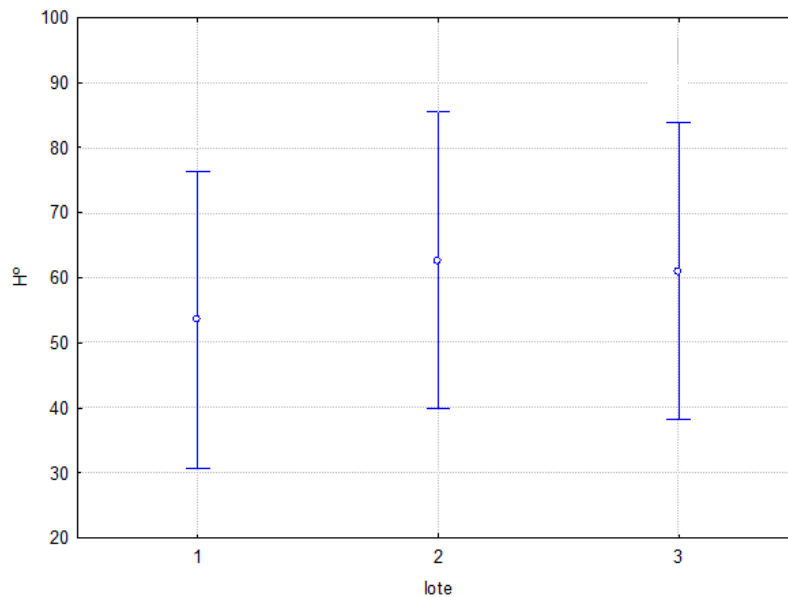


Figura 24 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do parâmetro H⁰ para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

4.2.1.3. Textura

Na **Quadro 16** e nos gráficos da **Figura 25, 26, 27 e 28** apresentam-se os valores médios e desvios padrões resultantes da avaliação dos parâmetros de textura (fraturabilidade, dureza, módulo aparente, força adesiva, adesividade) para os três lotes de carapau seco, constatando-se que não houve diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os lotes estudados.

No **Apêndice III** encontram-se os gráficos obtidos experimentalmente do texturómetro.

Para analisar a textura do carapau seco efetuou-se o estudo de acordo com a variável independente, os lotes (*One Way*) (**Apêndice IV**).

Quadro 16 - Valores médios e desvios padrão dos parâmetros de textura para os três lotes de carapau seco em estudo.

Lote	n	Fraturabilidade	Dureza	Módulo aparente	Força Adesiva	Adesividade
		(N) $\bar{x} \pm \delta$	(N) $\bar{x} \pm \delta$	(N/s) $\bar{x} \pm \delta$	(N) $\bar{x} \pm \delta$	(N.s) $\bar{x} \pm \delta$
1 - S	9	4,16 ^a ± 2,92	6,53 ^a ± 1,52	0,52 ^a ± 0,13	-0,41 ^a ± 0,12	-0,16 ^a ± 0,08
2 - V	9	5,02 ^a ± 2,67	6,97 ^a ± 1,77	0,74 ^a ± 0,26	-0,60 ^a ± 0,22	-0,29 ^a ± 0,14
3 - VHPP	9	5,67 ^a ± 3,40	6,24 ^a ± 3,37	0,70 ^a ± 0,28	-0,60 ^a ± 0,36	-0,25 ^a ± 0,20

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Como se pode observar na **Figura 25**, no que diz respeito à fracturabilidade observou-se um ligeiro aumento com o embalamento a vácuo (Lote 2) e com o embalamento e a aplicação de HPP (Lote 3), o que mostra que o carapau ficou mais quebradiço/frágil relativamente ao carapau *in natura* (Lote 1).

Montiel *et al.* (2012) relataram, em bacalhau fumado embalado a vácuo, um aumento da fraturabilidade com a pressão e, por outro lado uma diminuição da fraturabilidade com o tempo de conservação. Os autores também referem que após trinta dias de armazenamento, a 400 MPa a fraturabilidade é menor que no bacalhau fumado sem HPP. De acordo com estes autores seria de esperar uma diminuição da fraturabilidade no Lote 3, tal situação não se verificou, o que poderá estar relacionado com a espécie em estudo e com as proteínas existentes.

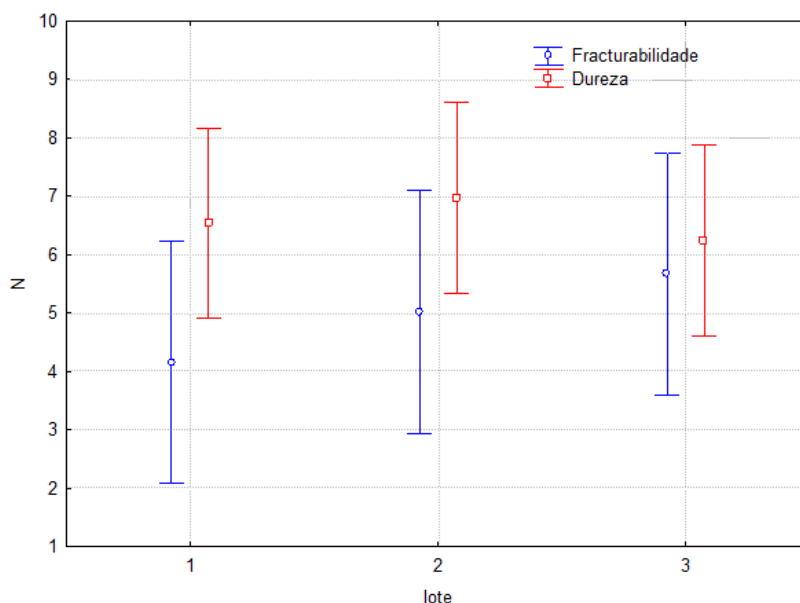


Figura 25 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de fraturabilidade e dureza para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Relativamente à dureza, representada no gráfico da **Figura 25**, visualiza-se que os lotes são muito semelhantes. Todavia observou-se um ligeiro aumento dos valores de dureza com o embalamento a vácuo (Lote 2) e uma ligeira diminuição com o embalamento e a aplicação de HPP (Lote 3) comparativamente ao Lote 1 (sem vácuo e sem HPP). A tendência dos valores de dureza do Lote 3 serem ligeiramente inferiores aos dos outros dois lotes poderá estar relacionada com o efeito induzido pelo HPP.

Na literatura também foram relatados resultados de dureza em: camarão tigre preto (Kaur *et al.*, 2012), bacalhau fumado (Montiel *et al.*, 2012) e em cavala (Aubourg *et al.*, 2013 b). De acordo com esses autores, a dureza aumenta significativamente com a pressão e, segundo Kaur *et al.* (2012) e Aubourg *et al.* (2013 b) a dureza diminui com o

tempo de armazenamento. Este último fator pode explicar o facto dos valores de dureza do Lote 3 terem apresentado uma ligeira tendência para serem inferiores aos do Lote 1, uma vez que foi submetido a um período de armazenamento de trinta dias, enquanto o Lote 1 possuía apenas dois dias de conservação.

Ayala *et al.* (2010), citado por Cheng, Sun, Han & Zeng (2014), mediram os parâmetros de textura em filetes de pargo e obtiveram para a dureza uma diminuição significativa com o tempo de armazenamento. Contudo, de acordo com o relatado por estes autores e, com o relatado por Montiel *et al.* (2011) e Aubourg *et al.* (2013 b), os valores obtidos não foram os expectáveis, pelo que a diferença entre os lotes não foi significativa.

Na **Figura 26** é possível observar-se que os valores de módulo aparente foram superiores para os Lotes 2 e 3, o que demonstra uma tendência para que o embalamento a vácuo bem como a aplicação de HPP, relativamente ao Lote 1, tenham levado tendencialmente a um aumento da rigidez. Verifica-se na **Figura 26**, que ao fim de trinta dias de armazenamento as amostras submetidas a HPP (Lote 3) exibiram valores de módulo aparente ligeiramente inferiores aos valores obtidos para as amostras submetidas somente a embalamento a vácuo (Lote 2), ou seja, a aplicação de HPP tendeu a reduzir (de forma estatística não significativa) a rigidez.

Chéret *et al.* (2005) relataram em robalo para o tratamento a 400 MPa que a elasticidade diminui após 14 dias de armazenamento.

Aubourg *et al.* (2013 a) relataram no salmão que o valor de firmeza aumenta com o tempo de armazenamento nas amostras sem HPP e em qualquer um dos tratamentos aplicados (135, 170 e 200 MPa).

Os valores obtidos de módulo aparente foram expectáveis, tendo em conta os resultados obtidos por Chéret *et al.* (2005) e Aubourg *et al.* (2013 a), uma vez que a diminuição de elasticidade está associada a um aumento de rigidez/firmeza.

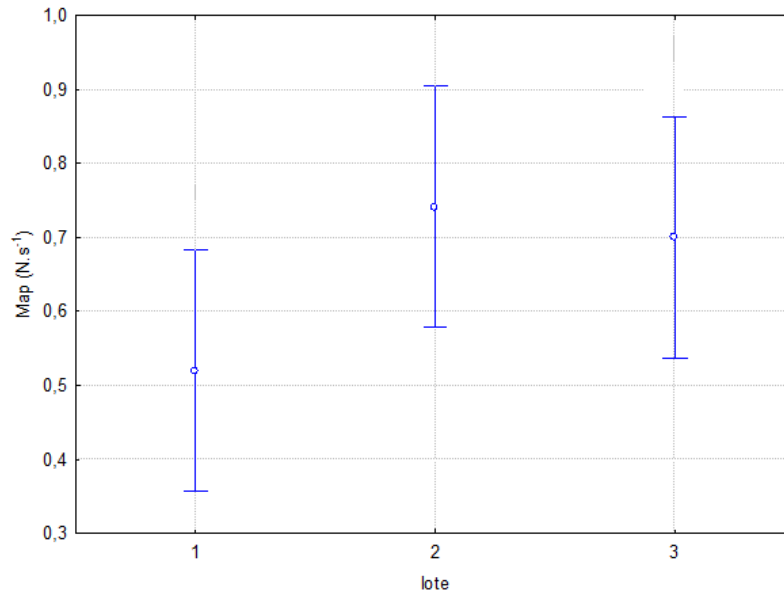


Figura 26 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de módulo aparente (Map N.s⁻¹) para os três lotes de carapau seco estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Relativamente à força adesiva, na **Figura 27** pode-se constatar que os Lotes 2 e 3 revelaram um conjunto de valores semelhantes entre si, e ligeiramente diferentes dos do Lote 1. Verificou-se que os valores de força adesiva diminuíram com o embalamento e aplicação do tratamento HPP, constando-se que as tecnologias posteriormente aplicadas ao carapau seco e/ou o tempo de armazenamento diminuíram a força adesiva. Ashie & Simpson (1996), citado por Campus (2010), também relataram a diminuição de valores de força quando o peixe é submetido a pressões acima de 200 MPa durante 10 minutos e também em peixes tratados com pressões acima de 300 MPa.

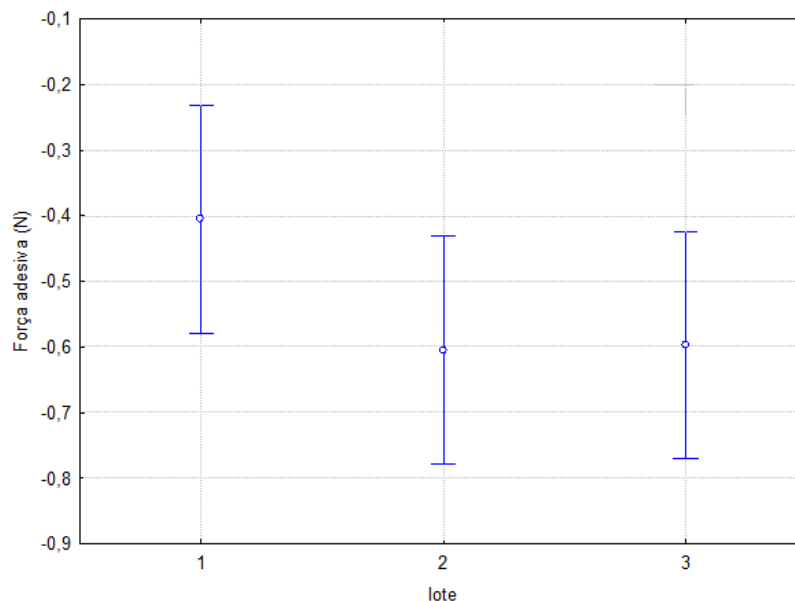


Figura 27 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de força adesiva para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

No que diz respeito à adesividade, pode-se observar na **Figura 28**, que os Lotes 2 e 3 perdem adesividade, o que demonstra que o embalamento a vácuo e a sua conjugação diminuem os valores de adesividade. Tendo em conta que estes dois lotes foram apenas avaliados ao 30º dia, estes valores também podem estar associados ao tempo de armazenamento. No Lote 3 os valores de adesividade são ligeiramente superiores ao Lote 2 o que indica que o HPP aumentou ligeiramente a adesividade.

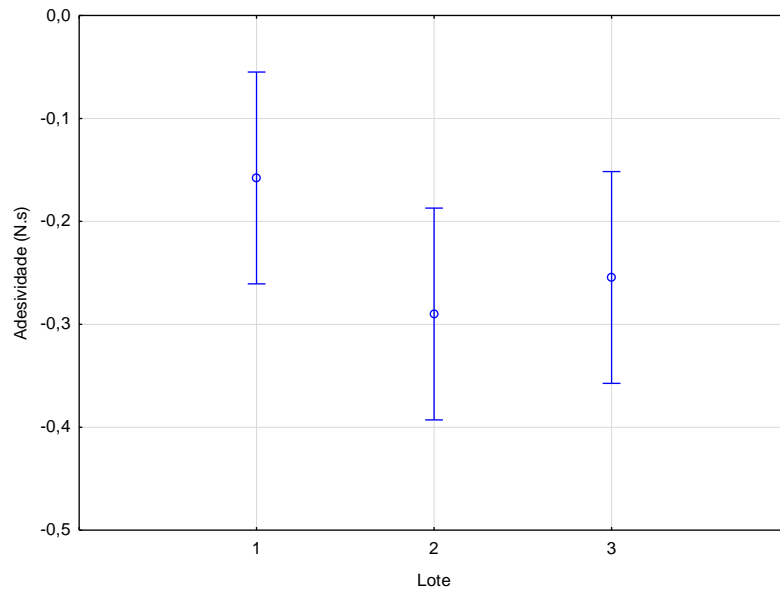


Figura 28 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de adesividade para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Diversos autores têm relatado resultados de adesividade em peixes. Aubourg *et al.* (2013 b) relataram em cavala que a adesividade em amostras congeladas é menor do que em amostras frescas. Estes autores também relataram que os tratamentos HPP causam o aumento significativo da adesividade com os níveis de pressão e o tempo de armazenamento. No entanto, baixos níveis de pressão (150 – 175 MPa) produziram valores de adesividade semelhantes ao músculo fresco.

Ayala *et al.* (2010), citado por Cheng *et al.* (2014), observaram para filetes de pargo em 5 dias de armazenamento, um aumento significativo da adesividade ($P < 0,05$) com o aumento do tempo de armazenamento. Isto é controverso aos resultados obtidos no presente estudo, no entanto temos de ter em consideração que o nosso produto esteve sujeito a um período de armazenamento de 30 dias (Lote 2 e 3) e a aplicação de HPP (apenas o Lote 3).

Yagiz *et al.* (2009) observaram em salmão, a diminuição dos valores de adesividade comparando as amostras com aplicação de HPP com controlo e as com amostras cozinhadas.

Torres, Saraiva, Guerra-Rodríguez, Aubourg & Vázquez (2014) relataram para as amostras de carapau cru, que em qualquer tempo de armazenamento, níveis elevados de pressão causaram um aumento significativo de adesividade. Demonstraram também que o congelamento aumentou a adesividade dos músculos cozinhados e, uma diminuição durante o armazenamento congelado após 3 meses.

Os resultados obtidos neste estudo vão de encontro ao relatado por Yagiz *et al.* (2009), Torres *et al.* (2014). De acordo com Torres *et al.* (2014), nas amostras que existiu um processamento térmico verificou-se uma diminuição da adesividade durante o armazenamento. Isto pode explicar o facto de o Lote 2 e 3 apresentarem valores inferiores de adesividade, indicando que as condições de salga e secagem a que o produto foi sujeito contribuem para a diminuição da adesividade com o tempo de armazenamento. Por outro lado, não esta de acordo com Aubourg *et al.* (2013 b) e Ayala *et al.* (2010), citado por Cheng *et al.* (2014), que referem um aumento da adesividade com o tempo de armazenamento.

4.2.1.4. Valor do pH

No **Quadro 17**, encontram-se os valores médios e desvios padrões resultantes da medição do pH utilizando duas metodologias diferentes. Efetuou-se a análise de variância constatando-se que não houve diferenças significativas de pH ($p > 0,05$) entre os lotes estudados.

Quadro 17 - Valores médios e desvios padrão dos valores do pH obtidos para as duas metodologias realizadas.

Lote	<i>n</i>	Metodologia 1 $\bar{x} \pm \delta$	Metodologia 2 $\bar{x} \pm \delta$
1 - S	3	6,61 ± 0,02 ^a	6,41 ± 0,06 ^a
2 - V	3	6,59 ± 0,03 ^a	6,35 ± 0,11 ^a
3 - VHPP	3	6,67 ± 0,07 ^a	6,51 ± 0,08 ^a

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Metodologia 1- Homogeneização (1:10) em água desionizada.

Metodologia 2 - Homogeneização (1:10) em soluto isotónico de KCl a 1 N.

Com base nos resultados representados na quadro acima e na **Figura 29**, pode-se constatar que dentro do mesmo lotes, os valores das medições obtidas utilizando a metodologia 1 revelaram uma tendência, não significativa, para serem superiores aos medidos recorrendo à metodologia 2, o que revela que a metodologia aplicada na determinação do pH induz possíveis diferenças nos valores de pH medidos.

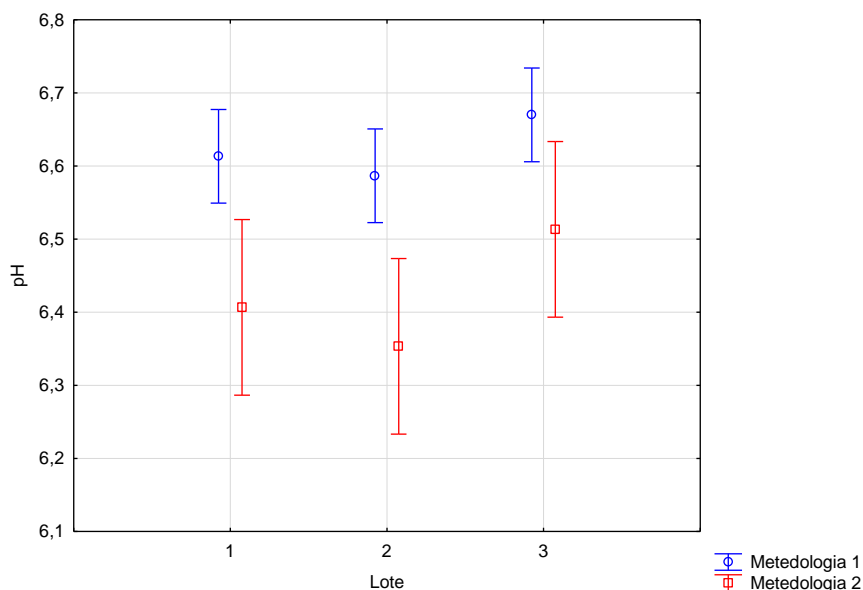


Figura 29 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores do pH para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Verificou-se que o valor de pH diminuiu ligeiramente no Lote 2 (com vácuo) relativamente ao Lote 1 em ambas as metodologias utilizadas, porém essa diminuição não é significativa. Resultados semelhantes têm sido relatados por Stamatis & Arkoudelos (2007) em cavala e por Ayala *et al.* (2011) em robalo.

Através da visualização do **Quadro 16** e **Figura 29**, observa-se que a aplicação do carapau a HPP (Lote 3) provocou um aumento ligeiro do valor de pH face aos Lotes 1 (sem vácuo e sem HPP) e 2 (com vácuo e sem HPP) em ambas metodologias, que provavelmente indica que o HPP promove o aumento do valor de pH, contudo de forma não significativa.

Teixeira *et al.* (2014) relataram em robalo que os níveis de pressão mais elevadas (250 e 400 MPa) durante 5 minutos de pressurização aumentam o valor de pH e, por outro lado o tempo de pressurização de 15 e 30 minutos para estes níveis de pressão diminui o valor de pH, mas não para valores iniciais (controlo, pH = 6.2).

Montiel *et al.* (2012) referiram em bacalhau fumado, que apenas os valores de pH de amostras pressurizadas a 500 MPa, durante 10 min foram significativamente mais baixos do que o pH das amostras de controlo (sem HPP) após o tratamento. Para as amostras pressurizadas a 400 MPa, durante 5 minutos observaram que o valor de pH é sempre mais elevado que as amostras de controlo em todos os dias de análise (1, 7, 15, 30, 45 e 60 dias). No final do armazenamento refrigerado, os valores de pH apresentaram-se entre 6,36-6,64.

Os resultados do valor de pH no Lote 3 face ao Lote 1 estão em concordância com os relatados pelos autores acima mencionados (Teixeira *et al.* (2014) e Montiel *et al.*

(2012). Para além disso, no final do tempo de armazenamento (30 dias) para os Lotes 2 e 3 a gama dos valores de pH foi entre 6,35-6,67 que vai de encontro ao identificado por Montiel *et al.* (2012).

O aumento do pH como resultado do efeito do HPP pode ser devido a alterações de conformação induzidas pelo tratamento, com a pressão associada à desnaturação e desdobramento de proteínas; exposição de aminoácidos básicos para o meio e, a ionização de um destes grupos é favorecido pela pressurização (Ramirez-Suarez & Morrissey (2006), Teixeira *et al.* (2014), Kaur *et al.* (2012). Segundo Erkan *et al.* (2011 b) e Stamatis & Arkoudelos (2007), o aumento no valor de pH indica o acumulação de compostos alcalinos, tais como compostos de amónio e TMA, derivado principalmente da ação microbiana.

Segundo Zhang & Deng (2012), o limite de aceitabilidade do pH pós-morte é geralmente de 6,8-7,0. Com base nestes autores pode-se constatar que os valores obtidos não ultrapassam o limite de aceitabilidade.

4.2.1.5. Teor de azoto básico volátil total (ABVT)

Através da observação do **Quadro 18**, e com base nos valores limites legais, pode-se verificar que o Lote 1 está dentro desse limite legal (30 mg de azoto/ 100 g). Já os Lotes 2 e 3 apresentaram valores bastante acima do limite, sendo que os valores médios no Lote 3 – submetido a HPP- foram ligeiramente inferiores ao Lote 2. No **Quadro 18** também é possível observar-se que existiram diferenças significativas entre os lotes ($p < 0,05$).

Quadro 18 – Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro ABVT para os três lotes em estudo.

Lote	n	ABVT (mg/ 100 g N)
		$\bar{x} \pm \delta$
1 - S	3	28,33 \pm 1,15 ^a
2 - V	3	94,67 \pm 2,31 ^c
3 - VHPP	3	66,67 \pm 8,39 ^b

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Erkan *et al.* (2011 b) relataram em salmão fumado e Kaur *et al.* (2012) relataram em camarão tigre preto, que os valores de ABVT aumentam com o tempo de armazenamento. Tal facto também foi possível observar no carapau seco, pois os Lotes 2 e 3 analisados ao trigésimo dia de armazenamento apresentaram em comparação com o Lote 1 (analisado ao segundo dia de armazenamento) valores de ABVT mais elevados.

Com a aplicação de HPP (Lote 3) os valores de ABVT diminuem, quando comparados com os do Lote 2, submetido apenas embalagem a vácuo (**Figura 30**). Outros autores, tais como Erkan *et al.* (2011 b) (salmão fumado), Kaur *et al.* (2012) (camarão tigre preto) e Erkan *et al.* (2010 a) (salmonete), relataram a redução do ABVT em amostras submetidas a HPP.

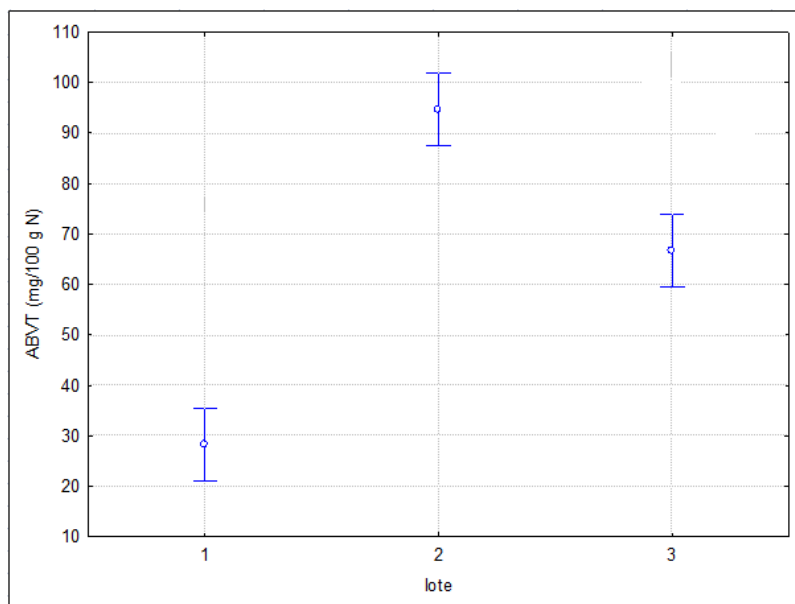


Figura 30 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores para o parâmetro ABVT para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

Sabendo que o ABVT é constituído pela trimetilamina que tem a sua origem na degradação microbológica (Teixeira, 2012), e observando os valores obtidos, pode dizer-se que ao fim de trinta dias de armazenamento existe degradação microbológica do produto.

Erkan *et al.* (2010 a) em salmonete obtiveram um valor de ABVT de $22,8 \pm 0,3$ mg/100 g em amostras não submetidas a HPP no 1º dia, ao fim de 17 dias de armazenamento a 4°C obtiveram, $51,2 \pm 0,8$ para amostras submetidas a 330 MPa (durante 5 minutos, a 3°C) e $56,8 \pm 0,8$ utilizando 220 MPa (durante 5min, a 25°C). De acordo com estes autores as pequenas diferenças nos valores ABVT podem estar relacionadas com o conteúdo de azoto não proteico, que por sua vez depende do tipo de alimentação dos peixes, estação de captura, tamanho dos peixes, vários fatores ambientais além como qualidade microbológica inicial dos tecidos dos peixes. Estes resultados demonstram que os valores de ABVT obtidos neste trabalho estão em concordância com os resultados dos autores mencionados acima, ou seja os valores nos peixes não processados são inferiores aos medidos nos peixes submetidos ao HPP, contudo é importante referir que estes autores não embalsamaram a vácuo as suas amostras.

4.2.1.6. Teor de cinza total

No **Quadro 19** podem-se visualizar os resultados obtidos para o teor de cinza total, nos três lotes estudados. Não se verificaram diferenças significativas no conteúdo de cinza entre os três lotes ($p > 0,05$), ou seja, nem o embalamento a vácuo nem a posterior aplicação de HPP afetaram este parâmetro.

Quadro 19 - Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro cinza total para os três lotes em estudo.

Lote	n	Cinza total (%m/m)
		$\bar{x} \pm \delta$
1 - S	3	3,00 ± 0,66 ^a
2 - V	3	2,57 ± 0,31 ^a
3 - VHPP	3	3,10 ± 0,26 ^a

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Erkan *et al.* (2010 a) relataram em salmonete fresco um teor de cinzas de 1,86 % (m/m) – inferior ao determinado neste trabalho - e, o INSA (2013) refere valores de conteúdo de cinzas para o carapau cru, carapau grelhado e para o carapau frito de 1,4; 2,3 e 2,6 g de cinza por 100 g de carapau, respetivamente. Com base nesta última referência, pode-se verificar que os valores obtidos (**Quadro 19 e Figura 31**) no Lote 2 vão de encontro aos valores indicados para o carapau grelhado e frito, os outros dois lotes apresentam um conteúdo de cinza superior relativamente à referência acima mencionada. Isto pode-se dever ao facto de estarmos a trabalhar com um tratamento que induz diferença em relação ao carapau fresco – desidratação, por salga seguida de secagem-, que tal como os dois processos culinários referidos induzem a perda de líquido e, conseqüentemente aumento da concentração dos restantes componentes minerais. A diferença para o Lote 2 pode ter a ver com diferenças nos níveis de desidratação entre lote, uma vez que as condições de salga e secagem não foram controladas.

Castro (2009) relata que no processo de salga ocorre redução da carne e aumento do teor de cinzas (sais), devido à penetração do sal.

O elevado teor de cinzas pode retardar o crescimento microbiano, tal facto verifica-se no presente estudo, o Lote 1 e 3 são os lotes que apresentaram superiores de teor de cinzas e, ambos apresentaram valores inferiores de microrganismos a 30°C face ao Lote 2 (ponto 6.2.2.1).

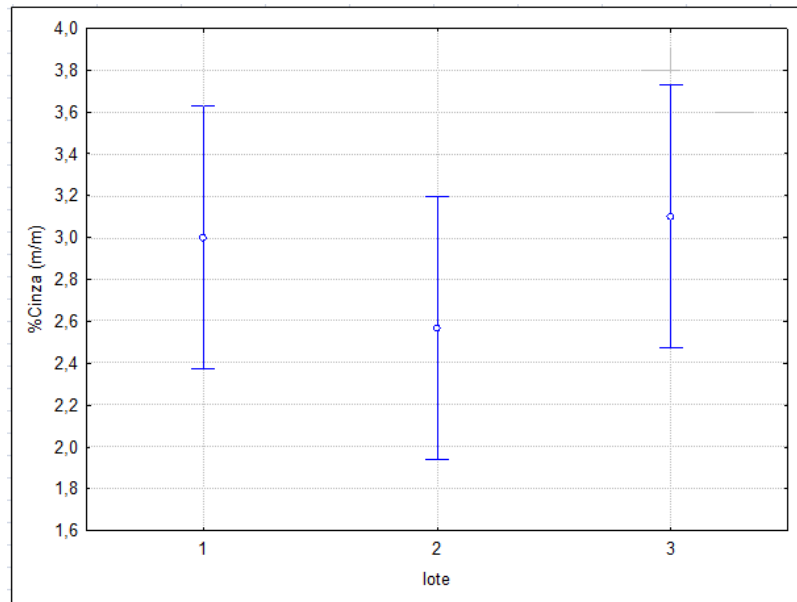


Figura 31 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de cinza para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

A determinação do teor de cinzas é representativa do conteúdo de minerais no carapau e para além disso, esta determinação é importante para a avaliação da qualidade e da estabilidade microbiológica do produto.

4.2.1.7. Teor de cloreto de sódio

No **Quadro 20** e **Figura 32** estão representados os valores obtidos para o teor de cloreto de sódio nos três lotes em estudo. Aplicando o tratamento estatístico, verificaram-se diferenças significativas entre os três lotes ($p < 0,05$), contudo o Lote 2 não é diferente do lote 1 nem do lote 3.

Quadro 20 - Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro cloreto de sódio para os três lotes em estudo.

Lote	n	Cloreto de sódio (%NaCl)
		$\bar{x} \pm \delta$
1 - S	3	5,53 \pm 0,15 ^b
2 - V	3	4,77 \pm 1,35 ^{a,b}
3 - VHPP	3	3,20 \pm 0,36 ^a

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Esta variabilidade pode estar relacionada com as características individuais de cada carapau, uma vez que, apesar de todos terem sido adquiridos no mesmo dia, não foram controladas as condições de salga e secagem.

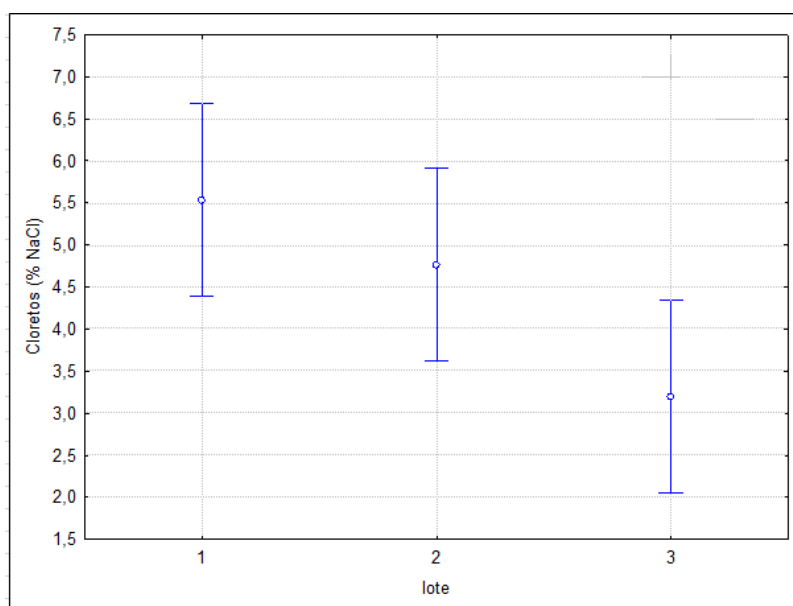


Figura 32 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de cloreto de sódio para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

De acordo com o indicado pelo Decreto-Lei n.º 25/2005, de 28 de Janeiro, bacalhau salgado seco e espécies afins salgadas «secas» são produtos que tenham sido sangrados, eviscerados, descabeçados, escalados e lavados e que, após maturação físico-química pelo sal, apresentem um teor de sal igual ou superior a 16%, expresso em cloreto de sódio. Tendo em conta esta indicação da legislação verificou-se que os valores de cloretos para os lotes em estudo encontraram-se muito abaixo dos 16 % NaCl legislados, o que esperado tendo em conta a concentração salina utilizada na salmoura.

A atividade antimicrobiana do sal está relacionada com sua aptidão em reduzir a atividade de água (A_w) (Stringer & Pin, 2005), e isto influencia o crescimento microbiano. Segundo DasSarma & Arora (2001) existem bactérias que necessitam de concentrações elevadas de sal para se desenvolverem, e dentro das bactérias com essa capacidade existem as bactérias fracamente halófilas com crescimento ótimo entre 2-5% de NaCl. Com base nisto, pode verificar-se que as bactérias possíveis de se desenvolverem no produto em estudo são bactérias fracamente halófilas.

Com os resultados obtidos na determinação de teor de cloreto de sódio seria de esperar que o Lote 1 fosse o lote que apresenta-se menor carga microbiana, pelo facto de ser o que apresentou maior teor de NaCl, mas tal não foi verificado na contagem de microrganismos a 30°C (ponto 6.2.2.1). Isto pode ser explicado por outros fatores, tal como a contaminação inicial, contaminação que poderá ter ocorrido no processamento, assim como as induções causadas pelos processamentos aplicados (vácuo e/ou HPP).

4.2.1.8. Teor de humidade

No **Quadro 21** e **Figura 33** apresentam-se os valores obtidos para a humidade. Pode-se constatar os Lotes 2 e 3 diferem significativamente do Lote 1 ($p < 0,05$).

Quadro 21 - Valores médios e desvios padrões dos valores obtidos para o parâmetro humidade para os três lotes em estudo.

Lote	<i>n</i>	Humidade $\bar{x} \pm \delta$
1 - S	3	63,00 ± 5,57 ^b
2 - V	3	48,67 ± 1,53 ^a
3 - VHPP	3	48,33 ± 2,08 ^a

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Com base nestes resultados, verificou-se que o embalamento a vácuo (Lote 2) e o embalamento a vácuo aliado ao HPP (Lote 3) diminuíram a humidade no carapau seco (**Figura 33**). Contudo, ter-se-á de considerar que estes dois lotes foram avaliados 30 dias após o embalamento o que nos poderá indicar que o tempo de armazenamento também tem influência na redução do teor de humidade.

A diminuição de humidade no Lote 2 e 3 pode estar associada à produção de exsudado, devido à pressão exercida pela embalagem a vácuo e pelo HPP sobre o músculo e devido ao tempo de armazenamento. Segundo Chéret *et al.* (2005) o aumento de exsudação, com o tempo de armazenamento do controlo, 100 MPa e 200 MPa, pode ser relacionada com a degradação enzimática e microbiológica dos músculos, o que modifica a estrutura muscular e leva a uma libertação importante de água.

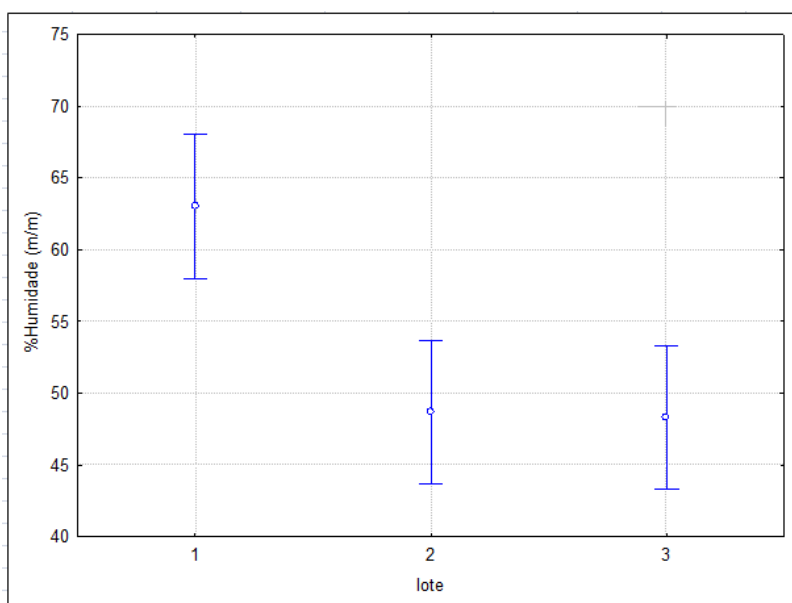


Figura 33 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores humidade para os três lotes estudados, para intervalo de confiança de 95%.

De acordo com o indicado pelo Decreto-Lei n.º 25/2005, de 28 de Janeiro, que estabelece as condições a que deve obedecer a comercialização de bacalhau salgado e de espécies afins salgadas, o produto em estudo não consegue atingir um teor de humidade igual ou inferior a 47 % (m/m), como será de compreender provavelmente devido à baixa concentração de sal aplicada, quando comparado com a aplicada ao bacalhau.

Teixeira (2012) referem que os valores de humidade do carapau fresco variam 65,38 e 75,31% (m/m) e Erkan *et al.* (2010 a) refere um valor de humidade de 68,90 %, em salmonete. O Lote 1 apresentou valores de humidade próximos dos verificados em carapau fresco, no entanto tratando-se de um produto que sofreu secagem natural o que seria expectável era que os valores obtidos fossem inferiores aos obtidos por os autores acima mencionados.

4.2.2. Avaliação microbiológica

4.2.2.1. Contagem de microrganismos a 30°C

No **Quadro 22**, estão representados os valores médios e os respetivos desvios padrões obtidos na contagem dos microrganismos a 30°C. Verifica-se que não há diferenças significativas entre os lotes ($p > 0,05$).

Quadro 22 - Valores médios e desvios padrão dos valores obtidos na contagem de microrganismos a 30°C para os três lotes em estudo.

Lote	n	Microrganismos a 30°C (ufc/g)
		$\bar{x} \pm \delta$
1 - S	3	$3,02 \pm 2,29 \times 10^{7a}$
2 - V	3	$4,90 \pm 0,00 \times 10^{7a}$
3 - VHPP	3	$2,67 \pm 2,41 \times 10^{7a}$

S – sem vácuo e sem HPP; V – com vácuo e sem HPP; VHPP – com vácuo e com HPP.

Na **Figura 34** visualiza-se que o Lote 3 é o que apresenta valores inferiores relativamente aos outros lotes. Apesar de não existirem diferenças entre lotes é visível que o HPP permite inativação microbiológica, ainda que seja muito reduzida.

Verifica-se que este tipo de produto apresenta uma carga microbiológica muito elevada logo após a sua secagem (Lote 1, análise ao 2º dia), o que nos poderá indicar que este produto poderá ter normalmente um carga microbiológica elevada, contudo na literatura não existem dados específicos relacionados com o produto.

Sendo o carapau seco um produto cru e com uma microflora específica, de acordo com o INSA (2005) a qualidade microbiológica para os microrganismos a 30°C para produtos deste tipo, é satisfatória quando $\leq 10^4$ ufc/g, aceitável quando se encontra $> 10^4 \leq 10^6$ e não satisfatória quando $\geq 10^6$. O carapau seco apresentou valores muito elevados, correspondendo aos valores definidos para o critério de não satisfatório, logo no 2º dia de análise (Lote 1), pelo que é possível concluir que tanto a embalagem a vácuo como a conjugação desta com o HPP, não permitiram, durante os 30 dias de conservação, o desenvolvimento dos microrganismos que existiam inicialmente no produto, o que indica serem estes processos adequados para conter o desenvolvimento de microrganismos neste produto.

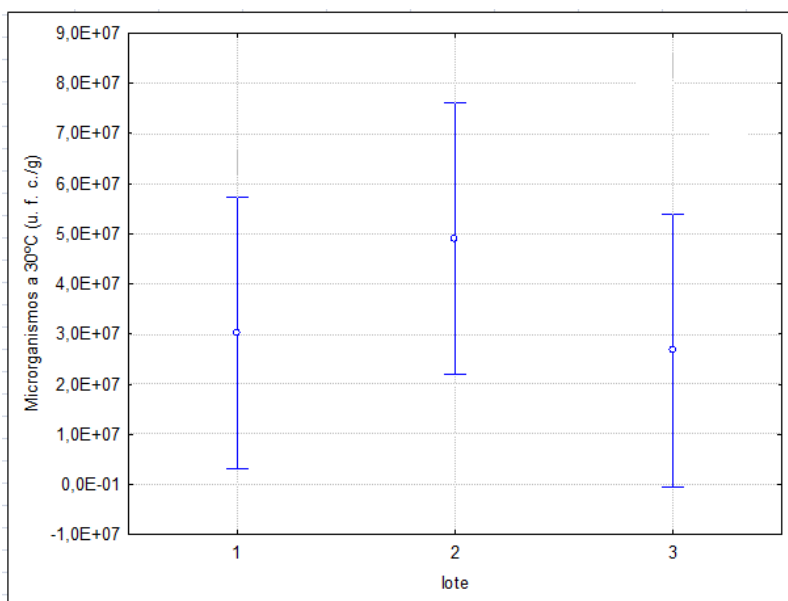


Figura 34 - Representação gráfica dos valores médios e dos intervalos de valores de microrganismos a 30°C para os três lotes estudados, para um intervalo de confiança de 95%.

4.2.3. Análise sensorial

Na **Figura 35**, é possível observar a distribuição de respostas do painel de provadores para os três lotes de carapau em estudo.

Da interpretação do gráfico, relativamente ao aspeto geral, à cor e à aparência, o painel de provadores descreveu os Lotes 2 e 3 como ligeiramente diferentes comparativamente ao Lote 1, ou seja, o vácuo por si só ou conjugado com HPP induziram diferenças detetáveis pelo painel.

Quanto ao aroma, os Lotes 2 e 3 afastaram-se do Lote 1, relativamente ao aroma a: característico, maresia e salgado. O aroma a ranço é identificado no Lote 3, embora descrito como pouco intenso. O aroma a putrefação nos Lotes 2 e 3 é descrito como

pouco intenso, já no Lote 1 este aroma encontrava-se ausente inicialmente, ao fim de 2 dias de conservação. Estas avaliações do aroma revelam que se perde a intensidade do aroma com o embalamento a vácuo e/ou HPP. Em termos de agrado/desagrado do aroma o painel prefere o Lote 1.

Relativamente ao sabor, o Lote 3 é o lote que mais se assemelhou ao Lote 1. No entanto, o embalamento a vácuo (Lote 2) e o HPP (Lote 3) conferem ao produto uma perda do sabor característico. O sabor a oleosidade tornou-se mais intenso nos Lotes 2 e 3, o que poderá ter estado relacionado com saída de exsudado do carapau para dentro do saco de embalamento. O painel identificou o Lote 1 como sendo o mais agradável em termos de sabor.

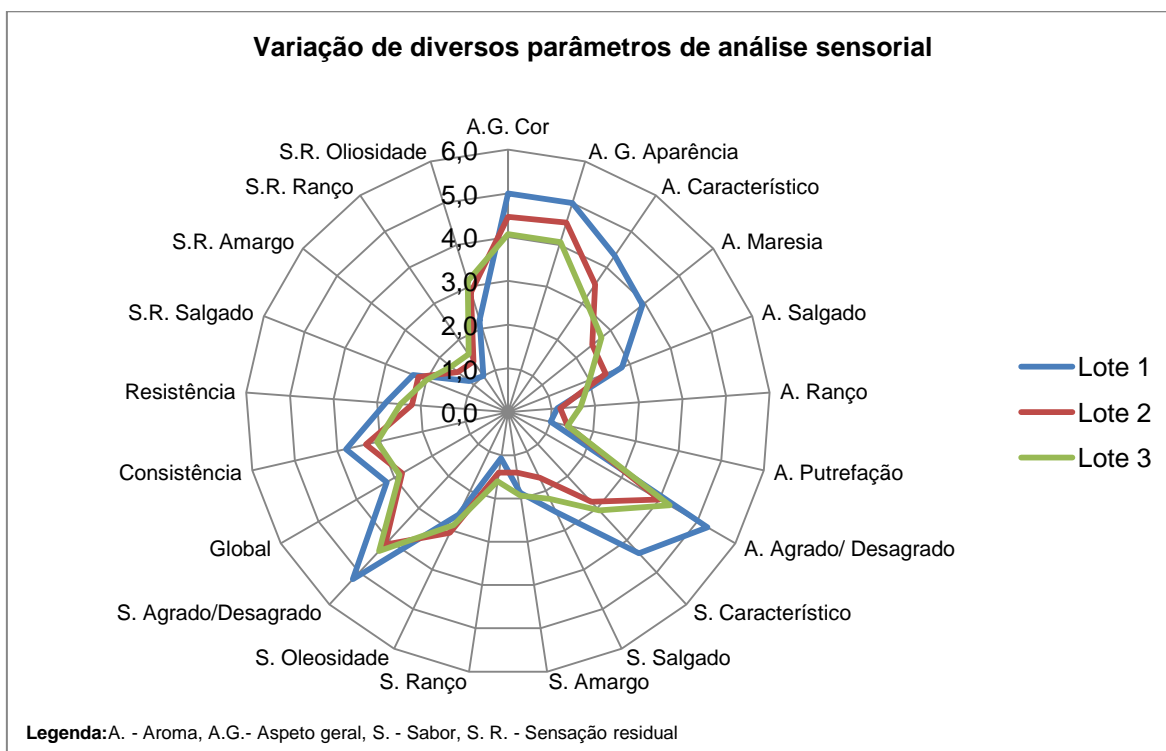


Figura 35 - Distribuição da classificação dos parâmetros de análise sensorial para os três lotes em estudo.

Não foi efetuado um período de oxigenação ou *bloom*, o que poderia ter levado a que ao fim de algum tempo submetidos às condições gasosas na atmosfera ambiente os carapaus embalados a vácuo pudessem ter recuperado a cor, aroma e sabor e se aproximassem dos valores apresentados pelos carapaus que não foram embalados a vácuo (Lote1).

No que respeito à textura os Lote 2 e 3 foram classificados pelo painel como muito idênticos para qualquer um dos aspetos avaliados. O Lote 1 foi o lote que se apresentou mais consistente e mais resistente. Tendo em conta os valores de dureza e fraturabilidade avaliados no texturómetro, obtiveram-se para estes dois parâmetros valores superiores nos Lotes 2 e 3, o que não fundamenta o que foi identificado pelo

painel. Por outro lado, na avaliação da textura o Lote 1 apresentou valores de força adesiva e adesividade superiores aos outros dois lotes, estes parâmetros podem justificar a atribuição do painel ao Lote 1 como mais resistente e mais consistente.

Foi pouco intensa a sensação residual sentida pelo painel, porém, em qualquer um dos lotes, esta predominou no salgado e na oleosidade. A sensação residual a ranço e a amargo estiveram praticamente ausentes, contudo revelou-se mais intensa no Lote 3.

Aubourg *et al.* (2013 a) demonstraram na análise sensorial de salmão fresco que existiu um aumento progressivo dos valores de odor a ranço e a putrefação em todas as amostras (controle, 135 MPa, 170 MPa e 200 MPa) durante todo o tempo de refrigeração (0 a 20 dias). Verificaram nos tratamentos com pressões mais elevadas, 170 e 200 MPa, um aumento da evolução da oxidação lipídica. Estes autores relataram que a desnaturação de proteínas ligadas a metais durante o tratamento HHP, facilitam o aumento do teor de iões metálicos livres e contribuem para a diminuição de estabilidade à oxidação em carne de peixe armazenado após o tratamento HHP.

Medina-Meza, Barnaba & Barbosa-Cánovas (2014), referem que os alimentos de origem marinha possuem uma elevada presença de ácidos gordos poli-insaturados que promovem a iniciação de mecanismos radicais que aceleram a oxidação em períodos de armazenamento subsequentes.

Os resultados obtidos no presente estudo, relativamente ao ranço estão em concordância com Aubourg *et al.* (2013 a) e Medina-Meza *et al.* (2014). Constatou-se que este aspeto apesar de ser identificado como pouco intenso quando detetado, a identificação pelo painel deste aspeto, prevalece no Lote 2 e sequentemente no Lote 3, ambos com trinta dias de conservação.

Na **Figura 36** pode-se observar a preferência do painel de provadores para os três lotes de carapau.

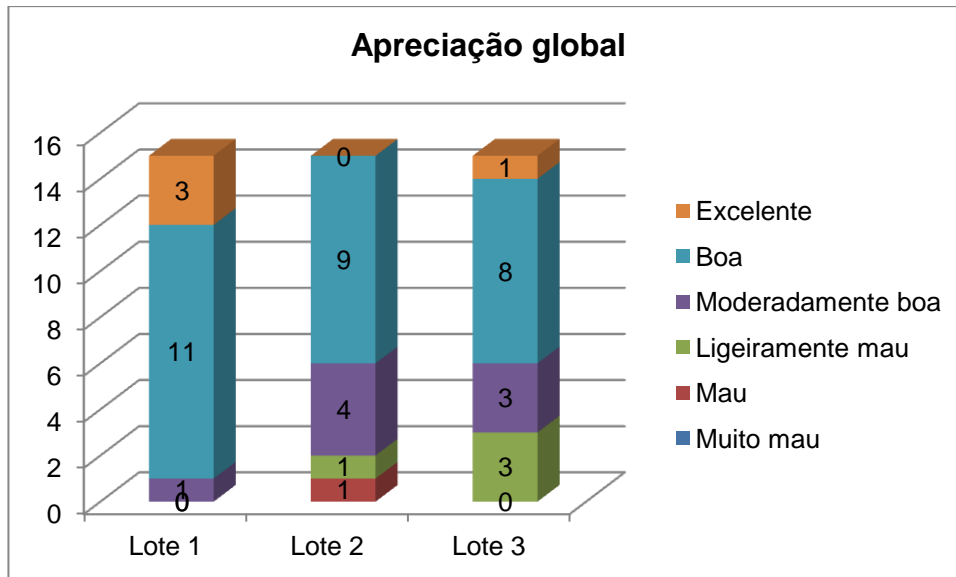


Figura 36 - Apreciação global do painel de provadores relativamente aos três lotes de carapau seco em estudo.

Na apreciação geral, o painel de provadores têm preferência pelo Lote 1 (sem vácuo e sem HPP). Pode visualizar-se na **Figura 36** que não foram atribuídas classificações negativas (produto ligeiramente mau, mau e/ou muito mau) e é ainda, entre todos os lotes, aquele que apresentou maior uniformidade nas respostas.

O Lote 2 apresenta duas classificações negativas, sendo uma delas como mau, e o Lote 3 apresenta três classificações negativas (ligeiramente mau). Relativamente a preferência entre estes dois lotes é muito idêntica sendo as diferenças mínimas.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre os lotes estudados pode-se verificar que a humidade foi mais elevada nos carapaus não processados (Lote 1), provavelmente como resultado da expulsão de água muscular para o exterior do carapau, devido à pressão exercida pela embalagem a vácuo e pelo HPP sobre o músculo; o ABVT foi superior no carapau embalado a vácuo (Lote 2); o vácuo aumentou a intensidade da cor, provavelmente pela migração de pigmento para exterior veiculado pela água que também foi expulsa; o sal foi reduzido pelo HPP conjugado com o vácuo (Lote 3), provavelmente por ter migrado para o exterior com a água que foi referida no ponto anterior; o HPP conjugado com o vácuo, ao aumentar a água no exterior terá levado ao aumento do brilho; o processamento HPP conjugado com o vácuo tornou os carapaus esverdeados e amarelados e os carapaus preferidos foram os não processados. Tendo em conta os valores do ABVT e a contagem de microrganismos a 30°C o HPP retardou a degradação microbiológica, contudo sem manutenção das características sensoriais. Para se melhor entender o efeito do HPP ter-se-á de: estudar maior número de amostras; os carapaus embalados a vácuo e submetidos a HPP, antes da análise sensorial deverão ser arejados para eliminação de cheiros adquiridos e para que a cor possa retornar à inicial; avaliar a existência de microrganismos indicadores de higiene e de segurança.

CAPÍTULO 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ângelo, A. C. F. P. (2010). *Contributo para o estudo do parasitário do pescado selvagem da costa atlântica: o caso da sarda e carapau*. Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Zootécnica. Coimbra: Escola Superior Agrária de Coimbra, 99pp.
- Alegre, J. M.; Bravo, P. & Preciado, M. (2007). Fatigue behaviour of an autofrettaged high-pressure vessel for the food industry. *Engineering Failure Analysis*, 14, 396-407. DOI: 10.1016/j.engfailanal.2006.02.015.
- Ayala, M. D.; Santaella, M.; Martínez, C.; Periago, M. J.; Blanco, A., Vázquez, J. M. & Albors, O. L. (2011). Muscle tissue structure and flesh texture in gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., fillets preserved by refrigeration and by vacuum packaging. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 1098-1106. DOI:10.1016/j.lwt.2010.09.014
- Aubourg, S. P.; Rodríguez, A.; Sierra, Y.; Tabilo-Munizada, G. & Pérez-Won, M. (2013 a). Sensory and physical changes in chilled farmed coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Effect of previous optimized hydrostatic high-pressure conditions. *Food Bioprocess Technol*, 6 (6), 1539-1549. DOI 10.1007/s11947-012-0799-4.
- Aubourg, S. P.; Torres, J. A.; Saraiva, J. A.; Guerra-Rodríguez, E. & Vázquez, M. (2013 b). Effect of high-pressure treatments applied before freezing and frozen storage on the functional and sensory properties of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). *Food Scienc and Technology*, 53, 100-106. URI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.028>
- Avure (2013). Equipamentos de alta pressão. Acedido em abril 25, 2013, disponível em: <http://www.avure.com/food/products/default.asp>.
- Bastos, J. R. (2008). *Manual sobre manejo de reservatórios para produção de peixes*. Acedido em fev. 21, 2013, disponível em: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB486P/AB486P00.htm#TOC>.
- Bellagha, S.; Sahli, A.; Farhat, A.; Kechaou, N. & Glenza, A. (2007). Studies on salting and drying of sardine (*Sardinella aurita*): Experimental kinetics and Modeling. *Journal of Food Engineering*, 78, 947–952. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2005.12.008

- Blakistone, B. A. (1999). *Principles and applications of modified atmosphere packaging of Foods*. New York: Chapman & Hall, 302pp. Acedido em set. 11, 2013, disponível em: <http://books.google.pt/books>.
- Boscolo, W. R. & Feiden, A (2007). *Industrialização de tilápias*. Toledo. GFM Gráfica & Editora, 172pp.
- Boonyaratanakornkit, B. B.; Park, C. B. & Clark, D. S. (2002). Pressure effects on intra- and intermolecular interactions within proteins. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1595, 235-249.
- Bourne, M. (2002). *Food Texture and Viscosity – concept and measurement*. (2nd edition). Food Science and Technology. International Series, 421pp.
- Campos, F. P.; Dosualdo, G. L. & Cristianni, M. (2003). Utilização da Tecnologia de Alta Pressão no Processamento de Alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*, 6 (2), 351-357.
- Campus, M. (2010). High pressure processing of meat, meat products and seafood. *Food Engineering Review*, 2, 256-273. DOI 10.1007/s12393-010-9028-y.
- Canto, A. C. V. C. S. (2011). *Efeitos da alta pressão hidrostática sobre a cor, textura e qualidade sensorial da carne da cauda de jacaré-do-pantanal (caiman crocodilus yacare) resfriada*. Dissertação apresentada para obtenção do Grau de Mestre em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. Niterói: Universidade Federal Fluminense, 110pp.
- Castro, G. L. M. (2009). *Avaliação da qualidade sanitária do pescado salgado seco comercializado nas feiras livres de Belém-pa*. Trabalho monográfico de conclusão de curso de Especialização em Veterinária de Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal. Belém: Universidade Castelo Branco, 46 pp.
- Cheftel, J. C., & Culioli, J. (1997) - Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science*, 46 (3), 211-236.
- Chéret, R.; Chapleau, N.; Delbarre-Ladrat, C.; Verrez-Bagnis V. & Lamballeie, M. (2005). Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) Fillets. Institute of Food Technologists. *Journal of Food Science. Food Engineering and Physical Properties*, 70 (8), 477-483.

- Chen, L. & Opara, U. L. (2013). Texture measurement approaches in fresh and processed foods - A review. *Food Research International*, 51, 823-835. URI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.046>.
- Cheng, J.; Sun, D., Han, Z. & Zeng X. (2014). Texture and structure measurements and analyses for evaluation of fish and fillet freshness quality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Institute of Food Technologists, 13, 52-61. DOI: 10.1111/1541-4337.12043
- Costa, A. M. (2001). *Contribuição para o estudo da fecundidade temporal e espacial do carapau (Trachurus trachurus L.) na costa portuguesa*. Dissertação original apresentada para acesso à categoria de investigador auxiliar. Lisboa: Instituto Nacional de Recursos Biológicos. 186pp.
- Damasceno, A. (2009). *Qualidade (sensorial, microbiológica, físico-química e parasitológica) de salmão (Salmo salar, Linnaeus, 1778) resfriado, comercializado em Belo Horizonte – MG*. Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de de mestre em Ciência Animal. Belo Horizonte: Escola de veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 48pp.
- DEC-LEI n.º 25/2005. *Diário da República, Série I*. N.º 20 de 28 de Janeiro de 2005. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pesca.
- DasSarma, S. & Arora, P. (2001). Halophiles. Secondary article. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1-9.
- Datacolor (2009). Colorimetric Fundamentals CIE 1976 L*a*b* (CIELAB). Acedido em maio 5, 2013, disponível em : www.datacolor.com.
- Doca Pesca (2013). Consumo de peixe em Portugal. Acedido em fev. 14, 2013, disponível em: <https://sites.google.com/site/docapescacreative/consumo-de-peixe-em-portugal>.
- Erkan, N.; Üretener, G. & Alpas, H. (2010 b). Effect of high pressure (HP) on the quality and shelf life of red mullet (*Mullus surmelutus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 259-264. DOI: 10.1016/j.ifset.2010.01.001.
- Erkan, N.; Üretener, G. & Alpas, H. (2010 b). Effects of high pressure treatment on physicochemical characteristics of fresh sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 5, 83-89. DOI 10.1007/s00003-009-0545-7.

- Erkan, N.; Üretener, G.; Alpas, H.; Selcuk, A.; Özaden, Ö. & Buzrul, S. (2011 a). Effect of high hydrostatic pressure (HHP) treatment on physicochemical properties of horse mackerel (*Trachurus trachurus*), *Food Bioprocess Technol*, 4, 1322-1329. DOI 10.1007/s11947-010-0415-4.
- Erkan, N.; Üretener, G.; Alpas, H.; Selcuk, A.; Özden, Ö. & Buzrul, S. (2011 b). The effect of different high pressure conditions on the quality and shelf life of cold smoked fish. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 104-110. DOI: 10.1016/j.ifset.2010.12.004.
- Kaur, B. P.; Kaushik, N.; Rao, P. S. & Chauhan, O. P. (2012). Effect of high-pressure processing on physical, biochemical, and microbiological characteristics of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). High-Pressure Processing of Shrimp. *Food Bioprocess Technology*, 6, 1390-1400. DOI: 10.1007/s11947-012-0870-1.
- Félix, J.; Manzoli, J.; Padula, M. & Monteiro, M. (2008). Embalagem plástica contendo poliamida 6 para produtos cárneos e queijos: migração de caprolactana e efeito da irradiação. Uma revisão. *Alimentos e Nutrição*., Araraquara, 19(3), 361-370.
- Fidalgo, L. G. (2011). *Efeito da alta pressão em demolha de bacalhau e enzima de cavala*. Dissertação apresentada para obtenção do grau de mestre em bioquímica – ramo alimentar. Aveiro: Universidade de Aveiro, 116pp.
- Florida Fish and Wildlife Conservation Commission (2013). How to measure fish. Acedido em abril 15, 2013, disponível em <http://myfwc.com/fishing/freshwater/fishing-tips/measure/>.
- Goulas, A. E. & Kontominas, M. G. (2007). Effect of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on the shelf-life of refrigerated chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *European Food Research Technology*, 224, 545-553. DOI: 10.1007/s00217-006-0316-y.
- Gou, J.; Lee, H. & Ahn J. (2010). Effect of high pressure processing on the quality of squid (*Todarodes pacificus*) during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 119, 471-476. DOI:10.1016/j.foodchem.2009.06.042.
- Heinz, V. & Buckow, R. (2009). Food preservation by high pressure. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 5, 73-81. DOI 10.1007/s00003-009-0311-x.
- HUSS, H. H. (1997). *Garantia da qualidade dos produtos da pesca*. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura - FAO. Documento Técnico Sobre

as Pescas. Nº 334. Roma, FAO, 176pp. Disponível em:
<http://www.fao.org/docrep/003/t1768p/T1768P00.HTM>.

Instituto Nacional de Estatística (2012). Capturas nominais de pescado (t) por Porto de descarga e Espécie, Anual. Período de referência:2011. Acedido em out. 21, 2012, disponível em: <http://www.ine.pt>.

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) (2013). Quadro da composição de alimentos para o carapau. Acedido em fev. 21, 2013, disponível em: <http://www.insa.pt/>.

ISO 11036:1994. Sensory analysis - Methodology – Texture profile. International standard. First edition 1994-12-01, 20pp.

Lauritzsen, K. (2004). *Quality of salted cod (Gadus morhua L.) as influenced by raw material and salt composition*. Norwegian College of Fishery Science. University of Tromsø. Dr. scient. Thesis, 61pp.

Lawless, H. T. & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food - Principles and Practices*. Second Edition. Food Science Text Series. Springer, 620pp.

Lima, M. G. (2008). “Textos de apoio da unidade curricular de Engenharia de processo, módulo 6”, Licenciatura em Engenharia Alimentar. Santarém: Escola Superior Agrária de Santarém – Instituto Politécnico de Santarém, 71pp.

Lima, M. G. (2009). “Textos de apoio da unidade curricular de Análise Sensorial – Parte I, II e III”, Licenciatura em Engenharia Alimentar. Santarém: Escola Superior Agrária de Santarém – Instituto Politécnico de Santarém.

Lopes, J. M. B. (2003). *Computação gráfica. Cor e luz*. Texto elaborado para a disciplina de computação gráfica da Licenciatura em Engenharia Informática de de Computadores. Lisboa: Instituto Superior Técnico - Universidade Técnica de Lisboa, 44pp.

Mantilla, S. P. S.; Mano, S. B.; Vital, H. C. & Franco, R. M. (2010). Atmosfera modificada na conservação de alimentos. *Revista Académica, Ciências Agrárias e Ambientais*. Curitiba, 8(4), 437-448.

Matějková, K.; křížek, M.; Vácha, F. & Dadáková, E. (2013). Effect of high-pressure treatment on biogenic amines formation in vacuum-packed trout flesh (*Oncorhynchus mykiss*). *Food Chemistry*, 137, 31-36.

- MatrizNet (2012). Ficha de património imaterial. Museu Dr. Joaquim Manso. Disponível em: <http://www.matriznet.com>. Consulta efetuada a 21 de Outubro de 2012.
- Master, A. M.; Stegeman, D.; Kals, J. & Bartels, P. V. (2000). Effects of high pressure on colour and texture of fish. *High Pressure Research: An International Journal*, 19 (1-6), 109-115. URI: <http://dx.doi.org/10.1080/08957950008202543>.
- Mendes, C., Costa, P. & Leal, S. (2012). Gestão de Canais de Distribuição - IPAM 2012/2013. Acedido em fev. 2, 2013, disponível em: <https://sites.google.com/site/mk5gcd2012/sector-de-peixe-em-portugal/consumo-de-peixe>.
- Medina-Meza, I. C.; Barnaba, C. & Barbosa-Cánovas, G. V (2014). Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, (1-10). URI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.10.012>.
- Tete, V. S. (2012). *Avaliação da qualidade do peixe Sillago sihama comercializado nos mercados Costa do Sol e Porto de Pesca de Maputo*. Trabalho para obtenção do grau de licenciado. Maputo: Universidade Eduardo Mondlane - Faculdade de Ciência, 74pp.
- Montiel, R.; Alba, M.; Bravo, D.; Gaya, P. & Medina, M. (2012). Effect of high pressure treatments on smoked cod quality during refrigerated storage. *Food Control*, 23, 429-436. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.08.011.
- Mudambi, S. R.; Rao, S. M. & Rajagopal, M. V. (2006). *Food Science*. Revised Second Edition. New Age International Limited Publishers, 245 pp.
- Murchie, L. W.; Cruz-Romero, M.; Kerry, J. P.; Linton, M.; Patterson, M. F.; Smiddy, M. & Kelly, A. L. (2005). High pressure processing of shellfish: A review of microbiological and other quality aspects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 257-270. DOI: 10.1016/j.ifset.2005.04.001.
- Nunes, E. S. C. (2011). *Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do piracucu (Arapaima gigas Schinz, 1822) salgado seco comercializado na cidade de belém, Pará*. Tese apresentada para obtenção do Grau de Doutor em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. Niterói: Universidade Federal Fluminense, 79pp.
- Ortolan, F. (2006). *Genótipos de trigos do Paraná – Safra 2004: Caracterização e fatores relacionados à alteração de cor da farinha*. Dissertação apresentada para obtenção

do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos. Santa Maria, Brasil: Universidade Federal de Santa Maria, 140pp.

Özogul, F.; Polat, A. & Özogul, Y. (2004). The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 85, 49-57. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.05.006.

Pflanzer, S. B.; Cruz, A.G.; Hatanaka, C.L.; Gigante, M. L.; Spadoti, L. M. & Cristianni, M. (2008). Efeito do processamento por alta pressão hidrostática nas características físico-químicas, microbiológica e nutricionais do leite. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11(4), 241-251.

Protege o que é bom (2012). Consumo mundial de peixe. Acedido em out. 21, 2012, disponível em: <http://www.protegeoqueebom.pt/2011/02/10/consumo-mundial-de-peixe-aumentou-para-17-quilos-por-pessoa-em-2010/>.

Regulamento (CE) nº 850/98 do Conselho de 30 de Março de 1998 relativo à conservação dos recursos da pesca através de determinadas medidas técnicas de proteção dos juvenis de organismos marinhos. *Jornal Oficial*, L125, 1-54.

Regulamento (CE) n.º 1022/2008 da Comissão de 17 de Outubro de 2008 que altera o Regulamento (CE) nº 2074/2005 no que se refere aos limites de azoto básico volátil total (ABVT), *Jornal Oficial da Comunidade Europeia*, L277, 18-20.

Regulamento (CE) n.º 2406/96 do Conselho de 26 de Novembro de 1996 relativo à fixação de normas comuns de comercialização para certos produtos de pesca. *Jornal Oficial*, L 334, 1-25.

Ramirez-Suarez, J. C. & Morrissey, M. T. (2006). Effect of high pressure processing (HPP) on shelf life of albacore tuna (*Thunnus alalunga*) minced muscle. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7, 19-27. DOI: 10.1016/j.ifset.2005.08.004.

Rosenthal, A. & Silva, J. L. (1997). Alimentos sob pressão. Brasil: Centro de Tecnologia Agro-industrial de Alimentos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 5pp.

Salgado, R. L. (2006). *Efeito da embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de pargo (Pagrus pagrus)*. Tese apresentada para obtenção do Grau de Doutor em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal. Niterói: Universidade Federal Fluminense, 67pp.

- Salvador, A. M. C. (2009). *Efeito de alta pressão no processo de demolha de bacalhau*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica e Química dos Alimentos. Aveiro: Universidade de Aveiro, 86 pp.
- Santos, J. R. (2010). *Avaliação da aceitabilidade do Manto de Pota Congelado. Análise Sensorial, Microbiológica e Quantificação do valor em ABVT*. Dissertação de mestrado em biotecnologia e qualidade alimentar. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 81 pp.
- Santos, A. P. B. (2011). *Índices químicos, sensoriais e microbiológicos para avaliação da pescada amarela (Cynoscion acoupa) armazenada em gelo*. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Engenharia de Alimentos. Pirassununga: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos da Universidade de São Paulo, 95pp.
- Stamatis, N. & Arkoudelos, J. (2007). Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. *Food Control*, 18, 292-300. DOI: 10.1016/j.foodcont.2005.10.009.
- Stringer, S. C. & Pin, C. (2005). *Microbial risks associated with salt reduction in certain foods and alternative options for preservation*. Technical Report. United Kingdom: Institute of Food research, 50pp.
- Thakur, B. R. & Nelson, P. E. (1998). High-pressure processing and preservation of food. *Food Reviews International*, 14(4), 427-447. URI: <http://dx.doi.org/10.1080/8755912980954117>.
- Teixeira, B.; Fidalgo L.; Mendes; R.; Costa G.; Cordeiro, C.; Marques, A. Saraiva, J. A. & Nunes, L. M. (2014). Effect of high pressure processing in the quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets: Pressurization rate, pressure level and holding time. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 31-39. URI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2013.12.005>.
- Teixeira, L. V. (2009). Análise sensorial na indústria de alimentos. *Revista do Instituto dos Lacticínios Cândido Tostes*, 64 (366), 12-21.
- Teixeira, A. R. G. (2012). *Avaliação da Qualidade e Segurança Alimentar de Carapau (Trachurus trachurus) Descarregado na Lota de Peniche. Influência e Caraterísticas Gerais da Água de Lavagem no Pescado Descarregado*. Trabalho de Projeto para obtenção do Grau de Mestre em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar.

Peniche: Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar -Instituto Politécnico de Leiria, 94 pp.

Torres, J. A.; Saraiva, J. A.; Guerra-Rodríguez, E.; Aubourg, S. P. & Vázquez, M. (2014). Effect of combining high-pressure processing and frozen storage on the functional and sensory properties of horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 21, 2-41. DOI: 10.1016/j.ifset.2013.12.001.

Vaz-Pires, P. (2006). *Tecnologia do pescado*. Porto: Instituto de Ciência Biomédicas Abel Salazar - Universidade do Porto, 212pp.

Vieira, O. G. A. (2010). *Caracterização dos microrganismos e quantificação de toxinas bacterianas no músculo de peixes pelágicos utilizados no consumo humano na ilha da Madeira*. Dissertação de mestrado em Microbiologia Aplicada. Lisboa: Faculdade de Ciências - Universidade de Lisboa, 54pp.

Yagiz, Y.; Kristinsson, H. G.; Balaban, M. O.; Welt, B. A.; Ralat, M. & Marshall, M. R. (2009). Effect of high pressure processing and cooking treatment on the quality of Atlantic salmon. *Food Chemistry*, 116, 828-835. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.03.029.

Zare, Z. (2004). High pressure processing of fresh tuna fish and its effects on shelf life. *Department of Food Science and Agricultural Chemistry*, vol. Master of Science. Montreal, Quebec, Canada: Macdonald Campus of McGill University, 108pp.

Zhang, B. & Deng, S. (2012). Quality assessment of *Scomber Japonicus* during different temperature storage: biochemical, textural and volatile flavor properties. International Conference on Artificial Intelligence and Soft Computing. *Lecture Notes in Information Technology*, 12, 1-7.

Apêndice I

(Resultados obtidos na determinação de parâmetros biométricos)

Quadro 23 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, à furca e standard, da largura e do peso individual) para os grupos de amostras do ensaio prévio.

Grupo de amostras	<i>n</i>	Amostras	Comprimento total (cm)	Comprimento à furca (cm)	Comprimento standard (cm)	Largura (cm)	Peso Individual (g)
I	2	1	18,30	18,00	16,30	7,20	29,50
		2	22,00	20,70	18,00	7,90	40,90
		3	20,80	18,30	17,20	8,00	38,60
		4	19,30	17,70	15,90	7,10	26,50
II	6	5	20,30	18,90	16,40	8,10	34,60
		6	18,10	16,90	15,20	8,30	29,30
		7	18,50	17,20	15,00	7,40	27,90
		8	18,50	17,50	15,20	7,00	29,40
		9	20,00	19,50	17,20	8,30	39,40
		10	19,20	18,40	16,20	7,40	28,50
		11	20,10	19,10	16,60	7,60	33,90
		12	19,10	18,10	19,90	7,50	29,60
		13	20,40	19,80	17,40	8,60	34,50
		14	19,60	18,90	16,50	7,60	33,40
III	18	15	20,40	19,60	16,80	8,00	33,00
		16	19,10	17,90	15,90	7,30	30,10
		17	18,60	17,50	15,30	7,20	25,10
		18	20,20	19,10	16,60	7,00	34,80
		19	20,70	19,50	17,30	8,50	34,40
		20	20,40	18,90	16,20	7,60	32,30
		21	19,40	17,90	15,70	7,20	28,10
		22	20,40	19,80	16,70	7,60	33,90
		23	23,00	20,60	18,30	7,70	44,60
		24	19,90	18,20	16,00	7,60	34,40
		25	19,50	18,10	15,70	7,30	31,40
		26	18,60	17,60	16,00	7,50	31,30
Mínimo:			18,10	16,90	15,00	7,00	25,10
Máximo:			23,00	20,70	19,90	8,60	44,60
Média:			19,78	18,60	16,52	7,63	32,67
Desvio padrão:			1,13	1,02	1,08	0,45	4,56

Quadro 24 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, à furca e standard, da largura e do peso individual) para as amostras do Lote 1.

Amostras	Comprimento total (cm)	Comprimento à furca (cm)	Comprimento standard (cm)	Largura (cm)	Peso Individual (g)
1	19,60	18,60	15,80	6,70	27,50
2	19,30	17,10	15,90	6,30	25,30
3	19,10	17,70	15,40	7,10	32,00
4	18,30	17,20	14,80	6,70	26,10
5	19,10	17,60	15,30	6,50	21,50
6	17,70	16,60	14,60	6,60	23,70
7	17,20	16,30	14,00	6,70	22,70
8	19,20	18,10	15,60	7,20	41,00
9	20,00	19,00	16,70	6,70	33,40
10	17,50	16,10	14,10	6,70	23,30
11	17,00	16,50	14,40	6,30	24,40
12	17,70	16,40	14,40	7,30	18,80
13	18,50	17,00	14,90	6,60	29,00
14	20,40	19,20	16,80	7,00	37,70
15	19,30	18,00	16,10	7,00	32,10
16	17,50	16,00	14,10	5,90	22,00
17	19,00	17,40	15,20	6,80	26,70
18	18,90	17,90	16,40	6,50	25,50
19	20,00	18,50	16,50	7,40	26,90
20	18,90	17,40	15,40	6,90	27,00
21	17,30	15,70	14,40	5,70	21,80
22	17,70	16,60	14,90	7,40	24,90
23	17,40	16,90	14,40	6,10	20,00
24	19,00	17,80	15,30	6,90	30,00
25	18,20	16,80	15,30	6,90	20,60
26	18,50	17,30	15,20	6,90	26,00
27	19,00	17,50	15,20	6,70	33,70
28	17,50	15,90	14,20	6,20	23,00
29	18,30	17,70	15,20	6,20	18,50
30	18,50	17,30	15,30	6,40	21,50
31	18,80	17,40	15,10	6,10	20,00
32	17,40	16,30	13,80	6,00	19,60
33	18,10	16,50	15,00	5,50	22,60
34	18,40	17,20	15,10	6,00	24,50
35	18,00	16,50	14,30	6,50	23,80
36	20,50	18,80	16,10	7,90	31,20
37	16,10	15,60	12,50	5,10	17,20
38	17,60	16,50	14,80	6,50	24,80
39	18,90	17,80	15,40	6,60	26,60
40	18,10	17,20	14,90	6,80	28,10
Mínimo:	16,10	15,60	12,50	5,10	17,20
Máximo:	20,50	19,20	16,80	7,90	41,00
Média:	18,44	17,20	15,07	6,58	25,63
Desvio padrão:	0,97	0,90	0,86	0,54	5,22

Quadro 25 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, à furca e standard, da largura e do peso individual) para as amostras do Lote 2.

Amostras	Comprimento total (cm)	Comprimento à furca (cm)	Comprimento standard (cm)	Largura (cm)	Peso Individual (g)
1	18,80	17,40	14,80	6,60	23,70
2	18,60	17,20	15,20	6,10	27,30
3	18,50	17,40	15,00	7,30	30,40
4	18,00	17,10	15,10	6,70	21,80
5	18,90	18,00	15,20	6,30	28,50
6	18,50	18,00	15,10	6,90	25,00
7	19,00	16,90	15,00	7,00	25,60
8	18,00	17,80	14,90	6,60	23,60
9	18,40	17,20	14,70	6,50	28,00
10	18,50	17,60	14,80	6,10	24,70
11	18,90	17,50	15,40	7,20	34,50
12	19,00	17,70	15,60	7,10	25,40
13	19,30	18,60	15,90	5,90	25,50
14	18,50	17,40	15,10	6,80	23,40
15	17,30	16,50	14,40	7,00	23,90
16	21,00	20,50	17,30	7,60	43,80
17	18,40	17,30	14,80	6,90	23,20
18	19,50	18,20	15,70	6,30	30,70
19	18,50	17,40	15,20	6,70	23,50
20	13,50	17,60	15,40	7,00	25,10
21	18,30	17,90	15,40	6,80	22,50
22	18,50	17,70	15,00	6,70	27,20
23	18,50	16,70	15,50	5,70	22,90
24	18,40	17,40	15,10	6,70	27,20
25	18,30	17,60	15,20	6,90	24,50
26	19,50	18,30	15,70	7,50	30,70
27	28,80	17,90	15,60	6,40	23,20
28	20,00	18,80	16,50	6,70	29,70
29	18,00	17,40	14,50	6,40	23,80
30	18,50	17,40	15,10	5,10	20,90
31	18,50	17,60	15,30	5,80	19,10
32	18,40	17,30	15,20	7,00	23,40
33	19,20	18,30	16,00	7,20	28,60
34	18,90	17,80	15,30	6,50	24,80
35	18,00	17,40	15,00	6,30	22,00
36	17,60	16,50	14,40	6,70	22,30
37	17,00	16,10	14,10	7,00	23,90
38	18,10	17,40	15,00	5,80	22,30
39	17,40	16,20	15,30	5,90	18,90
40	17,80	17,90	15,20	6,70	24,70
Mínimo:	13,50	16,10	14,10	5,10	18,90
Máximo:	28,80	20,50	17,30	7,60	43,80
Média:	18,67	17,57	15,23	6,61	25,51
Desvio padrão:	1,96	0,75	0,56	0,52	4,40

Quadro 26 - Valores obtidos dos parâmetros biométricos (comprimento total, à furca e standard, da largura e do peso individual) para as amostras do Lote 3.

Amostra	Comprimento total (cm)	Comprimento à furca (cm)	Comprimento standard (cm)	Largura (cm)	Peso Individual (g)
1	18,00	16,50	14,50	6,10	18,50
2	18,60	17,80	15,50	6,70	27,30
3	18,50	17,40	15,50	7,30	29,10
4	18,40	17,40	15,20	6,70	33,40
5	20,00	18,50	16,80	6,60	32,40
6	19,10	18,00	15,70	7,00	26,80
7	18,30	17,20	15,00	6,80	26,60
8	17,50	16,10	14,30	6,70	19,50
9	17,70	16,50	14,10	6,40	24,10
10	19,00	17,40	15,50	6,80	22,00
11	19,00	18,10	15,90	6,90	26,70
12	19,60	18,20	16,10	6,70	31,20
13	18,60	17,00	15,40	6,60	22,60
14	17,40	16,10	14,10	6,20	24,20
15	19,60	18,00	16,00	7,50	27,30
16	18,80	17,90	15,80	6,40	22,10
17	17,40	16,50	13,80	7,40	28,40
18	16,50	15,80	13,70	6,20	25,20
19	16,70	15,80	13,60	5,10	19,00
20	17,80	16,60	14,40	6,30	25,00
21	18,50	17,70	15,20	7,10	25,00
22	19,50	18,40	15,90	7,30	29,20
23	16,50	15,30	13,90	6,70	17,80
24	18,00	16,80	14,80	6,20	23,30
25	18,00	17,10	14,80	5,80	24,10
26	19,00	17,60	15,00	6,60	25,60
27	19,00	17,90	15,60	6,60	23,90
28	18,50	17,40	15,20	6,90	24,20
29	19,00	17,90	15,50	7,50	29,20
30	19,20	17,90	16,00	6,70	26,80
31	18,60	17,80	15,50	6,60	28,40
32	18,80	17,80	15,50	7,00	25,30
33	19,40	17,70	15,50	7,10	27,60
34	18,50	17,70	15,70	6,80	29,30
35	18,50	17,50	15,60	6,50	24,10
36	21,00	20,20	17,50	8,20	52,20
37	17,50	16,90	14,60	6,40	25,50
38	18,60	17,10	15,40	6,20	24,00
39	18,10	17,30	14,70	7,00	22,00
40	18,00	17,40	15,10	6,90	27,70
Mínimo:	16,50	15,30	13,60	5,10	17,80
Máximo:	21,00	20,20	17,50	8,20	52,20
Média:	18,47	17,36	15,20	6,71	26,17
Desvio padrão:	0,92	0,89	0,83	0,52	5,50

Apêndice II

(Quadros obtidos experimentalmente no colorímetro)

Quadro 27 - Valores obtida no colorímetro para o Lote 1, no 2º dia após embalagem.

	L*	a*	b*	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE	C*	H*
Padrão	33,33	2,54	7,27	-	-	-	-	7,70	70,74
1	31,25	4,56	6,54	2,08	2,02	0,73	2,99	7,97	55,11
2	30,9	5,7	5,94	2,43	3,16	1,33	4,20	8,23	46,18
3	26,36	5,84	4,88	6,97	3,3	2,39	8,07	7,61	39,88
4	33,65	4,07	7,18	0,32	1,53	0,09	1,57	8,25	60,45
5	35,14	3,7	8,23	1,81	1,16	0,96	2,35	9,02	65,79
6	31,42	5,98	6,84	1,91	3,44	0,43	3,96	9,09	48,84
7	35,61	6,08	13,59	2,28	3,54	6,32	7,59	14,89	65,90
8	32,11	8,33	10	1,22	5,79	2,73	6,52	13,01	50,21
9	28,46	7,67	9,15	4,87	5,13	1,88	7,32	11,94	50,03
Média	31,66	5,77	8,04	2,65	3,23	1,87	4,95	10,00	53,60
$\pm\sigma$	2,98	1,54	2,62	2,03	1,54	1,89	2,46	2,61	8,94

Quadro 28 - Valores obtidos no colorímetro para o Lote 2, no 30º dia após embalagem.

	L*	a*	b*	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE	C*	Hº
Padrão	37,58	1,7	12,35	-	-	-	-	12,47	82,16
1	33,85	3,03	5,36	-3,72	1,34	-6,98	8,03	6,16	60,52
2	32,48	2,96	4,47	-5,1	1,26	-7,88	9,47	5,36	56,49
3	31,58	3,12	5,52	-5,99	1,42	-6,83	9,2	6,34	60,52
4	38,74	2,07	6,89	1,17	0,38	-5,46	5,59	7,19	73,28
5	36,86	3,42	5,3	-0,72	1,72	-7,04	7,29	6,31	57,17
6	37,38	2,84	8,3	-0,19	1,15	-4,04	4,21	8,77	71,11
7	32,17	3,51	8,07	-5,41	1,81	-4,28	7,13	8,80	66,49
8	33,36	3,75	5,77	-4,22	2,06	-6,58	8,08	6,88	56,98
9	35,19	3,6	6,56	-2,39	1,91	-5,79	6,54	7,48	61,24
Média	34,62	3,14	6,25	-2,95	1,45	-6,10	7,28	7,03	62,64
$\pm\sigma$	2,55	0,51	1,31	2,55	0,51	1,31	1,68	1,17	6,23

Quadro 29 – Valores de L*, a*, b*, ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔE obtidos no colorímetro e ce C* e Hº calculados para o Lote 3, no 30º dia após embalagem.

	L*	a*	b*	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE	C*	Hº
Padrão	39,35	1,66	11,54	-	-	-	-	11,66	81,81
1	44,11	2,24	10,95	4,76	0,58	-0,59	4,83	11,18	78,44
2	41,57	1,5	10,83	2,21	-0,16	-0,71	2,33	10,93	82,11
3	45,02	2,4	9,72	5,67	0,74	-1,82	6	10,01	76,13
4	30,62	2,95	8,27	-8,73	1,29	-3,27	9,41	8,78	70,37
5	45,87	-0,26	11,32	6,52	-1,92	-0,22	6,8	11,32	-88,68
6	43,5	1,16	14,49	4,15	-0,5	2,95	5,12	14,54	85,42
7	36,82	1,11	9,49	-2,53	-0,55	-2,05	3,3	9,55	83,33
8	43,42	0,65	9,42	4,07	-1,01	-2,12	4,7	9,44	86,05
9	39,63	2,31	9,09	0,28	0,65	-2,45	2,55	9,38	75,74
Média	41,17	1,56	10,40	1,82	-0,10	-1,14	5,00	10,57	60,99
$\pm\sigma$	4,86	1,01	1,82	4,86	1,01	1,82	2,23	1,73	56,36

Apêndice III

(Gráficos obtidos experimentalmente no texturómetro)

Load v Time

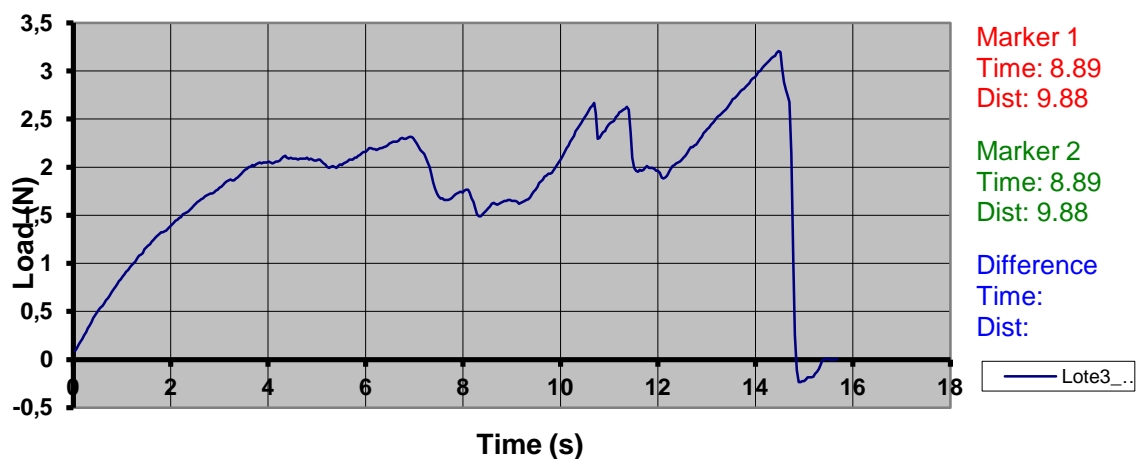


Figura 37 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o padrão, no 2º dia após embalagem.

Load v Time

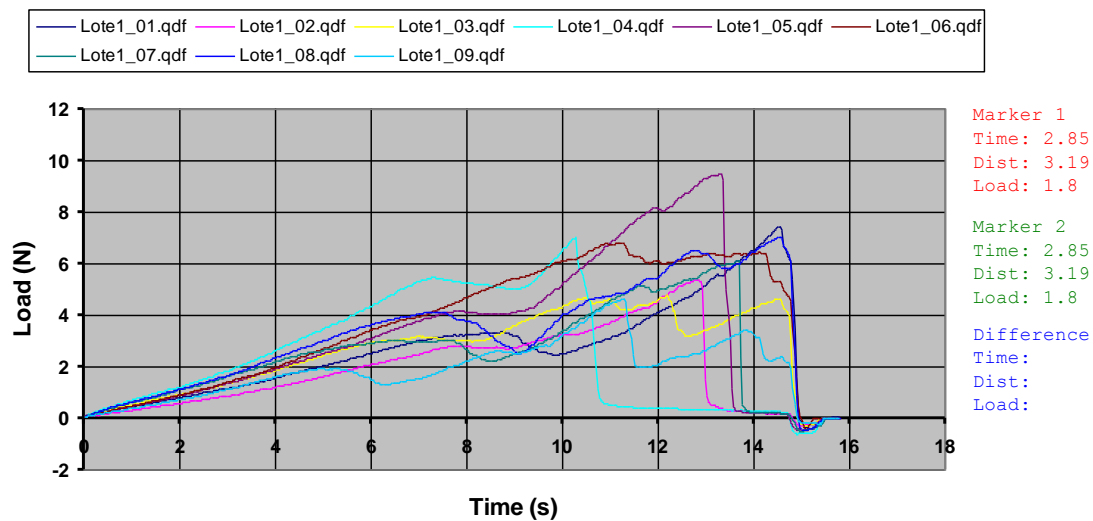


Figura 38 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o Lote 1, no 2º dia após embalagem.

Load v Time

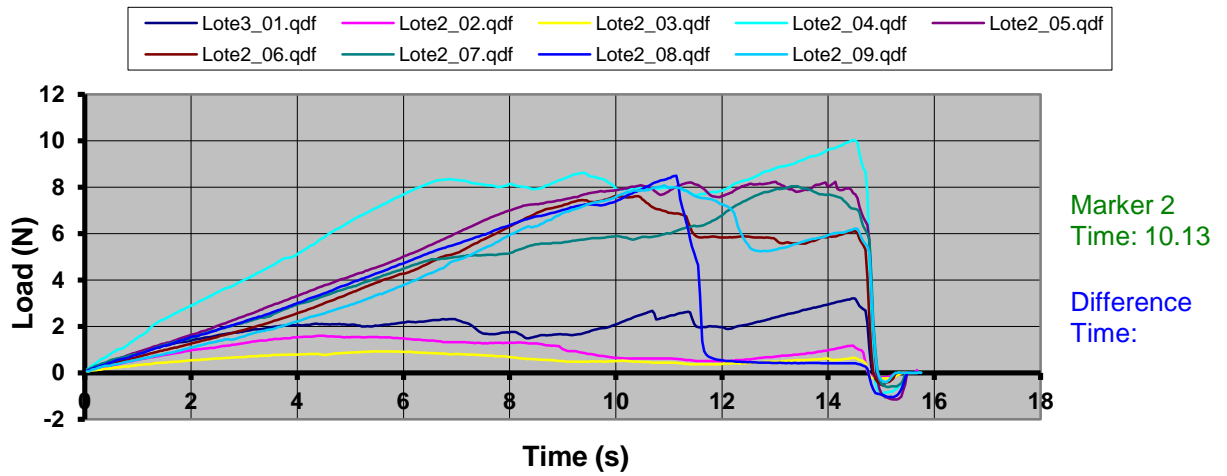


Figura 39 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o Lote 2, no 30º dia após embalagem.

Load v Time

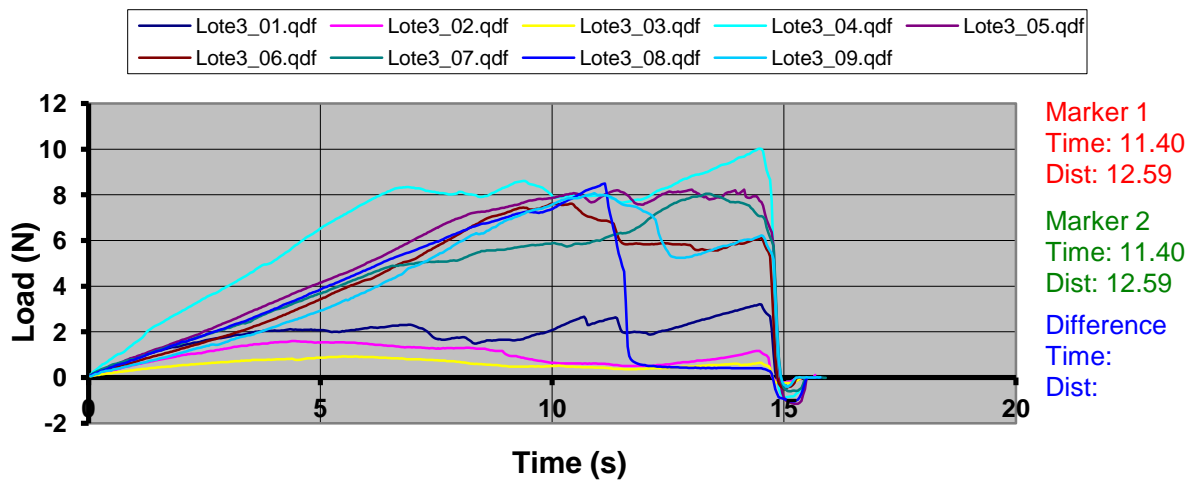


Figura 40 - Gráfico obtido no ensaio de penetração para o Lote 3, no 30º dia após embalagem.

Apêndice IV

(Análise de variância)

Quadro 30– Efeito do lote e da amostra (*Test de Wilks, One Way*), para as medidas biométricas dos lotes de carapau seco em estudo.

	Test	Value	F	Effect	Error	p
Intercept	Wilks	0,001419	15904,53	5	113	0,000000
Lote	Wilks	0,878985	1,51	10	226	0,138344

Quadro 31 - Grupos homogêneos para o comprimento total (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Comprimento total	1
1	18,43750	****
3	18,46750	****
2	18,67000	****

Quadro 32 - Grupos homogêneos para o comprimento à furca (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Comprimento à furca	1	2
1	17,19750	****	
3	17,35500	****	****
2	17,57250		****

Quadro 33 - Grupos homogêneos para o comprimento standard (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Comprimento standard	1
1	15,07000	****
3	15,19750	****
2	15,22500	****

Quadro 34 - Grupos homogêneos para a largura (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Largura	1
1	6,582500	****
2	6,610000	****
3	6,712500	****

Quadro 35 - Grupos homogêneos para o peso individual (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Peso individual	1
2	25,50500	****
1	25,62500	****
3	26,16500	****

Quadro 36 – Efeito do lote e da amostra (*Test de Wilks, One Way*), para a cor e textura dos lotes de carapau seco em estudo.

	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0,002118	706,7700	10	15	0,000000
Lote	Wilks	0,046670	5,4434	20	30	0,000018

Quadro 37 - Grupos homogêneos para o parâmetro L* (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	L* Mean	1	2
1	31,65556	****	
2	34,62333	****	
3	41,17333		****

Quadro 38 - Grupos homogêneos para o parâmetro a* (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	a* Mean	1	2	3
3	1,562222	****		
2	3,144444		****	
1	5,770000			****

Quadro 39 - Grupos homogêneos para o parâmetro b* (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	b* Mean	1	2
2	6,24889	****	
1	8,03889	****	
3	10,39778		****

Quadro 40 - Grupos homogêneos para o parâmetro C* (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	C* Mean	1	2
2	7,03312		****
1	10,00228	****	
3	10,57087	****	

Quadro 41 - Grupos homogêneos para a fraturabilidade (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	F1 Mean	1
1	4,155556	****
2	5,017778	****
3	5,666667	****

Quadro 42 - Grupos homogêneos para a dureza (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	F2 Mean	1
3	6,244444	****
1	6,534444	****
2	6,973333	****

Quadro 43 - Grupos homogêneos para o módulo aparente (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Map Mean	1
1	0,520000	****
3	0,700000	****
2	0,741111	****

Quadro 44 - Grupos homogêneos para a força adesiva (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	F3 Mean	1
2	-0,604444	****
3	-0,596667	****
1	-0,405556	****

Quadro 45 - Grupos homogêneos para a adesividade (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	ads Mean	1
2	-0,290000	****
3	-0,254444	****
1	-0,157778	****

Quadro 46 - Efeito do lote e da amostra (*Test de Wilks, One Way*), para o valor do pH dos lotes de carapau seco em estudo.

	Test	Value	F	Effect	Error	p
Intercept	Wilks	0,000030	82013,64	2	5	0,000000
Lote	Wilks	0,476461	1,12	4	10	0,399379

Quadro 47 - Grupos homogêneos para a metodologia 1 (com H₂O) (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Metodologia 1	1
2	6,586667	****
1	6,613333	****
3	6,670000	****

Quadro 48 - Grupos homogêneos para a metodologia 2 (com KCl) (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Metodologia 2	1
2	6,353333	****
1	6,406667	****
3	6,513333	****

Quadro 49 - Efeito do lote e da amostra (*Test de Wilks, One Way*), para o ABVT, cinza total, cloretos, microrganismos a 30°C, humidade dos lotes de carapau seco em estudo.

	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0,000280	1430,619	5	2	0,000699
Lote	Wilks	0,001203	11,134	10	4	0,016437

Quadro 50 - Grupos homogêneos para o ABVT (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	ABVT Mean	1	2	3
1	28,33333	****		
3	66,66667		****	
2	94,66667			****

Quadro 51 - Grupos homogêneos para a cinza total (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Cinza Mean	1
2	2,566667	****
1	3,000000	****
3	3,100000	****

Quadro 52 - Grupos homogêneos para os cloretos (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	CL Mean	1	2
3	3,200000	****	
2	4,766667	****	****
1	5,533333		****

Quadro 53 - Grupos homogêneos para a contagem de microrganismos a 30°C (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Microrganismos Mean	1
3	26700000	****
1	30233333	****
2	49000000	****

Quadro 54 - Grupos homogêneos para a contagem de microrganismos a 30°C (LSD Fischer *Post Hoc*) para os três lotes de carapau seco.

Lote	Humidade Mean	1	2
3	48,33333	****	
2	48,66667	****	
1	63,00000		****

Apêndice V

(Questionário de pré-seleção)

No âmbito da dissertação de Mestrado em Tecnologia Alimentar da Escola Superior Agrária de Santarém, venho deste modo recolher informações para a pré-seleção de possíveis provadores para painel sensorial.

As suas respostas terão um carácter confidencial destinando-se, unicamente, para fins académicos.

Questionário

O que é a análise sensorial? É uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações às características dos alimentos e materiais tal como são percebidas pelos órgãos dos sentidos.

Nome: _____ Idade: _____

Função: _____

1. Gostaria de colaborar no trabalho de análise sensorial de carapau seco?

Sim Não

2. Conhece o carapau seco da Nazaré?

Sim Não

3. Já provou este produto?

Sim Não

4. Se já provou, gosta de carapau seco?

Sim Não Porquê? _____

5. Prevê que possa ter disponibilidade para participar nas provas sensoriais (preferencialmente meio da tarde)?

Sim Não

6. Está interessado em provar?

Sim Não

7. Tem alguma restrição sensorial relacionada com a realização de avaliações sensoriais (p. ex. daltonismo, não detetar alguns cheiros, não detetar determinados sabores, entre os quais salgado, entre outros)?

Sim Não

Se sim, quais: _____

8. Possui algum problema de saúde (ex. asma, alergias, bronquite asmática, hipertensão, doenças crónicas, diabetes etc.)?

Sim Não

Se sim, quais: _____

9. Têm o hábito de fumar, beber ou outros que possam interferir com as provas sensoriais?

Sim Não

Se sim, quais: _____

Obrigada

Apêndice VI

(Folheto de análise sensorial)

Apêndice VII

(Ficha de análise sensorial)



Ficha de Análise Sensorial

Data: _____

Nome: _____

Idade: _____

Prove a amostra. Descreva-a, nos vários atributos solicitados, colocando uma cruz nas quadrículas que melhor as descrevem.

Lote em avaliação _____

1. Aspeto geral

1.1. Cor

1.Muito atípico	2. Atípico	3.Pouco atípico	4.Pouco típico	5.Típico	6.Muito típico
-----------------	------------	-----------------	----------------	----------	----------------

1.2. Aparência

1.Muito atípico	2. Atípico	3.Pouco atípico	4.Pouco típico	5.Típico	6.Muito típico
-----------------	------------	-----------------	----------------	----------	----------------

2. Aroma

2.1. Característico

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso
-----------	------------------	------------------------	-------------------------	-----------	-----------------

2.2. Maresia

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso
-----------	------------------	------------------------	-------------------------	-----------	-----------------

2.3. Salgado

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso
-----------	------------------	------------------------	-------------------------	-----------	-----------------

2.4. Ranço

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso
-----------	------------------	------------------------	-------------------------	-----------	-----------------

2.5. Putrefação

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

2.6. Agrado/ Desagrado

1.Desgosto muito	2.Desgosto	3.Desgosto moderadamente	4.Gosto pouco	5.Gosto	6.Gosto muito

3. Sabor

3.1. Característico

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

3.2. Salgado

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

3.3. Amargo

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

3.4. Ranço

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

3.5. Oleosidade

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligeiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

3.6. Agrado/Desagrado

1.Desgosto muito	2.Desgosto	3.Desgosto moderadamente	4.Gosto pouco	5.Gosto	6.Gosto muito

4. Textura

4.1. Global

1.Muito mole	2. Mole	3.Ligiramente mole	4.Ligiramente duro	5.Duro	6.Muito duro

4.2. Consistência

1.Nada consistente	2. Pouco consistente	3.Moderadamente consistente	4. Ligiramente consistente	5.Consistente	6.Muito consistente

4.3. Resistência ao corte

1.Nada resistente	2. Resistente	3.Moderadamente resistente	4.Ligiramente resistente	5.Resistente	6.Excessivamente resistente

5. Sensação Residual

5.1. Salgado

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligiramente Intenso	4.Moderadamente Intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

5.2. Amargo

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

5.3. Ranço

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

5.4. Oleosidade

1.Ausente	2. Pouco intenso	3.Ligiramente intenso	4.Moderadamente intenso	5.Intenso	6.Muito intenso

6. Apreciação Global

1.Muito mau	2. Mau	3.Ligiramente mau	4.Moderadamente bom	5.Bom	6.Excelente