

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA-INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA NO TRÓPICO
ÚMIDO-PPG-ATU**

**INFLUÊNCIA DO ESTRESSE NO PRÉ-ABATE E DURANTE O ABATE NA
QUALIDADE DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) CULTIVADO**

JOANA MAIA MENDES

Manaus-AM
2013

JOANA MAIA MENDES

**INFLUÊNCIA DO ESTRESSE DO PRÉ-ABATE E DURANTE O ABATE NA
QUALIDADE DO TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) CULTIVADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Dr. Rogério de Souza Jesus

Co-orientador: Dr. Luís Antonio Kioshi Aoki Inoue

Manaus-AM

2013

Ficha catalográfica

(Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do INPA)

Mendes, Joana Maia

Influência do estresse no pré-abate e durante o abate na qualidade do tambaqui (*Colossoma macropomum*) cultivado\ Joana Maia Mendes. - Manaus: ATU/INPA, 2013.

Dissertação (mestrado) – ATU/INPA, Manaus, 2013

Orientador: Jesus, Rogério Souza de

Co-orientador: Inoue, Luís

Área de concentração: Manejo e tecnologia de pescado

1. Tambaqui – 2. Estresse – 3. Transporte - 4. Abate - 5. Qualidade do pescado.

Sinopse:

Neste estudo foi avaliada a influência do estresse no pré-abate e durante o abate sobre a qualidade da carne e tempo de vida útil do tambaqui em Manaus-AM.

Palavras chaves: Transporte - Rigor mortis - Qualidade do pescado- Tempo de vida útil

DEDICATÓRIA

À Deus, pois sem Ele, não sou nada, e a minha querida família (João Mendes, Terezinha Maia, Cristian Mendes, Thais Rodrigues e Michel Costa) que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos difíceis!

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus, pela sua misericórdia!

Aos meus queridíssimos orientadores, Dr. Rogério de Jesus e Dr. Luis Inoue, pela compreensão, parceria, dedicação e lealdade, fico muito grata por tudo que fizeram por mim.

A minha família (João, Terezinha, Cristian, Michel e Thais) por todo amor, carinho e apoio nos momentos difíceis que passei.

A toda família Maia pelo apoio, dedicação e todo o amor comigo, durante essa etapa da minha vida.

Aos amigos de mestrado que de alguma forma contribuíram com o meu trabalho, Ariel, Márcio, Aline Naiana, Patrícia, Eduardo e Paulo.

Ao Dr. Manoel Pereira Filho (in memoriam), pela amizade e carinho, sempre me incentivando aos estudos.

Aos técnicos que me ajudaram nas análises laboratoriais e de campo, José Ribamar, e em especial Aparecida Bitencourt, pois esteve comigo em todos os momentos do experimento.

Ao Gilvan Batista por todo apoio e paciência em me ensinar as análises da qualidade do pescado.

Aos colegas Jhonnathan Izel, Eduardo Ribeiro e Cláudia pela ajuda na despesca, transporte e abate.

A minha grande amiga Elenice Brasil por todo o companheirismo, lealdade e dedicação durante esses 2 anos e principalmente pela sua ajuda fundamental na coleta de sangue e suas análises.

Às técnicas de laboratório do INPA e EMBRAPA, Irani e Valdelira, que me auxiliaram nas análises de sangue.

A Dra. Cheila, Dra. Edsandra e Dra. Fernanda da EMBRAPA, pelas colaborações no trabalho e disponibilidade de me atender quando precisei.

Ao Dr. Jone pela ajuda com suas sinceras palavras.

Ao Dr. Marcos Garcia por ter cedido sua propriedade para engorda e cultivo dos peixes e a todos os seus funcionários que cuidaram dos animais nesse período.

A Dra. Elisabeth Gusmão por disponibilizar seu laboratório para análises de sangue.

Seu Marcelo da EMBRAPA pela ajuda na análise do cortisol.

Ao técnico Daniel, pela ajuda no transporte dos peixes.

À Dona Inês, dona Fatinha, dona Socorro, dona Suzi, por todo o carinho.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e em especial ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos por ter concedido o espaço para a realização deste trabalho.

À Beatriz, secretária do curso de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido pela simpatia, amizade, paciência e dedicação.

À EMBRAPA pela parceria com INPA, para a realização deste trabalho.

Ao curso de Pós-Graduação em Agricultura no Trópico Úmido/ATU e o corpo docente pela oportunidade, estudo e aprendizagem.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas, FAPEAM, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao CNPq pelo financiamento para realização deste trabalho.

E a todos que contribuíram com esse grande trabalho, meu muito obrigada.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do estresse pré-abate e durante o abate em tambaquis procedentes de piscicultura, pesando em média $1,100 \pm 1,64$ kg, que foram abatidos por asfixia com CO_2 e por hipotermia em diferentes tempos amostrais (na despesca, após transporte de 4h, recuperação de 24 e 48h após o transporte). Anteriormente aos abates, foram coletadas amostras de sangue para análises hematológicas e bioquímicas para averiguação das respostas ao estresse. Foi verificado o índice do rigor mortis em todos os tempos amostrais, imediatamente após a morte dos peixes, e a cada 15 minutos até o aparecimento total do rigor, sendo acompanhada a saída do rigor diariamente. O estudo do tempo de vida útil do tambaqui foi realizado a cada 7 dias, durante 49 dias de armazenamento em gelo, sendo efetuadas as seguintes análises: avaliação sensorial, pH, N-BVT e textura instrumental. Os tambaquis mostraram respostas ao estresse quando submetidos ao transporte durante 4h, voltando à sua homeostase após 24 e 48h de recuperação desta prática. As análises de glicose, lactato, amônia e proteínas apresentaram valores elevados logo após o transporte, sendo significativas ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais testados. O índice de rigor mortis apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais estudados, com relação à entrada total em rigor e à saída do rigor. As amostras da despesca e do transporte apresentaram tempo de entrada em rigor mais rápido, quando comparados com aquelas após os tempos de recuperação de 24 e 48h. Com relação ao método de abate, não houve diferença significativa ($p < 0,05$), e somente no grupo do transporte, os peixes abatidos por hipotermia entraram em rigor mais rápido do que os peixes abatidos por asfixia com CO_2 . O pH apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais, não diferindo quanto aos métodos de abate. A análise sensorial apresentou-se como bom índice de avaliação da qualidade, não mostrando diferença entre os métodos de abate testados. Porém foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais, onde a despesca e o transporte apresentaram pior qualidade, comparado com a recuperação de 24 e 48h. Os peixes dos tempos despesca e transporte foram considerados impróprios para consumo com 35 dias de gelo, e os que foram submetidos à recuperação do estresse por 24 e 48h, foram considerados inaptos para o consumo com 42 e 49 dias, respectivamente. Os valores de N-BVT também apresentaram diferenças significantes ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais, durante todo o período de armazenamento, com resultados semelhantes aos encontrados na análise sensorial. No entanto, os peixes abatidos por asfixia com CO_2 apresentaram teores mais elevados de N-BVT quando comparados aos abatidos por hipotermia. A textura mostrou-se significativa ($p < 0,05$) tanto entre os tempos amostrais, como entre os métodos de abate. Os peixes submetidos à despesca e transporte apresentaram textura mais flácida e macia quando comparados aos peixes recuperados do estresse. O abate por hipotermia apresentou melhores valores de textura. Com isso podemos concluir que o estresse de práticas pré-abate afeta negativamente a qualidade do tambaqui, diminuindo seu tempo de vida útil, nessas condições experimentais.

Palavras-chave: Estresse, Abate, Transporte, Qualidade, Tambaqui

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of stress pre-slaughter and during slaughter on tambaqui (*Colossoma macropomum*) from farming, weighing an average 1.100 ± 1.64 kg. Fishes were killed by CO₂ asphyxiation and hypothermia at different sampling times (at harvesting, after 4h transport, recovery 24 and 48h after transportation). Formerly to slaughter, blood samples were collected for hematological and biochemical analyzes to investigate the stress responses. The rate of rigor mortis at all sampling times, immediately after the death of the fish, and every 15 minutes until the appearance of the full rigor were measured and accompanied the output of rigor daily. The study of the lifetime of tambaqui was conducted every 7 days for 49 days storage in ice, and made the following analysis: sensory evaluation, pH, TVB-N and texture instrumental. The fishes showed responses to stress when subjected to transportation during 4h, returning to homeostasis after 24 and 48h of recovery. The analyzes of glucose, lactate, ammonia and proteins showed high levels after transport, and difference significant ($p < 0.05$) between the sampling times tested. The rigor index showed significant differences ($p < 0.05$) between sampling times studied, with respect to the total input on rigor and output accuracy. The samples showed harvesting and transportation time quicker entry in accuracy as compared with those after recovery times of 24 and 48 hours. About to the method of slaughter, there was no significant difference ($p < 0.05$). Only in the group of transport, the fishes were slaughtered by hypothermia entered into rigor faster than killed by asphyxiation with CO₂ ones. The pH showed a significant difference ($p < 0.05$) between sampling times did not differ for the methods of slaughter. Sensory analysis was a good index for evaluating the quality, showing no difference between the slaughter methods tested. But there was significant difference ($p < 0.05$) between sampling times, which is harvesting and transportation had a poorer quality compared with the recovery of 24 and 48h. Fishes of harvesting time and transportation time were considered unfit for consumption with 35 on ice days, and those who underwent recovery for 24 and 48h, were considered unfit for consumption at 42 and 49 days, respectively. The values of TVB-N also showed significant differences ($p < 0.05$) between sampling times throughout the storage period, with results similar to those found in sensory evaluation. However, slaughtered fish by asphyxiation with CO₂ showed higher levels of TVB-N when compared to killed by hypothermia. The texture was difference significant ($p < 0.05$) between both sampling times and slaughter methods. Fish submitted to harvesting and transportation had more flabby and soft texture when compared to fish recovered stress. Slaughter hypothermia fishes showed better texture values. Thus, the stress pre-slaughter practices affects adversely the quality of tambaqui, reducing its shelf life, under these experimental conditions.

Keywords: Stress, Slaughter, Transportation, Quality, Tambaqui

SUMÁRIO

- 1. Introdução.** p. 15
- 2. Revisão bibliográfica.**
 - 2.1 Situação da aquicultura brasileira e regional. p, 17
 - 2.2 Tambaqui (*Colossoma macropomum*). p, 18
 - 2.3 Respostas ao estresse em peixes. p, 20
 - 2.4 Práticas de manejo. p, 22
 - 2.4.1 Despesca. p, 23
 - 2.4.2 Transporte de peixes vivos. p, 24
 - 2.5 Abate. p, 26
 - 2.5.1 Métodos de abate. p, 27
 - 2.6 Aspectos da qualidade do pescado. p, 30
 - 2.6.1 Rigor mortis. p, 31
 - 2.6.2 Métodos utilizados para avaliar a qualidade do músculo. p, 33
 - 2.6.2.1 pH. p, 33
 - 2.6.2.2 N-BVT. p, 33
 - 2.6.2.3 Análise sensorial. p, 34
 - 2.6.2.4 Textura. p, 35
- 3. Objetivos**
 - 3.1. Objetivo geral. p, 36
 - 3.2. Objetivos específicos. p, 36
- 4. Material e métodos**
 - 4.1. Obtenção e aclimatação dos peixes. p, 37
 - 4.2. Desenho experimental. p, 37
 - 4.2.1. Despesca. p, 37
 - 4.2.2. Abate. p, 37
 - 4.2.3. Transporte. p, 38
 - 4.2.4. Recuperação. p, 39

- 4.3. Coleta e análise de sangue. p, 39
- 4.4. Parâmetros hematológicos. p, 39
 - 4.4.1. Hematócrito. p, 39
 - 4.4.2. Hemoglobina. p, 39
 - 4.4.3. Contagem de números de eritrócitos. p, 40
 - 4.4.4. Determinação das constantes corpusculares. p, 40
- 4.5. Parâmetros bioquímicos. p, 40
 - 4.5.1. Glicose. p, 40
 - 4.5.2. Amônia. p, 41
 - 4.5.3. Lactato. p, 41
 - 4.5.4. Cloreto. p, 41
 - 4.5.5. Cortisol. p, 41
 - 4.5.6. Concentração de Na⁺ e K. p, 41
- 4.6. Estudo da qualidade e determinação do tempo de vida útil dos peixes. p, 42
 - 4.6.1. Determinação física de peso e comprimento padrão. p, 42
 - 4.6.2. Determinação do Índice de *Rigor Mortis*. p, 42
 - 4.6.3. Determinação do pH muscular. p, 43
 - 4.6.4. Determinação do Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT). p, 43
 - 4.6.5. Avaliação Sensorial Física. p, 44
 - 4.6.6. Determinação da Textura Instrumental. p, 44
- 4.7. Análise estatística. p, 44

5. Resultados e discussão

- 5.1. Análise sanguínea. p, 45
- 5.2. Estudo da qualidade e tempo de vida útil do tambaqui. p, 53
 - 5.2.1. Avaliação do índice de rigor mortis. p, 54
 - 5.2.2. pH muscular. p, 60
 - 5.2.3. Análise sensorial, p, 64
 - 5.2.4. Teores de N-BVT. p, 68

5.2.5. Textura instrumental. p, 73

6. Conclusão. p, 77

7. Referências bibliográficas. p, 78

8. Anexos. p, 99

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Análises sanguíneas: Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), número de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), de tambaqui em diferentes tempos (Despesca; transporte de 4h; recuperação de 24h e recuperação de 48h após transporte). p, 46

Tabela 02: Tempo decorrido para a morte dos tambaquis sacrificados por dois métodos de abate, em diferentes tempos amostrais na região de Manaus (AM). p, 53

Tabela 03: Valores expressados em médias e desvio padrão de pH muscular do tambaqui, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia estocados em gelo por 49 dias, na região de Manaus (AM). p, 62

Tabela 04: Valores expressos em médias e desvio padrão dos teores N-BVT do músculo do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenados em gelo por 49 dias, na região de Manaus (AM). p, 69

Tabela 05: Valores expressados em médias e desvio padrão na textura instrumental do músculo do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenados em gelo por 49 dias, na região de Manaus (AM). p, 75

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Tambaqui (*Colossoma macropomum*) utilizado no trabalho. p, 18

Figura 2: Determinação do índice de *rigor mortis* do peixe, segundo Bito *et al.*, (1983). “Do” representa a distância da base da nadadeira caudal em relação à posição horizontal do prérigor do peixe na mesa. Com o aumento do rigor a distância “D” diminui e alcança zero em rigor pleno. p, 43

Figura 03: Valores de glicose plasmática e cortisol sérico de tambaqui em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte. p, 47

Figura 04: Valores de proteína e amônia plasmática do tambaqui em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte. p, 49

Figura 05: Valores de lactato e cloreto de tambaqui em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte. p, 51

Figura 06: Valores de Sódio (Na) e Potássio (K) de tambaqui, em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte. p, 52

Figura 07: Dinâmica do índice de rigor mortis do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenados em gelo durante 49 dias. p, 59

Figura 08: Valores de pH muscular do tambaqui, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenados em gelo durante 49 dias. p, 63

Figura 09: Índice de qualidade do tambaqui acompanhado pela análise sensorial MIQ, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenados em gelo durante 49 dias. p, 67

Figura 10: Teores de N-BVT, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenados em gelo durante 49 dias. p, 72

Figura 11: Valores da força de textura do músculo do tambaqui, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenados em gelo durante 49 dias. p, 76

ANEXOS

Anexo 01: Tabela utilizada para análise sensorial do peixe inteiro, pelo Método do Índice de Qualidade (MIQ). p, 99

Anexo 02: Acompanhamento da entrada do rigor mortis do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenado em gelo durante 49 dias, na região de Manaus (AM). p, 100

Anexo 03: Acompanhamento da saída do rigor mortis do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenado em gelo durante 49 dias, na região de Manaus (AM). p, 101

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por proteína de boa qualidade tem gerado um aumento no consumo do pescado, e a aquicultura é o setor que tem contribuído significativamente para elevar o fornecimento de pescado no mercado nacional, porém essa oferta ainda não é capaz de suprir a demanda interna, indicando uma tendência de mercado bastante promissora (FAO, 2012).

É esperado que a produção aquícola no Brasil continue crescendo não somente para o consumo *in natura*, mas também para o aumento da indústria processadora, que já lança periodicamente nos mercados consumidores, diferentes produtos a base de pescado oriundo da aquicultura. A qualidade da matéria prima é fundamental e completamente dependente de como os cultivos são conduzidos em todos os aspectos técnicos, podendo inclusive o consumidor final remunerar melhor por produtos diferenciados e certificados, quanto ao emprego de práticas ambientalmente amigáveis, bem-estar animal e aspectos sociais justos (Oliveira & Galhardo, 2007; Galvão, 2011; Argenta, 2012).

Assim, o mercado consumidor da aquicultura está cada dia mais exigente e competitivo, sendo que a qualidade dos produtos aquícolas oferecidos é fundamental para a satisfação dos clientes e diretamente dependente da qualidade da matéria-prima, (Resende, 2009).

As práticas de manejo da piscicultura, mesmo quando bem conduzidas, quase sempre são fontes causadoras de estresse, expondo os animais aquáticos a estímulos adversos ao seu equilíbrio metabólico com o ambiente (homeostase). Dentre as várias práticas de manejo estressantes está o transporte, que embora necessário, na piscicultura desencadeia as típicas respostas ao estresse que podem influenciar na qualidade da matéria prima para a indústria processadora se mal conduzido, pelo fato do pescado ser considerado altamente perecível e de qualidade dependente das condições em que o peixe foi produzido e abatido. Logo após sua morte, sofre uma série de reações autolíticas no músculo, causadas pelas enzimas proteolíticas do peixe e pela falta de oxigênio em que se encontra o músculo após o abate tornando o metabolismo anaeróbico, por esse motivo o glicogênio presente é transformado em ácido lático, cuja concentração determina a queda do pH muscular (Pereda, 2005; Ribeiro *et al.*, 2005; Marinho, 2011).

É importante saber que as práticas de manejo mal elaboradas, causam estresse em excesso, favorecendo mudanças na qualidade da carne do pescado como o aumento da proliferação microbiana, diminuição do tempo de *pré-rigor* e *rigor mortis*, modificação no pH

e na textura do músculo, influenciando no tempo de vida útil do produto. Porém, o grau em que os atributos da qualidade da carne serão afetados pelo estresse vai depender da duração e velocidade do estressor (Jittinandana *et al.*, 2005; Echevengúá *et al.*, 2008; Lambooij *et al.*, 2008; Gatica *et al.*, 2010; Viegas *et al.*, 2012).

O tambaqui é a principal espécie cultivada pela piscicultura no Estado do Amazonas e outros estados na região norte do Brasil principalmente para o mercado *in natura*. Por ser originário do Rio Amazonas está adaptado às condições da região apresentando excelentes características e boa adaptação aos ambientes de cultivo (Izel e Melo, 2004; Brasil, 2010; MPA, 2012). É esperado que a sua produção na região continue crescendo não somente para o mercado *in natura*, mas também para processamento e exportação para mercados mais exigentes, sendo necessário realizar trabalhos sobre as respostas do tambaqui ao estresse do transporte e do tipo de abate praticado.

Com a finalidade de saber a influência do estresse na qualidade da carne do tambaqui e verificar se é possível aumentar o tempo de vida útil dessa espécie com aprimoramento da prática de manejo, transporte, proporcionando maior rentabilidade, segurança alimentar para população e agregação de valor ao produtor rural, foi realizado este trabalho. A oferta de pescado com qualidade poderá colaborar ainda com o aumento de exportações e aumento no consumo interno do pescado. Dessa forma, espera-se contribuir com informações para a indústria processadora do tambaqui que já existe em algumas regiões do Brasil com boas perspectivas também para se consolidar na região de Manaus no futuro próximo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Situação da aquicultura brasileira e regional

A exploração descontrolada dos estoques pesqueiros e o aumento na demanda por alimentos saudáveis, fez com que a aquicultura se tornasse uma das atividades mais propícias para gerar proteína de alto valor comercial para a população mundial. Segundo a FAO (2012), a produção mundial de pescado atingiu 145 milhões de toneladas em 2010, no qual a aquicultura teve uma contribuição de 47% da produção de peixes para consumo humano, e em 2011 esse índice, elevou-se para 154 milhões de toneladas. Com isso estima-se que, em 2030, o consumo médio mundial de pescado pode chegar a mais de 22,5 kg/hab/ano, o que implicará na necessidade de uma oferta adicional de 100 milhões de toneladas de pescado.

No Brasil, comparada às demais atividades de produção animal, a aquicultura tem apresentado a maior taxa de crescimento nos últimos anos, e apresentou produção de 479.399 toneladas em 2010, ultrapassando os valores de 2009, onde foram produzidas 415.649 toneladas (MPA, 2012). Segundo IBGE 2009, o consumo per capita aparente do pescado aumentou no país, em 2010 apresentou taxas de 9,75 kg/hab/ano, com um crescimento de 8% em relação a 2009. Esse aumento está relacionado à mudança de hábitos alimentares do povo brasileiro, devido à carne de pescado ter alto valor nutricional, possuir baixos teores de gordura e por ser altamente digestível.

O Brasil é um ótimo candidato para tornar-se um dos maiores produtores de pescado do mundo estima-se que a produção pesqueira nacional terá condições de atingir 20 milhões de toneladas. A piscicultura é a modalidade da aquicultura que mais tem contribuído com o crescimento da atividade, apresentando um crescimento de 60,2% de 2007 a 2009, chegando a 82,3% em 2010 (MPA, 2012). Entre as espécies que mais tem se destacado, a tilápia (*Oreochromis niloticus*), está em primeiro lugar, com uma produção de 155.450,8 t/ano, representando 39% do total de pescado cultivado, a carpa, (*Cyprinus carpio*) em segundo lugar com 25% do total de produção e o tambaqui (*Colossoma macropomum*) ocupa o terceiro lugar e o primeiro entre as espécies nativas produzidas, com cerca de 54.313 toneladas no ano de 2010 (MPA, 2012).

No Estado do Amazonas, o desenvolvimento da piscicultura vem crescendo nos últimos anos e esse crescimento se deve, principalmente, pelas diversas características favoráveis que o Estado apresenta, e a importância que o pescado tem na alimentação da população, pois é sua principal fonte de proteína, com consumo *per capita* em torno de

300g/dia ou 100 kg/ano (Santos *et al.*, 2009). Além disso, outros fatores têm estimulado o crescimento da piscicultura, dentre eles: a diminuição dos estoques pesqueiros das principais espécies comerciais, aumentando assim os custos com essa atividade; possui a maior bacia hidrográfica do mundo, que abriga a mais diversa fauna de peixes de água doce (estimada entre 1.500 a 5.000 espécies de peixes), clima quente o ano todo, baixa amplitude térmica anual nos grandes corpos d'água (3 a 4°C), solo que propicia a construção de viveiros de cultivo, alta demanda no consumo de pescado, entre outros (Val e Honczaryk, 1995; Ono, 2005).

Várias espécies nativas têm grande potencial para o desenvolvimento da piscicultura no Estado, porém a produção pesqueira oriunda da aquicultura estadual ainda está baseada em três espécies, sendo elas, o tambaqui (*Colossoma macropomum*), matrinxã (*Brycon amazonicus*) e pirarucu (*Arapaima gigas*). Das três espécies citadas, o tambaqui é a espécie mais cultivada com aproximadamente 66% da produção, seguida do matrinxã, com 32% e por último o pirarucu (Gandra, 2010). O crescimento da piscicultura é de suma importância para o Estado do Amazonas, para conquista de novos mercados, porém o acompanhamento do estudo de um produto de qualidade é necessário para que essa oferta atenda as exigências dos consumidores.

2.2. Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Figura 01: Tambaqui (*Colossoma macropomum*) utilizado no trabalho



O tambaqui é a espécie nativa da bacia Amazônica que pertence à ordem Characiformes e à família Characidae, sendo considerado o segundo maior peixe de escamas

da América do Sul, podendo atingir 1 m de comprimento e pesar mais de 30 kg. Possui hábito alimentar onívoro, aproveitando, de maneira satisfatória, alimentos como frutos e sementes em seu ambiente natural, além de ter boa aceitabilidade da ração em cativeiro (Isaac & Ruffino, 1996; Araujo-Lima & Goulding, 1998; Araujo-Lima & Gomes, 2005).

É uma espécie de peixe nativa da bacia amazônica, sendo a mais cultivada na região amazônica, cujo cultivo iniciou-se na década de 1980 (Rolim, 1995; Maeda, 1998). Este interesse a essa espécie, se deve a vários fatores, tais como: disponibilidade na oferta de alevinos o ano todo (até duas vezes por ano/fêmea), rusticidade, rápido crescimento, resistência às elevadas temperaturas, ao manuseio, tolerante às baixas concentrações de oxigênio dissolvido além de ter uma boa aceitação à ração artificial, adaptando-se, com sucesso, ao cultivo intensivo (Roubach *et al.*, 2004; Araujo-Lima; Gomes, 2005; Chagas *et al.*, 2007; Ostrensky *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2010).

O cultivo de tambaqui tem se expandido nas Regiões Norte, Sudeste, Centro-oeste e Nordeste, devido ao grande potencial para criação intensiva que a espécie apresenta, sendo a espécie nativa de maior potencial aquícola no Brasil, e apresentou 14,4% do total produzido no ano de 2009, ou seja, 46.454 t, subindo ainda mais em 2010 para 54.313,1 t (Brasil, 2010; MPA, 2012).

O tambaqui tem grande importância econômica nos mercados de peixes da Amazônia Central, representando mais de 40% de todo o pescado comercializado na cidade de Manaus (Araújo-Lima & Goulding, 1998; Santos *et al.*, 2009). Segundo Santos *et al.*, (2009) trata-se do peixe mais importante na pesca e piscicultura da região amazônica, sendo um dos peixes mais apreciados na culinária amazônica, devido ao seu excelente sabor, consistência e coloração branca de sua carne, poucas espinhas e facilidade para obtenção de filés, além de apresentar alto teor protéico, contendo mais de 19% no seu filé. Por esse motivo, é a espécie mais consumida na cidade de Manaus, e em outras cidades da Região Norte. Segundo Kubtiza *et al.*, (2012), a produção dessa espécie na Região, tem acelerado nos últimos anos, chegando em 2011 a 35.000 toneladas.

Diversos são os aspectos que vêm sendo estudados na criação em larga escala do tambaqui, especialmente os parâmetros sobre nutrição, reprodução e sistemas de cultivo (Val & Honcrazik, 1995; Araújo-Lima & Gomes, 2005). Apesar dos conhecimentos sobre o cultivo do tambaqui serem satisfatórios, algumas lacunas ainda devem ser preenchidas para se obter conhecimento técnico suficiente e estabelecer um pacote tecnológico para produção da

espécie na Amazônia. Uma das lacunas a serem preenchidas é a preocupação com a qualidade de sua carne e a influência do estresse sobre as práticas de manejo como transporte e abate.

2.3. Respostas ao estresse em peixes

O sistema intensivo de peixes tem como objetivo produzir o máximo ao menor custo, porém, essa produção intensiva pode causar a diminuição do bem-estar dos animais (Ashley, 2007; Oliveira & Galhardo, 2007), devido às condições de manejo inadequado, alta densidade de estocagem e práticas errôneas adotadas durante a captura, transporte e abate, podendo assim, oferecer ao mercado produtos de baixa qualidade (Lambooij *et al.*, 2002; Viegas *et al.*, 2012). O estresse na piscicultura vem ganhado bastante espaço e inúmeros trabalhos já foram realizados nos últimos anos, por ser questão importante no bem-estar dos peixes, e também pelos efeitos negativos que podem representar na produção e alteração dos atributos de qualidade da carne (Lambooij *et al.*, 2002; Urbinati & Carneiro, 2004; Ashley, 2007; Gatica *et al.*, 2010; Viegas *et al.*, 2012; Santos, 2013).

Práticas de manejo como citados acima, podem expor os peixes a grandes perturbações no seu equilíbrio fisiológico, causando estresse. Segundo Pickering (1981), estresse pode ser definido como um conjunto de respostas do organismo a um ou mais estímulos adversos de origem interna ou externa, dessa forma, os estressores perturbam ou ameaçam o equilíbrio homeostático dos peixes com o ambiente, onde uma série de respostas compensatórias do organismo faz com que os animais busquem a manutenção da homeostase, adaptando-se as novas condições ambientais.

No entanto, se os peixes forem submetidos a estressores constantes, e por longos períodos, essas respostas compensatórias podem causar danos permanentes à saúde e ao bem-estar do animal (Ashley, 2007; Oliveira & Galhardo, 2007; Diniz & Honorato, 2012). Nesta constante luta para a sobrevivência, os peixes estão expostos a inúmeras mudanças fisiológicas, desencadeando as respostas ao estresse, que podem compreender uma série de alterações, as quais são divididas em primárias, secundárias e terciárias. Sendo as primárias os efeitos que ocorrem no sistema endócrino, e as secundárias as alterações metabólicas, osmorregulatórias, aumento das proteínas totais e modificações hematológicas, e as respostas terciárias, perdas no crescimento e reprodução (Barton, 2002; Fagundes, 2009; Diniz & Honorato, 2012).

Dessa forma, os peixes ao perceberem diferentes estressores, por meio do sistema nervoso central, desencadeiam as liberações de hormônios na corrente sanguínea, as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e o cortisol, pelas células cromafins e interrenais respectivamente (Acerete *et al.*, 2004; Tavares-Dias *et al.*, 2009). As catecolaminas se elevam rapidamente no organismo onde permanecem por algumas horas; já o cortisol, é conhecido como hormônio do estresse e um dos principais indicadores de estresse primário em peixes, onde suas concentrações podem variar entre as espécies, e conseqüentemente aumenta após estímulos estressores, podendo permanecer alto por 24 horas, dependendo do tipo do estressor, porém se o animal for exposto repetidamente a estressores, essas concentrações podem permanecer altas por mais de uma semana (Acerete *et al.*, 2004; Oba *et al.*, 2009).

Logo, as relações entre os efeitos fisiológicos de determinado estressor e o aumento da concentração do cortisol plasmático quantificam a intensidade do estresse, iniciando uma série de respostas secundárias, onde podemos destacar a hiperglicemia, que é interpretada como a solicitação de energia extra pelo organismo, esta demanda de energia acontece principalmente por glicogenólise das reservas musculares e hepáticas, para que o peixe possa se adaptar à determinada condição adversa. Níveis elevados de glicose no plasma podem representar a principal resposta secundária para determinar o estresse em peixes, por ser a principal fonte de energia utilizada pelos peixes para suportar situações desfavoráveis (Barton, 2002; Fagundes & Urbinati, 2008; Castro & Fernandes, 2009). Por outro lado, variáveis como concentração de lactato, proteína e amônia plasmática podem ainda indicar o aumento da demanda energética, oriundo das diversas vias metabólicas, como a fermentação láctica (via anaeróbica) e transaminações (metabolismo de proteínas).

Os efeitos no balanço eletrolítico são também evidências nas respostas secundárias do estresse, pois, sob tais condições, os peixes apresentam circulação sanguínea e batimentos operculares alterados (por ação das catecolaminas). Assim, a relação de contato sangue-água nas brânquias muda, de forma que os peixes não encontram condições fisiológicas ideais para manter o seu equilíbrio iônico com o ambiente por difusão. As mudanças osmorregulatórias são principalmente percebidas pelos valores dos íons plasmáticos Na^+ , Cl^- e K^+ . Esses distúrbios osmorregulatórios podem estar relacionados como um dos principais fatores que causam a morte dos peixes durante e após práticas de manejo, como o transporte (Tsuzuki *et al.*, 2001; Barton, 2002; Fagundes, 2009).

Já as respostas terciárias do estresse são observadas nas alterações fisiológicas manifestadas na população como um todo, em face de um ou mais estressores, sendo essas exemplificadas por queda na resistência à doenças, queda no desempenho reprodutivo, perda de crescimento, mudanças na capacidade de nado e mortalidade em massa. Assim, evidencia-se a incapacidade dos indivíduos em permanecer às condições adversas e recuperar a homeostase, ou ainda, essas respostas podem mostrar que determinado estressor teve duração ou intensidade excessiva ou crônica (Barton, 2002; Lima *et al.*, 2006; Oba *et al.*, 2009).

2.4. Práticas de manejo

Quando a atividade aquícola cresce, observa-se nitidamente a necessidade de um aumento de índices de produtividade, este aumento implica em melhorias dos sistemas de produção com a finalidade de melhorar a qualidade do produto final. O desenvolvimento da piscicultura deve ser monitorado por boas práticas de manejo, podendo garantir a segurança alimentar das populações, tendo em vista que esse mercado está voltado a alimentos mais saudáveis e nutritivos (Ferreira, 2008; Usyduš *et al.*, 2009).

As práticas de manejo são comuns em sistema intensivo de pisciculturas, realizadas com a finalidade de melhorar a produção, porém podem ser considerados fatores estressantes para os peixes, podendo romper o equilíbrio dos animais com o ambiente (homeostase) (Oba *et al.*, 2009; Inoue *et al.*, 2010; Diniz & Honorato, 2012). Os fatores estressantes estão sendo a principal causa de perdas da lucratividade em cultivo intensivo, podendo afetar diretamente o produto final, diminuindo o seu valor comercial, sendo responsáveis por grandes perdas e desperdício (Lamboij *et al.*, 2006, Gatica *et al.*, 2010; Digre *et al.*, 2011).

O estresse sofrido por práticas de manejo mal elaboradas, podem causar alta taxa de mortalidade, queda no crescimento e afetar a reprodução dos animais. Os peixes que são direcionados ao abate, também sofrem com o estresse dessas práticas, prejudicando sua qualidade (Conte, 2004; Gatica *et al.*, 2010; Digre *et al.*, 2011). O estresse pré-abate pode reduzir o tempo de *rigor mortis* dos peixes fazendo com que o animal desenvolva um *rigor* mais drástico, afetando a textura da sua carne e outras características de qualidade. Os peixes que são submetidos a diferentes níveis de estresse, apresentam qualidade de carne inferior, e maior susceptibilidade aos processos de deterioração durante o armazenamento, comparada à carne de peixes não estressados antes do abate (Lamboij, 2008; Duarte, 2009; Gatica *et al.*,

2010; Viegas *et al.*, 2012). Estudos comprovam que práticas pré-abate podem ter efeito adverso sobre o bem-estar e qualidade da carne de salmonídeos (Barton, 2002; Ashley, 2007; EFSA, 2009; Digre *et al.*, 2010; Merkin *et al.*, 2010).

Por esse motivo, trabalhos estão sendo realizados para minimizar o estresse dessas práticas, buscando estratégias para um aprimoramento tecnológico para os produtores e indústrias de processamento, buscando melhorias no produto final, porém ainda há uma carência muito grande sobre a influência dessas práticas sobre a qualidade da carne em espécies nativas (Gomes, 2003; Iwama *et al.*, 2004; Urbinati & Carneiro, 2006; Ferreira & Urbinati, 2008; Otani, 2009; Inoue *et al.*, 2011; Vargas, 2011).

Para que não ocorram grandes perdas durante estas práticas, minimizando assim o estresse, devem ser aplicadas medidas cautelosas, como o uso de pessoas treinadas para aplicação dessas práticas usando estratégias para mitigar o estresse, estabelecendo condições favoráveis de bem-estar para o animal até o momento de sua morte, sendo a escolha de um método de abate, importante para manter a qualidade do pescado (Galhardo & Oliveira, 2006; Ashley, 2007; Adamante *et al.*, 2008).

2.4.1. Despesca

As despescas são práticas rotineiras nas pisciculturas, realizadas em diferentes etapas da criação, podendo ter diferentes finalidades como a classificação e transferência dos peixes para outras unidades de produção, podem ser direcionadas ao pesque-pague ou ao final do cultivo, quando os peixes são levados para indústria de beneficiamento para sua comercialização. A despesca é uma prática agressiva e que se caracteriza por causar estresse agudo, severo e de curta duração aos peixes (Macedo-Viegas & Souza, 2004; Urbinati & Carneiro 2006; Gatica *et al.*, 2010).

Quando os peixes são submetidos à despesca, podem ser expostos a uma sequência de estímulos que inclui a fase de perseguição e natação forçada do animal, a exposição do peixe ao ar e a abrasão do seu corpo com a rede e com outros peixes, causando a fuga, todos esses fatores citados são considerados estressores isolados, gerando estresse agudo, quando são associadas com outras práticas de manejo, como o transporte, podem levar a sérios problemas aos peixes (Schreck, 2000; Hoshiba *et al.*, 2009). Os danos adquiridos por meio dessa prática de manejo podem machucar os animais, abrindo orifícios no seu corpo, podendo prejudicar seu aspecto e sua futura conservação, tornando entrada para contaminações bacterianas

diminuindo assim, o tempo de vida útil e conseqüentemente o valor do produto final (Pereda *et al.*, 2005; Galhardo & Oliveira, 2006; Diniz & Honorato, 2012).

Para garantir a qualidade dos peixes, é necessário aplicar práticas corretas no momento da despesca até a comercialização do produto, possibilitando a oferta de produtos seguros ao consumidor. Por esse motivo, a despesca deve ser feita sempre com o máximo de cuidado, de maneira cautelosa e rápida, sendo bem planejada para evitar o estresse. Para o sucesso dessa prática é necessário pessoas treinadas e uso de materiais e equipamentos qualificados, geralmente as despescas são realizadas com redes de arrasto, e estas devem estar dentro dos padrões adequados para cada espécie, para que os peixes não se machuquem, evitando danos físicos aos animais (Urbinati & Carneiro, 2006).

De acordo com Pádua, (2000) a despesca bem planejada juntamente com outras práticas de manejo, como a escolha do método de abate correto, pode aumentar o tempo de *pré-rigor*, favorecendo a qualidade do pescado para o consumo. Mas para que isso ocorra, alguns cuidados devem ser tomados antes da despesca, como a escolha do horário a ser realizada essa prática, o recomendado é utilizar horários com temperaturas mais amenas, como nas primeiras horas da manhã. Além disso, os peixes também devem passar por um jejum de 24 à 48h antes dessa prática, sendo essencial para que os animais não gastem suas reservas energéticas, dificultando ainda mais o transporte. Os animais que são abatidos com o trato digestivo cheio, rapidamente são contaminados por bactérias, acelerando a deterioração e diminuindo o seu tempo de prateleira (Macedo-Viegas & Souza, 2004).

2.4.2. Transporte de peixes vivos

Devido ao rápido crescimento da piscicultura nos últimos anos, o transporte tornou-se uma prática de manejo indispensável nas unidades de cultivo, mas que coloca os animais aquáticos expostos a estímulos adversos ao seu equilíbrio metabólico com o ambiente (Adamante, 2008; Carneiro *et al.*, 2009, Fagundes, 2009). Esta etapa é considerada traumática, por expor conseqüências agudas aos peixes e desenvolver respostas do estresse, que inclui desde a captura nos tanques de produção, o manuseio, o transporte em si, até a liberação e a aclimação dos animais nos tanques de recepção (Urbinati & Carneiro, 2006; Inoue *et al.*, 2010; Oliveira, 2008; Fagundes, 2009).

Embora seja realizado nas condições de manejo recomendadas, o transporte é uma prática que sempre causa estresse nos peixes, e, se praticado de maneira inadequada, pode ser

um dos agentes estressores mais prejudiciais da aquicultura. Muitos trabalhos já comprovaram que essa prática de manejo favorece ao estresse, causando alterações fisiológicas e bioquímicas ao animal, como foram observados no tambaqui (*Colossoma macropomum*); pirarucu (*Arapaima gigas*); matrinxã (*Brycon amazonicus*); pacu (*Piaractus mesopotamicus*); pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*); jundiá (*Rhamdia quelen*) (Gomes *et al.*, 2003; Acerete *et al.*, 2004; Urbinati *et al.*, 2004; Takahashi *et al.*, 2006; Carneiro *et al.*, 2008; Fagundes & Urbinati, 2008; Carneiro *et al.*, 2009; Iversen *et al.*, 2009).

Existem vários fatores que afetam o manejo do transporte, causando estresse aos peixes, onde podemos destacar: duração do transporte, qualidade da água de transporte, tamanho dos peixes, jejum antes do transporte, densidade e espécie de peixe (Emata, 2000; Carneiro & Urbinati, 2002; Pedrazzani, 2007; Carneiro *et al.*, 2009).

Por essa prática ser considerada traumática, porém necessária, muitos trabalhos tem sido desenvolvidos para reduzir o estresse, onde diferentes técnicas podem ser usadas para diminuir os efeitos negativos causados pelas operações envolvidas no transporte. Estas medidas podem ajudar a reduzir o estresse dos peixes, entre elas podemos destacar: o jejum prévio, que é realizado para esvaziamento completo do trato digestivo, o jejum reduz a quantidade de fezes na água do transporte, diminuindo o impacto negativo das fezes na água; a temperatura da água de transporte também deve ser monitorada, pois o consumo de oxigênio pelos peixes será maior se a temperatura for elevada; o uso de sal na água, durante o transporte é comum, por ser uma técnica que minimiza perdas de íons para o meio, reduzindo o gasto energético para a manutenção da homeostase osmorregulatória. Outros agentes redutores de estresse, como anestésicos, vitamina C entre outros, também estão sendo usados para diminuir o estresse desta prática, mostrando bons resultados para espécies estudadas. A densidade e o tempo são duas variáveis que afetam o desempenho dos peixes durante o transporte por isso o cuidado com a densidade é de grande importância nessa prática, e vai depender da duração do transporte (Tsuzuki *et al.*, 2001; Gomes *et al.*, 2003; Inoue *et al.*, 2010; Kubitza, 2007; Oliveira, 2008; Carneiro *et al.*, 2009).

Os peixes vivos são transportados para diversos destinos, como tanque de recria e engorda, indústrias, frigoríficos e pesque-pague. Segundo Santos *et al.*, (2003), o transporte de peixes pesando entre 1 a 2 kg vem crescendo bastante, onde a sua principal finalidade é comércio de peixes vivos em feiras e frigoríficos, porém, estes animais podem chegar ao destino em péssimas condições, podendo morrer durante o transporte ou logo após a chegada.

Assim, cuidados durante o procedimento de transporte e na preparação do ambiente de recepção dos peixes antes do abate são importantes para minimizar essas perdas (Urbinati & Carneiro, 2004; Takahashi *et al.*, 2006).

Alguns autores afirmam que o estresse do transporte pode ter duração variada, dependendo da espécie e da duração do estressor. Carneiro & Urbinati (1998), trabalhando com matrinxã, observaram que 24 h após o transporte, os peixes retornaram aos níveis normais de glicemia. Por esse motivo, é necessário que os animais passem por um período de recuperação de 24 a 48 h após transporte antes de serem abatidos, recuperando a sua homeostase, pois, quando os peixes são abatidos imediatamente após o transporte, a qualidade de sua carne pode ficar comprometida, acelerando a entrada do *rigor mortis*, devido a exaustão de suas reservas musculares, produzindo pouco ácido lático após sua morte, comprometendo a qualidade da carne. Salmões que passaram por uma recuperação de 24h após transporte em barcos, recuperaram do estresse, mantendo bons aspectos na qualidade de sua carne. Já os que foram abatidos logo após transporte apresentaram *rigor* drástico e a qualidade de sua carne foi comprometida (Iversen *et al.*, 2005; Tang *et al.*, 2009). Resultados semelhantes foram encontrados em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), quando foram submetidos a recuperação de 24h após transporte, obtiveram uma qualidade superior dos que foram abatidos imediatamente após transporte.

Ainda não se sabe muito sobre os efeitos do estresse do transporte sobre a qualidade do pescado em espécies nativas, por isso a necessidade do estudo dessas práticas, sobre a qualidade da carne dessas espécies, favorecendo melhorias na produção.

2.5. Abate

Alguns anos atrás, o abate de animais era uma prática pouco expressiva na comunidade científica, após observarem que esta prática em conjunto com outras, causavam alterações na qualidade da carne do animal abatido, diminuindo conseqüentemente seu valor comercial, começou a ocorrer interesses científicos por esse assunto. Porém, o abate para peixes é um assunto que ainda está dando seus primeiros passos, não existindo ainda, nenhuma resolução indicando o melhor método de abate para ser utilizado, mas já se sabe que essa prática pode afetar diretamente a qualidade da carne. (Lamboij *et al.*, 2006; Vargas, 2011; Viegas *et al.*, 2012; Santos, 2013).

O abate de animais é um assunto preocupante, pois é considerado um fator estressante em conjunto com outras práticas de manejo, como despesca, transporte e manuseio inadequado (Lambooij *et al.*, 2002; Bagni, 2007; Viegas *et al.*, 2012). Essas práticas podem alterar as características organolépticas do pescado, diminuindo a vida de prateleira do produto final. O estresse do abate, ainda pode influenciar diretamente no aumento da atividade do músculo, diminuindo suas reservas energéticas, o ATP (adenosina trifosfato), afetando, inicialmente, o pH e o desenvolvimento rápido do *rigor mortis*, e, posteriormente, outros fatores determinantes de qualidade (Scherer *et al.*, 2005; Ribas *et al.*, 2007; Bagni, 2007; Rahmanifarah *et al.*, 2011).

Os processos de pré-abate, que correspondem desde a despesca até o momento da morte do animal, são as principais causas do estresse, por esse motivo o manuseio adequado no momento desta prática e o método de abate apropriado, irão ajudar a manter a qualidade da carne, preservando algumas características como a cor, sabor e odor (Vargas, 2011).

No Brasil, de modo geral, são precárias as condições em que se realizam as operações de pré-abate, operários com pouco treinamento, associados à falta de infra-estrutura como deficiência na produção de gelo, capacidade de estocagem insuficiente, manuseio inadequado do pescado até o frigorífico, originam grandes desperdícios, comprometendo a qualidade do pescado. Essas perdas poderiam ser minimizadas se houvesse um conjunto de informações tecnológicas sobre as espécies nativas, por isso há a necessidade de conhecer diferentes métodos de abate para cada espécie, a fim de se escolher o método que venha trazer uma melhoria na propriedade física da carne, diminuindo a velocidade do *rigor mortis*, aumentando a vida útil do pescado, melhorando sua qualidade (Conte, 2004; Viegas *et al.*, 2012).

2.5.1. Métodos de abate

Embora na literatura não seja citado um método especificamente para o abate de peixes, como existe para as carnes bovinas e de aves, pesquisas já estão sendo desenvolvidas visando à escolha do melhor método de abate, porém, o tipo de abate a ser utilizado irá depender da espécie escolhida e de outros fatores intrínsecos. Essa preocupação com o tipo de abate utilizado vem aumentando, devido à influência negativa que essa prática pode causar na qualidade da carne, sendo que a escolha apropriada do método de abate pode ser um passo

importante para garantir a qualidade do pescado (Scherer *et al.*, 2005; Lamboij *et al.*, 2006; Vargas, 2011).

Diferentes métodos de abate estão sendo testados na piscicultura, com a finalidade de proporcionar uma maior qualidade ao produto final, diminuindo o tempo da morte dos animais, favorecendo o bem estar e conseqüentemente uma melhoria na sua carne. Otani (2009), testou o uso de vitamina E em filés de tilápia, (*Oreochromis niloticus*) em diferentes tipos de abate, observou que não houve diferença na qualidade do pescado entre os métodos de abate testados. Da mesma forma, Vargas, (2011), avaliando diferentes tipos de abate para matrinxã (*Brycon amazonicus*), não observou diferenças significativas entre os métodos testados, porém foi verificado que o abate por choque elétrico causou a morte mais rápida e um sofrimento menor nos animais, favorecendo as características organolépticas superiores aos demais métodos testados. Pereda, *et al.*, (2005), utilizou trutas arco-íris que foram abatidas, mediante a ação de uma corrente elétrica, mostrando resultados positivos, pois implicou na melhoria da qualidade do pescado.

Métodos de abate que provocam uma longa agonia em peixes são muito estressantes e devem ser evitados. Para o favorecimento do bem-estar dos peixes e qualidade, o método de abate, deve ser rápido e eficiente para obtenção de um rápido atordoamento dos peixes (Ashley, 2007; EFSA, 2009; Viegas *et al.*, 2012).

Entre os diferentes métodos de abate utilizados para peixes no Brasil, o choque térmico ou hipotermia é o mais comum e o mais utilizado nas indústrias de beneficiamento de pescado, pela facilidade da aplicação e por até o momento mostrar bons resultados sobre a qualidade da carne do pescado, porém esse método pode alterar o bem-estar dos animais (Poli *et al.*, 2005; Ashley, 2007). Esse método de abate consiste em mergulhar os peixes vivos em água com gelo em uma proporção de 1:1 em temperatura de zero grau, por um determinado tempo que pode variar de 2 a 5 minutos, tornando os peixes insensíveis, facilitando, assim, a retirada dos mesmos para a realização da sangria e procedimentos posteriores, porém alguns autores acreditam que o uso desse método pode causar a imobilização do animal, mas não logo a sua morte (Lines & Spence, 2011; Viegas *et al.*, 2012), sendo esse método, muito utilizado para espécies de águas quentes devido a diferença de temperatura (Acerete *et al.*, 2004; Lamboij *et al.*, 2006; Ashley, 2007).

O atordoamento elétrico é um método utilizado nos países europeus, que proporciona bem-estar animal, pois causa inconsciência imediata, em seguida a morte, sem sofrimento

(Lamboij *et al.*, 2008; Knowles *et al.*, 2008; Viegas *et al.*, 2012). Esse método tem sido estudados em várias espécies como carpa comum (*Cyprinus carpio*), (Lamboij *et al.*, 2007), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Lamboij *et al.*, 2008) e salmão (*Salmo salar*) (Roth *et al.*, 2012). Segundo Lines & Kestin, (2005); Giuffrida *et al.*, (2007), truta arco-íris, são abatidas em sistemas comerciais por estimulação elétrica, insensibilizando imediatamente esses peixes, diminuindo o estresse. Esse método também foi utilizado por Vargas (2011) com matrinxã, mostrando ser o melhor método de abate utilizado pela autora, porém, esse método ainda é pouco conhecido na comunidade científica brasileira, e trabalhos com espécies nativas ainda são escassos.

Outro método de abate de peixes muito comum no Brasil é a asfixia, onde os peixes são colocados em caixas sem água e sem oxigênio até a mortalidade. Esse método causa elevado estresse, pois promove períodos prolongados de consciência antes de sua morte, afetando ainda mais o bem-estar desses animais podendo comprometer a qualidade de sua carne, pois o estresse que é causado pelo excesso de exercício físico intenso antes da morte pode proporcionar ao peixe *rigor* imediato, pela falta de glicogênio no músculo após sua morte, afetando conseqüentemente todas as características relacionadas à qualidade da carne, sendo seu uso inadequado para manter a qualidade do produto final (Poli *et al.*, 2005; Ashley, 2007). Infelizmente, na Região Amazônica é o método mais utilizado pelos produtores, devido ao desconhecimento do que essa técnica pode causar para o produto final. Por isso estudos relacionados sobre métodos de abate são de suma importância para as espécies da região, proporcionando assim, visualizar o melhor método a ser aplicado, aumentando a lucratividade do setor e o valor do produto final.

O abate por asfixia com CO₂ também tem sido estudado por alguns pesquisadores, como Giuffrida *et al.*, (2007) que utilizou em seu experimento a espécie *Sparus aurata*; Acerete *et al.*, (2009) e Roth *et al.*, (2006), a *Dicentrarchus labrax*; Erickson *et al.*, (2006) usou *Salmo salar* e Vargas, (2011) utilizou a espécie *Brycon amazonicus*. Este método consiste em um acúmulo de gás carbônico na água, através de uma pedra porosa, com a finalidade de proporcionar asfixia nos peixes. Para alguns autores esse método não é recomendado, devido à demora que ele proporciona para causar a imobilização e a morte do animal.

2.6. Aspectos da qualidade do pescado

O termo qualidade está intimamente ligado com a soma dos atributos físicos, sensoriais, químicos e microbiológicos dos alimentos, sendo que a qualidade do pescado está diretamente relacionada ao frescor, evidenciando o estado do alimento no momento, e essa qualidade pode ser entendida também como um conjunto de atributos que atenda a exigências do consumidor (Gomez-Guillen *et al.*, 2000; Germano, 2003; Miranda, 2011). A observação da qualidade do pescado deve ser feita por meio da realização de avaliações físicas, químicas e sensoriais, mostrando alterações que possam ocorrer durante o período de estocagem, permitindo a determinação precisa do tempo de vida útil para o seu consumo, comercialização e exportação (Barros, 2003; Macedo-Viegas & Souza, 2004; Nunes *et al.*, 2007).

O pescado é considerado um alimento perecível, que passa por mudanças logo após a sua morte. A deterioração corresponde a todas as alterações que ocorrem com o peixe, se instalando rapidamente após o abate e avançando com o tempo até a sua putrefação. A perda do frescor ocorre devido à degradação do músculo do pescado, e esta degradação se inicia pela complexa combinação de processos bioquímicos, químicos e físicos. Durante os primeiros dias de armazenamento, as enzimas endógenas, que estão nas vísceras e superfície do peixe, participam na perda gradual de frescor, sua ação resulta na produção de substâncias com odor desagradável, e essas enzimas criam um meio favorável aos microrganismos. Em seguida o metabolismo bacteriano predomina e conduz à deterioração final. O peixe possui bactérias na superfície do seu corpo e em seus órgãos, microbiota natural do peixe vivo, e após sua morte, essas bactérias proliferam-se no músculo do peixe, favorecendo o processo de deterioração (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2000; Jesus *et al.*, 2001; Pereda, 2005).

A velocidade dessas mudanças, podem estar relacionadas com práticas de manejo antes e depois da morte do animal, temperatura, manipulação e armazenamento. O manuseio e a conservação inadequadas aplicadas durante essas práticas podem representar os principais problemas para obter um produto com qualidade (Batista *et al.*, 2004, Pereda *et al.*, 2005; Ribas *et al.*, 2007). Esforços excessivos no momento da despesca e transporte podem levar o animal a um rápido *rigor mortis* e sinais precoces de alterações durante sua conservação (Pereda *et al.*, 2005; Almeida *et al.*, 2006; Otani, 2009).

O conhecimento, cada vez mais amplo, sobre as características da matéria-prima, relacionados à qualidade sensorial, físico-química e microbiológica, tem a finalidade de

estabelecer padrão de qualidade do produto final, podendo aumentar seu tempo de prateleira (Leitão; Rios, 2000). Vários métodos têm sido desenvolvidos para avaliar a qualidade do pescado, devido à alta complexidade do processo de decomposição na sua carne, sendo os métodos mais utilizados: determinações de bases voláteis totais (N-BVT), pH, trimetilamina (TMA), e análises sensorial e microbiológica (Riedel, 2005).

2.6.1 Rigor mortis

Um dos fatores que interfere diretamente na qualidade do pescado é o *rigor mortis*, que pode ser definido como o estado onde ocorre a perda da extensibilidade e plasticidade dos músculos, não apresentando mais os ciclos de contração e relaxamento, resultado de uma série de reações bioquímicas complexas. O tempo da entrada em *rigor* está relacionado diretamente com a quantidade de ATP presente, sendo este estabelecido quando a concentração de ATP no músculo reduz a < 1.0 mol, tornando-se insuficiente para dissociar os compostos da actomiosina (Contreras-Guzman, 1994; Bykowski & Dutkiewicz, 1996; Macedo-Viegas & Souza, 2004; Hamada-Sato *et al.*, 2005).

Ogawa e Ogawa (1999) citam que a degradação do ATP processa-se rapidamente, juntamente com uma série de compostos que seguem essa degradação como: ADP (Adenosina difosfato), AMP (Adenosina monofosfato), IMP (inosinamonofosfato), HxR (inosina), Hx (hipoxantina) e R (ribose), esses compostos, são determinados e empregados para avaliar a qualidade da carne do peixe.

Esse mecanismo pode ser dividido em três fases: *pré-rigor*, *rigor* e *pós-rigor*. Imediatamente após a morte do peixe, a entrada de oxigênio cessa e os produtos metabólicos não oxigenados no sangue e nos músculos paralisam o sistema nervoso. Neste momento, o peixe está em *pré-rigor*, que pode ter duração de uma a seis horas, dependendo da espécie e a forma que esse animal foi abatido. O glicogênio e a adenosina trifosfato (ADP) estão combinados com a miosina, conferindo ao peixe uma carne macia (Oliveira, 2004; Macedo-Viegas & Souza, 2004; Sá, 2004; Pereda, 2005).

Após algumas horas da morte do peixe, inicia-se o processo denominado *rigor mortis*, caracterizado pelo progressivo enrijecimento do corpo do animal, devido à redução dos níveis de ATP (adenosina trifosfato) na musculatura. Na fase de *rigor mortis* não ocorre deterioração acentuada, nesse período suas defesas naturais permanecem intactas, dificultando a ação microbiana. O tempo que o animal vai permanecer em *rigor mortis* é variável, sendo que sua duração é dependente da quantidade de ATP e glicogênio que o peixe possui antes de

sua morte, onde a quantidade dessas reservas está diretamente relacionada com a forma de manejo recebido pelo animal, como manuseio, transporte e método de abate utilizado (Robb & Kestin, 2002; Pereda, 2005; Argenta, 2012; Viegas *et al.*, 2012).

O *pós-rigor* instala-se no momento em que a actomiosina é degradada por enzimas proteolíticas, como a catepsina. Neste período, a resolução o músculo torna-se novamente flexível, mas menos elástico do que antes de entrar em *rigor*. Esse amolecimento da carne é devido à hidrólise proteica, resultando em um aumento no teor de peptídeos, aminoácidos livres e aminas. Nesta última fase, ocorre ação rápida dos microrganismos endógenos e exógenos, formando substâncias nitrogenadas e redutoras voláteis, tornando o pescado impróprio para o consumo humano (Macedo-Viegas, 2004; Oliveira, 2004).

O aparecimento rápido do *rigor mortis* pode ser influenciado por vários fatores, como a captura, transporte, a estocagem e, principalmente, a maneira como o peixe é abatido, essas práticas causam estresse, fazendo com que o animal gaste suas reservas energéticas antes de sua morte. Quanto maiores as reservas de glicogênio maior será a acidificação do músculo e maior a proteção do mesmo contra o ataque bacteriano, assim, a movimentação excessiva dos peixes por ocasião dessas práticas, diminui consideravelmente as reservas de glicogênio de seus músculos, o que proporciona uma menor redução do pH, levando, a um rápido *rigor mortis* e proporcionando uma curta duração desta fase (Ogawa & Maia, 1999; Ribas *et al.*, 2007; Vargas, 2011; Viegas *et al.*, 2012).

Macedo-Viegas (2004), estudou o início do *rigor mortis* em tilápias do Nilo, logo após a despesca com rede de arrasto, onde verificou 100% de *rigor* após 4h de armazenamento. Korhonen *et al.*, (1990) e Nakayama *et al.*, (1992) usando as espécie tilápia do Nilo (*Aerochromis aureus*) e carpa comum (*Cyprinius carpio*), respectivamente, estudaram a influência do abate com e sem estresse sobre o *rigor mortis*, e observaram nas duas espécies, que os peixes que foram induzidos por 30 minutos ao estresse antes de sua morte, desenvolveram mais rapidamente o *rigor mortis*. Erickson *et al.*, (2008) trabalhando com salmão do Atlântico, observou uma aceleração na entrada do *rigor mortis* quando os peixes foram submetidos ao estresse. Almeida *et al.*, (2005), trabalhando com o tambaqui abatidos por hipotermia na despesca, mostrou que esta espécie apresentou o fenômeno de “cold shock” e não *rigor-mortis*, por ter ocorrido contração muscular total quando 30% da concentração inicial de ATP ainda estava presente no músculo. Batista *et al.*, (2004), trabalhando com

matrinxã procedentes da piscicultura, sacrificados por hipotermia e conservados em gelo, mostrou que o *rigor mortis* ocorreu aos 75 minutos e permaneceu durante 10 dias.

Segundo Almeida (2005), além do efeito da temperatura de estocagem em relação ao *rigor mortis* e a degradação do ATP em tambaqui, outro fator que influencia diretamente a este progresso é a maneira como o peixe é abatido. O estudo sobre o *rigor mortis* demonstra a importância tecnológica e econômica neste processo, pois, além dos fatores intrínsecos, este é influenciado por fatores comportamentais. O *rigor* pode afetar a qualidade do pescado ocasionando rompimento do filé, gotejamento, o enrugamento e o encurtamento do músculo no descongelamento (Amlacher, 1965). Tecnicamente, é importante retardar o aparecimento do *rigor mortis*, pois se acredita que a maioria dos fenômenos relacionados com a deterioração somente acentua-se após seu término (Otani, 2009; Duarte, 2011).

2.6.2. Métodos utilizados para avaliação na qualidade do músculo

2.6.2.1. pH

Devido ao processo de deterioração, o pH do peixe sempre altera, o que justifica sua importância para determinar a qualidade do pescado. O pH final do pescado após a sua morte está relacionado com a quantidade de glicogênio disponível nesse momento e sua diminuição (6,0 a 6,5) é consequência da conversão do glicogênio em ácido lático (Contreras-Guzmán, 1994; Huss, 1998).

Segundo (RIISPOA, Brasil, 2001), o pH da carne de peixes frescos deve ser para a carne externa, inferior a 6,8 e para a carne interna, inferior a 6,5. Este parâmetro fornece informações sobre o estado de conservação do pescado, uma vez que o processo de deterioração altera, os níveis de pH, devido a decomposição de aminoácidos, porém é necessário o uso desta análise em conjunto com outras (Gomes, 2006). Vários autores utilizam esta análise para estudar a qualidade do pescado. Almeida *et al.*, (2006) utilizou esta análise para o estudo da qualidade do tambaqui cultivado, Erickson *et al.*, 2011, analisou o pH do salmão do atlântico verificando a influência do estresse antes do abate, Almeida *et al.*, (2004) e Vargas, (2011) também utilizaram o pH como estudo da qualidade em matrinxã.

2.6.2.2. N- BVT

A determinação de bases nitrogenadas voláteis (N-BVT) é um dos testes mais utilizados para determinar o grau de frescor dos peixes, (Gomes, 2006). As bases voláteis são formadas pelo amoníaco (amônia), trimetilamina e metilamina, o composto mais acentuado é

a amônia, produzida pelas enzimas endógenas e de origem bacteriana (Sikorski *et al.*, 1990; Santos, 2008). A degradação por esses compostos é responsável pela perda do frescor e aparecimento dos primeiros sinais de putrefação do pescado.

O aumento dos teores de N-BVT, causa mudanças químicas durante a deterioração do pescado. Segundo Ogawa & Ogawa (1999) para um peixe está em um excelente estado de frescor, o teor de N-BVT deve ter de 5 a 10 mg N/100g sendo o limite de aceitação no Brasil de 30 mg N/100g , porém esse valor ainda é muito discutido pelos pesquisadores, pois os valores de N-BVT são diferentes para cada espécie, por isso a necessidade de estudos em diferentes espécies (Teodoro, 2007). Vários autores utilizaram esta análise, para determinar a qualidade de diferentes espécies nativas. Almeida *et al.*, (2006) utilizou esta análise para estudar o tempo de vida útil do tambaqui procedentes de piscicultura. Batista, et al., (2004) e Vargas (2011), utilizaram esta análise para o acompanhamento da qualidade do matrinxã, Oliveira (2007), trabalhando com o pirarucu, também utilizou o N-BVT no estudo de vida útil dessa espécie.

2.6.2.3. Análise sensorial

As análises sensoriais também apresentam grande importância na avaliação da qualidade da carne, podendo ser definida como um método utilizado para analisar, medir e interpretar reações características da alteração dos alimentos através dos sentidos (visão, cheiro, sabor e tato), avaliando sua cor, sabor, odor, textura e aparência. É a avaliação mais comum para qualidade do pescado, por ser rápida ao se avaliar um produto, e pela facilidade de execução e preço acessível, sendo um método determinante na aceitação do produto. Essa análise é realizada por pessoas treinadas, para medir as características sensoriais do frescor (Gomes, 2006; Soares & Gonçalves, 2012).

O Método do Índice de Qualidade (MIQ) tem sido bastante utilizado, pois avalia os parâmetros sensoriais mais significativos para cada espécie durante o processo de deterioração, pois se sabe que o curso de deterioração é diferente quando se comparam espécies, indivíduos da mesma espécie a até partes de um mesmo indivíduo (Ogawa & Ogawa, 1999; Ezra & Ozden, 2006; Nunes *et al.*, 2007; Bogdanovic *et al.*, 2012).

O MIQ foi desenvolvido originariamente pela Tasmanian Food Research Unit, baseado em parâmetros sensoriais significativos do pescado, que são avaliados por um conjunto de descritores num sistema de escores que varia de zero a três pontos de demérito. O

MIQ é específico para cada espécie, além de ser um método importante para definir o fim da vida de prateleira ou o tempo de rejeição, porém, deve ser estimado por comparação com outros métodos de avaliação (Bremner, 1985; Nunes *et al.*, 2007; Nielsen & Green, 2007; Germano, 2008).

No Brasil, vários trabalhos citam a utilização deste método sensorial. Rodrigues (2008) avaliou a qualidade de tilápias inteiras evisceradas e estocadas em gelo por um conjunto de análises, dentre elas a análise sensorial pelo MIQ. Da mesma forma, Albuquerque *et al.*, (2004), estudando tilápias abatidas em dióxido de carbono e em água e gelo, avaliaram o estado de frescor no peixe inteiro pelo MIQ, Otani (2009), avaliando a influência da vitamina E em diferentes tipos de abate na qualidade de filés de tilápia, utilizou o MIQ como análise sensorial. Barbosa, (2011) estudou o MIQ, estudando três entrepostos da cidade de Manaus. Soares & Gonçalves, (2012) utilizou o MIQ para o estudo do tempo de vida útil de filés de tilápias do Nilo, Oliveira (2007), estudando a qualidade do pirarucu cultivado, utilizou o MIQ para determinar a qualidade desta espécie, Cartonilho *et al.*, (2011), avaliando diferentes cortes do tambaqui utilizaram o MIQ, como índice de qualidade.

2.6.2.4. *Textura instrumental*

A textura do pescado pode ser avaliada através de um aparelho chamado texturômetro, onde a amostra é submetida a uma sonda que medirá o perfil da textura, esse aparelho é utilizado para medir a força necessária para penetração do músculo. Ocorre inúmeras mudanças de textura na carne do pescado durante o período de estocagem. Essas mudanças ocorrem devido ao músculo do peixe apresentar estruturas musculares bastante complexas, onde as reações autolíticas provocam destruição do tecido conjuntivo, provocando alterações na textura, sendo assim essa análise importante para ser utilizada junto a métodos sensoriais, podendo fornecer uma melhor resposta sobre a qualidade da carne do pescado (Hyldig & Nielson, 2001; Santos, 2008).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

- Avaliar as respostas metabólicas do tambaqui submetido ao estresse de práticas pré-abate e verificar suas implicações na qualidade do pescado por diferentes técnicas.

3.2. Específicos

- Determinar as respostas metabólicas do tambaqui submetido ao estresse em quatro tempos amostrais: despesca, transporte e recuperação (24 e 48 h), por meio de análises sanguíneas.
- Verificar a influência do estresse sobre o *rigor mortis*;
- Determinar os índices de qualidade do tambaqui abatido nos diferentes tempos amostrais: despesca, transporte e recuperação (24 e 48 h)
- Verificar a influência dos métodos de abate (hipotermia e asfixia com CO₂) sobre a qualidade do músculo do tambaqui.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção e aclimação dos peixes

Cento e cinquenta juvenis de tambaqui, com peso médio de 100 g, foram adquiridos de piscicultura local, e transportados em sacos plásticos com água e oxigênio até propriedade rural, localizada no ramal do Canarinho, Rodovia AM 10, km 34, Zona Rural de Manaus, AM, onde foram mantidos num viveiro escavado de aproximadamente 350 m².

Durante oito meses, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente com ração comercial, onde receberam ração com 40%, 32% e 28% de proteína bruta (PB) no primeiro, do segundo ao quarto, e a partir do quinto mês, respectivamente. Houve acompanhamento da taxa de crescimento dos peixes através de biometrias mensais, e acompanhamento dos parâmetros da qualidade da água do viveiro.

4.2. Desenho experimental

O experimento foi realizado em quatro tempos amostrais (após a despesca, após 4 h de transporte, 24h e 48 h de recuperação após o transporte) utilizando dois tipos de abate (hipotermia e asfixia com CO₂ na água). Durante todo o experimento foram utilizados um total de 140 peixes pesando em média 1,100 kg \pm 1,64.

4.2.1. Despesca

A despesca total aconteceu após oito meses de cultivo quando os peixes alcançaram o peso entre 1 a 1,5 kg. Esta prática aconteceu nas primeiras horas do dia, utilizando uma rede de arrasto, sem suspensão da água. Antes dessa prática de manejo, os peixes passaram por um período de jejum de 48 h, com a finalidade de esvaziar o trato digestório, evitando o excesso de fezes nas caixas de transporte e, conseqüentemente, o aumento na concentração de amônia na água. Este processo diminui o estresse dos peixes durante o período de transporte, utilizando assim as boas práticas de manejo. Após a despesca foram retirados oito exemplares para coleta de sangue (basal), logo em seguida esses peixes foram pesados e sacrificados para retirada do músculo e do fígado. Mais vinte e seis exemplares foram coletados para a realização do abate na própria propriedade. Enquanto isso, os outros peixes capturados foram colocados em tanques de transporte, dando continuidade ao experimento.

4.2.2 Abate

O abate foi realizado em todos os tempos amostrais por dois métodos:

- *Choque térmico (I)* – Treze peixes foram capturados em cada tempo amostral e imediatamente colocados em caixas de isopor com (água + gelo) na proporção água: gelo de 1:1 (temperatura em torno de 1°C), e, quando estavam, aparentemente, ausentes de consciência, foram considerados mortos.
- *Asfixia com CO₂ na água (II)* – Treze peixes foram colocados em caixas de isopor com água contendo uma elevada concentração de CO₂ causando asfixia por esse gás.

Em cada tempo amostral foram abatidos vinte e seis exemplares de peixes, sendo que treze foram abatidos por hipotermia e treze por asfixia com CO₂. Foi observado o tempo do abate e o comportamento dos peixes durante esta prática.

Após a confirmação da morte dos peixes, imediatamente, eles foram colocadas em caixas de isopor com gelo, sendo retirados a cada 15 minutos cinco exemplares de cada método de abate para avaliação do *rigor mortis*, enquanto os outros foram identificados quanto ao tipo de abate, estocados em caixas de isopor (180 L), colocados entre camadas de gelo na proporção 1:1 (gelo: peixe) em seguida encaminhados para unidade da planta piloto de processamento de pescado da Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTI, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

4.2.3. Transporte

Após a despesca, 106 peixes foram colocados em duas caixas para transporte de peixes vivos com capacidade de 1000 L cada uma, equipadas com sistema de aeração com cilindros de O₂ em difusores (mangueira furada a laser ou pedras porosas), manômetro e regulador de fluxo. Foi adicionado à água de transporte sal agrícola na concentração de 6 g/L, conforme Gomes *et al.*, (2003). O transporte foi realizado num caminhão aberto, onde foi feita uma simulação desta prática, durante quatro horas, numa rodovia, retornando para as instalações do laboratório de Aquicultura da Coordenação de Tecnologia e Inovação – COTI, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Imediatamente após o transporte e chegada dos animais nas instalações do INPA, foram separados oito exemplares para a coleta do sangue e vinte e seis foram levados para o abate seguindo os mesmos procedimentos utilizados na despesca. Os 72 peixes restantes foram retirados da caixa de transporte cuidadosamente e foram levados vivos para dois tanques de 5000 L cada, com abastecimento contínuo de água e aeração constante, por onde passaram por um período de recuperação do estresse de 24 h e 48 h após transporte

simulando tanques de recepção da indústria processadora, dando continuidade ao experimento.

4.2.4. Recuperação

Após 24 horas e 48 horas do transporte, mais oito exemplares dos dois tempos amostrais (24 e 48h) foram retirados dos tanques para coleta sanguínea. Logo em seguida foi realizado o abate utilizando 26 peixes em cada tempo amostral. Durante esse dois dias os peixes não foram alimentados, e foram verificados os parâmetros principais da qualidade da água, como oxigênio, temperatura e pH.

4.3. Coleta e análises de sangue

Em todos os tempos amostrais, o sangue dos peixes foi coletado por meio da punção caudal, utilizando-se seringas heparinizadas e destinado à determinação dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e imunológicos. Estas seringas foram rinsadas em EDTA (anticoagulante) diluído a 3%, numa quantidade mínima de 1 mL, e transferido para tubos de “ependorf”, mantendo-os sempre em gelo fundente.

O sangue foi centrifugado a 12000 g por 3 minutos para obtenção do plasma. Após isso, os peixes foram dissecados para retirada de amostras de fígado e músculo branco, que foram, juntamente com o plasma, congeladas em refrigeradores para realização das análises.

4.4. Parâmetros Hematológicos

4.4.1. Hematócrito (Ht)

A porcentagem de células vermelhas foi determinada pela técnica de centrifugação do micro-hematócrito (COLLIER, 1944). As amostras de sangue foram colocadas em tubos de microhematócrito, que tiveram uma das extremidades vedada com massa e, em seguida, centrifugados a 12000 RPM por 3 minutos. A leitura da porcentagem de sedimentação dos eritrócitos foi feita numa escala padronizada e os resultados expressos em porcentagem (%) de células sedimentadas.

4.4.2. Concentração de hemoglobina ([Hb])

A concentração de hemoglobina ([Hb]) foi determinada segundo o método da cianometahemoglobina, descrito por Kampen & Zijlstra (1964). Para tanto, 10µL de sangue em 2 mL de solução de Drabkin (KCN 0,5 g; KH₂PO₄ 1,4 g; K₃[Fe(CN)₆] 2,0 g; 1L de água destilada). Após agitação, os tubos permanecem em repouso por 15 minutos para a efetivação da hemólise. A densidade óptica foi determinada em 540nm contra um branco contendo

somente solução Drabkin (Drabkin, 1948) em espectrofotometria. Os valores da concentração de hemoglobina foram expressos em g/dL, calculados por meio da seguinte equação:

$$[\text{Hb}] \text{ (g/dL)} = \text{absorbância (540nm)} \times 0,146 \times \text{diluição da amostra}$$

4.4.3. Contagem do número de eritrócitos (RBC)

Para a contagem de eritrócitos foram diluídos 10 µL de sangue em 2 mL de solução de formol-citrato (3,8 g de citrato de sódio; 2 mL de formol 40% e a água destilada 100 mL) na proporção de 1:200 (v/v). Após a homogeneização, utilizando 10 µL das amostras, a contagem de células vermelhas circulantes (RBC) foi feita em uma câmara de Neubauer sob a objetiva microscópica de 40 vezes. O número total de eritrócitos está expresso em milhões de células por milímetro cúbico ($\times 10^6/\text{mm}^3$) de sangue (Lima *et al.*, 1969).

4.4.4. Determinação das constantes corpusculares

As constantes corpusculares, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular media (CHCM) foram determinadas a partir dos valores correspondentes ao número de eritrócitos circulantes, ao hematócrito e a concentração de hemoglobina, de acordo com as seguintes formulas estabelecidas por Brow (1976):

$$\text{VCM } (\mu\text{m}^3) = \text{Htx}10/\text{RBC}$$

$$\text{HCM (pg)} = [\text{Hb}]\times 10/\text{RBC}$$

$$\text{CHCM (\%)} = [\text{Hb}]/\text{Htx}100$$

4.5. Parâmetros bioquímicos

No plasma, foram determinados, colorimetricamente as seguintes análises: glicose (Trinder, 1969), lactato (Harrower e Brown, 1972), proteína total (Kruger, 1994), amônia (Gentzkow e Mazon, 1942), cloreto (APHA, 1980) e cortisol (kit analítico - DSL/Gênese). As determinações de sódio (Na^+) e potássio (K^+) foram feitas por fotometria de chama.

4.5.1. Glicose

As concentrações de glicose plasmática foram determinadas pelo método glicose-oxidase (Trinder, 1969), utilizando o kit comercial GLUCOSE LIQUICOLOR® (que é um sistema enzimático para determinação de glicose no soro ou plasma), com leitura de absorbância a 500 nm. Os cálculos da concentração de glicose em mg/dL foram feitos pela seguinte fórmula:

$$G = 100 \times \frac{A_{\text{amostras}}}{A_{\text{STD}}} \text{ (mg/dL)}$$

4.5.2. Amônia

A amônia foi determinada pelo método de Nessler. Amostras de plasma (100µl) foram desproteinizadas em 1ml de TCA a 20% (20 g de ácido Tricloro Acético solubilizado em 100mL de água destilada) e centrifugadas a 12,000 RPM por 3 minutos. Alíquotas de sobrenadante foram submetidas aos ensaios colorimétricos pela adição do reativo Nessler (Imbralab), com incubação a temperatura ambiente por 20 minutos. Segue-se então a leitura de absorbância a 420 nm, comparada com curva padrão de concentrações conhecidas de NH₄Cl (Gentzkow & Masen, 1942). O cálculo obtido por: Absorvância da amostra X 1,8 / 2.

4.5.3. Lactato

As concentrações de lactato plasmática foram determinadas pelo método enzimático trinder utilizando o kit comercial LACTATO LIQUIFORM® (que é um sistema enzimático para determinação quantitativa de lactato no soro ou plasma), com leitura de absorbância a 500 nm. Os cálculos da concentração de lactato em mg/dL foram feitos pela seguinte fórmula:

$$\text{Lactato (mg/dL)} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 40$$

4.5.4. Cloreto

O cloreto foi identificado pela determinação colorimétrica em amostras do plasma utilizando o kit comercial CLORETO LABTEST® com leitura de absorbância a 500 nm. Os cálculos da concentração de cloreto foram determinados:

$$\text{Cloreto (mEq/L)} = \frac{\text{Absorbância do Teste}}{\text{Absorbância do Padrão}} \times 100$$

4.5.5. Cortisol

As concentrações de cortisol plasmático foram determinadas pelo método enzimático Elisa por competição utilizando o kit comercial CORTISOL ELISA® (que é um sistema enzimático para determinação quantitativa do cortisol no soro ou plasma), com leitura de absorbância a 500 nm.

4.5.6. Concentração de Na⁺ e K⁺

A determinação das concentrações de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺) plasmáticos foram determinados em fotômetro de chama (Digimed, modelo DM-61), calibrada com solução padrão (DMS-13 A), contendo 140 mEq de Na⁺ e 5 mEq de K⁺. Amostras de plasma (10 µL) foram diluídas em água deionizada (1:200). O cálculo foi realizado por regressão linear.

4.6. Estudo da qualidade e determinação do tempo de vida útil dos peixes

Após o abate, imediatamente os peixes foram levados à Planta-piloto de Processamento de Pescado, onde foram separados em oito caixas de isopor, sendo quatro caixas (150 L) utilizadas para o acompanhamento do índice de *rigor mortis*, e em cada caixa haviam 10 exemplares (5 peixes abatidos por asfixia com CO₂ e 5 peixes abatidos por hipotermia). As outras quatro caixas (180 L) foram usadas para o estudo do tempo de vida útil dos peixes, sendo que cada caixa representava um tempo amostral (despesca, após 4 h de transporte, após 24 h e 48 h de recuperação) haviam 16 peixes (8 abatidos por asfixia com CO₂ e 8 abatidos por hipotermia).

4.6.1. Determinação física de peso e comprimento padrão

Os peixes de todos os tempos amostrais foram pesados com auxílio de uma balança tipo dinamômetro com capacidade para 50 kg e o comprimento padrão foi medido com auxílio de trena (cm).

4.6.2. Determinação do Índice de *Rigor Mortis*

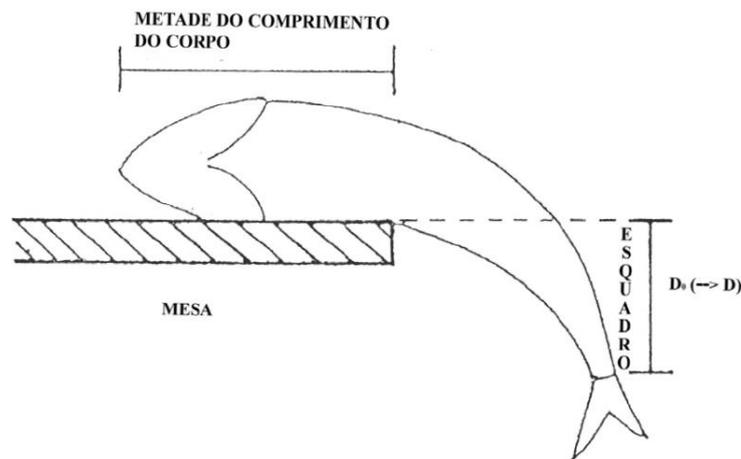
Logo após a confirmação da morte dos peixes, cinco exemplares de cada método de abate foram identificados com barbantes contendo etiquetas de 1 a 10 (1 a 5 hipotermia e 6 a 10 asfixia com CO₂). O índice de *rigor* foi determinado imediatamente após o abate, e a cada 15 minutos até atingir o rigor máximo (100%), com o propósito de identificar o tempo do início de entrada em *rigor*, do *rigor* total e diariamente até a resolução do *rigor*, sendo realizada em todos os tempos amostrais. As medidas de inclinação do corpo do peixe, para determinar o índice *de rigor* foram feitas colocando os peixes uma mesa com superfície plana, apoiado até altura da nadadeira pélvica, ficando a parte caudal do corpo livre. O comprimento de inclinação, que se formou com a superfície, foi medido com o auxílio de uma régua e um esquadro, segundo a metodologia descrita por Bito *et al.* (1983) como ilustrado na figura 02. O cálculo utilizado para determinar o índice de rigor foi:

$$IR = \frac{(Do - D)}{Do} \times 100$$

Onde:

Do = valor da distância que separa a base da nadadeira caudal ao ponto de referência, imediatamente após a morte; D = valor da distância que separa a base da nadadeira caudal ao ponto de referência nos intervalos de tempos selecionados.

Figura 2. Determinação do índice de *rigor mortis* do peixe, segundo Bito *et al.*, (1983). “Do” representa a distância da base da nadadeira caudal em relação à posição horizontal do pré-rigor do peixe na mesa. Com o aumento do rigor a distância “D” diminui e alcança zero em rigor pleno.



Fonte: Iwamoto et al., (1987).

4.6.3. Determinação do pH muscular

O método utilizado conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005). Foi realizado com um exemplar de cada método de abate para cada tempo amostral (despesca, 4 h de transporte, 24 h e 48 h de recuperação). Essa determinação foi realizada no primeiro dia do experimento e a cada sete dias durante 49 dias, utilizando um aparelho potenciômetro digital para determinação precisa. Para realização dessa análise utilizou 10 g do músculo do tambaqui, sem pele, triturado e homogeneizado com 100 mL de água destilada, sobre amostras em triplicata.

4.6.4. Determinação do Nitrogênio das Bases Voláteis Totais (N-BVT)

A determinação dos teores de N-BVT foi realizada segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2005), onde três alíquotas de 10 ml da amostra previamente triturada de cada método de abate para cada tempo amostral (despesca, 4 h de transporte, 24 h e 48 h de recuperação) foram transferidas para balões de destilação micro-Kjeldahl, ligado a um conjunto de destilação, em ebulição durante oito minutos. O destilado foi recebido em solução

de ácido bórico, usando como indicador vermelho de metila e verde de bromocresol. As bases foram tituladas com solução de ácido clorídrico 0,02M sobre amostras em triplicata.

4.6.5. Avaliação Sensorial Física

Um exemplar de cada método de abate em cada tempo amostral foi avaliado no primeiro dia de experimento e a cada sete dias, por dois avaliadores treinados, para determinação das alterações sensoriais físicas como a aparência geral (pele, escamas, textura, dureza elasticidade, odor), olhos (transparência e forma) e guelras (cor e odor). Esta avaliação foi realizada pelo Método de Índice de Qualidade (MIQ), utilizando a tabela de avaliação sensorial adaptada por Larsen et al. (1992) e Herrero e Carache (2005) (Anexo 01). Foram atribuídos pontos para cada característica sensorial analisada, que somados permitiu classificar a qualidade dos exemplares estudados.

4.6.6 Determinação da Textura Instrumental

Amostras em triplicata do músculo do tambaqui de cada método de abate para cada tempo amostral foram avaliados no primeiro dia de experimento e a cada sete dias. A medição foi realizada em aparelho analisador de textura TA.XT2 (Stable Micro system, Surrey, UK). A textura foi determinada conforme Sigurgisladottir *et al.* (1999), com modificações. Na preparação da amostra, os filés foram cortados na forma de porção quadrada medindo 2 cm de espessura x 3cm de largura x 3 cm de comprimento, e em seguida foram levados ao aparelho.

Teste de Penetração: A determinação da textura foi realizada para conhecer a dureza do filé ao exercer a força medida em N/g.

4.7. Análise estatística

O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado. Para as análises do sangue, as variáveis analisadas foram expressas por meio da média e desvio padrão, foram submetidas à análise de variância simples ($p < 0,05$). Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Quando não houve homogeneidade entre os exemplares foi usado o teste de Kruskal Walls. Para o estudo do tempo de vida útil foi utilizado fatorial simples ($2 \times 4 \times 8$) com 3 repetições, quando houve diferença significativa entre os tempos amostrais e os métodos de abate, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os exemplares de tambaqui utilizados no experimento apresentaram comprimento padrão médio de $40,23 \pm 0,40$ cm e peso médio de $1,100 \pm 1,64$ kg.

5.1. Análises sanguíneas

Durante o experimento não foi observada mortalidade dos peixes no período da despesca até 48h após transporte.

Vários autores afirmam que alterações nos parâmetros hematológicos são indicadores de estresse (Tavares-Dias & Moraes, 2009; Silveira *et al.*, 2009; Fagundes, 2010). Neste experimento os valores hematológicos apresentaram alterações típicas ao estresse sendo essas mudanças significativas ($p < 0,05$) entre os distintos tempos amostrais simulados, com exceção do RBC.

O hematócrito (Ht) e hemoglobina (Hb) apresentaram valores significativamente diferentes ($p < 0,05$) após transporte de 4h comparado com os demais tempos amostrais (Tabela 1). Esse aumento logo após o transporte é explicado pela tentativa do organismo buscar maior aporte de oxigênio para maximizar o uso do substrato energético como resposta do animal a um agente estressor (Urbinati & Carneiro, 2004; Tavares-Dias & Moraes, 2004).

Fagundes & Urbinati (2008), trabalhando com pintados submetidos a transporte de 12h, mostraram um aumento do hematócrito e parâmetros associados como a hemoglobina. O mesmo ocorreu com o tambaqui neste trabalho, pois logo após o transporte de 4h houve um aumento nas concentrações de hematócrito (36,35%) e hemoglobina (10,60g/dL) comparada aos valores da despesca (32,81%; 9,21g/dL) respectivamente. O aumento desses parâmetros parece indicar que ocorreu uma hemoconcentração, estando relacionado a uma maior capacidade de transporte de oxigênio das brânquias até os tecidos com a tentativa de suprir o aumento da demanda energética (Maciel, 2009; Fagundes, 2009; Harikrishnan *et al.*, 2011). Carneiro & Urbinati (2001) também encontraram resultados similares no transporte do matrinxã, onde a hemoglobina e o hematócrito elevaram-se com o transporte de 4h.

Os valores de RBC não foram diferentes significativamente ($p < 0,05$), porém apresentaram aumento logo após o transporte de 4h ($3,16 \times 10^6/\mu\text{L}$) em relação à despesca ($2,73 \times 10^6/\mu\text{L}$) permanecendo altos após 24 e 48h de recuperação do transporte ($3,22 \times 10^6/\mu\text{L}$;

3,50 x10⁶/μL). Os valores de VCM, HCM E CHCM também não foram significativos (p<0,05). Porém houve um aumento do VCM logo após transporte de 4h, podendo ser resultado da mobilização de catecolaminas liberadas na corrente sanguínea indicando distúrbios osmorregulatórios, levando à hemoconcentração como foi observado também para hemoglobina e hematócrito (Mc Donald; Milligan, 1997; Urbinati *et al.*, 2004; Gonçalves *et al.*, 2010).

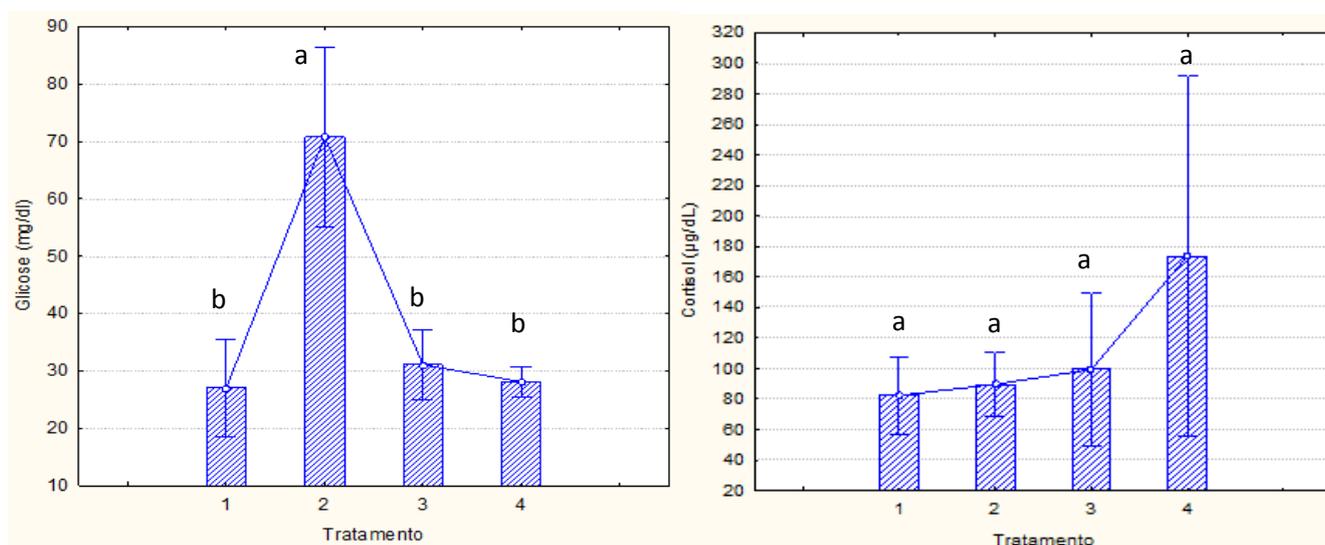
Tabela 01. Análises sanguíneas: Hematócrito (Ht), Hemoglobina (Hb), número de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), de tambaqui em diferentes tempos (Despesca; transporte de 4h; recuperação de 24h e recuperação de 48h após transporte). * Letras diferentes indicam diferenças significativas (p<0,05) entre os tempos amostrais estudados.

Parâmetros sanguíneos	Tratamentos (Tempos amostrais)			
	Despesca	Trans 4h	Rec 24h	Rec 48h
Ht (%)	32,81±3,34 ^{ab}	36,35±6,28 ^a	30,25±2,23 ^b	33,62±2,9 ^{ab}
Hb (g/dL)	9,21±0,97 ^c	10,60 ± 1,32 ^{ab}	10,07 ±0,80 ^{bc}	11,46 ± 0,86 ^a
RBC (x10 ⁶ /μL)	2,73 ± 0,43 ^a	3,16 ±0,86 ^a	3,22±0,34 ^a	3,50±0, 81 ^a
VCM (fL)	108,20± 4,69 ^a	110,40± 20,41 ^a	84,28±3,81 ^a	91,36±25,04 ^a
HCM (pg)	34,05±4,00 ^a	36,78±5,73 ^a	31,05±1,31 ^a	34,77±10,68 ^a
CHCM (g/dL)	338,36±37,73 ^a	367,93±57,47 ^a	310,56±13,18 ^a	347,86±106,84 ^a

A glicose plasmática desempenha importante papel no metabolismo dos peixes, sendo um dos indicadores mais utilizados, juntamente com o cortisol, para diagnosticar a ocorrência de estresse fisiológico (Trenzado *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 2005). No presente estudo a glicose mostrou-se um ótimo indicador na avaliação do estresse, apresentando diferença significativa (p>0,05) entre os tempos amostrais testados, com valores elevados logo após transporte de 4 h (70,79 mg/dL) e retornando aos valores iniciais após recuperação de 24 h

(31,08 mg/dL) e 48 h (28,11 mg/dL), indicando recuperação fisiológica do animal (Figura 03). Respostas similares também foram encontradas para outras espécies submetidas ao estresse do transporte como no pirarucu (Gomes *et al.*, 2003b), tambaqui (Gomes *et al.*, 2003a; 2003b; Abreu *et al.*, 2008); matrinxã (Urbinati *et al.*, 2004; Careiro *et al.*, 2009; Zanuzzo, 2010) e pintado (Fagundes, 2009), ocorrendo elevação da glicose sanguínea imediatamente após o transporte com retorno aos níveis basais 24 horas depois. O aumento da glicemia após transporte de 4 h confirma a condição de estresse desencadeada por essa prática e a necessidade de energia para suportar a situação adversa. Segundo Porto (2005), tambaquis não estressados possuem valores de glicose em torno de $28,67 \pm 10,23$ mg/dL, com uma amplitude de variação de 13–45 mg/dL. Os dados de glicose comprovam que houve estresse fisiológico neste trabalho pela concentração encontrada logo após transporte de 4h (70,79 mg/dL).

Figura 03: Valores de glicose plasmática e cortisol sérico de tambaqui em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte.



Letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais estudados.

Os valores de cortisol sanguíneo têm sido bastante utilizados para identificar a intensidade do estresse em peixes (Wendeelar Bonga, 1997; Lima *et al.*, 2006), porém neste experimento, o cortisol elevou-se intensamente após os animais passarem por uma recuperação de 48 h (173,78 ng/mL) do transporte (Figura 03). Mesmo não havendo diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos estudados, o cortisol não foi um bom indicador nas

condições deste trabalho. Segundo alguns autores, o perfil da resposta do cortisol é bastante variado até mesmo para uma mesma espécie, do mesmo modo que o tempo de retorno a valores considerados controle também são variados e diferem de espécie para espécie (Urbinati & Carneiro, 2004; Fagundes & Urbinati, 2008). Assim, em uma dada população, tanto pode haver peixes que respondem com um nível consideravelmente alto de cortisol, como peixes que respondem mais discretamente, ambos apresentando desempenho similar (Pottinger *et al.*, 1992; Weil *et al.*, 2001). Esse aumento do cortisol pode ser explicado, pelo manuseio que os peixes receberam no tratamento 4 (Recuperação de 48 h), para a coleta do sangue, os peixes eram recolhidos com puçás em tanques de 5 mil litros, e levados sem serem anestesiados para a coleta, isso fez com que os animais passassem por um estressor de luta e fuga até serem capturados, ocasionando um aumento exagerado do cortisol nesse tempo amostral. Isso pode ter ocorrido devido ao cortisol ser considerado uma resposta primária do estresse, em poucos minutos após o estressor se manifestar esse hormônio junto com as catecolaminas se elevam na corrente sanguínea (Lima *et al.*, 2006).

Tambaquis submetidos ao estressor agudo, de luta e fuga dentro e fora da água por 40 segundos, apresentaram aumento dos níveis de cortisol plasmático após estresse (333,8 ng/mL) com relação aos valores pré-estresse (182,1 ng/ml) (Tavares-Dias *et al.*, 2001). Isso comprova que a forma e o tempo de captura foram estressores para esse tempo amostral, causando respostas primárias ao estresse no peixe. O tempo e a quantidade de cortisol que é liberado na corrente sanguínea é muito relevante e pode ser diferente para cada tipo de espécie estudada.

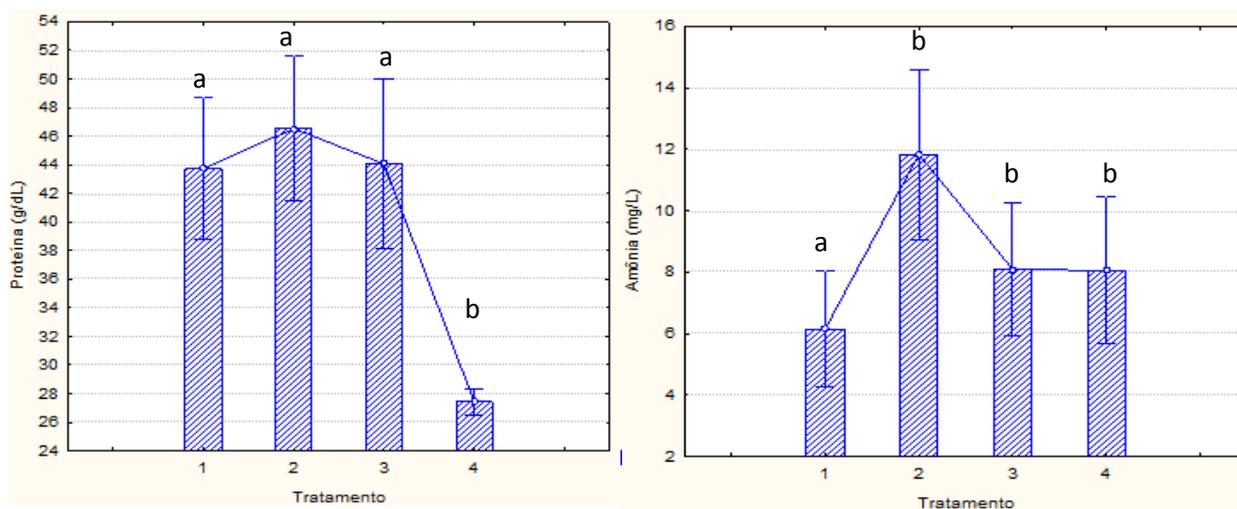
No presente trabalho, o cortisol não apresentou altas concentrações após transporte de 4h (89,69 ng/mL), essas concentrações foram bem semelhantes com a da despesca que ocorreu antes do transporte (82,53 ng/mL). Em juvenis de matrinxã, o aumento de cortisol verificado após quatro horas de transporte mostrou concentrações semelhantes às encontradas neste trabalho (96,46 ng/mL) (Urbinati *et al.*, 2004). Sendo assim, podemos afirmar que esses valores encontrados na despesca e após transporte de 4 h podem representar concentrações que submetem estresse aos peixes.

Barcellos *et al.* (1999) observaram doses mais baixas de cortisol em um grupo de tilápia submetido a estresse crônico por perseguição diária, do que no grupo submetido ao estresse agudo por anoxia por um minuto. Esse nível discreto de cortisol plasmático em

estresse crônico, é freqüentemente difícil de ser diferenciado dos níveis de repouso (Weendelar Bonga, 1997; Lima *et al.*, 2006; Melo, 2008). Isso pode estar relacionado com o que aconteceu neste experimento, em que o estressor do manuseio quando os animais passaram por luta e fuga no tempo amostral de 48h foi mais relevante que o estressor do transporte de 4h.

No presente trabalho, a análise de proteína também apresentou valores elevados logo após a despesca e o transporte de 4h até 24 horas de recuperação, mostrando ser significativo ($p < 0,05$) em relação ao tempo de 48h de recuperação quando apresentou valores bem menores que os demais tempos (Figura 04). Este nível elevado da proteína no plasma pode estar associado à possível mudança de fluido. A saída dos fluidos do plasma causa um desequilíbrio osmótico entre os compartimentos extracelular e intracelular, e qualquer estresse que induz esse desequilíbrio pode levar a um aumento de proteína no plasma (Mommensen *et al.*, 1999, Melo, 2008; Fagundes, 2009).

Figura 04: Valores de proteína e amônia plasmática do tambaqui em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte.



Letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais estudados.

Outra explicação para a elevação da proteína no plasma pode estar relacionada com a duração e intensidade do estresse, pois os estoques de glicose e lipídeos podem ser rapidamente exauridos, estimulando a mobilização das proteínas para obtenção de energia

requerida na manutenção da homeostase (Wendelaar Bonga, 1997; Urbinati & Carneiro, 2004).

Em truta arco-íris foi observado um aumento da proteína plasmática em resposta a exercício intenso e exposição ao ambiente (Hrubec *et al.*, 2000). Fagundes, (2009) trabalhando com o pintado também observou um aumento após práticas estressantes, que se manteve alta até 72 horas. Neste trabalho, para o tambaqui foi observado que a proteína diminuiu após 48h de recuperação do transporte.

Os valores de amônia plasmática foram semelhantes aos resultados encontrados na glicose, esta análise também mostrou-se significativa ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais estudados (Figura 04). Os níveis de amônia no plasma aumentaram logo após transporte de 4h (11,83 mg/L), apresentando diminuição após recuperação de 24 e 48 horas do transporte (8,09 mg/L; 8,05 mg/L) sendo que na despesca apresentou menores valores (6,15 mg/L).

Esse aumento da concentração de amônia plasmática após o estresse do transporte pode estar relacionado com o aumento do catabolismo protéico ou desbalanceamento da excreção nitrogenada, que se eleva devido ao aumento das concentrações de cortisol plasmático na corrente sanguínea, já que sua elevação causa aumento da gliconeogênese e da atividade do catabolismo de proteínas que estimula as taxas de transaminações resultando em maior liberação da amônia no plasma (Mommsen *et al.*, 1999; Urbinati & Carneiro, 2004; Inoue *et al.*, 2011).

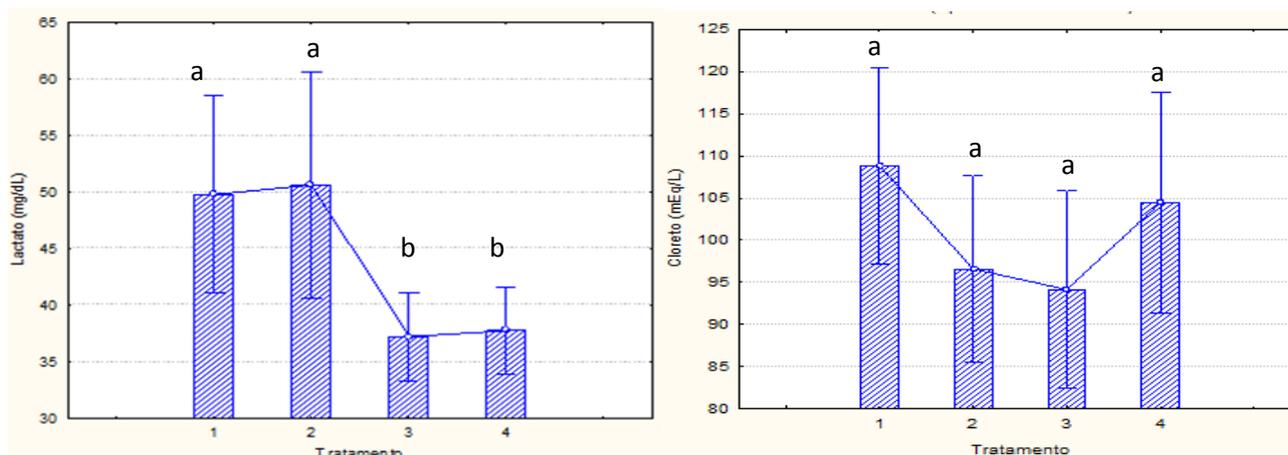
Inoue *et al.*, (2011) testando diferentes doses de eugenol como mitigador de estresse também observou um aumento das concentrações de amônia no tambaqui, após submetê-los a estímulos estressores. Segundo Silveira *et al.*, 2009, o lactato também pode ser um bom indicador de estresse. No presente trabalho, os valores de lactato se elevaram logo após a despesca e transporte de 4h (49,74 mg/dL; 50,58 mg/dL) comparados aos valores de recuperação de 24 e 48h após transporte que foram bem menores (37,21 mg/dL; 37,71 mg/dL) apresentando diferenças significativas ($p < 0,05$) (Figura 05).

Esse aumento da concentração de lactato logo após a despesca e transporte de 4h pode estar relacionada com a movimentação excessiva que os peixes foram expostos nessas condições, levando à elevação do metabolismo anaeróbico para atender à demanda energética

imposta por essas práticas, evidenciado a ocorrência de reações metabólicas anaeróbicas (Roth *et al.*, 2002; Iwama *et al.*, 2004; Inoue *et al.*, 2010).

Outro fator que pode levar a uma elevação do lactato é o aumento das catecolaminas pelos tecidos periféricos. Acerete *et al.* (2004), ao avaliarem transporte de *Perca fluviatilis* por quatro horas, também observou aumento nos valores de lactato em relação ao controle, Gatica *et al.*, (2010), estudando o estresse da densidade de estocagem e hipóxia sobre a qualidade da carne do salmão do Atlântico (*Salmo salar*), encontrou aumento nos valores de lactato em relação ao controle. Iversen *et al.*, (1998), também trabalhando com salmão do Atlântico (*Salmo salar*) encontrou valores de lactato elevados após o transporte onde permaneceram altos por até 48 horas.

Figura 05: Valores de lactato e cloreto de tambaqui em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte.



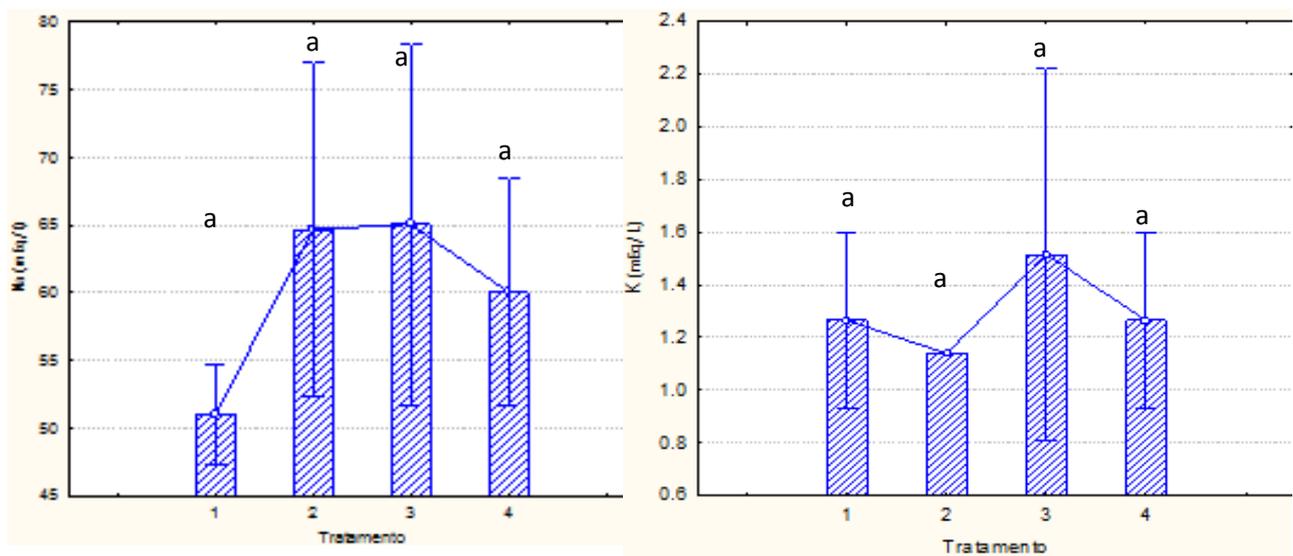
Letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais estudados.

Estudos com o linguado mostram um aumento nas concentrações de lactato após a exposição ao estressor, também permanecendo por 48 horas (Barnett & Pankhurst 1998). Esses resultados são semelhantes com os dados encontrados para o tambaqui neste trabalho, mostrando que o transporte e a despesca, alteram as concentrações de lactato na corrente sanguínea do peixe. Foi observado também neste trabalho que os valores de lactato voltaram aos seus valores basais logo após 24 horas do transporte, mostrando que essa espécie tem capacidade de voltar a sua homeostase mais rápida do que as espécies citadas acima.

Os níveis de cloreto não foram diferentes significativamente ($p < 0,05$) entre os tratamentos estudados (Figura 05). Neste trabalho, o cloreto apresentou uma diminuição de suas concentrações, logo após o transporte (96,58 mEq/L), comparados com a despesca (108,83 mEq/L) e recuperação de 48h após transporte (96,58 mEq/L). Essa elevação nas concentrações do cloreto logo após o transporte pode indicar distúrbios na regulação iônica (Mc Donald & Milligan, 1997; Takahashi, 2006), mesmo não sendo significativos com relação aos demais tratamentos (Figura 04). Resultados semelhantes a este trabalho também foram encontrados em matrinxãs, transportados por quatro horas (Urbinati & Carneiro, 2001; Urbinati *et al.*, 2004), onde essa espécie apresentou uma diminuição na concentração de cloreto após transporte, resultados que se mantiveram até 24 horas depois.

Os valores de sódio e potássio não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) nos tempos amostrais estudados, contudo podemos observar que houve um aumento do sódio após o transporte de 4h, permanecendo alto até 24 h de recuperação do transporte (Figura 06).

Figura 06: Valores de Sódio (Na) e Potássio (K) de tambaqui, em diferentes tempos amostrais T1- Despesca; T2- Transporte de 4h; T3- Recuperação de 24h e T4- Recuperação de 48h após transporte.



Letras diferentes representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tempos amostrais estudados.

O potássio apresentou uma diminuição logo após o transporte de 4h (1,14 mEq/L), voltando à valores normais após 24h de recuperação do transporte (1,51 mEq/L). Porém os

íons, não mostraram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos testados neste trabalho, para que se possa dizer que houve mudanças osmorregulatórias nos peixes nessas condições experimentais.

5.2. Estudo da qualidade e tempo de vida útil do tambaqui procedente de piscicultura

Alguns autores afirmam que existe uma estreita relação entre a manipulação pré-morte de peixes e o estresse antes e durante o abate sobre a qualidade do produto final (Gatica *et al.*, 2010; Merkin *et al.*, 2010; Erikson *et al.*, 2011; Digre *et al.*, 2011; Erikson *et al.*, 2012). O estresse pré-abate e durante o abate, influencia diretamente no *rigor mortis* e nos aspectos físicos e químicos da qualidade da carne, diminuindo o tempo de prateleira. No presente estudo, o estresse pré-abate apresentou resultados negativos sobre a qualidade da carne em tambaquis conservados em gelo.

Foi acompanhado o tempo decorrido para morte dos peixes, em cada método de abate (Tabela 02). Os métodos de abate diferenciaram no tempo decorrido sobre a constatação da morte dos animais, variando de 8 a 30 minutos.

Tabela 02: Tempo decorrido para a morte dos tambaquis sacrificados por dois métodos de abate, em diferentes tempos amostrais na região de Manaus (AM).

Abate	Tempo amostrais			
	Despesca	Transporte 4h	Rec 24h	Rec 48h
Asfixia/CO₂	20 minutos	20 minutos	30 minutos	25 minutos
Hipotermia	8 minutos	10 minutos	12 minutos	9 minutos

Os peixes foram considerados mortos, quando ficavam com o ventre para cima e sem movimentações na cauda e no opérculo. Os peixes abatidos por asfixia com CO₂ demoraram mais tempo para serem considerados mortos em todos os tempos amostrais. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por Vargas, (2011), trabalhando com o matrinxã, onde a autora observou que os peixes abatidos por hipotermia morreram com 8 minutos e os abatidos

por asfixia com CO₂ morreram somente após 30 minutos. Estes valores também estão próximos ao encontrado por Acerete, (2009) durante a insensibilização do sea bass com tempos de 16 minutos para hipotermia e 34 minutos para asfixia com CO₂.

Santos, (2013) estudando a tilápia do Nilo encontrou valores de 38 minutos para mistura de gases (CO₂/N) e 18 minutos para hipotermia. Foi observado neste trabalho, que os peixes abatidos por asfixia com CO₂, apresentavam movimentação constante durante o abate, boquejamento e mudança na coloração da pele e olhos. Os peixes abatidos por hipotermia apresentaram poucos movimentos quando submetidos ao banho de água e gelo, porém foi observada uma coloração avermelhada na água da caixa e na região próxima da cabeça dos peixes, isso pode ter ocorrido devido ao um possível sangramento branquial.

5.2.1. Avaliação do índice de *rigor mortis*

O *rigor mortis* é um índice importante para a qualidade da carne do pescado, este índice pode determinar o tempo de vida útil do pescado fresco. Quanto mais demorada à entrada do peixe em *rigor*, melhor será a qualidade de sua carne, pois, este fenômeno pode retardar a proliferação de bactérias que deterioram a carne do peixe (Amlacher, 1961; Almeida *et al.*, 2005). O início do *rigor* ocorre quando o conteúdo de ATP diminui drasticamente, é quando a actina e a miosina associam-se formando o complexo actomiosina promovendo a contração muscular, dando início ao processo de *rigor mortis* (Knowles *et al.*, 2008). O estresse pré-abate pode influenciar no tempo da entrada em *rigor*.

No presente estudo, a entrada do *rigor mortis* apresentou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre a interação tratamentos x tempo do início e saída de *rigor* (Figura 07). Os peixes transportados por 4h apresentaram *rigor* mais drástico, comparados com os peixes submetidos à recuperação de 24 e 48h. Após transporte de 4h, os peixes abatidos por hipotermia apresentaram *rigor* total após 60 minutos de sua morte, e os abatidos com CO₂ obtiveram 100% de rigor com 120 minutos (Figura 07). Os dois métodos de abate utilizado nesse trabalho apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) somente neste tempo amostral.

Os peixes abatidos imediatamente após a despesca também apresentaram rápido início de *rigor*, porém os métodos de abate não diferiram entre si, apresentando 100% de rigor após 135 minutos da morte dos animais (Anexo 02). Quando os animais foram submetidos a uma recuperação do estresse do transporte e despesca, apresentaram um retardo na entrada do

rigor. Os peixes recuperados por 24 e 48 h, apresentaram 100% de rigor com 225 e 255 minutos, respectivamente, para os dois métodos de abate utilizado (Anexo 02). Essa diferença da entrada em *rigor mortis*, nos tempos amostrais estudados pode ser explicada pelo estresse que os animais foram submetidos na despesca e transporte de 4h, como já foi comprovado fisiologicamente neste trabalho pelas análises hematológicas e bioquímicas do sangue.

Vários autores afirmam que o estresse adquirido por práticas de manejo antes do abate, pode acelerar a entrada do *rigor mortis* (Sigholt *et al.*, 1997; Thomas *et al.*, 1999; Kristoffersen *et al.*, 2006; Paboeuf & Laville, 2006; Pedrazani, 2007; Ribas *et al.*, 2007; Digre *et al.*, 2010; Erikson *et al.*, 2011). Os peixes que são submetidos ao estresse, gastam suas reservas energéticas, para lidar com o determinado estressor, não tendo reservas energéticas suficientes para serem usadas após sua morte. Quando os peixes são abatidos, cessa o oxigênio no sangue e o animal passa a usar as vias anaeróbicas estimulando o glicogênio a produzir ácido láctico, e quando essas reservas estão escassas, o animal não produz ácido láctico suficiente, entrando em *rigor* mais rapidamente. O estresse dessas práticas exauram as reservas de glicogênio do músculo e do fígado, acelerando ainda mais a entrada do *rigor mortis*.

Erickson *et al.*, (2011) estudando o efeito do estresse do bacalhau sobre a resolução do *rigor mortis*, encontrou diferença significativa entre os tratamentos estudados ($p > 0,05$). Os peixes que foram submetidos ao estresse entraram e saíram de *rigor* mais rapidamente do que os peixes que não sofreram estresse. Além disso, confirmaram que houve estresse nos peixes, com base em análises sanguíneas, onde o cortisol e a glicose se elevaram após os peixes serem submetidos ao estressor, como ocorrido neste trabalho.

Resultados semelhantes, também foram encontrados em salmão do Atlântico, que quando submetidos ao estresse mostraram aceleração na entrada do *rigor mortis* (Erickson *et al.*, 2008). Matos *et al.*, (2010), também encontraram *rigor* mais drástico em “sea bream” quando estes foram submetidos ao estresse da despesca, e apresentaram *rigor*, com 2h após a sua morte, comparados aos peixes não estressados que apresentaram *rigor* após 20h de sua morte. Esses trabalhos confirmam que o estresse acelera o tempo da entrada do *rigor* e também são semelhantes com o ocorrido para o tambaqui, no presente trabalho.

Resultados similares ao nosso estudo, foram encontrados por Gatica *et al.*, (2008), que estudando a influência do estresse em diferentes fases, antes do abate de salmão,

verificou-se um *rigor* mais tardio quando os peixes foram submetidos à um período de recuperação de 24 h, após transporte de 8h em barco. As demais fases, como, transporte de 8h e bombeamento dos peixes até a planta de processamento foram considerados altamente estressante, levando à um *rigor* mais drástico para essa espécie. Ashley, (2007) e Gatica *et al.*, (2008), também observaram que, em termos de estresse, um período de recuperação de 24 horas após práticas estressantes, muitas vezes pode ser benéfico ao animal, principalmente após o transporte. No presente trabalho foi confirmado que a recuperação de 24 e 48h após transporte de 4h retardaram o início do *rigor mortis* para o tambaqui, proporcionando melhor qualidade da sua carne.

Os dois métodos de abate utilizados neste trabalho não afetaram a resolução do *rigor mortis* dos peixes, tanto na despesca como na recuperação de 24 e 48h após transporte. Somente o grupo que foi submetido ao transporte de 4h, apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) na entrada do *rigor* entre os métodos de abate estudados. Os peixes abatidos por hipotermia entraram em *rigor* uma hora antes que os peixes abatidos por asfixia com CO₂. Isto foi semelhante ao encontrado por Acerete *et al.*, (2009), que observaram que o início do *rigor* em alguns indivíduos de robalo do grupo hipotermia, começaram antes do grupo de asfixia com CO₂. Vários autores citam que alguns métodos de abate podem ser mais estressantes que outros, e as espécies respondem de formas diferentes para cada método de abate aplicado (Ashley, 2007; Viegas *et al.*, 2012; Santos, 2013).

Neste trabalho, os peixes abatidos por hipotermia se estressaram mais, do que por asfixia com CO₂, onde foi observado a entrada mais rápida em *rigor*. Isso pode ter ocorrido, pelo fato dos peixes já estarem com suas reservas energéticas esgotadas, pelo estresse a que foram submetidos na despesca e no transporte, sendo o método de abate, também considerado um estressor para o peixe, pois em conjunto com o estresse de outras práticas de manejo, pode acelerar ainda mais a entrada do *rigor mortis*.

Já foi comprovado que o abate por hipotermia, é considerado um método extremamente estressante para várias espécies (Robb *et al.*, 2000; Bagni *et al.*, 2002; EFSA, 2004, Conte, 2004), pois muitas vezes esse método causa apenas o atordoamento do animal, mantendo o peixe vivo por horas até a ocorrência de sua morte (Hastein *et al.*, 2005; Pedrazani, 2007). Entretanto, essa diferença entre os métodos de abate utilizado para o tambaqui, não foi observado nos demais tempos amostrais estudados, isso pode ser explicado

pelo fato do método de abate utilizado neste trabalho, não ser um estressor tão agudo isoladamente, capaz de acelerar a entrada do *rigor*, porém, quando os peixes são abatidos estressados, o abate pode ajudar a acelerar ainda mais a entrada do *rigor mortis*, como ocorrido no grupo do transporte, já que esses animais não tinham mais reservas suficientes, para utilizar no momento do abate.

Mesmo com essa diferença na entrada de *rigor* entre os métodos de abate estudados, verificou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$), na saída do *rigor*, onde os dois métodos utilizados começaram a sair de *rigor* no mesmo dia. Santos (2013), estudando a resolução do *rigor mortis* em três métodos de abate para tilápias, observou diferença significativa ($p > 0,05$) na entrada do *rigor*, entre os métodos de abate testados, no entanto a saída do *rigor* instalou-se de forma semelhante para os três métodos estudados. Vargas (2011), estudando o *rigor mortis* do matrinxã, sob diferentes métodos de abate não encontrou diferença significativa ($p > 0,05$) sobre a entrada e saída de *rigor*. Em todos os métodos de abate, o rigor foi estabelecido 1,5 horas após a morte dos peixes.

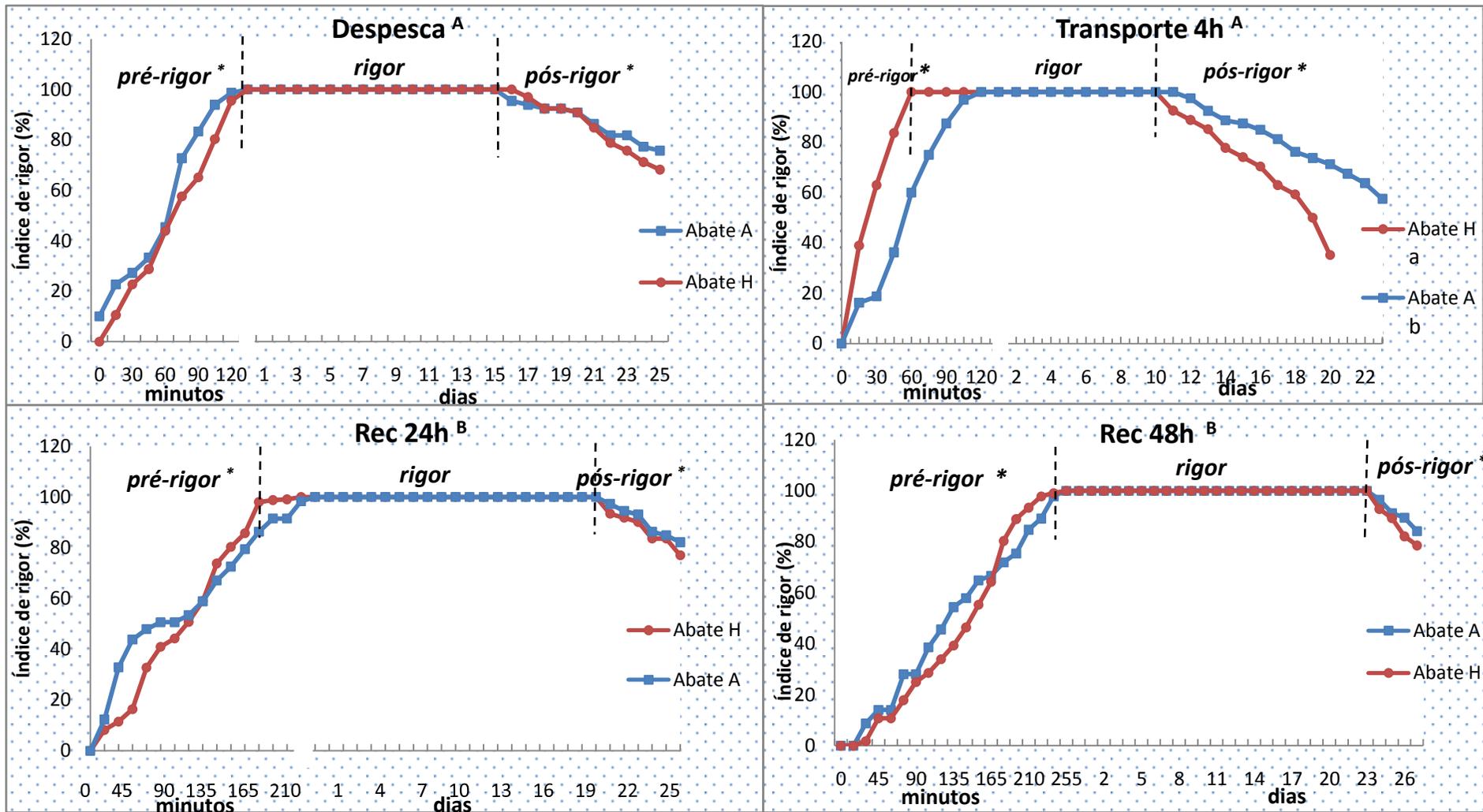
A saída do *rigor mortis* também deve ser acompanhada, pois sabe-se que a partir desse momento a proliferação microbiana da carne do pescado aumenta demasiadamente, alterando sua qualidade física, química e sensorial. A saída do *rigor* está relacionada com a degradação de enzimas endógenas proteolíticas como a cathepsina, causando a perda da integridade da estrutura do músculo (Acerete *et al.*, 2009; Tejada, 2009; Matos *et al.*, 2010). No presente estudo também foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) sobre a saída do *rigor mortis* nos tempos amostrais estudados. No entanto, com relação aos dois métodos de abate estudados nesse trabalho, o pós-rigor, instalou-se de forma semelhante em todos os tempos amostrais.

Como já esperado, devido à entrada mais drástica do *rigor mortis*, os peixes submetidos ao transporte de 4h apresentaram saída de *rigor* mais rapidamente, apresentando 92,% de *rigor* após 12 dias estocados em gelo, mostrando decréscimo a cada dia (Anexo 02). Os peixes abatidos após despesca apresentaram *rigor* de 95,45% após 16 dias em gelo, que nesse tempo amostral, foi mais tardio que o transporte, pelo fato do estresse da despesca ser menos agressiva do que o estresse do transporte. Os peixes submetidos à recuperação de 24h e 48h após transporte apresentaram saída de *rigor* a partir do vigésimo e vigésimo quarto dia, respectivamente. Esse retardo na saída do *rigor mortis* nesses tempos amostrais pode estar

relacionado com a recuperação fisiológica do estresse, como foi observado nas análises sanguíneas.

No momento que esses grupos foram abatidos estavam com suas reservas energéticas preservadas. Quando os peixes não são submetidos a estresse, demoram mais a entrar e sair do *rigor mortis*, preservando suas características organolépticas e aumentando seu tempo de prateleira. Diferente do que foi encontrado neste trabalho, Roth *et al.*, 2006, estudando a influência do estresse sobre o *rigor mortis* de salmão do atlântico, verificou um início mais rápido de rigor nos peixes que sofreram estresse comparados ao controle, porém esses tratamentos não diferiram sobre a saída do *rigor mortis*, onde, tanto os peixes estressados, quanto o controle saíram de *rigor* após 24h de sua morte. Já em 2012, os mesmos autores trabalhando com a mesma espécie, verificaram diferença significativa ($p > 0,05$) na entrada e saída do *rigor*, nos peixes submetidos à aglomeração antes do abate, comparados aos peixes que não sofreram estresse. Os peixes estressados saíram de *rigor* após 12 horas do abate, enquanto os que não sofreram estresse saíram com 24 horas. A entrada e a saída do *rigor mortis* vai depender do grau e duração do estressor, e também da temperatura de estocagem dos peixes.

Figura 07: Dinâmica do índice de rigor mortis em tambaqui, procedentes de piscicultura, em diferentes tempos amostrais (despesca, transporte de 4h, recuperação de 24 e 48h após transporte) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia na região de Manaus (AM). *Letras maiúsculas diferentes apresentam diferença significativa ($p>0,05$) entre os tempos amostrais estudados, e letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa ($p>0,05$) entre os métodos de abate.



5.2.2. Avaliação do pH muscular

Neste trabalho os valores de pH foram diferentes significativamente ($p > 0,05$) entre os tempos amostrais estudados durante todo o período de armazenamento, ocorrendo aumento gradativo em todos os tempos amostrais, do primeiro até 49 dias de armazenamento em gelo, sendo este aumento mais acelerado após 21 dias de experimento (Tabela 03). Esses resultados foram similares aos encontrados por Carvalho *et al.*, (2002) no músculo da tilápia do Nilo abatidas sob estresse e por Morkore *et al.*, (2002) no músculo da truta arco-íris insensibilizada com CO₂ após estresse. O aumento do pH ocorre, devido à degradação de substâncias nitrogenadas, acúmulo de substâncias básicas como o amoníaco, devido a autólise de enzimas, e atividade bacteriana (Erkan *et al.*, 2007; Teodoro *et al.*, 2007).

No primeiro tempo de armazenamento realizado neste experimento, os valores mostraram-se bem distintos, (6,48 e 6,36) na despesca, (6,42 e 6,54) no transporte, (6,31 e 6,40) na recuperação de 24h e (6,21 e 6,25) na recuperação de 48h, quando abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia, respectivamente. Perez *et al.* (2001) encontraram valores de pH de 6,94, no momento da captura, para híbrido de tambaqui, valores bem maiores do que os encontrados neste experimento para todos os tempos amostrais estudados. Esse pH próximo da neutralidade está relacionado com o estresse a que o animal foi submetido antes de sua morte.

Os métodos de abate utilizados não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) para o pH, esses resultados são semelhantes aos encontrados por Albuquerque *et al.* (2004), que não encontraram diferenças ($p > 0,05$) sobre os valores de pH da tilápia do Nilo, entre o abate por atordoamento com CO₂ ou por hipotermia, Vargas (2011), trabalhando com o matrinxã utilizando três métodos de abate (asfixia com CO₂, choque elétrico e hipotermia), também não verificou diferença significativa ($p > 0,05$) nos valores de pH. Durante todo o armazenamento em gelo, observou-se valores mais elevados de pH no tempo despesca e após transporte de 4h, quando comparados à recuperação de 48h. Isso é explicado pelo estresse destas práticas, que provocam uma redução das reservas de glicogênio muscular dos peixes, e conseqüentemente, menor

acúmulo de ácido láctico. Isso faz com que o pH inicial do músculo fique mais próximo da neutralidade, acelerando ainda mais a ação das enzimas musculares.

As análises sanguíneas deste trabalho mostraram uma elevação do lactato logo após as práticas despesca e transporte de 4h, por esse motivo, os animais nesses tempos amostrais tiveram um pH inicial mais elevado comparados aos grupos que foram submetidos à recuperação do estresse, provavelmente por que tinham usado todas suas reservas musculares com estressor, não tendo reservas suficiente para utilizar após sua morte.

Diferente do que ocorreu neste trabalho, Kirschnik (2000), não encontrou diferenças significativas ($p > 0,05$) no pH muscular de tilápias do Nilo abatidas com e sem estresse provocado pelo rebaixamento do nível da água do tanque por 20 minutos. No entanto, Bello & Rivas (1992), mostraram para tambaquis, conservados a 0°C e estressados pela captura, valores de pH de 6,69 e 6,75, semelhantes aos valores encontrados neste trabalho. Vários autores afirmam que o estresse de práticas pré-abate influencia diretamente o pH muscular (Gatica *et al.*, 2008; Bahuaud *et al.*, 2010; Gatica *et al.*, 2010) alterando as propriedades física do músculo dos peixes e conseqüentemente sua qualidade. Hultmann *et al.*, (2012) encontraram diferenças significativas ($p > 0,05$) nos valores de pH muscular de bacalhau comparando peixes estressados e não estressados. Gatica *et al.*, (2010), também observou diferença ($p > 0,05$) no pH muscular do Salmão em peixes estressados quando comparados ao controle.

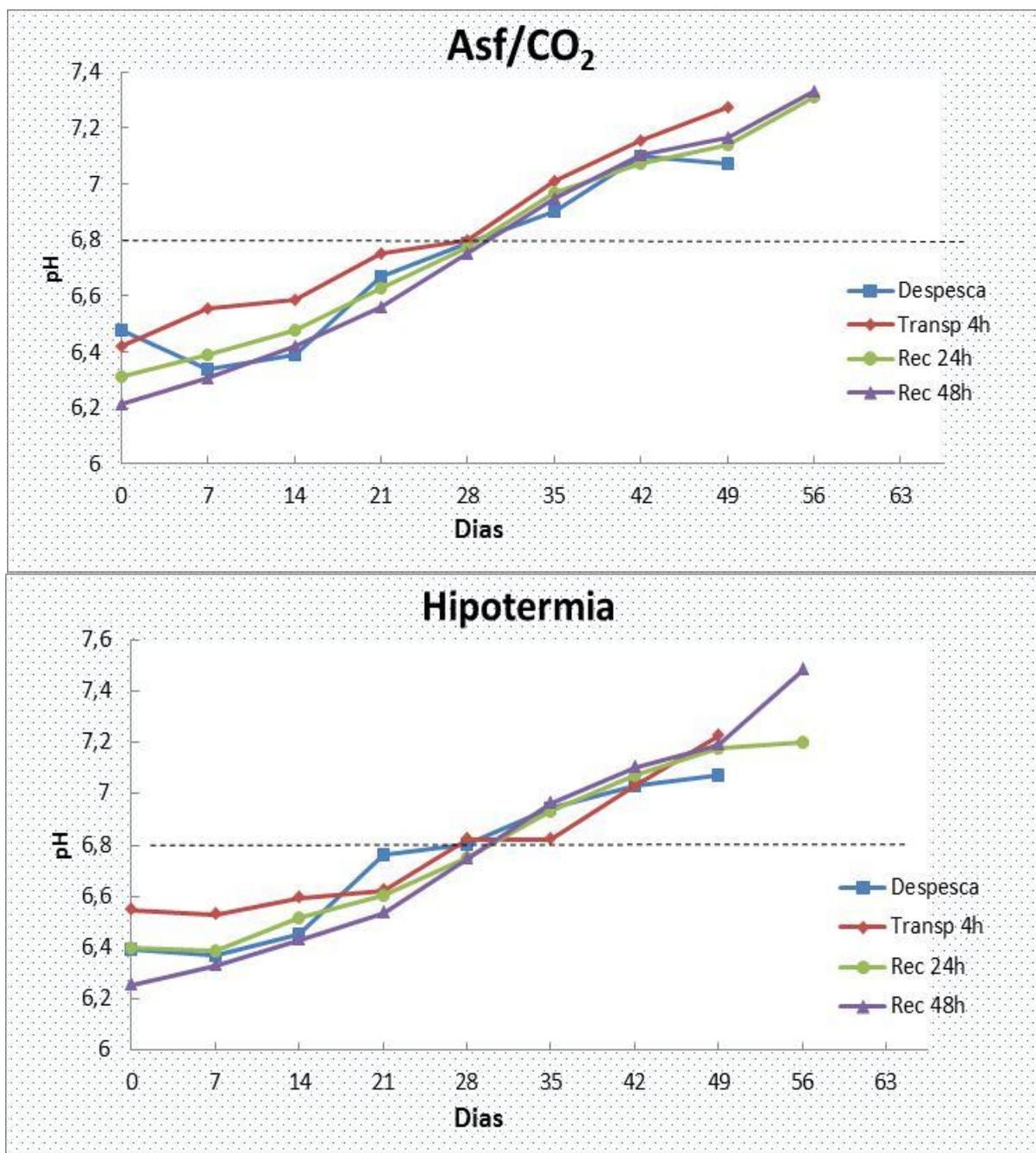
O Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA (Brasil, 2001), estabelece os seguintes limites máximos de pH para que um peixe possam ser considerado como pescado fresco: pH inferior a 6,8 na carne externa e a 6,5 na carne interna. Neste trabalho após 28 dias de armazenamento em gelo, notou-se que todos os tempos amostrais alcançaram valores superiores aos limites regulamentados pela legislação vigente: despesca (6,81 e 6,94); transporte de 4h (7,01 e 6,82), recuperação de 24h (6,97 e 6,93) e recuperação de 48h (6,95 e 6,96) nos dois métodos de abate utilizado (Figura 08). Foi verificado que todos os tempos amostrais tiveram rejeição no mesmo dia, até mesmo os peixes que foram submetidos à recuperação do estresse.

Almeida *et al.*, (2006), estudaram as alterações post-mortem em tambaqui cultivado e conservado em gelo por meio da análise de pH, e obtiveram como resultado os valores médios que variaram de 6,07 a 6,66 durante 49 dias de estocagem. Esses resultados diferem do que foi encontrado neste trabalho, pois os peixes ultrapassaram o limite vigente aos 28 dias de gelo, mostrando que o pH não é um parâmetro decisivo. Batista *et al.*, (2004), estudaram as alterações bioquímicas post-mortem de matrinxã procedente da piscicultura, por meio da análise de pH, e obtiveram valores médios de 6,26 a 6,37 durante 29 dias de estocagem em gelo, não ultrapassando o valor aceito pela legislação. Desse modo, o pH não mostrou-se como bom índice para avaliar a qualidade do tambaqui nos diferentes tempos amostrais estudados no presente trabalho. Outros pesquisadores também têm observado que o valor de pH é inadequado quando usado para avaliar o frescor de algumas espécies, por esse motivo deve ser analisado em conjuntos com outros métodos de avaliação da qualidade (Ababouch *et al.*, 1996; Kyraana & Lougovois, 2002; Fontes, 2007; Brito *et al.*, 2007; Santos, 2013).

Tabela 03: Valores expressados em médias e desvio padrão de pH muscular do tambaqui, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia estocados em gelo por 49 dias, na região de Manaus (AM). *Letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferenças significativas (p>0,05) entre os tempos amostrais.

pH								
TEMPOS	DESPESCA ^C		TRANSPORTE 4h ^B		REC 24h ^B		REC 48h ^A	
Dias	ASF/CO ₂	HIP	ASF/CO ₂	HIP	ASF/CO ₂	HIP	ASF/CO ₂	HIP
0	6,48 ±0,02	6,39 ±0,02	6,42±0,05	6,54±0,01	6,31±0,01	6,40±0,04	6,21±0,02	6,25±0,04
07	6,34±0,00	6,37±0,01	6,55±0,01	6,53±0,03	6,39±0,01	6,39±0,05	6,30±0,02	6,32±0,02
14	6,39±0,01	6,45±0,02	6,58±0,07	6,59±0,01	6,48±0,03	6,51±0,01	6,42±0,03	6,42±0,01
21	6,67±0,03	6,76±0,01	6,75±0,03	6,62±0,04	6,62±0,04	6,60±0,01	6,56±0,02	6,53±0,01
28	6,79±0,04	6,80±0,02	6,80±0,02	6,82±0,01	6,77±0,01	6,75±0,03	6,75±0,02	6,74±0,05
35	6,90±0,02	6,94±0,03	7,01±0,1	6,82±0,01	6,97±0,01	6,93±0,03	6,95±0,01	6,96±0,01
42	7,10±0,04	7,03±0,01	7,15±0,02	7,03±0,02	7,07±0,01	7,07±0,01	7,10±0,00	7,10±0,01
49	7,07±0,04	7,07±0,05	7,27±0,03	7,22±0,03	7,14±0,04	7,17±0,01	7,16±0,04	7,19±0,04

Figura 08: Valores de pH muscular do tambaqui, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia estocados em gelo durante 49 dias, na região de Manaus (AM).



5.2.3 Análise sensorial física

A análise sensorial realizada pelo MIQ (Método de Índice de Qualidade) não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) entre os dois métodos de abate estudados neste experimento. Os resultados, tanto no abate por asfixia com CO₂, quanto por hipotermia, apresentaram qualidade semelhante para o tambaqui na análise sensorial. Vargas, (2011), trabalhando com o matrinxã, também não observou diferença significativa ($p>0,05$) entre os métodos de abate testados para a espécie, porém, foi observado que o abate por choque elétrico resultou em melhor qualidade. Esses dados diferem do que foi encontrado por Santos, (2013) que observou diferença significativa ($p>0,05$) entre os métodos de abate estudado em tilápias na sua análise sensorial, onde o abate por choque elétrico apresentou melhor qualidade.

No presente trabalho foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os tempos amostrais estudados para análise sensorial (Figura 09). O índice de rejeição para o tambaqui foi de 12 pontos para os 4 tempos amostrais estudados. Durante os primeiros 14 dias de armazenamento em gelo, os peixes em todos os tempos amostrais apresentaram qualidade excelente para os dois métodos de abate. Somente a partir daí foram observados mudanças de qualidade diferenciadas para cada tempo amostral.

No tempo amostral transporte de 4 h, os peixes permaneceram com excelente qualidade por 14 dias, e logo após começou a apresentar alterações físicas, como perda de brilho dos olhos e na pele. Esse período coincide com o tempo de saída de rigor, pois foi observada a saída do rigor aos 12 dias de armazenamento em gelo, e sabe-se que após a saída do *rigor* as mudanças organolépticas são mais acentuadas, como foi constatado na análise sensorial. Após 18 dias este tempo recebeu pontuação de qualidade regular, apresentando características como cheiro forte, olhos completamente opacos e presença de muco na região dorsal. Após cerca de 30 dias de experimento os peixes foram considerados rejeitados para o consumo nos dois métodos de abate estudados, apresentando proliferação exagerada de muco em toda a superfície do seu corpo. Observou-se além da grande quantidade de muco viscoso, cheiro amoniacal e textura mole. O tempo amostral do transporte foi o que apresentou pior qualidade sensorial para o tambaqui, isso parece estar ligado ao estresse que esses peixes passaram

após transporte de 4h, como já foi mostrado fisiologicamente neste trabalho e evidenciado no *rigor mortis*.

Muitos autores afirmam que o estresse influencia diretamente a qualidade e o tempo de vida útil dos peixes (Thomas *et al.*,1999; Bahuaud *et al.*,2010; Digre *et al.*, 2011; Erickson *et al.*, 2012). Digre *et al.*, (2011), observou diferença ($p>0,05$) no índice de qualidade do bacalhau, quando os peixes estressados apresentaram qualidade inferior comparados aos não estressados. Hultmann *et al.*, (2012), estudando os efeitos do estresse pré-abate sobre a qualidade da carne do bacalhau também encontraram diferenças significativas ($p>0,05$) entre o controle e os peixes estressados, os quais apresentaram pior qualidade. Diferentemente desses resultados, Erickson *et al.*, (2011), observaram que não houve influencia do estresse sobre a qualidade do bacalhau para análise sensorial nas condições experimentais usadas.

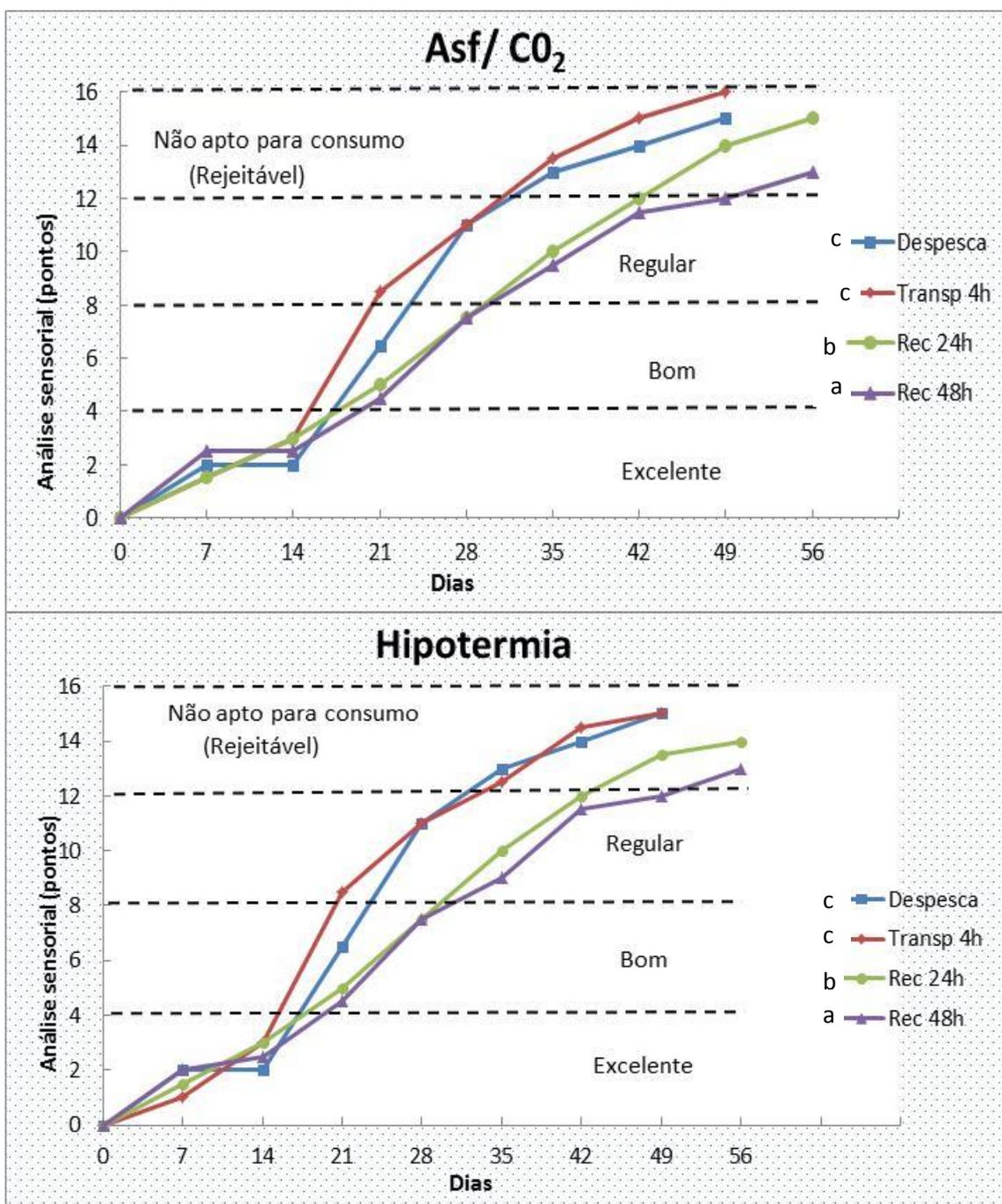
Os exemplares da despesca apresentaram mudanças de qualidade semelhantes ao do transporte, porém mais tardia, permanecendo com uma pontuação de boa qualidade por cerca de 21 dias, apresentando perda de brilho na superfície da pele e olhos opacos. Aos 28 dias em gelo, foi observada qualidade regular para estas amostras, resultados semelhante ao encontrado nas amostras do transporte, sendo considerado não apto para consumo a partir de 30 dias estocados em gelo, apresentando também grande quantidade de muco, na pele e cheiro forte, guelra esbranquiçada e odor azedo. Esse tempo amostral também foi afetado pelo estresse, e apresentou entrada em *rigor* mais drástica, isso pode ter influenciado na qualidade da carne e no tempo de vida útil dos tambaquis.

Os tempos amostrais (recuperação de 24 e 48 h após transporte) apresentaram pontuação com qualidade boa de 21 a 28 dias de experimento para os dois métodos de abate utilizados, apresentando boa aparência nos quesitos analisados pelo MIQ. De 28 a 42 dias esses dois tempos amostrais receberam pontuação de qualidade regular. Nesta fase foram observadas algumas mudanças nas características do tambaqui, como presença de muco, olhos opacos, região do abdômen com tonalidade avermelhada, dando indícios de alteração. As amostras do tempo de recuperação de 24 horas foram consideradas rejeitadas com 42 dias de armazenamento em gelo enquanto as amostras de recuperação de 48 h receberam rejeição dos avaliadores somente com 49 dias de

experimento, apresentando tempo de vida útil maior do que os demais tempos amostrais. Isso mostra que essa recuperação de 24 e 48 h amenizou o estresse, fazendo com que os peixes voltassem ao seu equilíbrio homeostático, como observado por meio das análises de sangue, preservando novamente suas reservas energéticas.

O retardamento da entrada em *rigor mortis* também ajudou a aumentar o tempo de vida útil do tambaqui conservado em gelo. Almeida *et al.*, (2006), avaliaram a qualidade de tambaqui conservado em gelo e determinaram o tempo de vida útil por meio de avaliações sensoriais, constatando rejeição dos peixes somente com 49 dias de experimento, esses dados diferem aos encontrados no presente estudo, já que lá os peixes foram abatidos logo após a despesca, não passando por recuperação do estresse. O método de índice de qualidade mostrou-se como bom indicador do frescor do tambaqui nos diferentes tempos amostrais estudados, evidenciando bem, a qualidade em cada tempo. O MIQ tem sido utilizado em diferentes espécies e tem se mostrado como um bom índice de frescor.

Figura 09: Índice de qualidade do tambaqui acompanhado pela análise sensorial MIQ, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia, armazenado em gelo durante 49 dias, na região de Manaus (AM).



5.2.4. Teores de N-BVT

Conforme apresentado na tabela 04, os teores de N-BVT das amostras de tambaqui apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os dois métodos de abate estudados (hipotermia e asfixia com CO_2) para cada tempo amostral, de acordo com período de armazenamento. Somente as amostras do transporte de 4h não mostraram diferença significativa ($p > 0,05$) para os dois métodos de abate. Também foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) nos teores de N-BVT entre os tempos amostrais estudados neste trabalho. Foi observado aumento discreto nos níveis de N-BVT para todos os tempos amostrais, durante os 49 dias de armazenamento em gelo.

Segundo Siqueira, (2001) e Savay *et al.*, (2008) os teores das bases nitrogenadas voláteis aumentam relativamente com a deterioração. Isto é atribuído à ação enzimática que ocorre no músculo e, principalmente pela quantidade de bactérias presentes capazes de produzir compostos nitrogenados, como amônia e aminas voláteis, que levam à deterioração do pescado mais rapidamente, pois aumentam gradualmente com o tempo de armazenamento. Mesmo considerando que os métodos de abate utilizados neste trabalho não tenham afetado o *rigor mortis*, foram verificados, respostas diferenciadas para os métodos de abate, sobre a qualidade do tambaqui. Tanto na despesca, quanto na recuperação de 24 e 48h após transporte, o método de abate, que revelou melhor qualidade para o tambaqui foi abate por hipotermia.

Este método de abate apresentou valores menores, comparados com os peixes asfixiados com CO_2 (Tabela 04). Isso pode estar relacionado com a diferença de temperatura entre os métodos de abate aplicados neste trabalho, pois os peixes abatidos por hipotermia eram colocados em água e gelo com temperatura a 0°C , diminuindo imediatamente a temperatura do seu corpo, enquanto os abatidos por asfixia com CO_2 permaneceram, na temperatura ambiente por algum tempo, até constatados mortos, só aí foram estocados em gelo, demorando mais tempo para que ocorresse a queda da temperatura do seu corpo. O abaixamento da temperatura imediatamente após a morte, evita ou retarda as ações químico-enzimáticas envolvidas no processo de autólise como também o desenvolvimento de microrganismos que contribuem para a deterioração do alimento (Gomes, 2006).

A diminuição da temperatura é benéfica, pois sabe-se que esta pode retardar a proliferação de bactérias que liberam compostos nitrogenados, certamente por isso os tambaquis abatidos por hipotermia apresentaram valores menores do que os asfixiados com CO₂.

Tabela 04: Valores expressos em médias e desvio padrão dos teores N-BVT do músculo do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia estocada em gelo por 49 dias, na região de Manaus (AM). *Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas (p>0,05) entre os tempos amostrais testados, letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferença (p>0,05) significativa entre os dois métodos de abate para cada tempo amostral.

N-BVT								
TEMPOS	DESPESCA ^D		TRANSPORTE 4h ^C		REC 24h ^B		REC 48h ^A	
Dias	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^b	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^a	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^b	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^b
0	18,54±0,68	15,14 ±1,34	15,90±1,06	13,96±0,61	17,23±0,69	13,30±0,75	11,12±0,37	8,60±0,63
07	18,98±0,38	16,45±0,01	20,86±1,24	16,21±0,38	20,78±1,12	17,60±0,68	15,65±0,92	13,55±0,48
14	25,34±0,55	23,22±1,37	21,31±1,75	24,41±0,45	19,34±0,22	19,91±0,68	19,03±0,18	14,84±1,46
21	23,73±1,61	25,50±0,71	23,54±0,75	23,10±0,08	20,14±1,39	16,49±0,16	22,00±0,01	17,47±0,82
28	30,23±0,03	27,19±0,11	27,46±0,01	24,59±1,19	23,73±0,96	23,17±1,00	22,62±0,68	15,65±0,61
35	30,00±0,09	32,19±0,12	28,80±0,01	27,87±1,59	21,23±1,70	24,54±0,07	24,69±0,09	16,52±0,01
42	40,90±2,88	35,60±0,19	36,75±0,81	38,07±0,60	26,39±1,06	25,33±0,48	27,48±0,03	22,54±0,63
49	41,15±0,17	37,11±1,52	43,49±1,15	48,10±1,56	36,24±0,62	32,89±1,85	32,55±0,79	27,99±0,70

Outro fato que pode explicar essa diferença entre os métodos de abate foi o tempo que os peixes levaram para morrer, os peixes abatidos por asfixia com CO₂ demoram em cerca de 30 minutos para serem considerados mortos, sofrendo maior estresse antes de sua morte. Talvez por esse motivo, os teores de N-BVT tenham sido maiores, comparados como os peixes abatidos por hipotermia. Diferente do que foi encontrado para o tambaqui no presente trabalho, Albuquerque *et al.*, (2004),

trabalhando com tilápias do Nilo abatidos em água e gelo e por asfixia com CO₂ não observou diferenças significativas ($p>0,05$) nos teores de N- BVT durante o período de armazenagem de até 18 dias.

Em estudo com carpas capim (*Ctenopharyn godonidella*) submetido ao abate por hipotermia e choque elétrico, os valores de N-BVT, também não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre os tratamentos durante 20 dias de armazenagem em gelo (Schereret *et al.*, 2006). Vargas (2011), utilizando 03 métodos de abate (hipotermia, asfixia com CO₂ e choque elétrico) não encontrou diferença significativa ($p>0,05$) nos valores de N-BVT para matrinxãs estocados em gelo durante 435 horas. Vários autores afirmam que as espécies respondem de forma diferente para cada método abate, por isso há necessidade de estudos, utilizando diferentes métodos de abate para diferentes espécies. O tambaqui respondeu de forma diferenciada para cada tipo de abate aplicado, com relação à análise de N-BVT.

Os tempos amostrais estudados neste trabalho também apresentaram valores significativos ($p>0,05$) para a análise de N-BVT (Tabela 04). Os peixes submetidos ao estresse da despesca e transporte de 4h apresentaram aumento mais acelerado nos teores de N-BVT, durante todo o período de estocagem, comparado à recuperação de 24 e 48h. Foram observados valores iniciais de N-BVT bem distintos para os tempos amostrais: despesca, transporte de 4h, recuperação de 24 e 48h (Tabela 04). Os valores referentes ao tempo de recuperação de 48h apresentaram teores de N-BVT bem menores comparados aos outros tempos, durante todo o período de armazenamento (Figura 10).

Os peixes desse grupo foram submetidos a uma recuperação de 48h após o estresse, sendo abatidos com suas reservas preservadas, produzindo ácido láctico suficiente, para proteger o músculo contra a ação de enzimas e bactérias. Os valores menores, encontrados neste tempo amostral, estão relacionados com o tempo que estes peixes permaneceram em *rigor*, apresentando melhor qualidade.

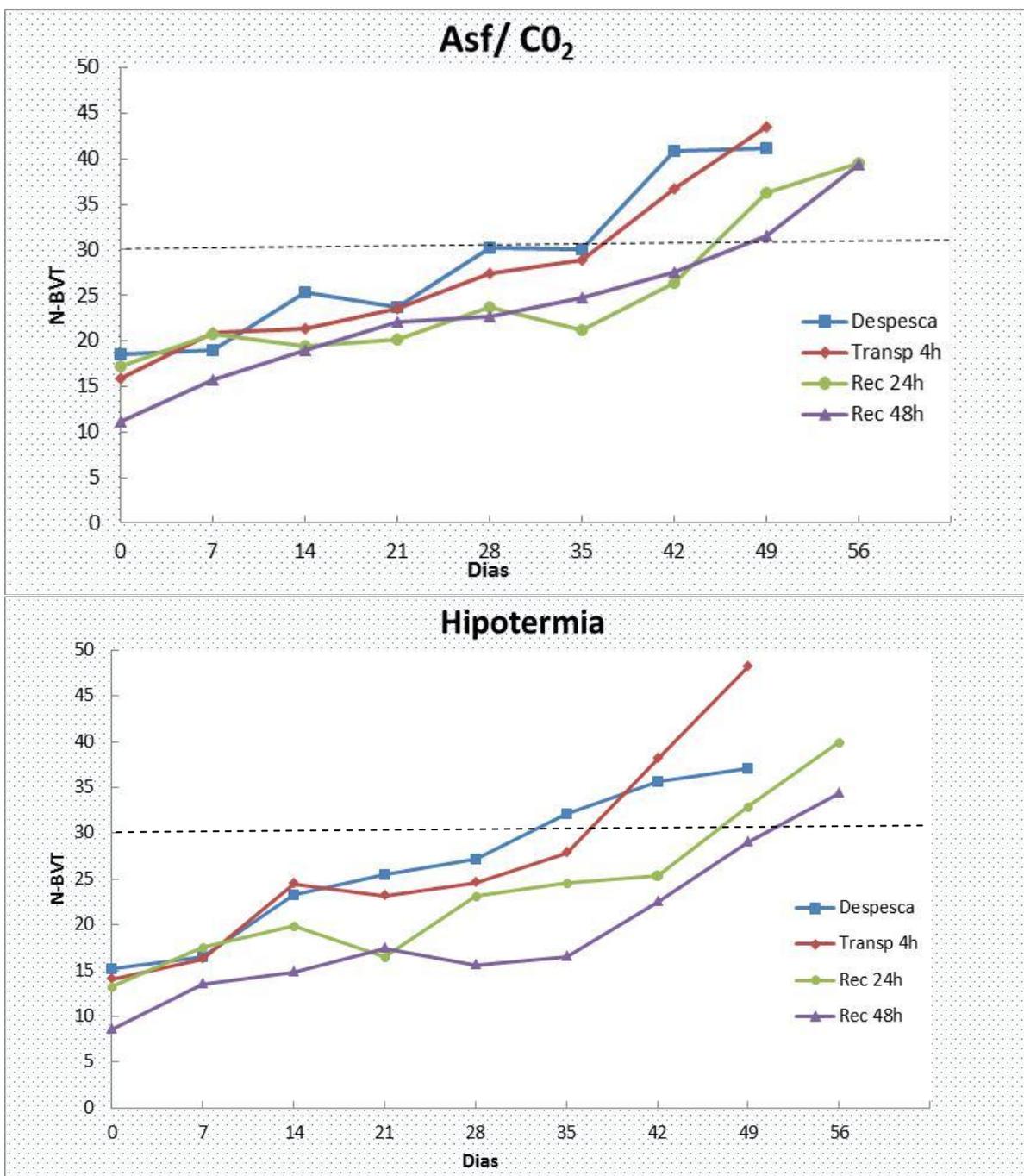
O limite máximo para peixes frescos, permitido na legislação brasileira é de 30mg N100g-1 (BRASIL, 2008). Todos os tempos amostrais ultrapassaram os valores aceitáveis pela legislação brasileira para os teores de N-BVT, durante o período de armazenamento estudado, porém, houve diferença do limite, com relação ao alcance

para cada tempo amostral. Os peixes que foram abatidos logo após a despesca apresentaram rejeição aos 28 dias de armazenamento em gelo e foram considerados impróprios para o consumo após essa data. Os peixes abatidos após o transporte alcançou valores limites de N-BVT aos 35 dias, e o grupo submetido à recuperação de 24h foram rejeitados com 42 dias (Figura 10). O tempo de recuperação de 48h apresentou-se como o melhor tratamento, pois só alcançou valores de 30mg N100g-1 com 49 dias de experimento, coincidindo com o encontrado na análise sensorial deste trabalho, onde os peixes deste grupo também foram considerados impróprios para o consumo com 49 dias de estocagem em gelo.

Segundo Duarte *et al.*, (2009) a carne de peixes submetidos a diferentes níveis de estresse apresenta qualidade inferior e maior susceptibilidade aos processos degradativos durante o armazenamento, quando comparada à carne de peixes não estressados antes do abate. Tal resultado é semelhante com o ocorrido neste trabalho, pois os peixes abatidos estressados apresentaram qualidade inferior, e menor tempo de prateleira, quando comparados aos peixes recuperados do estresse. Portanto pode-se afirmar que o estresse da despesca e do transporte afetou negativamente a qualidade do tambaqui cultivado e o seu tempo de vida útil.

Almeida *et al.*, (2006), trabalhando com o tambaqui, encontrou valores aceitáveis de N-BVT até 42 dias armazenados em gelo, entretanto os peixes foram abatidos por hipotermia logo após a despesca, diferindo dos resultados encontrados na despesca deste trabalho, em que foi verificada rejeição dos peixes após 30 dias de gelo, conforme os valores de N-BVT e análise sensorial. Batista *et al.*, (2004), estudando o tempo de vida útil do matrinxã, constatou que esta espécie mostrou-se apta para consumo até 29 dias, resultado semelhante ao encontrado neste trabalho, visto que os autores mencionam que os peixes foram abatidos por hipotermia logo após a despesca.

Figura 10: Teores de N-BVT do músculo do tambaqui, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia armazenado em gelo durante 49 dias, na região de Manaus (AM).



5.2.5. Textura instrumental

Os valores da textura apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para os métodos de abate testados, durante todo o período de armazenamento em gelo, para cada tempo amostral. Somente o tempo de 48h de recuperação não foi significativamente diferente ($p > 0,05$) para os métodos de abate (Tabela 05).

Os peixes abatidos por hipotermia apresentaram melhor qualidade na textura do músculo do tambaqui, durante todo o tempo de armazenamento. O abate por asfixia com CO_2 foi considerado um método estressante para esta análise, devido ao tempo que os animais demoraram a morrer. Foi observado neste trabalho, que os peixes abatidos por asfixia com CO_2 , levaram em torno de 30 minutos para serem considerados mortos, isso fez com que este grupo apresentasse textura mais macia do que o grupo abatido por hipotermia. Fato que também pode estar relacionado com o estresse que os animais sofreram antes do abate, influenciando ainda mais as mudanças na textura do músculo.

Roth *et al.*, (2005) afirmam que o uso do atordoamento por CO_2 pode provocar o amolecimento da textura muscular quando comparado a outros métodos de abate. Alguns estudos realizados com salmonídeos afirmam que métodos de abate demorado causam mais estresse, apresentando textura muscular mais suave e curta vida de prateleira (Lefèvre *et al.*, 2008; Bahaud *et al.*, 2010). Porém, neste trabalho, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os métodos de abate testados para o tempo de recuperação de 48h, quando, os dois métodos de abate apresentaram-se semelhantes durante todo o período de armazenamento. Isso pode ter ocorrido, devido a este grupo ter passado por recuperação do estresse, assim, supõe-se que, quando o animal é submetido somente ao estresse do abate, a textura de sua carne não é influenciada pelo método de abate, porém o tempo em que os animais permanecem estressados influencia a qualidade.

Os tempos amostrais estudados também foram afetados significativamente ($p > 0,05$) na análise de textura muscular. Foram observados valores mais baixos na força de penetração do músculo dos peixes submetidos à despesca e transporte, quando comparados às amostras da recuperação de 24 e 48h, que apresentaram valores maiores durante todo período de estocagem (Tabela 05).

Inúmeros fatores podem influenciar a textura do músculo dos peixes, entre eles, a modificação do pH que causa mudança na conformação de proteínas (Stien *et al.*, 2005); alterações das fibras musculares; elevado teores de lipídeos (Johnton *et al.*, 2004); alimentação, e principalmente o estresse elevado antes da morte dos peixes. Neste trabalho ficou evidenciado que o estresse afetou diretamente a textura do músculo do tambaqui. Os peixes que sofreram estresse apresentaram textura mais flácida e suave, quando comparados aos peixes recuperados do estresse. Essa textura do músculo mais macia pode estar relacionada com a diminuição da capacidade de retenção de água, que ocorre quando os peixes são abatidos estressados. Resultados semelhantes a este trabalho foi verificado principalmente em salmonídeos, em que os peixes expostos ao estresse e alta manipulação no abate apresentaram textura mais suave e curta vida de prateleira (Lefèvre *et al.*, 2008; Bahuaud *et al.*, 2010).

As mudanças de pH causadas pelo estresse, também podem modificar a textura do músculo dos peixes, e isso provavelmente ocorreu neste trabalho, principalmente para tempo 0 de armazenamento, onde foi observada valores bem diferentes entre os tempos amostrais, no pH e na textura do músculo. Segundo Stien *et al.*, (2005), o pH pode influenciar na conformação de proteínas que resultam num músculo mais leve e mais opaco. Diferenças significativas ($p > 0,05$) foram encontradas na textura e na coloração do filé do bacalhau estressado em relação ao controle (Hultmann *et al.*, 2012). Sveinsdóttir *et al.*, (2010), observaram que a única diferença significativa sobre o estresse de manipulação, no bacalhau de cultivo, foram vistos nos atributos de textura, pois os peixes que foram submetidos ao estresse tiveram uma carne mais macia em relação ao controle.

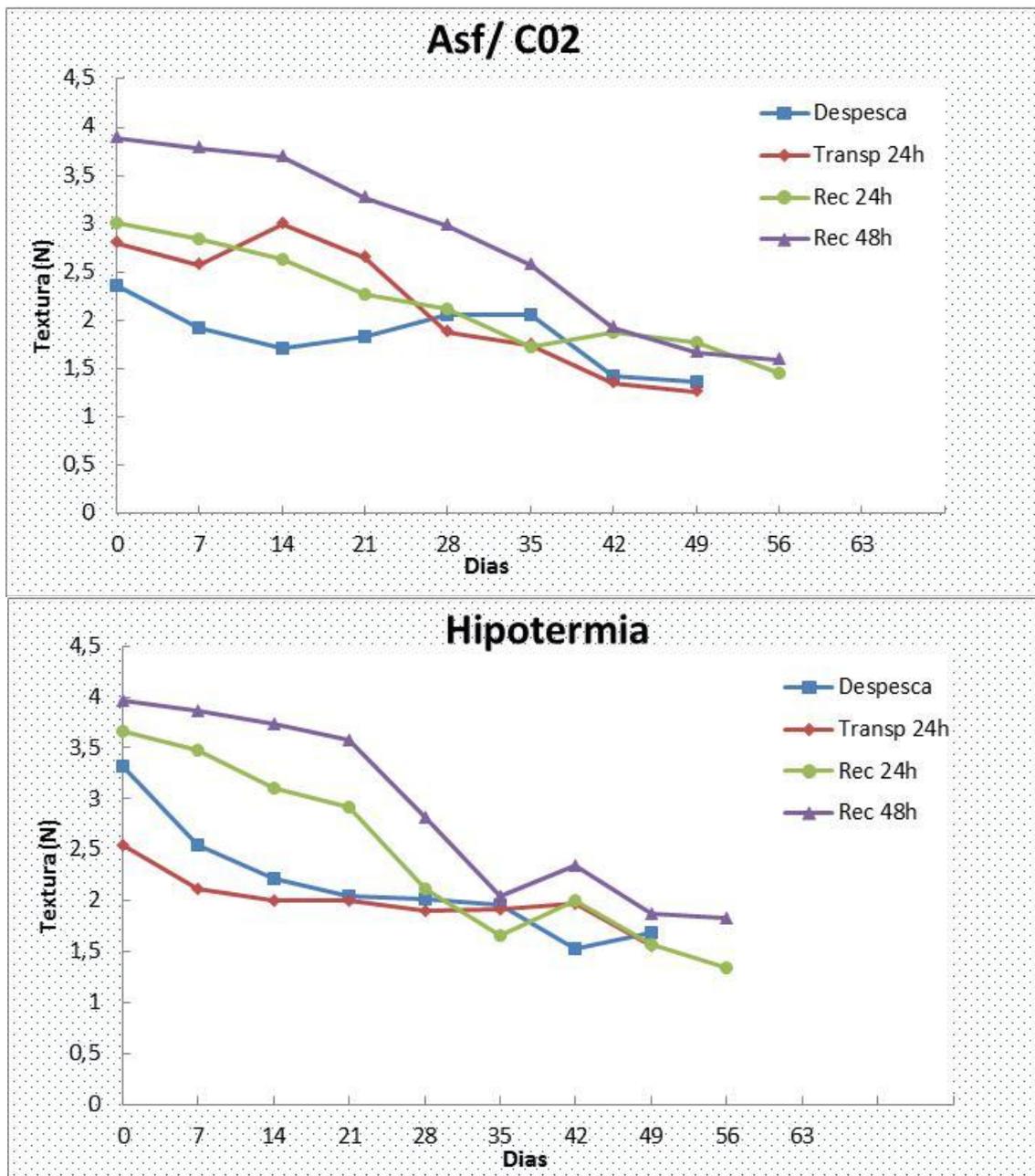
Digre *et al.*, (2010), estudando o bacalhau perseguido até a exaustão, observou um nível reduzido de água e textura mais suave do que no bacalhau que não foi submetido ao estresse. Isto está de acordo com o encontrado neste trabalho, pois o tempo despesca e transpote de 4 h apresentaram textura do músculo mais macia e flácida do que nos peixes que foram recuperados do estresse. Isso ficou bem evidenciado no tempo zero de armazenamento (Figura 11).

Tabela 05: Valores expressados em médias e desvio padrão na textura instrumental do músculo do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia estocada em gelo por 49 dias, na região de Manaus (AM). *Letras maiúsculas diferentes na mesma linha representam diferenças significativas (p>0,05) entre os tempos amostrais testados, letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferença (p>0,05) significativa entre os dois métodos de abate para cada tempo amostral.

TEXTURA

TEMPOS	DESPESCA ^C		TRANSPORTE 4h ^C		REC 24h ^B		REC 48h ^A	
	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^b	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^b	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^b	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^a
0	2,36 ±0,45	3,31 ±0,21	2,70±0,12	2,55±0,01	3,01±0,01	3,66±0,01	3,88±0,01	3,96±0,06
07	1,91±0,45	2,54±0,44	2,57±0,00	2,10±0,09	2,84±0,02	3,48±0,20	3,74±0,06	3,86±0,02
14	1,71±0,06	2,21±0,30	2,98±0,01	2,64±0,06	2,62±0,02	3,10±0,00	3,68±0,01	3,72±0,02
21	1,83±0,23	2,05±0,01	2,61±0,06	2,00±0,00	2,67±0,02	2,91±0,07	3,26±0,01	3,57±0,01
28	2,06±0,05	2,01±0,01	1,87±0,00	1,91±0,01	2,92±0,06	2,11±0,01	2,99±0,01	2,82±0,02
35	2,48±0,40	1,96±0,03	1,76±0,01	1,91±0,00	1,72±0,02	1,65±0,02	2,50±0,06	2,64±0,01
42	1,42±0,12	1,53±0,15	1,41±0,11	1,96±0,02	1,88±0,00	1,99±0,01	1,92±0,02	2,35±0,03
49	1,35±0,46	1,67±0,00	1,24±0,02	1,53±0,02	1,76±0,01	1,56±0,01	1,66±0,01	1,87±0,00

Figura 11: Valores da força de penetração da textura do músculo do tambaqui, em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h) abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia, armazenado em gelo durante 49 dias, na região de Manaus (AM).



6. CONCLUSÃO

Com bases nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- As análises de sangue comprovaram que os peixes apresentam respostas primárias e secundárias ao estresse na despesca e no transporte de 4h. Os tempos de descanso de 24 e 48h foram suficientes para recuperação da homeostase do tambaqui nas condições experimentais.
- Os peixes submetidos ao estresse da despesca e do transporte por 4h apresentaram entrada e saída de *rigor mortis* mais rápido do que aqueles que foram submetidos à recuperação por 24 e 48 h, indicando que esses tempos de recuperação são importantes para a melhoria da qualidade do pescado, nas condições experimentais.
- Os peixes submetidos ao estresse da despesca e do transporte por 4h apresentaram vida útil de 35 dias em gelo, enquanto aqueles que passaram por recuperação de 24 e 48h após transporte apresentaram vida útil de 42 e 49 dias em gelo, respectivamente.
- Nessas condições experimentais o abate dos tambaquis por hipotermia mostrou-se mais adequado para obtenção de pescado com melhor qualidade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ababouch, L.H.; Souibri, L.; Rhaliby, K.; Ouahdi, O.; Battal, M.; Busta, M.M. 1996. Quality changes in sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. **Food Microb.** Sidcup, v. 13, p. 123-132.

Abreu, J.A.; Sanabria-ochoa, A.I.; Gonçalves, F.D.; Urbinati, E.C. 2008. Stress responses of juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*) after transport in a closed system under different loading densities. *Ciência Rural*, v.38, n.5, p. 1413-1417.

Acerete, L., Reig, L., Alvarez, D., Flos, R., Tort, L. 2009. Comparison of two stunning/slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, 287: 139–44.

Acerete, L.; Balasch, J.C.; Espinosa, E.; Josa, A.; Tort, L. 2004. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) subjected to stress by transport and handling. **Aquaculture**, 237: 167-178.

Adamante, W.B.; Nuñez, A.P.O.; Barcellos, L.J.G.; Soso, A.B.; Finco, J.A. 2008. Stress in (*Salminus brasiliensis*) fingerlings due to different densities and time of transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60. n.3 p.755-761.

Albuquerque, W.F.; Zapata, J.F.F.; Almeida, R.S. 2004. Estado de frescor, textura e composição muscular da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) abatida com dióxido de carbono e armazenada em gelo. **Revista Ciência Agronômica**, Vol. 35, Número Especial: 264 – 271.

Almeida, N.M.; Batista, G.M.; Kodaira, M., Lessi, A.L.V.E. 2005. Determinação do índice de rigor-mortis e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma macropomum*), de piscicultura e conservados em gelo, **Ciência Rural**. Santa Maria, v.35, n.3.

Almeida, N. M.; Batista, G. M.; Kodaira, M.; Lessi, E. 2006. Alterações pós-mortem em tambaqui (*Colossoma macropomum*) conservados em gelo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1288-1283.

Amlacher, E. **Rigor mortis in fish**. In: Borgstrom, G. (Ed.) Fish as Food. New York: Academic Press, Cap 12, p.385-409, 1961.

Araújo -Lima, C.; Golding, M. 1998. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Sociedade Civil Mamirauá, Brasília, DF. 186pp.

Araujo-Lima, A. R. M.; Gomes, L. C. 2005. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisseroto, B.; Gomes, L. C. (Eds). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria. Ed. da UFSM. p.468.

Argenta, F. F. 2012. **Tecnologia de pescado: Características e processamento da matéria-prima**. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Faculdade de Veterinária. Curso de especialização em Produção, tecnologia e higiene de alimentos de origem animal. 61pp.

Ashley, P. J. 2007. Fish welfare: current issues in aquaculture. **Applied Animal Behaviour Science**, 104: 199-235.

Bagni, M., Civitareale, C., Priori, A., Ballerini, A., Finoia, M., Brambilla, G., Marino, G., 2007. Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture** 263, 52–60.

Bagni, M.; Priori, A.; Finoia, M.G.; Bossu, T.; Marino, G. 2002. Evaluation of pre-slaughter and killing procedures in sea bream (*Sparus aurata*). In: Proceedings of the “Aquaculture Europe 2002: Sea Farming Today and Tomorrow”. **Special Publication** n. 32, pp. 135–136.

Bahuaud D, T Mørkøre, TK Østbye, E Veiseth-Kent, MS Thomassen, R Ofstad. 2010. Muscle structure responses and lysosomal cathepsins B and L in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) pre- and post-rigor fillets exposed to short and long-term crowding stress. **Food Chemistry** 118, 602-615.

Barbosa, I. S. 2011. **Análise das características sensoriais do pescado recepcionado em três entrepostos da cidade de MANAUS-AM**. Trabalho de conclusão de curso. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de Medicina Veterinária. p.34.

Barcellos, L.J.G.; Nicolaiewsky, S.; Souza, S.M.G.; Lulhier, F. 1999. Plasmatic levels of cortisol on the response to acute stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) previously exposed to chronic stress. **Aquaculture Research**, v.30, p. 437-444.

Barnett, C.W.; Pankhurst, N.W. 1998. The effects of common laboratory and husbandry practices on the stress response of greenback flounder Rhombo solea tapirina (Günther, 1862). **Aquaculture**. 162:313-329.

Barros, G. C. 2003. Perda de qualidade do pescado deteriora e putrefação. **Revista CFMV Conselho Federal de Medicina Veterinária**. Brasília: 9 (30): 59-64.

Barton, B.A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integ. Comp Biol.**, 42: 517-525.

Batista, G.M.; Lessi, E.; Kodaira, M.; Falcão, P.T. 2004. Postmortem biochemical changes in matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) coming from the fish, kept in ice. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24 (4): 573-581.

Bello, R.A.; Rivas, W.G. 1992. Evaluacion y aprovechamiento de la cachama (*Colossoma macropomum*) cultivada, como fuente de alimento. In: Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion. Italy, Mexico **FAO**, D.F, n.2, 113p.

Bogdanovic, T.; Simat, V.; Frka-roić, A.; Markovi, K. 2012. Development and application of Quality Index Method scheme in a shelf-life study of wild and fish farm affected bogue (*Boops boops*). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 77, n. 2, p. S99, S106.

BRASIL. 2001. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA - Pescados e derivados**, Capítulo VII. Brasília.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. 2010. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura – Brasil 2008 - 2009**. Brasília, DF. 99 p.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. 2012. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura Brasil 2010 a 2011**. 129p.

Bremner, H. A. A. 1985. Convenient, easy to use system for estimating the quality to chilled sea foods. **Fish Process Bulletin**, n. 7, p. 59-70.

Britto, E.N.; Lessi, E.; Cardoso, A. L.; Falcão P.T. J. G.; Santos. 2007. Deterioração bacteriológica do jaraqui capturado no estado do Amazonas e conservado em gelo. **Acta Amazonica**, v.37, 3: 457-464.

Bykowski, P.; Dutkiewicz, D. 1996. Fresh water fish processing and equipment in small plant. **FAO Fisheries Circular 905**, Roma. 69 p.

Carneiro, P.C.F.; Kaiseler, P.H.S.; Swarofsky, E.A.C.; Baldisserotto, B. 2009. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: water quality and blood parameters. **Neotropical Ichthyology**, v.7, n.2, p. 283-288.

Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C. 1998. Alterações metabólicas, hematológicas e osmorregulatórias do matrinxã (*Brycon amazonicus*) causados pelo estresse de transporte. **Anais da Aquicultura Brasil**. Recife, v.2. p.609-620.

Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C. 2001. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* during transport. **Aquaculture Research**, v.32, p.297-304.

Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C. 2002. Transport with different benzocaine concentrations and consequences on hematological parameters and gill parasite population of matrinxã (*Brycon cephalus*). **Acta Scientiarum**, v.24, n.2, p.555-560.

Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C., Bendhack, F. 2008. **Osmoregulation and fish transportation**. In: Fish Osmoregulation, Baldisserotto, B.; Mancera, J.M.; Kapoor., B.G. (Eds). Science Publishers. Enfield. NH. USA, p. 235-248.

Carvalho, M.R.B.; Kirschnik, P.G.; Viegas, E.M.M.; Aiura, F. F.; Melício, S.P.L.; Silva, J.D.T.; Pinto, M. M. , 2002. Alterações pós-morte no músculo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) abatidas com e sem estresse e estocadas a 0°C e 20°C. In:

Congresso brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais**. Campinas: SBCTA.

Castro, F.J.; Fernandez, M.N. 2009. **Efeito da infestação por parasitos na fisiologia e mecanismos de defesa inata de peixes cultivados**. EMBRAPA Amapá, p. 361-388.

Chagas, E.C.; Gomes, L.C.; Júnior, H.M.; Roubach, R. 2007. Produtividade de tambaqui criado em tanque-rede com diferentes taxas de alimentação. **Ciência Rural**, Santa Maria, 37(4): 1109-1115.

Conte, F.S. 2004. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behavior Science**, v.86, p.205-223.

Contreras-Guzmán, E. S. 1994. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: FUNEP. 409p.

Digre, H.; Erikson, U.; Misimi, E.; Lambooi, B.; van de Vis, H. 2010. Electrical stunning of farmed cod (*Gadus morhua*): comparison of an industrial and experimental method. **Aquaculture Research**, 41, 1190–1202.

Digre, H.; Erikson, U.; Skaret, J.; Lea, P.; Gallart Jornet, L.; Misimi, E. 2011. Biochemical, physical and sensory quality of ice-stored Atlantic cod (*Gadus morhua*) as affected by pre-slaughter stress, percussion stunning and AQUI-STM anaesthesia. **Euro Food Res Technol**, 233: 447-456.

Diniz, N. M.; Honorato, C. A. 2012. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo – Revisão. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** UNIPAR, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 149-154.

Duarte, E.; Silva, C.L.; Costa, D.C.; Pedreira, M.M. 2009. Bem estar de peixe: manejo e qualidade de carne. **Zootec.** Águas de Lindóia/SP. FZEA/USP-ABZ.

Echevengúá, M.M.; Echevengúá, W.O.; Carbonera, A.A.; Hernandez, C.P.; Figueiredo, R.C. 2008. Qualidade da polpa da carpa Húngara transportada viva ou no gelo. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p. 2004-2010.

EFSA Journal, 2009. Scientific opinion of the panel on animal health and welfare on a request from the European Commission on welfare aspect of the main systems of stunning and killing of farmed sea bass and sea bream. **EFSA J.** 1010, 1–52.

EFSA Journal, 2004. Welfare aspects of the main systems of stunning and killing the main commercial species of animals. **EFSA J.** 45, 1-29.

Emata, C. 2000. Live transport of pond-reared milkfish *Chanos chanos* forskal broodstock. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.31, p.279-282.

Erikson, U.; Hultmann, L.; Steen, J.E. 2006. Live chilling of Atlantic salmon (*Salmo salar*) combined with mild carbon dioxide anesthesia. I. Establishing a method for large-scale processing of farmed fish. **Aquaculture**, 252:183-198.

Erikson, U.; Misimi, E. 2008. Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Skin and Fillet Color Changes Effected by Perimortem Handling Stress, Rigor Mortis, and Ice Storage. **Food Chemistry**, v. 73, p. 50 –59.

Erikson, U. 2011. Assessment of different stunning methods and recovery of farmed Atlantic salmon: isoeugenol, nitrogen, and three levels of carbon dioxide. **Animal Welfare** 20, 365–375.

Erikson, U.; Lamboij, B.; Digre, H.; Reimert, H.G.M.; Bondo, M.; Van dervis, H. 2012. Conditions for instant electrical stunning of farmed Atlantic cod after dewatering, maintenance of unconsciousness, effects of stress, and fillet quality — A comparison with AQUI-S™. **Aquaculture**. 324-325 (2012) 135–144.

Erkan, N.; Ozden, O. 2006. Guttled and un-guttled sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice: Influence on fish quality and shelf-life. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v. 9, p. 331-345.

Erkan, N.; Ozden, O.; Inugur, M. 2007. The effects of modified atmosphere and vacuo packaging on quality of chub mackerel. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, p. 1297-1304.

Fagundes, M. 2009. **Estudos fisiológicos e metabólicos do estresse de manejo do pintado (pseudoplatystoma corruscans)**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista–UNESP centro de aquicultura da UNESP/Campos de Jaboticabal. SÃO Paulo. 148pp.

Fagundes, M.; Urbinati, E. C. 2008 Stress in pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) during farming procedures. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 276, n. 1-4, p. 112-119.

FAO, 2012. **Fisheries and Aquaculture Department food and agriculture organization of the united nations**. Fisheries Department. Roma, 230 pp.

Ferreira, D.; Barcellos, G.L.J. 2008. Enfoque combinado entre as boas práticas de manejo e as medidas mitigadoras de estresse na piscicultura. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, 34(4): 601–611.

Fontes, M.C.; Esteves, A.; Caldeira, F.; Saraiva, C.; Vieira-pinto, M.; Martins, C. 2007. Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1308-1315.

Galhardo, R.; Oliveira, R. 2006. Bem-estar animal: um conceito legítimo para peixes? **Revista de Etologia**, Ribeirão Preto, v. 8, n. 1, p. 51-61.

Galvão, J.A. 2011. **Rastreabilidade da cadeia produtiva do pescado: avaliação de parâmetros ambientais e sua influência na qualidade da matéria-prima destinada à indústria**. Tese de Doutorado. Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo. 203pp.

Gandra, A.L. 2010. **O mercado de pescado da região metropolitana de Manaus**. Proyecto: Mejoramiento del Acceso los Mercados de Productos Pesqueros y Acuículas CFC/FAO/INFOPECA. CFC/FSCFT/28.

Gatica M.C.G.; Monti, C.; Gallo, T.G.; Knowles, C.B.; Gallo. 2010. Effects of crowding on blood constituents and flesh quality variables in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Med Vet** 42, 187-193.

Gatica, M.C. G.; Monti, C.; Gallo, T.G.; Knowles, P.D.; Warriss. 2008. Effects of Well-Boat Transportation, on Muscle pH and Onset of Rigor Mortis of Atlantic Salmon. **Vet Rec** 163, 111-116.

Germano, P.M.L.; Germano, M.I.S.; Oliveira, C.A.F. 1998. Aspects of quality of fish that is relevant to public health. **Higiene Alimentar**, 12 (53): 30-37.

Giuffrida, A.; Pennisi, L.; Ziino, G.; Fortino, L.; Valvo, G.; Marino, S.; Panebianco, A. 2007. Influence of slaughtering method on some aspects of quality of gilthead sea bream and smoked rainbow trout. **Vet. Res. Commun.** 31, 437–446.

Gomes, L.C.; Araújo-Lima, C.A.R.M.; Roubach, R.; Chiparri-Gomes, A.R.; Lopes, N.P.; Urbinati, E.C. 2003. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal of Aquaculture Society** 34, 76-84.

Gomes, L. C.; Chagas, E. C.; Brinn, R. P.; Roubach, R.; Coppati, C. E.; Baldisserotto, B. 2006. Use of salt during transportation of air breathing pirarucu juveniles (*Arapaima gigas*) in plastic bags. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 256, n. 1-4, p. 521-528.

Gomes, L.M. 2006. **Influência das condições de manuseio e conservação na qualidade do pescado**. Trabalho de conclusão de curso. Instituto Qualittas de pós-graduação em Medicina Veterinária. São Paulo, p.43.

Gomez-Guillen, M.C.; Montero, P.; Hurtado, O.; Borderias, A.J. 2000. Biological characteristics that affect the quality of farmed atlantic salmon and smoked muscle. **Journal of Food Science**, 65 (1):53-60.

Harikrishnan, R.; Balasundaram, C.; Heo, M.S. 2011. Herbal supplementation diets on hematology and innate immunity in goldfish against (*Aeromonas hydrophila*). **Fish & Shellfish Immunology**, 28: 354-361.

Hamada-Sato, N.; Usui, K.; Kobayashi, T.; Imada, C.; Watanabe, E. 2005. Quality assurance of raw fish based on HACCP concept. **Food Control** 16(4):301-307.

Håstein, T.; Scarfe, A.D.; Lund, V.L. 2005. Science-based assessment of welfare: aquatic animals. **Revue Scientifique et Technique**- Office International des Epizooties, v. 24 (2), p. 529-547.

Hoshiaba, M.A.; Gonçalves, F.D.; Urbinati, E.C. 2009. Respostas fisiológicas de estresse no matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exercício físico intenso durante a captura. **Acta Amazonica**. vol. 39 (2), p. 445 – 452.

Hultmann, L.; Phu, T.M.; Tobiassen, T.; Ass-Hansen, O.; Rustad, T. 2012. Effects of pre-slaughter stress on proteolytic enzyme activities and muscle quality of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Food Chemistry**. 134 (2012) 1399–1408.

Huss, H.H. 1998. El pescado fresco: su calidad y câmbios de su calidad. **FAO Doc.Tec. de Pesca n.348**, Roma, 202p.

Hrubec, T.C.; Cardinale, J.L.; Smith, S.A. 2000. Hematology and chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). **Veterinary Clinical Pathology**, v.29, n. 1, p. 7-12.

Hyldig, G. Nielsen, D. 2001. A review of sensory and instrumental methods used to evaluate the texture of fish muscle. **Journal of Texture Studies** 32(3):219-242.

IBAMA - Instituto brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis, 2009. **Estatística da pesca 2008**, Brasil Grandes Regiões e Unidades da Federação. Brasília, DF. 184p.

Inoue, L.A.K.A.; Boijink, C.L.; Ibeiro, P.T.; Silva, A.M.D.; Affonso, E.G. 2011. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazônica**, vol. 41(2): 327-332.

Inoue, L.A.K.A.; Hackbarth, A.; Moraes, G. 2010. Benzocaína sobre respostas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte em sacos plásticos. **Rev. Bras. Saúde Prod.**, v.11, n.3, p.909-918.

- Isaac, V.J.; Rufino, M.L. 1996. Population dynamics of tambaqui (*Colossoma macropomum*), in the Lower Amazon, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, 3:315-333.
- Iversen, M.; Finstad, B.; Nilssen, K.J. 1998. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts.
- Iversen, M.; Eliassen, R.A.; Finstad, B. 2009. Potential benefit of clove oil sedation on animal welfare during salmon smolt, (*Salmo salar* L.) transport and transfer to sea. **Aquaculture Research**, v.40, p.233-241.
- Iversen, M.; Finstad, B.; McKinley, R.S.; Eliassen, R.A.; Carlsen, K.T.; Evjen, T. 2005. Stress responses in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts during commercial well boat transports, and effects on survival after transfer to sea. **Aquaculture** 243, 373–38.
- Iwama, G.; Afonso, L.; Mathilakath, V. 2004. **Stress in fish**. Campbell River: AquaNet Workshop on Fish Welfare, 278 p.
- Izel, A. C.U.; Pereira-Filho, M.; Melo, L.A.S.; Macedo, J.L.V. 2004. Avaliação de níveis protéicos para nutrição de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Acta Amazônica**, 34 (2): 179-184.
- Jesus, R.S.; Lessi, E. L.; Tenuta-filho, A. 2001. Estabilidade química e microbiológica de “minced fish” de peixes amazônicos durante o congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 21, n. 2, p. 144-148.
- Jittinandana, S.; Kenney, P.B.; Mazik, P.M.; Danley, M.; Nelson, C.D.; Kiser, R.A.; Hankins, J.A. 2005. Transport and stunning affect quality of arctic char fillets. **J Muscle Foods**, 16: 274-288.
- Knowles, T.G.; Brown, S.N.; Warriss, P.D.; Lines, J., Tinarwo, A.; Sendon, M. 2008. Effect of electrical stunning at slaughter on the quality of farmed turbot (*Psetta maxima*). **Aquac Res**, 39: 1731-1738.
- Korhonen, R.W.; Lanier, T.C. 1990. An evaluation of simple methods for flowing rigor development in fish. **Journal of Food Science**, 55(2)346-348.

Kristoffersen, S.; Tobiassen, T.; Steinsrud, V.; Olsen, R.L. 2006. Slaughter stress, post mortem muscle pH and rigor development in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). **International Journal of Food Science and Technology** 41, 861–864.

Kubitza, F.; Campos, J.L.; Ono, E.A.; Istchuk, P.E. 2012. Panorama da Piscicultura no Brasil (Parte I). Estatísticas, espécies, pólos de produção e fatores limitantes à expansão da atividade. **Panorama da Aquicultura**, 132: 14-25.

Kubitza, F.; Ono, E.O.; Lovshin, L.L. 2004. Planejamento da produção de peixes, 4.ed. Jundiaí: Kubitza.

Kubitza, F.2007. A versatilidade do sal na piscicultura. **Panorama da aquicultura**, 103: 14-23.

Kyrana, V.R.; Lougovois, V.P. 2002. Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.319-328.

Lamboij, E.; Gerritzen, M.A.; Reimert, H.; Burggraaf, D.; André, G.; Van Der Vis, H. 2008. Evaluation of electrical stunning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in seawater and killing by chilling: welfare aspect, product quality and possibilities for implementation, **Aquaculture research**, v. 39, p, 50-58.

Lamboij, E.; Van Der Vis, J.W.; Kloosterboer, R.J.; Pieterse, C. 2002. Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla Anguilla*): Neurological and behavioural assessment. **Aquaculture**, Amsterdam, 210: 159-169.

Lambooi, E.; Bialowas, H.; van den Boogaart, J.G.M.; van de Vis, J.W. 2007. Electrical and percussive stunning of the common carp (*Cyprinus carpio*): Neurological and behavioural assessment. **Aquacult Eng.** 37: 171-179.

Lambooi, E.; Kloosterboer, R.J.; Gerritzen M.A.; Van de vis, J.W. 2006. Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility. **Aquaculture**, v. 254, p. 388–395.

Lefèvre, F., Bugeon, J., Auperin, B., Aubin, J., 2008. Rearing oxygen level and slaughter stress effects on rainbow trout flesh quality. **Aquaculture** 284, 81–89.

Leitão, M.F.F. 1988. Microbiologia e Deterioração do Pescado Fresco e Refrigerado de Origem Fluvial ou Marinha. **Seminário sobre Controle de Qualidade na Indústria Pescado (Anais)**. ITAL. Santos, SP.

Lima L.C.; Ribeiro, L.P.; Malison, J.A.; Barry, T.P.; Heldj, A. 2006a. Effects of temperature on performance characteristics and the cortisol stress response of surubim (*Pseudoplatystoma spp*). **Journal of the World Aquaculture Society**, v.37, n.1, p.89-95.

Lima, L.C.; Ribeiro, L.P.; Leite, R.C.; Melo, D.C. 2006b. Estresse em peixes (Stress in fishes) - **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, p. 113-117.

Lines, J.; Kestin, S. 2005. Electric stunning of trout: power reduction using a two-stage stun. **Aquacult Eng**, 32: 483-491.

Lines, J.A.; Spence, J. 2011. Safeguarding the welfare of farmed fish at harvest. **Fish Physiol Biochem**, Doi: 10.1007/s10695-011-9561-5.

Macedo-Viegas, E. M.; Souza, M. L. R. 2004. Pré-processamento e conservação do pescado produzido em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt. cap. 14, p. 405-480.

Maciél, P.O.; Affonso, E.G.; Boijink, C.L.; Tavares-Dias, M.; Inoue, L.A.K.A. 2011. Myxobolus sp. (Myxozoa) in the circulating blood of (*Colossoma macropomum*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 21: 80-82.

Maeda, L.S. 1998. **Diagnóstico da piscicultura na região de produção em torno de Manaus**. Monografia (graduação). Universidade Federal do Amazonas. Manaus, Amazonas.

Matos, E.; Gonçalves, A.; Nunes, M.L.; Dinis, M.T.; Dias, J. 2010. Effect of harvesting stress and slaughter conditions on selected flesh quality criteria of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, 305:66-72.

Merkin, G.V.; Roth, B.; Gjerstad, C.; Dahl-Paulsen, E.; Nortvedt, R. 2010. Effect of pre-slaughter procedures on stress responses and quality of sea-farmed Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture** 309, 231–235.MPA.

Mc Donald, D. G.; Milligan, C. L. 1997. Ionic, osmotic and acid base regulation in stress. In: Iwama, G. K.; Pickering, A. D.; Sumpter, J. P.; Schreck, C. B. (Ed.). Fish stress and health in aquaculture. Cambridge: **Cambridge University Press**. p. 119-144.

Melo, D. C.; Oliveira, D. A. A.; Melo, M. M.; Júnior D. V.; Teixeira, E. A.; Guimarães, S. R. 2009. Perfil protéico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromis niloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 5, p. 1183-1190.

Mommsen, T.P.; Vijayan, M.M.; Moon, T.W. 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev Fish Biol Fisheries*, v.9, p. 211-268.

Morales, A.E.; Cardenete, G.; Abellán, E.; García-Rejón, L. 2005. Stress-related physiological responses to handling in common dentex. **Aquaculture Research**,36:33-40.

Morkore, T.; Hansen, A.A.; Unander, E.; Einen, O. 2002. Composition, liquid leakage, and mechanical properties of farmed rainbow trout: variation between fillet sections and the impact of ice and frozen storage. **J. Food Sci.** 67, 1933–1938.

Nakayama, T.; Liu, D.; Ooi, A. 1992. Tension change of stress unstressed carp muscle in isometric rigor contraction and resolution. **Nippon Suisan Gakkaish**, 58(8): 1517-1522.

Nielsen, D.; Green, D. 2007. Developing a quality index tool for hybrid striped bass (*Morone saxatilis x Morone chrysops*) based on Quality Index Method International **Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 42, p. 86-94.

Nunes, M. L.; Batista, I.; Cardoso C. 2007. **Aplicação do Índice de qualidade (QIM) na avaliação da frescura do pescado**. Lisboa: IPIMAR, 51 p.

Oba, E.T.; Mariano, W.S.; Santos, L.R.B. 2009. **Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável**. p 226-246.

Oetterer, M. 2004. Tecnologias emergentes para o processamento do pescado produzido em piscicultura. In: Cyrino, J. E. P. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt.

Ogawa, M. S.; Ogawa, N.B.P. 1999. Alterações do pescado post-mortem. In Ogawa, M Maia, E. L. (editores). **Manual de Pesca**. Fortaleza: Varela, 113-137 p.

Ogawa, N. B. P. 1999. Avaliação e controle da qualidade do pescado. In: Ogawa M.; Maia, E. L. **Manual de pesca**. São Paulo: Livraria Varela, v. 1, cap 11, p. 175-187.

Oliveira, E.R.N. 2004. Deterioração do frescor. **Qualidade do Pescado**. São Paulo: Toledo.

Oliveira, P. R. 2007. **Qualidade do pirarucu (Arapaima gigas) procedente de piscicultura estocado em gelo, congelados e de seus produtos derivados**. Tese (Doutorado). PPG Biologia de Água Doce e Pesca Interior- UFAM /INPA. 130 pp.

Oliveira, R. F.; Galhardo, L. 2007. Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e implicações para a piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, suplemento especial, p. 77-86.

Oliveira, S. R. 2008. **Efeito do levamisol sobre o desempenho produtivo e como mitigador do estresse de transporte do matrinxã (*Brycon amazonicus*)**. Dissertação de Mestrado, INPA/ UFAM - Programa Integrado de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais, Manaus, AM. 119pp.

Ono, E. A. 2005. Cultivar Peixes na Amazônia: Possibilidade ou Utopia? **Panorama da Aqüicultura**, 15: 41-48.

Ostrensky, A.; Borghetti, J.R.; Soto, D. 2008. **Aqüicultura no Brasil. O desafio é crescer**. Brasília-DF. 276pp.

Otani, F. S. 2009. **Influência da adição in vivo de vitamina E, e de métodos de abate nos atributos de qualidade de filés de tilápia**. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista, Caunesp - Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal. 72pp.

Pacheco-Aguilar, R.; Lugo-Sánchez, M.E.; Robles-Burgueño, M.R. 2000. Post mortem Biochemical and Functional Characteristic of Monterey Sardine Muscle Stored at 0°C. **Journal of Food Science**, v. 65, n.1.

Pádua, D.M.C. 2000. **Apontamentos de piscicultura**. Universidade Católica de Goiás. UCG. Goiânia.

Pedrazzini, A. S. et al. 2007. Bem-estar de peixes e a questão da sciência. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.12, n. 3, p. 60-70.

Pereda, J.A.O. et al. 2005. **Tecnologia de alimentos. Alimentos de origem animal**. Vol. 2. Editora Artmed. São Paulo. 279p.

Pérez, M. et al. 2001. Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios post-mortem y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*) cultivados. **Anales Venezolanos de Nutrición**, v.14, p. 53-59.

Pickering, A.D. 1981. Introduction: the Concept Biological Stress. In: Pickering A.D. (editor). **Stress and fish**. Academic Press, p.367.

Poli, B. M.; Parisi, G.; Scappini, F.; Zampacavallo, G. 2005. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. **Aquaculture Internacional**.
Porto, M.S.A. 2005. **Indicadores de estresse em peixes da Amazônia: sensibilidade em face do tipo do estressor**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Amazonas.

Pottinger, T.G.; Moran, T.; Morgan, J. 1994. Primary and secondary indices of stress in the progeny of rainbow trout (*Onchorrhynchus mykiss*) selected for high and low responsiveness to stress. **J. Fish Biol**, v.44, p.149-163.

Rahmanifarah, K.; Shabanpour, B; Sattari, A. 2011. Effects of clove oil on behavior and flesh quality of common carp (*Cyprinus carpio*) in comparison with pre-slaughter CO₂ stunning, chilling and asphyxia. **Turk J Fish Aqua Sci**, 11:139-147.

Resende, E.K. 2009. Pesquisa em rede em aquicultura: Bases tecnológicas para o desenvolvimento da Aquicultura no Brasil–AQUABRASIL. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 38: 52-57. (supl. especial) (2009).

Ribas, L.; Flos, R.; Reig, L.; MacKenzie, S.; Barton, B.A.; Tort, L. 2007. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. **Aquaculture** 269, 250–258.

Ribeiro, A.R.; Pereira, C.F.; Justus, M.M.; Almeida, J.V.P. 2005. Manejo pré-abate e bioquímica da carne de pescado. Artigo Técnico Rev. **Panorama da Aqüicultura**.

Riedel, G. 2005. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: 3ed. Atheneu. 320p.

Robb, D.H.F.; Wotton, S.B.; McKinstry, J.L.; Sørensen, N.K.; Kestin, S.C.; 2000. Commercial slaughter methods used on Atlantic salmon: determination of the onset of brain failure by electroencephalography. **Animal Welfare** 147, 298–303.

Robb, D. H. F.; Kestin, S. C. 2002. Methods used to kill fish: field observations and literature reviewed. **Animal Welfare**, v. 11, p. 269-282.

Rodrigues, T. P. 2008. **Estudo de critérios para avaliação da qualidade da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada, eviscerada e estocada em gelo**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, 116p.

Rolim, P.R. 1995. A infraestrutura básica para a criação de peixes no Amazonas. In: Val, A.L.; Honczaryk, A. (Ed.). **Criando peixes na Amazônia**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, p.7-16.

Roth, B.; Grimsbø, E.; Slinde, E.; Foss, A.; Stien, L.H.; Nortvedt, R. 2012. Crowding, pumping and stunning of Atlantic salmon, the subsequent effect on pH and rigor mortis. **Aquaculture**, 326- 329: 178-180.

Roth, B.; Slinde, E.; Robb, D.H.F. 2006. Field evaluation of live chilling with CO₂ on stunning Atlantic salmon (*Salmo salar*) and the subsequent effect on quality. **Aquac Res**, 37: 799-804.

Roth, B.; Torrissen, O. J.; Slinde, E. 2005. The effect of slaughtering procedures on blood spotting in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*salmo salar*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 250, p. 796-803.

Roubach, R.; Gomes, L.D.C. Mackinlay, D. 2004. **Fish Culture Performance in the Tropics**. International Congress on the Biology of Fish Tropical Hotel Resort, Manaus Brazil, August .1-5.

Sá, E. 2004. Conservação do pescado. **Revista Aqüicultura & Pesca**, Ano I, n.1, p.20-26.

Santos, E.C.B. 2013. **Métodos de abate e qualidade da Tilápia**. Tese de doutorado. Centro de aquicultura UNESP. Universidade Estadual Paulista. 100pp.

Santos, G.M.; Ferreira, E.J.G.; Zuanon, J.A.S. 2009. **Peixes Comerciais de Manaus**. 2^a Ed. – Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, p.144.

Santos, J. M. S. 2008. **Filetes de Pregado (*Psetta maxima*) Embalados em Atmosfera Modificada: Avaliação da qualidade física, química e microbiológica**. Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto para obtenção do grau de Mestre em Controlo de Qualidade na área Científica Água e Alimentos. p.170.

Santos, L.; Pereira-Filho, M.; Sobreira, C.; Ituassú, D.; Fonseca, F.A.L. 2010. Exigência protéica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. **Acta Amazonica**, 40(3): 597-604.

SÃO PAULO. Instituto Adolfo Lutz. 2008. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. 4.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1002 p.

Savay da Silva, L. K.; Riggo, R.; Martins, P.E.; Galvão, J.A.; Oetterer, M. 2008. Otimização e padronização do uso de metodologia para a determinação de bases

nitrogenadas voláteis totais (BNVT) em camarão (*Xyphopeneaeus kroyeri*). **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, VII BMCFB. Preprint Series, n.20, p. 138-144.

Scherer, R.; Augusti, P.R.; Bochi, V.C.; Steffens, C.; Fries, L.L.M.; Daniel, A.N.; Kubota, E.H.; Radunz Neto, J.; Emanuelli, T. 2006. Chemical and microbiological quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) slaughtered by different methods. **Food Chem**, 99: 136-142.

Scherer, R.; Augusti, P.R.; Steffens, C.; Bochi, V.C.; Hecktheurer, L.H.; Lazzari, R.; Radunz-Neto, J.; Pomblum, S.C.G.; Emanuelli, T. 2005. Effect of slaughter method on post mortem changes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) stored in ice. **J Food Sci**, 70: 348-353.

Schreck, C.B. 2000. Accumulation and long-term effects stress in fishes. In: Moberg G.P.; Manch, J.A. (Eds.). **The Biology of Animal Stress**. CAB International, p. 147–158.

Sigholt, T.; Erikson, U.; Rustad, T.; Johansen, T.S. 1997. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farm-raised Atlantic salmon. **Journal of Food Science**.

Sikorski, Z.E.; Kolakowska, A. 1990. Cogelacion de los alimentos marinos. In: Zdzislaw E. Sikorski. **Tecnologia de los productos del mar**. Editora Acriibia, España. P. 149-157.

Silveira, U.S.; Logato, P.V.R.; Ponte, E.C. 2009. Fatores estressantes em peixes. **Revista eletrônica Nitritime**. 6(4): 1001-1017.

Siqueira, A.A.Z.C. 2001. **Efeitos da irradiação e refrigeração na qualidade e no valor nutritivo da tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 137p.

Soares, K.M.P.; Gonçalves, A.A. 2012. Aplicação do método do índice de qualidade (MIQ) para o estudo da vida útil de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sem pele, armazenados em gelo. **Ciências Agrárias**, v.33; n.6, p. 2289-2300.

Stien, L.H.; Hirmas, E.; Bjørnevik, M.; Karlsen, Ø.; Nortvedt, R.; Rørå, A.M.B.; Sunde, J., Kiessling, A. 2005. The effects of stress and storage temperature on the colour and texture of pre-rigor filleted farmed cod (*Gadus morhua*). **Aquaculture Research**, 36, 1197–1206.

Sveinsdóttir, K.; Martinsdóttir, E.; Thórsdóttir, F.; Schelvis, R.; Kole, A.; Thórsdóttir, I. 2010. Evaluation of farmed cod products by a trained sensory panel and consumers in different test settings. **Journal of Sensory Studies**, 25, 280–293.

Takahashi, L.S.; Abreu, J.S.; Biller, J.D.; Urbinati, E.C. 2006. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. **Acta Scientiarum**. v.28, p.469-475.

Tang, S.; Brauner, C.J.; Farrell, A.P., 2009. Using bulk oxygen uptake to assess the welfare of adult Atlantic salmon, (*Salmo salar*), during commercial live-haul transport. **Aquaculture** 286, 318–323.

Tavares-Dias, M.; Sandrim, E.F.S.; Moraes, F.R.; Falanghe, P.C. 2001. Physiological responses of “Tambaqui” (*Colossoma macropomum*) to acute stress. **Boletim do Instituto de Pesca**, 27: 43-48.

Tavares-Dias, M.; Mataqueiro, M.I. 2004. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de (*Piaractus mesopotamicus*) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. Maringá, 26 (2): 157-162.

Tavares-Dias, M.; Ishikawa, M. M.; Martins, M. L.; Satake, F.; Hisano, H.; Pádua, S. B.; Jerônimo, G. T.; Sant’ana, A. R. 2009. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo. In: Saran-neto, M.; Pozzobon-soria, W. S. (Ed.). **Tópicos especiais em saúde e criação animal**. São Carlos, p. 43-72.

Tejada, M. 2009. ATP-derived products and K-value. In: Rehbein, H.; Oehlenschläger,

J.(Eds.), **Fishery Products Quality, Safety and Authenticity**. Wiley-Blackwell, Oxford, pp. 68–81.

Teodoro, A.J.; Andrade, E.C.B.; Mano, S.B. 2007. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação de sardinhas (*Sardinella brasiliensis*) **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 27(1): 158-161.

Thomas, P.M.; Pankhurst, N.W.; Bremner, H.A. 1999. The effect of stress and exercise on post mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout. **Journal of Fish Biology** 54: 1177–1196.

Tsuzuki, M.Y.; Ogawa, K.; Strüssmann, C.A.; Maita, M.; Takashima, F. 2001. Physiological responses during stress and subsequent recovery at different salinities in adult pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). **Aquaculture**, Amsterdam 200. 349-362.

Urbinati, E.C.; Carneiro, P.C.F. 2001. Metabolic and hormonal responses of the matrinxã (*Brycon cephalus*) to the stress of transport under the influence of benzocaine. **Journal of the Aquaculture in the Tropics**, 16(1): 75-85.

Urbinati, E.C.; Abreu, J.S.; Camargo, A.C.S.; Landines, M.A. 2004. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*) at various densities. **Aquaculture**, v.229, p.389-400.

Urbinati, E. C.; Carneiro, P. C. F. 2006. Sodium chloride added to transport water and physiological responses of Matrinxã (*Brycon amazonicus*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 4, p. 569-572.

Urbinati, E. C.; Carneiro, P.C.F. 2004. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: Cyrino, J.E.P. et al. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt; Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p. 171-194.

Usydus, Z. et al. 2009. Fish products available in Polish market—Assessment of the nutritive value and human exposure to dioxins and other contaminants. **Chemosphere**, v. 74, n.11 p. 1420–1428.

Val, L. A.; Honczarysk, A. 1995. **Criando peixes na Amazônia**. MCT/INPA. Manaus, Amazonas, Brasil. 160pp.

Vargas, S.C. 2011. **Avaliação de métodos de abate sobre a qualidade da carne de matrinxã (*Brycon cephalus*), armazenadas em gelo**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos. Universidade de São Paulo. 85pp.

Viegas, E. M. M.; Pimenta, F.A.; Previero, T.C.; Gonçalves, L.U.; Durães, J.P.; Ribeiro, M.A.R.; Oliveira Filho, P.R.C. 2012. Métodos de abate e qualidade da carne de peixe. **Arch. Zootec.** 61 (R): 41-50.

Weil, L.; Barry, T.; Malison, J. 2001. Fast growth in rainbow trout is correlated with a rapid decrease in post-stress cortisol concentrations. *Aquaculture*, v.193, p.373-380.

Wendeelar Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, v.77, n.3, p.591-625.

8. ANEXOS

Anexo 01: Método do Índice de Qualidade (MIQ) - Análise sensorial do peixe inteiro

Parâmetro de Qualidade	Características	Pontos	Descrição
Aparência geral	Pele/Escamas	0	Brilhante, resplandecente.
		1	Brilhante
		2	Opaca
	Textura/Dureza	0	Mole, em pré-rigor
		1	Duro, em rigor mortis
		2	Elástico
		3	Firme
		4	Suave
	Elasticidade	0	Não marcado pela pressão
		1	Marcado pela pressão
	Odor	0	Ausência total de “offflavour”
		1	Leve presença de “off-flavour”
		2	Presença de “off-flavour”
Olhos	Transparência	0	Claros
		1	Opacos
	Forma	0	Normal
		1	Planos
		2	Fundos
Guelras	Cor	0	Vermelho característico
		1	Pálida, descolorida, marrom
	Odor	0	Frescas, algas
		1	Neutro
		2	Doce/ligeiramente azedo
		3	Ágrio/Azedo
	Total	0 -16	

Anexo 02: Acompanhamento da entrada do *rigor mortis* do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h), abatidos por asfixia com CO₂ e hipotermia.

ENTRADA DO ÍNDICE DE RIGOR MORTIS (%)											
TEMPOS	DESPESCA		TRANSPORTE 4h		REC 24h		REC 48h				
ABATE	ASF/CO₂^a	HIP^b									
MIN											
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
15	10,98	11,53	17,57	39,58	13,06	8,21	2,48	0,5			
30	20,94	22,13	18,75	59,39	32,89	11,86	8,93	5,57			
45	28,80	29,52	36,25	85,12	43,13	16,04	13,61	10,95			
60	36,66	43,56	59,50	100	47,97	32,48	19,02	10,95			
75	47,61	57,14	75,00	-	50,05	40,94	29,54	17,86			
90	73,08	66,66	87,50	-	53,18	51,15	29,54	24,45			
105	82,14	79,75	96,87	-	58,11	59,52	37,47	28,50			
120	92,85	90,47	100	-	66,93	75,51	43,40	33,38			
135	100	100	-	-	69,17	78,40	52,42	39,79			
150	-	-	-	-	76,06	86,51	55,98	46,37			
165	-	-	-	-	86,15	98,17	62,98	55,15			
180	-	-	-	-	91,31	100	64,98	63,94			
195	-	-	-	-	98,24	-	70,21	79,79			
210	-	-	-	-	100	-	74,25	88,66			
225	-	-	-	-	-	-	84,44	93,04			
240	-	-	-	-	-	-	88,65	97,75			
255	-	-	-	-	-	-	100	100			

Anexo 03: Acompanhamento da saída do rigor mortis do tambaqui em diferentes tempos amostrais (despesca; transporte de 4h; recuperação de 24 e 48h), abatidos por asfixia com CO2 e hipotermia.

SAÍDA DO ÍNDICE DE RIGOR MORTIS (%)									
TEMPOS	DESPESCA		TRANSPORTE 4h		REC 24h		REC 48h		
ABATE	ASF/CO ₂ ^a	HIP ^b							
Dias									
1	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	100	100	100	100	100	100	100	100	100
3	100	100	100	100	100	100	100	100	100
4	100	100	100	100	100	100	100	100	100
5	100	100	100	100	100	100	100	100	100
6	100	100	100	100	100	100	100	100	100
7	100	100	100	100	100	100	100	100	100
8	100	100	100	100	100	100	100	100	100
9	100	100	100	100	100	100	100	100	100
10	100	100	100	100	100	100	100	100	100
11	100	100	100	100	100	100	100	100	100
12	100	100	97,15	92,59	100	100	100	100	100
13	100	100	92,50	88,75	100	100	100	100	100
14	100	100	88,75	85,18	100	100	100	100	100
15	100	100	87,50	77,77	100	100	100	100	100
16	95,45	100	85,00	74,07	100	100	100	100	100
17	93,93	96,97	81,25	70,37	100	100	100	100	100
18	92,42	92,42	76,25	62,96	100	100	100	100	100
19	92,42	92,42	73,75	59,25	100	100	100	100	100
20	90,90	90,90	71,25	58,76	97,26	93,44	100	100	100
21	86,36	84,84	67,50	53,21	94,52	91,80	100	100	100
22	81,81	78,78	63,75	45,86	93,15	90,16	100	100	100
23	81,81	75,75	57,50	41,90	86,30	83,60	100	100	100
24	77,27	71,21	56,25	35,18	84,93	77,04	96,49	92,85	

