

Métodos para Análise de Pescados



ISSN 0104-866X

Maio, 2009

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Meio-Norte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 189

Métodos para Análise de Pescados

*Fabíola Helena dos Santos Fogaça
Angela Puchnick Legat
Alitieni Moura Lemos Pereira
Jefferson Francisco Alves Legat*

Embrapa Meio-Norte
Teresina, PI
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Meio-Norte

Av. Duque de Caxias, 5.650, Bairro Buenos Aires,
Caixa Postal: 01
CEP 64006-220 Teresina, PI.
Fone: (86) 3089-9100
Fax: (86) 3089-9130
Home page: www.cpamn.embrapa.br.
Email: sac@pamn.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Flávio Favaro Blanco*
Secretária Executiva: *Luísa Maria Resende Gonçalves*
Membros: *Paulo Sarmanho da Costa Lima, Fábio Mendonça Diniz, Cristina Arzabe, Eugênio Celso Emérito Araújo, Danielle Maria Machado Ribeiro Azevêdo, Carlos Antônio Ferreira de Sousa, José Almeida Pereira e Maria Teresa do Rêgo Lopes*

Supervisor editorial: *Lígia Maria Rolim Bandeira*
Revisor de texto: *Lígia Maria Rolim Bandeira*
Normalização bibliográfica: *Orlane da Silva Maia*
Editoração eletrônica: *Jorimá Marques Ferreira*
Foto da Capa: *Fabíola Helena dos Santos Fogaça*

1ª edição

1ª impressão (2009): 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Meio-Norte**

Métodos para análise de pescados / Fabíola Helena dos Santos Fogaça ...
[et al.] - Teresina : Embrapa Meio-Norte, 2009.
40 p. ; 21 cm. - (Documentos / Embrapa Meio-Norte, ISSN 0104-866X
; 189).

1. Peixe. 2. Análise de alimento. 3. Valor nutritivo. I. Fogaça, Fabíola Helena dos Santos. II. Embrapa Meio-Norte. III. Série. CDD 664.94 (21. ed.)

© Embrapa, 2009

Organizadores

Fabíola Helena dos Santos Fogaça

Zootecnista, M. Sc. em Aquicultura,
pesquisadora da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI,
Laboratório de Alimentos e Nutrição
fabiolafogaca@cpamn.embrapa.br

Angela Puchnick Legat

Oceanóloga, M. Sc. em Oceanografia Biológica,
pesquisadora da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI,
Laboratório de Biotecnologia Aquática
angelapl@cpamn.embrapa.br

Alitiane Moura Lemos Pereira

Aquicultora, D. Sc. em Aquicultura, pesquisadora
da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI,
Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos
alitiene@cpamn.embrapa.br

Jefferson Francisco Alves Legat

Oceanólogo, M. Sc. em Oceanografia Biológica,
pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI,
Laboratório de Recursos Pesqueiros
legat@cpamn.embrapa.br

Agradecimentos

Às professoras Dra. Léa Silvia Sant'Ana, Dra. Maria Isabel F. V. Gomes e Dra. Regina Marta Evangelista, da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu-SP, pelo material técnico. Aos funcionários do Laboratório de Tecnologia do Pescado da UNESP pelas dicas na execução e cálculos das análises.

Apresentação

A análise química é uma ferramenta importante para caracterizar o valor nutricional dos alimentos na alimentação animal e humana. Esta análise possibilita reconhecer e identificar as propriedades gerais dos alimentos, determinando sua composição química, permitindo ainda verificar a qualidade do pescado durante a estocagem por meio da determinação de substâncias derivativas da deterioração dos componentes dos alimentos.

No Meio-Norte, o levantamento da qualidade do pescado é de grande importância para o desenvolvimento da indústria pesqueira, garantindo o beneficiamento, sem comprometimento da qualidade nutricional do produto, melhorando seu estado higiênico sanitário, estendendo sua vida de prateleira e contribuindo para a segurança alimentar e das boas práticas de produção de pescado em geral.

Este documento descreve as metodologias de análise de alimentos, especificamente para pescados e carnes em geral, que podem ser realizadas, com o objetivo de padronizar as determinações do valor nutricional dos alimentos na Unidade.

Hoston Tomás Santos do Nascimento
Chefe-Geral da Embrapa Meio-Norte

Sumário

Métodos para Análise de Pescados	11
Procedimentos Padrões	11
Amostragem	11
Conservação e preparo das amostras	12
Planilhas e identificação das amostras	13
Levantamento dos reagentes e materiais necessários	13
Vestimentas e equipamentos de proteção	14
Metodologias das análises	15
Umidade (método gravimétrico).....	15
Cinzas (método gravimétrico)	17
Proteína Bruta (método Kjeldahl)	19
Lipídeos ou extrato etéreo (método gravimétrico) .	23
Potencial hidrogeniônico (pH)	25

Determinações de bases nitrogenadas voláteis (BNV)	27
Oxidação lipídica (avaliação da substância reativas ao ácido tiobarbitúrico - SRATB)	30
Referências	34
Anexos	35
Anexo I. Modelo de ficha para análise de umidade e cinzas	36
Anexo II. Modelo de ficha para análise de proteína bruta	37
Anexo III. Modelo de ficha para análise de lipídeos	38
Anexo IV. Modelo de ficha para análise de SRATB	39

Métodos para Análise de Pescados

Fabíola Helena dos Santos Fogaça

Angela Puchnick Legat

Alitiene Moura Lemos Pereira

Jefferson Francisco Alves Legat

Procedimentos Padrões

Amostragem

A coleta de amostras de alimentos, visando à análise química, tem por finalidade obter uma amostra perfeitamente representativa da média do material a ser analisado. Por isso, torna-se essencial todo cuidado na coleta, pois os erros cometidos nessa fase não poderão ser retificados ou compensados nas análises.

Do material para estudo, devem ser retiradas numerosas amostras parciais, colhidas de diferentes pontos do local de interesse: no caso de peixes, de diferentes partes do filé, e para ostras, caranguejos e camarões, coletar vários indivíduos e retirar partes do músculo de cada um, e depois homogeneizá-las. O ideal é obter pelo menos quatro amostras de cada tratamento ou parcela que será estudada. Depois de colhidas, as amostras devem ser colocadas em sacos plásticos e transportadas em caixas térmicas com gelo até o laboratório.

Durante o transporte pode ocorrer perda de água e umidade dos pescados, por isso é muito importante que essa fase seja executada em horários de temperaturas mais amenas e sempre com auxílio de gelo ou materiais que mantenham as amostras em temperaturas próximas a 5 °C.

Conservação e preparo das amostras

A manipulação das amostras até o momento de sua análise deverá ser tão cuidadosa quanto possível, para evitar alterações nos princípios nutritivos. Quando as análises não forem realizadas logo após a coleta, é possível manter as amostras resfriadas em temperaturas entre 5 °C por no máximo um dia, ou mesmo congelá-las a -18 °C até o momento das análises, por um período de até três meses, dependendo do tipo de análise que será realizada.

Antes de cada análise, as amostras congeladas devem ser descongeladas em refrigerador a 5 °C, por 24 horas ou durante a noite anterior às análises.

Para manusear as amostras, é preciso utilizar luvas e avental, evitando-se o contato direto das mãos com os alimentos. A contaminação microbiológica pela manipulação é uma das principais causas de deterioração dos alimentos, por isso, todos os utensílios utilizados devem ser higienizados, incluindo as mãos dos manipuladores.

Para uma análise estatística com melhor acurácia, o ideal é obtermos amostras o mais representativas do grupo em estudo, assim, é preciso garantir quantidade e qualidade suficientes para execução das análises previstas.

Cada amostra deve ser triturada para melhor homogeneização do material, sendo que para cada análise, serão retiradas amostras parciais desse material preparado.

Planilhas e identificação das amostras

Durante a coleta e preparo das amostras, é preciso identificá-las com o máximo de informações possível: data da coleta, número da amostra ou do lote, identificação (peixe, filé, caranguejo, camarão etc), local de coleta (quando necessário), peso da amostra etc.

Essas informações são importantes para se evitar troca de amostras e erros durante a análise. As informações devem ser etiquetadas nos sacos plásticos onde as amostras forem estocadas. Se possível, colocar avisos em freezer e refrigeradores sobre as condições em que as amostras devem permanecer estocadas, e com os mesmos dados das etiquetas, para evitar abertura e fechamento de equipamentos sem necessidade e alteração da temperatura interna dos mesmos.

Cada amostra ou grupo de amostras deve ter uma planilha com seus dados e informações extras, como: amostra 2, lote 1, análise da vida útil do produto e tipo de análise a ser realizada.

Levantamento dos reagentes e materiais necessários

O levantamento, por meio de listagem de todo o material necessário para a realização das análises, bem como o preparo prévio dos reagentes e outros materiais que serão utilizados também são recomendados, inclusive com a verificação da data de validade dos reagentes, que deverá estar dentro do prazo indicado pelos fabricantes.

Uma dica é usar a lista dos materiais, reagentes e equipamentos, descrita em cada metodologia para auxílio no preparo do laboratório antes do início de cada análise.

Vestimentas e equipamentos de proteção

A maioria das análises de composição e deterioração de pescados e carnes utiliza como reagentes ácidos concentrados ou substâncias altamente voláteis, que quando inaladas ou em contato com a pele e mucosas provocam reações de intoxicação e mal estar.

Por isso, em um laboratório de análise de alimentos, o ideal é utilizar calça comprida, e de preferência de tecidos grossos como o jeans, sapatos fechados, jaleco ou avental, luvas e toucas.

Durante a manipulação de ácidos e reagentes, que deve ser realizada dentro de uma capela de exaustão de gases, é preciso o uso de protetores faciais, como máscaras e óculos, para evitar o contato dessas substâncias com a pele e olhos.

O uso de equipamentos de proteção individual (EPI) muitas vezes é negligenciado pelos próprios laboratoristas, por causa da vasta experiência na manipulação de químicos que eles possuem. No entanto, uma breve falha pode causar sequelas graves, sendo melhor prevenir esse tipo de acidente.

Metodologias das Análises

Umidade (método gravimétrico)

Introdução

A determinação de umidade é uma das medidas mais importantes e utilizadas na análise de alimentos. Está relacionada com sua estabilidade, qualidade e composição, e pode afetar as seguintes características do produto:

- Estocagem: alimentos estocados com alta umidade irão deteriorar mais rapidamente que os com baixa umidade.
- Embalagem: alguns tipos de deterioração podem ocorrer em determinadas embalagens se o alimento apresentar uma umidade excessiva.
- Processamento: a quantidade de água é importante no processamento de vários alimentos, pois interfere no tipo de produto que poderá ser elaborado, influenciando principalmente na sua textura.

Equipamentos e materiais:

- Cadinhos de porcelana.
- Balança analítica.
- Estufa.
- Dessecador.
- Pinça (para manusear os cadinhos).

Procedimentos:

- 1) Numerar os cadinhos com lápis.
- 2) Colocá-los em estufa a 105 °C por 40 minutos para tarar.
- 3) Retirar os cadinhos da estufa e esfriar em dessecador por uma hora.
- 4) Pesar os cadinhos em balança analítica.
- 5) Tarar a balança e pesar aproximadamente 2,0 gramas de amostra.
- 6) Aquecer em estufa a 105 °C por 24 horas.
- 7) Resfriar em dessecador e pesar a amostra seca.

Cálculo

$$\% \text{ Umidade} = \frac{(\text{peso cadinho} + \text{amostra úmida}) - (\text{peso do cadinho} + \text{amostra seca}) * 100}{\text{peso da amostra úmida}}$$

Fonte: Association of Official Analytical Chemists (2000).

Cinzas (método gravimétrico)

Introdução

Resíduo por incineração, resíduo mineral fixo ou cinzas, é o produto que se obtém após o aquecimento da amostra até a combustão completa da matéria orgânica que é toda transformada, basicamente, em água e dióxido de carbono. Essa determinação indica apenas uma riqueza da amostra em elementos minerais, sendo necessária análise específica para determinação do perfil de minerais dos alimentos.

Equipamentos e materiais:

- Cadinho de porcelana.
- Estufa.
- Forno tipo mufla.
- Pinça.
- Dessecador.
- Balança analítica.

Procedimentos:

- 1) Numerar os cadinhos com lápis.
- 2) Colocá-los em estufa a 105 °C por 40 minutos para tarar.
- 3) Retirar os cadinhos da estufa e esfriar em dessecador por uma hora.
- 4) Pesar os cadinhos em balança analítica.
- 5) Tarar a balança e pesar aproximadamente 2,0 gramas de amostra.
- 6) Incinerar a amostra em mufla em 550 °C até incineração completa ou coloração cinza.

- 7) Deixar a amostra esfriar até 100 °C dentro da mufla e depois transferir para o dessecador.
- 8) Deixar a amostra esfriar por 1 hora no dessecador.
- 9) Pesar a amostra seca em balança analítica.

Cálculo

$$\% \text{ Cinzas} = \frac{(\text{peso cadinho} + \text{cinzas}) - (\text{peso do cadinho}) * 100}{(\text{peso cadinho} + \text{amostra úmida}) - (\text{peso cadinho})}$$

Dica: a determinação das cinzas é normalmente feita com as mesmas amostras utilizadas na determinação da umidade. Colocam-se os cadinhos utilizados para determinação da umidade na mufla e segue-se o procedimento descrito acima.

Proteína bruta (método Kjeldahl)

Introdução

O procedimento baseia-se no aquecimento da amostra com ácido sulfúrico para digestão até que o carbono e hidrogênio sejam oxidados. O nitrogênio da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amônia. Adiciona-se NaOH concentrado à amostra, que se aquece para a liberação da amônia dentro de um volume conhecido de uma solução de ácido bórico, formando borato de amônia. O borato de amônia formado é quantificado com uma solução ácida (HCl) padronizada.

Equipamentos e materiais:

- Balança analítica.
- Balão de Kjeldahl.
- Gral e pistilo.
- Capela de exaustão de gases.
- Bloco digestor de proteína.
- Destilador de proteína.
- Piceta.
- Destilador de água.
- Balão volumétrico de 100 ml.
- Pipeta volumétrica de 5 ml.
- Erlenmeyer de 125 ml.
- Microbureta/titulador.
- Agitador magnético.

Reagentes:

- Sulfato de cobre (CuSO_4).
- Selenito de sódio (Na_2SeO_3).
- Sulfato de sódio (Na_2SO_4).
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4).
- Água destilada.
- Álcool etílico.
- Hidróxido de sódio (NaOH) a 50 %.
- Àcido clorídrico (HCl) a 0,1N.
- Ácido bórico
- Vermelho de metila a 0,1 %.
- Verde de bromocresol a 0,1 %.

Para essa análise é preciso preparar previamente uma mistura digestora e uma solução receptora:

• Mistura digestora:

- Pesar 8 g de sulfato de cobre
- Pesar 8 g de selenito de sódio.
- Pesar 80 g de sulfato de sódio.
- Misturar todos os ingredientes em gral até formar uma mistura bem homogênea.

- Solução receptora:

- Pesar 20 g de ácido bórico.
- Preparar 6,0 ml de uma solução alcoólica de vermelho de metila a 0,1 % (é preciso aquecer o vermelho de metila para diluí-lo em álcool).
- Preparar 15 ml de uma solução alcoólica de verde de bromocresol a 0,1 % (aquecer o verde de bromocresol e diluir em álcool etílico).
- Completar o volume para um litro de solução com água destilada.

Procedimentos:

- Digestão:

- Pesar aproximadamente 0,1 g de amostra em tubos de digestão.
- Adicionar aproximadamente 1 g de mistura digestora.
- Adicionar 6,0 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- Fazer um branco apenas com ácido sulfúrico e mistura digestora (sem amostra).
- Colocar os tubos no bloco digestor até obtenção de um líquido límpido e transparente.

- Destilação:

- Transferir quantitativamente, com auxílio de água destilada, a amostra do tubo de digestão para um tubo digestor, que se acopla ao aparelho de destilação.
- Em Erlenmeyer, colocar 10 ml de solução receptora.

- Após o Erlenmeyer e o tubo estarem devidamente colocados no aparelho de Kjeldahl, adicionar aproximadamente 40 ml de solução de NaOH a 50% ao funil alimentador do aparelho.
- Com o aquecimento, a amostra será destilada até um volume de aproximadamente 75 ml.

• Titulação:

- Titular o destilado com solução de HCl 0,1N em microbureta até coloração violeta e anotar o volume de ácido gasto (titular primeiro o branco).

Cálculo

A porcentagem de nitrogênio total foi obtida através da fórmula:

$$\% \text{ NT} = \frac{\text{volume de HCL} \times 0,01\text{N} \times 1,4}{\text{peso da amostra}}$$

Como o termo proteína bruta envolve um grande grupo de substâncias com estruturas semelhantes, determina-se a quantidade total de nitrogênio da amostra e depois se multiplica essa quantidade pelo fator de conversão 6,25, baseado no fato de as proteínas terem porcentagem de nitrogênio quase constante, em torno de 16 %.

Faz-se o seguinte cálculo: % Proteína = NT x 6,25

Fonte: Association of Official Analytical Chemists (2000).

Lipídeos ou extrato etéreo (método gravimétrico)

Introdução

De um modo geral as gorduras (lipídeos) encontram-se associadas com muitas outras substâncias acompanhantes e biogeneticamente relacionadas umas com as outras. As gorduras diferenciam-se entre si pela estrutura química ainda que apresentem propriedades físicas e químicas similares, como por exemplo, a solubilidade em solventes orgânicos. Essa característica é muito explorada nos processos analíticos de determinação de conteúdo lipídico total para a avaliação do valor nutritivo e para reconhecimento de falsificações. Quando associada a outras possibilidades analíticas, permite a avaliação de identidade, composição e qualidade. Para determinação do conteúdo de gordura de um alimento utiliza-se geralmente a extração com um solvente lipófilo, podendo ser utilizado o método de Soxhlet. O processo é eminentemente gravimétrico e está baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter de petróleo, ou nas quantidades de material dissolvido pelo mesmo solvente.

Equipamentos e materiais:

- Dessecador.
- Estufa.
- Cartucho feito de papel filtro.
- Aparelho extrator de Soxhlet.
- Balão receptor do Soxhlet.

Reagente:

Éter etílico.

Procedimentos:

- 1) Pesar de 2 a 5 g de amostra e colocar em cartuchos de papel filtro.
- 2) Dessecar em estufa a 105 °C por 3 horas.
- 3) Cobrir a boca dos cartuchos com algodão.
- 4) Numerar os balões com caneta hidrográfica.
- 5) Colocá-los em estufa a 105 °C por 40 minutos para tarar.
- 6) Retirar os balões da estufa e esfriar em dessecador por uma hora.
- 7) Pesar os balões em balança analítica.
- 8) Colocar os cartuchos no aparelho extrator de Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente.
- 9) A extração deve durar aproximadamente 8 horas.
- 10) Retirar os balões, colocar em estufa para volatilizar o éter residual e pesar.

Cálculo

O cálculo para obtenção da porcentagem de lipídeo é o seguinte:

$$\% \text{ Lipídeo} = \frac{(\text{peso do balão} + \text{óleo}) - (\text{peso do balão}) \times 100}{\text{peso da amostra}}$$

Fonte: Instituto Adolfo Lutz (1985).

Potencial hidrogeniônico (pH)

Introdução

O pH é o símbolo utilizado para a grandeza físico-química "potencial hidrogeniônico". Essa grandeza é um índice que indica o grau de acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer. O "p" vem do alemão *potenz*, que significa poder de concentração, e o "H" indica a concentração de íons de hidrogênio (H^+). Essa medida é muito utilizada para análise da deterioração do pescado durante a estocagem.

Equipamentos e materiais:

- Peagâmetro.
- Becker de 50 ml.
- Bastão para mexer amostra.
- Homogeneizador.
- Proveta.

Reagente:

- Água destilada.

Procedimentos:

- 1) Pesar 10 g da amostra.
- 2) Adicionar 40 ml de água destilada.
- 3) Homogeneizar.

- 4) Calibrar o peagâmetro.
- 5) Inserir o eletrodo de leitura na amostra.
- 6) Aguardar estabilização.
- 7) Anotar o valor de pH determinado.

Fonte: Kirschnik (2007).

Determinação de bases nitrogenadas voláteis (BNV)

Introdução

O método baseia-se na extração de materiais solúveis presentes no músculo, com o TCA (ácido tricloroacético), o qual precipita as proteínas e deixa os compostos nitrogenados em solução. Estes compostos (nitrogênio não-proteico) servem para avaliar frescor, estabelecer diferenças entre as espécies e, em alguns casos, explicar a origem do sabor alterado (peixes, moluscos, crustáceos).

Equipamentos e materiais:

- Homogeneizador.
- Aparelho de destilação micro-Kjeldahl e tubos para destilação.
- Balança analítica.
- Erlenmeyer de 250 ml.
- Funis de vidro.
- Papel de filtro.
- Provetas.

Reagentes:

- Ácido Tricloroacético (TCA) a 5 %.
- Ácido Clorídrico (HCL) a 0,01N.
- Ácido Bórico (H_3BO_3) com indicador misto (vermelho de metila + verde de bromocresol).
- Óxido de magnésio (MgO).

Procedimentos:

- 1) Pesar 20 g de músculo triturado e transferir para um Becker.
- 2) Acrescentar 120 ml de TCA.
- 3) Homogeneizar por 5 minutos.
- 4) Deixar decantar por 30 minutos.
- 5) Filtrar em funil de vidro com filtro de papel.
- 6) Medir 20 ml do filtrado e transferir para um tubo digestor de proteínas (fazer duplicata).
- 7) Acrescentar 1 g de MgO.
- 8) Colocar em um erlenmeyer de 250 ml com 20 ml de solução receptora (a mesma para a determinação de proteína bruta).
- 9) Destilar aproximadamente 70 ml no aparelho micro-kjeldahl.
- 10) Titular com HCL (0,01N) até a cor azul virar para rosa claro, anotando o volume de ácido gasto.

Cálculo

A BNV é expressa em mg N/100g de músculo. Para tanto, utiliza-se a fórmula:

$$\text{BNV} = \frac{\text{ml de HCL} \times \text{N} \times 14 \times 00 \times 134}{20 \times 20}$$

Em que:

*ml de HCl é o volume de ácido gasto.

*N = normalidade do HCl.

*134 corresponde à fração líquida total que estaria contida em 20 g de peixe extraídos com 120 ml de TCA. Considera-se que em média a carne de peixe tenha 70 % de água, logo, 20 g contribuiriam com 14g de água, que somada a 120 ml resulta em 134 de fração líquida total.

Fonte: Contreras-Gúzman (1988).

Oxidação lipídica (avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - SRATB)

Introdução

Muitos métodos químicos e físicos têm sido propostos para quantificar a formação dos compostos resultantes da oxidação lipídica em carnes. Os produtos mais freqüentemente medidos são hidroperóxidos e dienos conjugados, para a oxidação primária, e substâncias voláteis (SRATB) para a secundária. Entre eles existem vantagens e desvantagens, porém os mais simples e rápidos são baseados na quantificação de pigmentos medidos espectrofotometricamente. O ácido tiobarbitúrico (TBA), principal reagente utilizado nessa metodologia, reage com os tecidos produzindo uma coloração rosa, resultado da formação de um complexo entre os compostos oxidados de gordura, principalmente o malonaldeído, com o TBA. O teste de SRATB também possui correlação positiva entre seus valores e o escore de rancificação avaliado pela análise sensorial, sendo apropriado na determinação do estado de oxidação lipídica em alimentos.

Equipamentos e materiais:

- Balança analítica.
- Homogeneizador.
- Becker de 500 ml.
- Funis de vidro.
- Papel de filtro.
- Balão volumétrico de 50 ml.
- Provetas.
- Pipetas (0,5, 1, 2, 3, 4 e 5 ml).

- Tubos de cultura com tampa rosqueada.
- Agitador de tubos.
- Bico de bünsen.
- Estrutura para aquecer as amostras.
- Gelo.
- Suporte para tubos de ensaio.
- Cronometro.
- Espectrofotômetro.

Reagentes:

- Ácido tricloroacético (TCA) a 7,5%.
- Ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,02 M.
- Ácido clorídrico (HCl) 0,1 N.
- Água destilada.
- Tetraetoxipropano (TEP).

Preparo do TBA:

- 1) Pesar 0,3243 g de TBA.
- 2) Diluir em água destilada.
- 3) Adicionar 0,5 ml de HCl 0,1N.
- 4) Aquecer com agitação para diluir.
- 5) Esfriar e completar o volume para 100 ml.
- 6) Conservar em geladeira em embalagem escura por no máximo 5 dias.

Procedimentos:

- 1) Pesar 10 g de amostra em balança analítica.
- 2) Adicionar 50 ml de TCA 7,5 % e homogeneizar por 5 minutos.
- 3) Filtrar em papel de filtro qualitativo, recolhendo o filtrado em balão volumétrico de 50 ml.
- 4) Completar o volume do balão com TCA 7,5 %.
- 5) Medir 5 ml do filtrado e recolher em tubo de cultura com tampa (fazer em triplicata).
- 6) Adicionar 5 ml de TBA 0,02M e agitar mecanicamente.
- 7) Fazer um branco com 5 ml de TBA e 5 ml de TCA para calibrar o espectro.
- 8) Aquecer os tubos em banho-maria fervente por 10 minutos.
- 9) Esfriar em gelo.
- 10) Ler em espectrofotômetro a 532 nm.

Para quantificação da oxidação, é preciso determinar uma equação segundo uma curva padrão previamente determinada, conforme as especificações a seguir.

Solução de TEP

Fazer duas soluções para diluição:

- Solução 1: 0,1 ml de TEP em 100 ml de água destilada.
- Solução 2: 0,1 ml da solução 1 diluída em 100 ml de TCA 7,5 %.

Curva Padrão:

- 1) Preparar uma solução de ácido tiobarbitúrico 0,02 M.
- 2) Preparar uma solução mãe de tetraetoxipropano (TEP).
- 3) Preparar os pontos da curva padrão colocando os seguintes volumes:

TEP (ml)	TCA (ml)
0	5
1	4
2	3
3	2
4	1
4,5	0,5

- 4) Adicionar 5 ml de solução de TBA a cada tubo e agitar.
- 5) Aquecer os tubos em banho-maria fervente por 10 minutos.
- 6) Esfriar em gelo.
- 7) Ler em espectrofotômetro a 532 nm.
- 8) Construir uma curva padrão no Excel.

Fonte: Wyncke (1970).

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17th ed. Gaithersburg, 2000. 937 p.

CONTRERAS-GUZMÁN, E. S. Métodos químicos para análise do pescado. In: KAI, M.; RUIVO, U. E. **Controle de qualidade do pescado**. Santos: Leopoldianum, 1988. p. 196-209.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas; métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo, 1985. 533 p.

KIRSCHNIK, P. **Avaliação da estabilidade de produtos obtidos de carne mecanicamente separada de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)**. 2007. 92 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas e Veterinárias, Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal.

VYNCKE, W. Direct determination of the TBA value in trichloroacetic acid extract of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, Malden, v. 72, n. 12, p. 1084 -1087, 1970.

Anexos

ANEXO I

Modelo de ficha para realização das análises ANÁLISES DE UMIDADE E CINZAS

Data: ____/____/____

Responsável: _____

Amostra: _____

Projeto: _____

Amostra	Peso do cadinho	Peso da amostra úmida	Peso do cadinho + amostra seca	Peso da amostra seca	Umidade %	Peso do cadinho + cinzas	Cinzas %
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							

ANEXO II**Modelo de ficha para realização das análises
ANÁLISE DE PROTEÍNA BRUTA**

Data: ___/___/___

Responsável: _____

Amostra: _____

Projeto: _____

Amostra	Peso	Volume HCL	Volume final	Fator ácido	% N	% PROT
1			= volume HCl – volume do branco	0,01		
2				0,01		
3				0,01		
4				0,01		
5				0,01		

ANEXO III

Modelo de ficha para realização das análises ANÁLISE DE LIPÍDEOS

Data: ____ / ____ / ____

Responsável: _____

Amostra: _____

Projeto: _____

Amostra	Peso da amostra	Peso do balão	Peso do balão + amostra	% Lipídeo
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				

ANEXO IV**Modelo de ficha para realização das análises
ANÁLISE DE SRATB**

Data: __/__/__

Responsável: _____

Amostra: _____

Projeto: _____

Amostra	Peso da amostra	Leitura no espectro	mg de MDA/kg de amostra
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			