



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DENSIDADES DE ESTOCAGEM NO DESCANSO PRÉ ABATE
AFETAM O ESFORÇO RESPIRATÓRIO E MUSCULAR E QUALIDADE DO
FILÉ DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

SILVIA PRESTES DOS SANTOS

Dourados – MS
Fevereiro – 2023



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DENSIDADES DE ESTOCAGEM NO DESCANSO PRÉ ABATE
AFETAM O ESFORÇO RESPIRATÓRIO E MUSCULAR E QUALIDADE DO
FILÉ DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

SILVIA PRESTES DOS SANTOS

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cláucia Aparecida Honorato

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal da Grande Dourados, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia. Área de Concentração: Zootecnia e recursos pesqueiros.

Dourados – MS
Fevereiro – 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S237d Santos, Sílvia Prestes Dos

Densidade de estocagem no descanso pré abate afetam o esforço respiratório e muscular e qualidade do filé de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) [recurso eletrônico] / Sílvia Prestes Dos Santos. -- 2023.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Cláucia Aparecida Honorato da Silva.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Lesão Muscular. 2. Parâmetros Respiratórios. 3. Tilápia do Nilo. 4. Densidade de estocagem.
I. Silva, Cláucia Aparecida Honorato Da. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

**DENSIDADES DE ESTOCAGEM NO DESCANSO PRÉ ABATE AFETAM O
ESFORÇO RESPIRATÓRIO E MUSCULAR E QUALIDADE DO FILÉ DE
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

por

SILVIA PRESTES DOS SANTOS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE(A) EM ZOOTECNIA

Aprovado em: 27/02/2023



Dra. Cláucia Aparecida Honorato da Silva
Orientadora – UFGD



Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
UFMS



Dra. Leticia Fantini Hoag
Universidade de Aurnburn

AGRADECIMENTOS

Sou Imensamente grata a Deus por ter direcionado minha vida e me abençoado em todos os momentos, pela força nos momentos de cansaço e calma nos momentos de ansiedade.

Gratidão a minha Filha, Lauren Prestes Espíndola, e a minha mãe, Maria Sandra Prestes, pela paciência e colaboração nos momentos em que eu precisa demonstrar dedicação.

Gratidão incalculável a professora Cláucia Aparecida Honorato por aceitar ser minha orientadora, pelos ensinamentos, dedicação, resiliência e principalmente pela confiança e horas de trabalho dedicadas a esse processo de crescimento.

Gratidão aos professores do curso. Mesmo em tempos de tristeza e medo na pandemia não se recusaram em momento algum a lutar pelas necessidades dos alunos e fazendo o impossível pela transmissão de conhecimento.

Agradeço infinitamente aos amigos que Deus colocou em minha vida durante a pós graduação, em especial ao Thiago Gonsalo e Franklin Leandro que contribuíram para que a caminhada fosse lembrada pela diversão e tensões pré apresentações, e *In memória*, ao meu amigo Henrique Momo que nunca mediu esforços para me apoiar, me elogiar e acimar de tudo me incentivar a buscar sempre o melhor de mim. E ao James Luan n. Leite pela paciência em me auxiliar nos momentos finais de concretização desse sonho. Agradeço a todos que em algum momento estiveram presentes na minha vida.

RESUMO

A aquicultura tornou-se um contribuinte vital para a oferta de proteína de origem animal, especialmente quando as projeções demonstram aumento considerável da população o que favorece o aumento do consumo *per capita* de peixes. A tilápia é a espécie mais importante no Brasil, sendo que quando se observa a produção dessa espécie verifica-se que há um aumento considerável na produção nos últimos anos. Características como rusticidade, boa palatabilidade, conversão alimentar e teor proteico são pontos importantes da tilápia que fizeram com que ela ganhasse visibilidade. Porém, o aumento da piscicultura tem levado a preocupações com o bem-estar dos peixes em todas as fases de produção, desde a captura, transporte, insensibilização e abate. Medidas que busquem sempre realizar o manejo necessário em conformidade com o bem-estar está sendo priorizados, mesmo ainda não havendo legislações específicas no que se refere a pescado. Portanto, o estudo das consequências de diferentes densidades de estocagem pré-abate e métodos de insensibilização como a termonarose e a asfixia sobre os parâmetros bioquímicos, respiratórios e de lesão muscular associados às características de qualidade e sensoriais de filés da Tilápia do Nilo torna-se importantes para fornecer subsídios para a indústria aquícola aprimorar as técnicas de manejo do pescado.

Palavras-chaves: Bem estar animal; Manejo pré abate; Tilápia do Nilo.

ABSTRACT

Aquaculture has become a vital contributor to the supply of animal protein, especially when projections show a considerable increase in population, which favors an increase in per capita consumption of fish. Tilapia is the most important species in Brazil, and when the production of this species is observed, it is verified that there has been a considerable increase in production in recent years. Characteristics such as rusticity, good palatability, feed conversion and protein content are important points of tilapia that made it gain visibility. However, the increase in fish farming has led to concerns about the welfare of fish at all stages of production, from capture, transport, stunning and slaughter. Measures that always seek to carry out the necessary management in accordance with the well-being are being prioritized, even though there is still no specific legislation with regard to fish. Therefore, the study of the consequences of different pre-slaughter stocking densities and stunning methods such as thermonarcosis and asphyxia on the biochemical, respiratory and muscle injury parameters associated with the quality and sensory characteristics of Nile Tilapia fillets becomes important to provide subsidies for the aquaculture industry to improve fish management techniques.

Keywords: Animal welfare; Pre-slaughter management; Nile Tilapia.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
1 REVISÃO DE LITERATURA	1
1.1 Produção de Tilápia do Nilo	1
1.2 Manejo pré-abate e alterações bioquímicas	3
1.3 Alterações pós morte e qualidade do filé	5
2- REFERÊNCIAS	7
CAPÍTULO 2	15
1 INTRODUÇÃO	16
2- MATERIAL E MÉTODOS	17
2.1 Desenho experimental	18
2.2 PARÂMETROS ANALISADOS	19
2.2.1 - Análises hemogasométrica	19
2.2.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos	19
2.2.3 Análise de qualidade de carne	20
2.2.4 Análise sensorial	21
2.3 Análise de Dados	22
3- RESULTADOS	22
4- DISCUSSÃO	28
5 - CONCLUSÃO	33
6 - REFERÊNCIAS	34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Parâmetros hemogasométricos de Tilápias do Nilo submetidas a diferentes densidades de estocagem (50 e 300 kg/m³) e métodos de insensibilização (termonarcose e asfixia). 23
- Tabela 2**- Parâmetros bioquímicos de Tilápias do Nilo submetidas à depuração em diferentes densidades de estocagem (50 e 300 kg/m³) e métodos de insensibilização (termonarcose e asfixia). 24
- Tabela 3** - Tempo de *pré-rigor mortis* e parâmetros de qualidade de filés de Tilápias do Nilo submetidas à depuração em diferentes densidades de estocagem (50 e 300 kg/m³) e métodos de insensibilização (termonarcose e asfixia). 26
- Tabela 4**- Perfil sensorial de filés de Tilápias do Nilo submetidas a diferentes densidades de estocagem (50 e 300 kg/m³) e diferentes métodos de insensibilização (termonarcose e asfixia). 28

CAPÍTULO 1

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Produção de Tilápia do Nilo

O Brasil é um país rico em recursos naturais com importante potencial para a aquicultura (Rucinke et al., 2018). Acredita-se que a aquicultura teve início no século XVII, mas ganhou status profissional apenas na década de 1970, caracterizando a atividade como relativamente jovem no Brasil, porém com um grande mercado interno e capaz de suportar um crescimento viável do setor (Valente et al., 2011).

A aquicultura tornou-se um contribuinte vital para a oferta de alimentos, especialmente em países em desenvolvimento, onde o consumo de proteína de peixe representa considerável crescimento do consumo diário de proteína animal (Wu et al., 2022), e as projeções de aumento do consumo *per capita* entre 2019 e 2024 são de 1,3 %, em países desenvolvidos, e 2,8 %, em países em desenvolvimento (Santos et al., 2021).

Quando observa-se a produção global de tilápia em 2021, teve um ligeiro acréscimo de 2%, chegando a produção de 6,25 milhões de toneladas, com a China na liderança da produção global com cerca de 2 milhões de toneladas, o que representa 31,7% do total, seguida pela Indonésia com uma produção estimada de 14 milhões de toneladas e Egito que pela primeira vez ultrapassou a barreira de 1 milhão de toneladas (Associação Brasileira da Piscicultura, 2022).

Nesse mesmo ano a piscicultura brasileira teve uma produção de 534.005 toneladas de tilápia, o que colocou o Brasil em quarto colocado na produção global, com um crescimento de 9,8 % sobre o ano anterior (Associação Brasileira da Piscicultura, 2022). A tilápia consolida-se cada vez mais como a espécie mais cultivada no Brasil (Goes et al., 2018). Está presente em todas as regiões do país, como por exemplo a região Norte, tradicional polo de criação de peixes nativos, que em 2021 teve produção de 860 toneladas de tilápia, representou um incremento de quase 40% sobre o ano anterior (620 t) (Associação Brasileira da Piscicultura, 2022).

Essa espécie pode tolerar uma ampla gama de condições de cultivo, tolerando variações nos parâmetros físico-químicos da água e condições ambientais, isso devido a sua rusticidade, resistência ao manejo, precocidade e além disso possui alta conversão

alimentar (Rossato et al., 2022), tornando-se uma candidata bem sucedida para sistemas de aquicultura semi-intensivos e intensivos (El Basuini et al., 2022).

O aumento da piscicultura tem levado a preocupações com o bem-estar dos peixes em todas as fases de produção (Ghisi; Oliveira, 2016), razão pela qual o desenvolvimento sustentável do setor (Gomez; Zapata, 2022) gera preocupação da sociedade sobre a utilização dos animais para a produção de alimentos, levando em consideração que a maior preocupação recai no seu manejo pré-abate e abate (Mapa, 2022).

As intervenções de atordoamento que protegem o bem-estar animal devem induzir de forma confiável uma perda de consciência, ou seja, um estágio de insensibilidade nos peixes, que continua até que o peixe possa ser sacrificado (Jung-Schroers et al., 2020).

A insensibilização por termonarçose é mencionada em alguns estudos como uma técnica que pode gerar problemas quanto ao bem-estar dos peixes (Menger; Junior, 2021). Nesse método os peixes são deixados no gelo (ou água gelada) até morrerem por falta de oxigênio e o tempo necessário para detectar o estado de inconsciência, usando gelo, varia de 10 a 20 min, sendo praticamente impossível usar as reações comportamentais normais de fuga ou natação vigorosa como indicadores de bem-estar, pois o gelo pode ter um efeito imobilizador nos peixes (Mapa, 2022).

Estudos comprovam que a asfixia dos peixes em gelo anteriormente ao abate pode demorar mais de 15 minutos, podendo levá-lo a problemas osmorregulatórios e a exaustão (Menger; Junior, 2021). Atordoamento e morte da truta arco-íris de água doce, em particular a aplicação de asfixia em pastas de gelo, asfixia à temperatura ambiente ou exposição a CO₂ foram consideradas como resultando em baixo bem-estar animal (Jung-Schroers et al., 2020).

Apesar da normativa brasileira vigente que regula o abate de animais para açougue não contemplar peixes, mesmo não sendo uma exigência legal, a realização de abate humanitário desses animais é uma exigência ética e moral (Mapa, 2022).

Portanto, o estudo das consequências de diferentes densidades de estocagem pré-abate e métodos de insensibilização (termonarçose e asfixia) sobre os parâmetros bioquímicos, respiratórios e de lesão muscular associados às características de qualidade e sensoriais de filés da Tilápia do Nilo torna-se importantes para fornecer subsídios para a indústria aquícola aprimorar as técnicas de manejo do pescado.

1.2 Manejo pré-abate e alterações bioquímicas

O manejo pré-abate no processo de produção de tilápia no Brasil é uma etapa delicada, pois é nesse período que os peixes são estocados em altas densidades e as atividades associadas a captura, aglomeração e transporte podem resultar em estresse pelo aumento da atividade física (Honorato et al., 2014; Hong et al., 2019; Fantini et al., 2020). Mesmo quando realizados da maneira mais adequada, apresentam um impacto significativo na fisiologia, desempenho, qualidade e bem-estar dos peixes (Mendes et al., 2015; Papaharisis et al., 2019).

A resposta ao estresse é uma série de reações fisiológicas coordenadas que aumentam a capacidade de um organismo de manter a homeostase na presença de agentes ameaçadores (Qin et al., 2022; Anders et al., 2020).

Um dos estressores diretamente ligados ao manejo pré-abate em peixes é a exposição ao ar, situação que ocorre com grande frequência em peixes de cultivo durante a retirada do tanque, a captura, e depois ao serem acondicionados de volta (Honorato et al., 2014; Roiz et al., 2015), além de que a alta densidade de estocagem resulta em baixos níveis de oxigênio, sendo precursor de impactos estressantes em todo o corpo do animal (El basuini et al., 2022).

O declínio do oxigênio dissolvido durante o processo de transporte promove o aumento do metabolismo anaeróbico que induz a conversão do glicogênio em ácido láctico que se acumula no músculo causando um rápido declínio no pH do músculo, esse declínio no pH do músculo reduz a qualidade da carne, como a perda da capacidade de retenção de água e alterações na textura da carne (Rafaey et al., 2017; Fantini et al., 2020).

A glicose plasmática é um parâmetro amplamente utilizado como indicador sensível de estresse ambiental em peixes (Jia et al., 2021; Fantini et al., 2020). A hiperglicemia relacionada ao estresse é descrita para várias espécies de peixes (Kubitza, 1997; Lima et al., 2007; Gomes et al., 2019).

Além da glicose, outros parâmetros bioquímicos como ácido láctico são suscetíveis a condições de estresse (Jia et al., 2021), sendo que o suprimento de oxigênio intracelular inadequado, com baixa produção de adenosina trifosfato (ATP), acarreta menor rendimento da respiração anaeróbica (Hong et al., 2019; Banhara, 2021).

Avaliar a capacidade de transporte de oxigênio do peixe podem indicar o estado fisiológico e a saúde dos peixes em resposta a diferentes estressores (Jia et al., 2021).

As células musculares podem ser danificadas (Svete et al., 2012) e com isso as enzimas miocárdicas, como a creatina quinase (CK) e sua isoenzima CK-MB, que estão envolvidas no metabolismo dos cardiomiócitos, são liberadas no sangue, e esse aumento é indicativo de danos a células musculares e fadiga muscular (Sabow et al., 2016).

A CK é encontrada no músculo esquelético, miocárdio e outros órgãos, mas a maioria está no músculo esquelético, representando 96% da quantidade total e sua principal função é ajudar na síntese de energia durante exercícios intensos de curta duração (Tsai et al., 2022). A detecção das atividades enzimáticas miocárdicas no plasma é um importante indicador para medir o grau de dano aos cardiomiócitos (Li et al., 2021).

Estudos referentes a métodos de insensibilização, demonstraram que os parâmetros de CK e CK-MB foram maiores em situações que envolveram maior estresse e atividades físicas intensas antes do abate (Atamanalp et al., 2020), sendo comumente usada como um indicador para avaliar o dano muscular após o exercício (Sabow et al., 2016).

Após a chegada do peixe vivo à unidade de abate, é comumente realizado o processo de depuração, que tem por objetivo a recuperação do estresse do transporte, diminuição da carga microbiana na superfície e no trato digestório, e retirar o excesso de um determinado composto ou contaminante indesejado do organismo do pescado (Fontenele et al., 2013).

Em peixes, vários estudos têm demonstrado que o estresse pré-abate afeta também a cor, a textura e a perda de água da carne, sendo que o cuidado com o manejo dos animais até o abate traz consequências significativas tanto para o bem-estar dos animais quanto para a qualidade do produto final destinado aos consumidores (Venturini et al., 2018; Anders et al., 2020).

Os métodos recomendados são métodos que proporcionem baixo impacto negativo no bem-estar dos peixes, e entre os métodos considerados humanitários tem-se a morte por overdose anestésica, mais comum para peixes de laboratório, a insensibilização por percussão não perfurante ou perfurante e por choque elétrico, sendo que ambos os métodos de insensibilização requerem a morte imediata após a perda da consciência por corte, com ou sem a retirada das brânquias ou decapitação (Mapa, 2022).

A perda de respostas comportamentais dos peixes a estímulos externos ou indicadores de consciência do tronco cerebral, como movimentos respiratórios das

brânquias, pode ser usada para monitorar o sucesso do atordoamento durante o abate comercial de rotina (Jung-Schroers et al., 2020) e para avaliar se um método de insensibilização é satisfatório do ponto de vista de bem-estar animal, é importante determinar a rapidez do processo (Pedrazzani et al., 2009).

Os métodos de insensibilização mais conhecidos foram avaliados para identificar as consequências na qualidade final do pescado. Um dos métodos mais utilizados é a termonarcore, ou seja, é a imersão do peixe em água gelada, a uma temperatura em torno de 1° C.

Outro método de insensibilização foi por asfixia, em que ocorre com os peixes vivos acondicionados em tanques onde se bombeia CO₂ por cerca de 10 minutos (Freire; Gonçalves, 2013). Os métodos de insensibilização que envolvem maior atividade física antes da morte, combinado ao estresse pré-abate, levam ao consumo da reserva de energia de glicogênio às custas do ATP, ao mesmo tempo em que a produção de ácido láctico ocorre no músculo (Acerete et al., 2009; Hong et al., 2019).

Segundo Viegas et al. (2012), o abate ideal é o procedimento que considera o bem estar animal e a qualidade da carne. O abate realizado por secção medular, é realizado com auxílio de uma faca, introduzida a partir do opérculo até atingir a medula (Pedrazzini et al., 2007).

1.3 Alterações pós morte e qualidade do filé

A regulação do fornecimento de energia pode ser uma das partes mais importantes durante a resposta ao estresse em tilápias (Qin et al., 2022), pois o início e a força do *rigor mortis* afetam significativamente a qualidade do filé, devido à autólise mais rápida e maiores rupturas nos tecidos conjuntivos e musculares, fatores que podem dificultar o processamento do produto e causar desintegração do filé, além de alterações na cor, suculência, maciez e capacidade de retenção de água, reduzindo assim a vida útil do produto (Papaharisis et al., 2019; Fantini et al., 2020).

O *rigor mortis* é um índice essencial para o monitoramento da qualidade do pescado (Mendes et al., 2015). Caracteriza - se pela perda da extensibilidade dos músculos como resultado da alteração dos ciclos de contração e relaxamento muscular, sendo que inicia-se algum tempo após a morte, e é a primeira transformação que ocorre no peixe, seguido pela ação autolítica das enzimas musculares e a ação dos micro-organismos, culminando com a total deterioração da qualidade do pescado (Fontenele et

al., 2013).

Nesse sentido para transformação do músculo em carne, são necessárias transformações bioquímicas, iniciadas pelo processo *de rigor mortis* (Moura et al., 2018) e observa-se que o retardo do início do *rigor mortis* é benéfico para manutenção do frescor do pescado (Fontenele et al., 2013), qualidade e tempo de vida útil de sua carne (Mendes et al., 2015)

Vários métodos de insensibilização foram relatados como tendo efeitos diferentes no desenvolvimento do *rigor mortis* e na qualidade subsequente da carne (Mendes et al., 2015; Rucinke et al., 2018). A insensibilização por termonarose, confere para algumas espécies melhor qualidade da carne evidenciada por cor clara e menor vermelhidão quando comparadas com outras técnicas de insensibilização como a asfixia (Oliveira Filho et al., 2021).

Quando se observa a densidade de estocagem de algumas espécies verifica-se que também podem acarretar consequências para a qualidade da carne de peixes, como alteração na firmeza e na coloração (Anders et al., 2020).

A aceitabilidade do filé está correlacionada a suculência, sendo que estudos demonstraram que em peixes a qualidade é definida por uma carne firme e com boa capacidade de retenção de água, logo a maciez excessiva do filé é uma das características altamente indesejáveis (Goes et al., 2019).

Sendo a água um dos componentes mais abundantes da carne de peixe, é ela a responsável pela suculência e suavidade, podendo afetar diretamente o rendimento final e a percepção sensorial, além de afetar a aparência da carne antes e durante o cozimento (Zuanazzi et al., 2019).

2- REFERÊNCIAS

ACERETE, L. et al. Comparison of two stunning / slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v. 287, n. 1–2, p. 139–144, 2009.

ANDERS, N. et al. Physiological and flesh quality consequences of pre-mortem crowding stress in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). **PLoS ONE**, p. 1–25, 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA, **Anuario 2022**. Peixe BR da Piscicultura., p. 1–140, 2022.

ATAMANALP, M. et al. The Effects of Different Stunning Techniques on Blood Biochemistry of Brown Trout (*Salmo trutta fario*). **Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research**, v. 6, n. 1, p. 25–29, 2020.

BANHARA, D. G. D. A. et al. Effect of different stocking densities on pre-slaughter stress based on respiratory parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 16, n. 3, p. 270–275, 2021.

EL BASUINI, M. F. et al. Dietary Guduchi (*Tinospora cordifolia*) enhanced the growth performance, antioxidative capacity, immune response and ameliorated stress-related markers induced by hypoxia stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 120, Dezembro 2021, p. 337–344, 2022.

FANTINI, L. E. et al. Resting time before slaughter restores homeostasis, increases rigor mortis time and fillet quality of surubim *Pseudoplatystoma* spp. **PLoS ONE**, v. 15, n. 5, p. 1–15, 2020.

FONTENELE, R. M. M. et al. Índice De Rigor Mortis De Tilápias Do Nilo Abatidas De Diferentes Formas Após Cultivo Em Esgoto Doméstico Tratado. **Conexões Ciência e Tecnologia**, v. 7, n. 2, p. 61–72, 2013.

FREIRE, C. E. C.; GONÇALVES, A. A. Diferentes Métodos De Abate Do Pescado Produzido Em Aquicultura, Qualidade Da Carne E Bem Estar Do Animal. **Holos**, v. 6, p. 33, 2013.

GHISI, N. C.; OLIVEIRA, E. C. Fish welfare: the of science by scientometrical analysis. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 3, p. 253–261, 2016.

GOES, E. et al. Imbalance of the redox system and quality of tilapia fillets subjected to pre-slaughter stress. **PLoS ONE**, p. 1–15, 2019.

GOES, E. et al. Food Science and Technology | Research Article Effects of transportation stress on quality and sensory profiles of Nile tilapia fillets. **Scientia Agricola**, v. 75, n. Agosto, p. 321–328, 2018.

GOMES, L. H. L. S. et al. Thermoregulation in hypertensive rats during exercise: Effects of physical training. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 112, n. 5, p. 534–542, 2019.

GÓMEZ, L. J.; ZAPATA, J. E. Caracterización fisicoquímica, tecnofuncional y calidad biológica de hidrolizados de vísceras de Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*). **Información tecnológica**, v. 33, n. 3, p. 3–14, 2022.

HONG, J. et al. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) fingerlings during transportation. **Aquaculture**, v. 507, Fevereiro, p. 260–265, 2019.

HONORATO, C. A. et al. Utilização do eugenol em Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus*): implicações na sedação e avaliação hemogasométrica Use of eugenol in Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus*): effects on sedation and evaluation hemogasometry. **Semina: Ciências agrárias**, 2014.

JIA, Y. et al. Hypoxia tolerance, hematological, and biochemical response in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, v. 535, n. 106, p. 736380, 2021.

JUNG-SCHROERS, V. et al. Is humane slaughtering of rainbow trout achieved in conventional production chains in Germany? Results of a pilot field and laboratory study. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p. 1–16, 2020.

KUBITZA, F. Transporte de peixes vivos. Panorama da Aquicultura, setembro/outubro. **Panorama da Aquicultura**, Setembro, p. 20–26, 1997.

LI, X. et al. Physiological responses and molecular strategies in heart of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) under hypoxia and reoxygenation. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics**, v. 40, n. August, p. 100908, 2021.

LIMA, L. C. et al. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, p. 113–117, 2007.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Manual De Abate Humanitário de Peixes. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2022.

MENDES, J. M. et al. Influência do estresse causado pelo transporte e método de abate sobre o rigor mortis do tambaqui (*colossoma macropomum*) influence of transport stress and slaughter method on rigor mortis of tambaqui (*colossoma macropomum*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 2, p. 162–169, 2015.

MENGER, M. k.; JUNIOR, E. G. Análise De Custos Na Insensibilização De Pescado: Eletronarçose E Termonarçose. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG**, v. 4, n. 1, p. 205–216, 2021.

MOURA, M. L. A. et al. Rigor Mortis E Aspectos Reprodutivos De Acaris Bodós Capturados No Rio Tapajós, Pará, Brasil. **Revista Agroecossistemas**, v. 10, n. 2, p. 309, 2018.

OLIVEIRA FILHO, P. RC. et al. Physiological stress and meat quality of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to CO₂ narcosis, hypothermia and electrical

stunning. **Aquaculture research**, 2021, **Vol.52**, v. 52, n. 10, p. 5034–5043, 2021.

PAPAHARISIS, L. et al. Stress assessment, quality indicators and shelf life of three aquaculture important marine fish, in relation to harvest practices, water temperature and slaughter method. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 9, p. 2608–2620, 2019.

PEDRAZZANI, A. S. et al. Senciência e bem-estar de peixes: uma visão de futuro do mercado consumidor. **Panorama da Aqüicultura**, v. 102, p. 24–29, 2007.

PEDRAZZANI, A. S. et al. Negative impact of spinal cord section and termonarcosis on welfare and meat quality of Nile tilapia. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 10, n. 1, p. 188–197, 2009.

QIN, H. et al. The integrated analyses of metabolomics and transcriptomics in gill of GIFT tilapia in response to long term salinity challenge. **Aquaculture and Fisheries**, v. 7, n. 2, p. 131–139, 2022.

REFAEY, M. M. et al. Changes in physiological responses, muscular composition and fish quality of channel catfish *Ictalurus punctatus* suffering from transport stress. **Aquaculture**, v. 478, p. 9–15, 2017.

ROIZ, B. C. et al. Efeitos do estresse de exposição ao ar sobre parâmetros sanguíneos de juvenis de caranha, *piaractus brachypomus*. **Enciclopédia biosfera**, v. 11, n.2, p. 2231–2242, 2015.

ROSSATO, S. et al. Eficiência produtiva dos sistemas de cultivo de peixes com foco na produção de tilápias em tanques-rede / Production efficiency of fish farming systems focused on tilapia production in cage tanks. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 34851–34868, 2022.

RUCINQUE, D. S. et al. Electrical stunning in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) using direct current waveform. **Aquaculture**, v. 497, n. Julho, p. 42–48, 2018.

SABOW, A. B. et al. Blood parameters and electroencephalographic responses of goats to slaughter without stunning. **Meat Science**, v. 121, p. 148–155, 2016.

SANTOS, M. C. et al. Comunidades de prática digitais e sustentabilidade da aquicultura na Amazônia brasileira. O caso da rede social on-line WhatsApp “Peixe de Rondônia”. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 59, n. 1, p. 1–20, 2021.

SVETE, A. N. et al. Serum cortisol and haematological, biochemical and antioxidant enzyme variables in horse blood sampled in a slaughterhouse lairage, immediately before stunning and during exsanguination. **Animal**, v. 6, n. 8, p. 1300–1306, 2012.

TSAI, H. Y. et al. The Effect of Hot Water Extract of Tilapia on Exercise Capacity in Mice. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 12, n. 5, 2022.

VALENTE, F. G. et al. Artigo original Efeito do uso de antioxidantes na prevenção da lesão muscular em atividades físicas intensas. v. 10, n. 67, p. 74–81, 2011.

VALENTI, W. C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, Janeiro, p. 100611, 2021.

VENTURINI, F. P. et al. Effects of different stunning methods on blood markers and enzymatic activity of stress responses of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 4, p. 1094–1098, 2018.

VIEGAS, E. M. M. et al. Métodos de abate e qualidade da carne de peixe. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, n. 237, p. 41–50, 2012.

WU, H. X. et al. Microbiota derived butyrate affected the muscle texture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with different protein sources. **Food Chemistry**, v. 393, n. Maio, p. 133392, 2022.

ZUANAZZI, J. S. G. et al. Anoxia stress and effect on flesh quality and gene expression of tilapia. **Food Science and Technology**, v. 2061, n. 1, p. 195–202, 2019.

CAPÍTULO 2

DENSIDADES DE ESTOCAGEM NO DESCANSO PRÉ ABATE AFETAM O ESFORÇO RESPIRATÓRIO E MUSCULAR E QUALIDADE DO FILÉ DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

¹Faculdade de Ciências Agrárias – Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Rodovia Dourados – Itahum, km 12, 79804-970, Dourados MS Brasil.

Resumo: Os procedimentos de manejo da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) estão diretamente ligados a qualidade final do produto. Diante desse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da densidade pré-abate e de diferentes métodos de insensibilização (termonarcose e asfixia) sobre os parâmetros bioquímicos, respiratórios e de lesão muscular associados às características de qualidade e sensoriais de filés de tilápia do Nilo. Foram utilizadas Tilápia do Nilo com peso médio de 762±105 g. O experimento foi conduzido em um esquema fatorial 2 x 2, sendo duas densidades (50 e 300 kg de peso vivo/m³) e dois métodos de insensibilização (termonarcose e asfixia), com um tratamento controle (peixes retirados do viveiro e imediatamente eutanasiados por secção da medular), totalizando assim cinco tratamentos, com 15 repetições por tratamento (sendo o peixe a unidade experimental) num total de 75 peixes amostrados. Foram realizadas Análises hemogasométrica, avaliação dos parâmetros bioquímicos, análise de qualidade de carne e análise sensorial. Alta densidade de depuração (300 Kg/m³), aliada ao método de insensibilização por asfixia, promove alterações nas dinâmicas respiratórias e proporciona maior estresse, textura do filé menos firme e maior perda de peso por cozimento, bem como alterações de creatina quinase (CK) e sua isoenzima CK-MB, demonstrando maior lesão muscular. Já, a densidade de 50 Kg/m³ durante o pré abate, aliado ao método de insensibilização por termonarcose, proporcionam maior período de permanência no *pré rigor mortis*, o que acarretará em filés com melhor perfil sensorial.

Palavras-chaves: Lesão Muscular; Parâmetros Respiratórios; Tilápia do Nilo.

Abstract: Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) management procedures are directly linked to the final quality of the product. Given this context, the aim of this study was to evaluate the effect of pre-slaughter stocking density and different stunning methods (thermonarcosis and asphyxia) on the biochemical, respiratory and muscle injury parameters associated with the quality and sensory characteristics of tilapia fillets. Were evaluated Nile Tilapia with an average weight of 762 ± 105 g. The experiment was conducted in a 2 x 2 factorial scheme, with two densities (50 and 300 kg of live weight/m³) and two stunning methods (thermonarcosis and asphyxia), with a control treatment (fish removed from the pond and immediately euthanized by medullary section), with a total of five treatments, with 15 repetitions per treatment (each fish was considered an experimental unit) in a total of 75 fish sampled. Blood gas analysis, evaluation of biochemical parameters, analysis of meat quality and sensory analysis were carried out. High depuration density (300 Kg/m³), combined with the asphyxia stunning method, promotes changes in respiratory dynamics and provides greater stress, less firm fillet texture and greater weight loss due to cooking, as well as changes in creatine kinase (CK) and its CK-MB isoenzyme, demonstrating greater muscle damage. While the density of 50 kg/m³ during pre-slaughter, combined with the stunning method of thermonarcosis, provide a longer period of permanence in pre rigor mortis, which will result in fillets with a better sensory profile.

Keywords: Muscle Injury; Nile tilapia; Respiratory Parameters.

1 INTRODUÇÃO

A tilápia (*Oreochromis niloticus*), é uma espécie bastante difundida na aquicultura (Valenti et al., 2021). Alguns estudos reportam o efeito do estresse na qualidade do pescado (Goes et al., 2019; Uehara et al., 2021; Pongsetkul et al., 2022). No entanto sem interrelação com a dinâmicas respiratórias e marcadores de lesão muscular e suas implicações na qualidade de carne. Alguns estudos vêm procurando marcadores bioquímicos (Venturini et al., 2018) e moleculares (Zuanazzi et al., 2019) com o intuito de identificar previamente a qualidade do peixe que será abatido.

Os cuidados com o manejo dos peixes desde a retirada do tanque, o transporte e o período que antecede o abate têm efeitos direto no bem estar que podem refletir na qualidade sensorial do filé (Fantini et al., 2020). Os procedimentos que antecedem o abate são pontos críticos no que tange o bem estar e afetam diretamente a qualidade do produto destinado ao consumidor final (Venturini et al., 2018).

A densidade de estocagem dos peixes no período de descanso (Goes et al.,

2019) tempo de descanso (Fantini et al., 2020) e método de insensibilização (Venturini et al., 2018) podem ser fonte de estresse promovendo alterações fisiológicas que resultam em modificações no metabolismo sanguíneo (Wang et al., 2017; Wu et al., 2018) provocando insuficiência de trocas gasosas, alteração no balanço eletrolítico e alteração nos marcadores de estresse plasmático (Banhara et al., 2021). Sendo fundamental a realização do processo de descanso para o restabelecimento destas funções (Fantini et al., 2020). acarretando estresse, advindo do aumento da atividade física (Bagni et al., 2007; Goes et al., 2018). Destaca-se que a forma de insensibilização dos peixes como termonarcose (Oliveira Filho et al., 2021) e asfixia (Mendes et al., 2015), e método de abate (Rucinque et al., 2018), podem promover diminuição das reservas energéticas (Venturini et al., 2018).

O aumento da atividade natatória no período antes do abate altera as respostas respiratórias (Banhara et al., 2021), promovendo aumento do cortisol, da glicose e do cloreto plasmáticos (Lupatsch et al., 2010). Sendo assim o metabolismo apresenta o quadro de anerobiose, com aumento substancial de ácido láctico, e diminuição mais rápida do pH muscular alterando o preceito do rigor mortis (Concollato et al., 2014). Acarretando perdas na qualidade do produto final como rupturas nos tecidos conjuntivos e musculares (Lerfall et al., 2015; Robb et al., 2000), alterações na coloração (Rahmanifarah et al., 2011), suculência (Morkore, 2006), maciez (Goes et al., 2019) e redução da capacidade de retenção de água (Robb e Kestin, 2002; Goes et al., 2015), reduzindo a vida de prateleira (Robb e Kestin, 2002; Bosworth et al., 2007).

Assim, estudos avaliando o efeito do estresse advindo de manejos pré-abate sobre os parâmetros fisiológicos do peixe podem trazer benefícios para a indústria aquícola, que passará a adotar manejos mais adequados priorizando a homeostasia. Portanto este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da densidade pré-abate e de diferentes métodos de insensibilização (termonarcose e asfixia) sobre os parâmetros bioquímicos, respiratórios e de lesão muscular associados às características de qualidade e sensoriais de filés de tilápia do Nilo.

2- MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado de acordo com as diretrizes do colégio brasileiro de experimentação animal (COBEA; <http://www.cobea.org.br>) e foi aprovado pelo comitê

de cuidados animais da Universidade Federal da Grande Dourados sob o protocolo n° 43/2016.

2.1 Desenho experimental

Foram utilizadas Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de 762 ± 105 g. O experimento foi conduzido em um esquema fatorial 2×2 , sendo duas densidades (50 e 300 kg de peso vivo/m³) e dois métodos de insensibilização (termonarcole e asfixia), com um tratamento controle (peixes retirados do viveiro e imediatamente eutanasiados por secção da medular). O grupo controle totalizou $n = 15$ peixes, que estavam nas mesmas condições mínimas de estresse que os outros peixes amostrados, totalizando assim cinco tratamentos, com 15 repetições por tratamento (sendo o peixe a unidade experimental) num total de 75 peixes amostrados.

Inicialmente, os animais foram retirados dos viveiros escavados com auxílio de rede e puçá, e colocados em uma caixa de transporte contendo aeração constante, na densidade de 200 kg/m³. Foram adicionados 6 mg/L de cloreto de sódio na água de transporte, e a temperatura da água foi abaixada com gelo para 21°C. Os peixes foram transportados por uma hora, até chegada no Laboratório de Análise de Produtos Agropecuários da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados.

Os peixes foram acondicionados em caixas de polietileno com capacidade para 500 litros, abastecidas com sistema de aeração artificial, sendo utilizada uma caixa por densidade (50 e 300 kg de peso vivo/m³). Os peixes permaneceram nestas densidades por uma hora de repouso e, após, foram amostrados 30 peixes por densidade, sendo que 15 peixes foram destinados a insensibilização por termonarcole em água e gelo (1:1) e 15 peixes foram destinados ao método de insensibilização por asfixia.

Em cada tratamento foi retirado o sangue por punção caudal, com seringas descartáveis. Posteriormente a este processo os peixes foram abatidos. Após o abate, dez peixes por tratamento foram submetidos à abertura ventral da cavidade abdominal, desde o orifício urogenital até os ossos da mandíbula, seguido de retirada cuidadosa das vísceras, para evitar a contaminação dos músculos com o material fecal. Os peixes foram decapitados, com posterior retirada da pele e filetagem manual. Os filés inteiros sem pele foram lavados em água clorada, embalados e acondicionados sob refrigeração ($\pm 5^\circ\text{C}$) até o momento das análises.

2.2 PARÂMETROS ANALISADOS

2.2.1 - Análises hemogasométrica

Para análise hemogasométrica foram utilizados 10 peixes por tratamento. O sangue foi analisado em aparelho de hemogasometria (Cobas HB121 - Roche Diagnostica Brasil, São Paulo, SP, Brasil). foram mensurados os íons Sódio (Na^+), Potássio (K^+) e Cloreto (Cl^-). Também foram determinados os parâmetros respiratórios no sangue de pH, H^+ , concentração de bicarbonato (HCO_3^-), pressão parcial de oxigênio (PO_2) e pressão parcial de dióxido de carbono (PCO_2) e saturação de oxigênio funcional (SO_2) e bases voláteis (Ashwood et al., 1983; Mandelman and Skomal, 2009).

2.2.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Para as análises sanguíneas foram obtidas amostras por punção veno caudal utilizando seringas heparinizadas de 3 mL de 10 peixes por tratamento. A concentração de glicose foi determinada com auxílio de medidor eletrônico de glicose sanguínea (Accu-Chek Advantage II / Roche), onde 10 μL de sangue total foram colocados em fitas de leitura do aparelho que, por meio de uma análise eletroquímica da amostra, apresenta a concentração de glicose em mg/dL.

Proteína, Creatinina e Albumina foram realizadas com o uso de kits específicos Gold Analisa Diagnóstica® conforme as instruções do fabricante, determinação do método se deu pela leitura em espectrofotômetro realizada em equipamento semiautomático BIO PLUS S 200. O Kit para determinação da proteína utilizou o método colorimétrico-Biureto, sua metodologia permite obter resultados exatos e precisos quando seguidas a instrução de uso, sendo kit com registro MS número 80022230087.

O kit para determinação da creatinina utiliza o método colorimétrico (Picrato Alcalino – Jaffé), dentro do prazo de validade o que confere aos reagentes estabilidade e código de registro do kit sob o número MS 80022230143. Com relação ao kit utilizado para determinar a albumina utilizou-se o kit com registro número MS 80022230077 utilizando o método colorimétrico – verde de Bromocresol.

Foram analisados os parâmetros sanguíneos enzimáticos referentes ao lactato (Lactate Kit; Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda. Minas Gerais, MG, Brasil), com registro número MS 10377390198, CK [Kit de subunidades total de CK e músculo-CK e tipo cerebral (CK-MB); Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda, com registro número MS 10377390244 para CK e 10377390243 para CK-MB-]. A concentração de lactato e a atividade enzimática da CK foram medidas pelo comprimento de onda (546 nm e 340 nm, respectivamente), utilizando um espectrofotômetro (RA-XT; Technicon Instrument Corp, Tarrytown, NY). O lactato utilizou o método enzimático colorimétrico e a CK e CK-MB o método cinético UV.

Concentrações proteicas em extratos brutos enzimáticos foram determinadas conforme Bradford (1976), em 450 nm, e 1,0 mg mL⁻¹ de albumina foi usado como padrão.

2.2.3 Análise de qualidade de carne

Cinco peixes inteiros por tratamento foram analisados quanto ao tempo de pré-*rigor mortis*, avaliados desde o abate até a entrada no *rigor mortis*, com o objetivo de determinar o tempo em que os animais permaneceram no período de pré-*rigor mortis*. As avaliações foram realizadas de 20 em 20 minutos, até o peixe atingir o índice rigor de 100%.

O índice de rigor (IR) foi medido segundo Bito (1983), e calculado de acordo com a equação: $IR = [(Do - D)/Do] \times 100$ (Onde: Do = valor da distância que separa a base da nadadeira caudal ao ponto de referência, imediatamente após a morte e D = valor da distância que separa a base da nadadeira caudal ao ponto de referência nos intervalos de tempos selecionados)

O pH foi mensurado em triplicata por filé, em dez peixes por tratamento, 24 horas *post-mortem*, utilizando um pHmetro digital portátil (Testo® modelo 205), com eletrodo de inserção para carnes.

A capacidade de retenção de água foi realizada conforme Barbut (1996), em triplicata, em dez peixes de cada tratamento, 24 horas *post-mortem*. Para tanto, amostras de 0,5 g de carne foram posicionadas entre dois papéis filtros qualitativo circulares de 5,5 cm de diâmetro, espessura de 205 µm e gramatura de 80 g/m², colocadas entre duas placas quadrangulares de vidro com espessura de 8 mm cada uma. Sobre este conjunto foi aplicada uma pressão uniforme, através de um peso de 10 kg por cinco minutos.

Após, as amostras foram novamente pesadas e a diferença entre peso final e inicial foi expressa em porcentagem.

A mensuração da perda de água por cozimento foi realizada 24 horas *post-mortem*, conforme Cason et al. (1997). Foram pesadas 70,0 g de carne, acondicionadas em sacos plásticos e levadas ao cozimento em banho-maria até a temperatura interna atingir 75 a 80°C, através de monitoramento com termômetro digital. Após, as amostras foram resfriadas até 30°C, e pesadas novamente. A diferença entre o peso inicial e final foi expressa em porcentagem, correspondendo à perda de água por cozimento.

As medidas de cor foram realizadas 24 horas *post-mortem*, na face ventral do filé tomando seis pontos diferentes de leitura por amostra, em dez peixes por tratamento. Os valores de luminosidade (L^*) foram avaliados utilizando um colorímetro (Minolta® modelo CR-400), sob um ângulo de 90°, a temperatura ambiente, obtendo os valores de L^* que define a luminosidade ($L^*= 0$ preto e $L^*=100$ branco), croma a^* (componente vermelho-verde) e croma b^* (componente amarelo-azul).

A análise da maciez dos filés foi procedida 24 horas *post-mortem*, através da medida da resistência ao corte (força de cisalhamento). Para tanto, foi utilizado um texturômetro Stable Micro Systems Texture Analyzer (modelo TA-XT Plus), equipado com célula de cisalhamento SMS (Stable Micro Systems), Guillotine Blade (USDA), com espessura de 3 mm, comprimento 70 mm e ângulo de 90°. Antes da análise, as amostras de carne crua permaneceram à temperatura ambiente por cerca de uma hora. Os filés foram cortados em cubos medindo aproximadamente 20x25x20 mm e estes cortados transversalmente à direção das fibras musculares. A análise foi realizada em triplicatas por filé, em dez peixes por tratamento, obtendo o parâmetro de força de quebra (cisalhamento) em quilograma-força (kgF).

2.2.4 Análise sensorial

A análise sensorial dos filés foi conduzida com 100 provadores não treinados, 72 horas após o abate dos peixes. Os filés foram mantidos sob refrigeração ($\pm 5^\circ\text{C}$) durante este período.

Os filés isentos de aparas da filetagem foram cortados em cubos (± 3 g), acondicionados em papel alumínio e grelhados em grill elétrico, até a temperatura interna da carne atingir 76°C.

Foi oferecido um cubo de filé de cada tratamento por provador, sendo que as diferentes amostras foram identificadas com três números aleatórios, utilizando material descartável, isento de odor estranho. Juntamente com a ficha de análise sensorial, foram oferecidos um copo contendo água e uma bolacha água e sal, e os julgadores foram orientados a comer um pedaço de bolacha e tomar água antes de avaliar cada amostra, incluindo a primeira amostra.

Foram realizadas dez sessões, cada uma com dez consumidores diferentes. Cada consumidor avaliou cinco amostras codificadas com um código aleatório de três dígitos por sessão, correspondente aos diferentes tratamentos. As amostras foram servidas em um delineamento randomizado para evitar efeitos de ordem e transposição (Macfie et al., 1989).

Os consumidores foram solicitados a provar e avaliar cada amostra sobre a aceitabilidade de quatro atributos (cor, textura, suculência e aceitabilidade geral) usando uma escala de 9 pontos, variando de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei extremamente). Não foi incluído a escala média, tal como descrito por Font i Furnols et al. (2008). Os consumidores foram convidados a comer biscoito água e sal e enxaguar a boca com água antes de avaliar cada amostra, incluindo a primeira amostra.

2.3 Análise de Dados

Os resultados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o procedimento Fatorial Anova do software STATISTICA 7.1[®] (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA), avaliando-se os efeitos de densidade, método de abate e a interação entre os fatores a nível de 5% de significância. Em caso de diferenças significativas ($P < 0,05$) foi aplicado o teste de Tukey para verificar diferenças entre médias e teste de Dunnett para comparações múltiplas. Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

3- RESULTADOS

A associação entre a densidade de depuração (50 e 300 kg/m³) e o método de insensibilização por asfixia promovem alterações nas dinâmicas respiratórias em relação ao grupo controle (Tabela 1). A densidade de depuração de 300 kg/m³ os peixes mantiveram-se em hipoventilação devido aos elevados valores de PCO₂, demonstrando

acidose respiratória compensatória, visto que o pH manteve o controle homeostático com sua função tampão, juntamente com a estabilidade do bicarbonato (CHCO_3). O método de insensibilização por asfixia apresentou elevados valores de PCO_2 associados a diminuição de bases.

Tabela 1 - Parâmetros hemogasométricos de *Oreochromis niloticus* submetidas a diferentes densidades (50 e 300 kg/m^3) e métodos de insensibilização (termonarcese e asfixia).

Densidade de estocagem (kg/m^3)	Método de insensibilização	Ph	¹ PCO ₂	² PO ₂	³ SO ₂ (%)	⁴ CHCO ₃	⁵ BE
50	Asfixia	7,20±0,11	36,32±1,11*	93,49±2,20	80,11±2,23	12,77±1,93	-22,45±0,83*
	Termonarcese	7,07±0,07	28,00±1,93	107,85±39,71	65,88±7,40	12,03±1,65	-15,15±1,75
300	Asfixia	6,77±0,09*	45,50±5,58*	87,65±20,45	75,70±6,37	7,80±0,65	-24,33±0,74*
	Termonarcese	7,09±0,16	36,90±3,43*	58,94±23,52	64,08±9,22	14,62±3,08	-18,35±1,91
Controle		7,26±0,03	25,34±1,37	98,56±32,03	60,90±7,41	11,17±0,82	-15,36±0,70
Densidade de estocagem (kg/m^3)							
50		7,14±0,07	32,16±1,64b	100,67±19,08	73,00±4,27	12,40±1,22	-18,80±1,44
300		6,93±0,10	41,20±3,38a	73,29±15,48	69,89±5,62	11,21±1,82	-21,34±1,33
Método de insensibilização							
Asfixia		6,98±0,09	40,91±3,05a	90,57±9,84	77,90±3,29	10,28±1,23	-23,39±0,60b
Termonarcese		7,08±0,08	32,45±2,31b	83,39±23,21	64,98±5,64	13,33±1,71	-16,75±1,32a
Teste de Dunnet		p<0,05	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,05
Valores de P							
Efeito Densidade de estocagem x insensibilização		0,0635	0,9677	0,4041	0,8500	0,0768	0,6450
Efeito Densidade de estocagem		0,0787	0,0166	0,2914	0,6533	0,5624	0,0860
Efeito insensibilização		0,4046	0,0239	0,7792	0,0722	0,1483	0,0001

Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnet (p<0,05). Médias na mesma coluna seguida de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey. ¹Pressão parcial de dióxido de carbono; ²Pressão parcial de Oxigênio; ³Saturação de oxigênio; ⁴Concentração de bicarbonato; ⁵Bases voláteis.

A associação entre a densidade de estocagem de 300 kg/m^3 e o método de insensibilização por asfixia promoveu aumento da glicemia e lactato sanguíneo (Tabela 2). Todas as médias foram superiores (P<0,05) ao controle. A densidade de estocagem de 300 kg/m^3 assim como no método de insensibilização por asfixia os peixes apresentaram aumento creatinina e da atividade CPK e CKMB.

Tabela 2- Parâmetros bioquímicos de *Oreochromis niloticus* submetidas à depuração em diferentes densidades de estocagem (50 e 300 kg/m³) e métodos de insensibilização (termonarcole e asfíxia).

Densidade de estocagem (kg/m ³)	Método de insensibilização	GLICOSE	LACTATO	PROT ¹	ALB ²	CREAT ³	CPK ⁴	CKMB ⁵
50	Asfíxia	190,80±12,98b*	4,78±0,92b*	11,14±0,30*	1,42±0,11	0,51±0,02*	519,95±27,97*	809,52±36,89*
	Termonarcole	178,25±14,39b*	1,97±0,26bc	13,29±0,72*	1,87±0,07	0,74±0,08*	142,73±21,22*	478,93±12,39
300	Asfíxia	268,98±24,91a*	11,33±1,11a*	12,35±1,45*	1,72±0,26	0,55±0,11*	768,93±32,02*	1078,98±46,06*
	Termonarcole	133,77±12,72b*	1,48±0,38c	13,31±1,01*	2,02±0,16	0,61±0,08*	292,33±43,90	735,77±64,27*
Controle		91,16±8,12	1,13±0,11	4,17±0,21	1,56±0,06	0,22±0,03	262,40±16,55	549,12±35,30
Densidade de estocagem (kg/m ³)								
50		184,53±9,43	3,37±0,62b	12,21±0,49	1,64±0,09	0,62±0,05	331,34±59,28b	644,23±53,18b
300		201,38±24,36	6,40±1,59 ^a	12,83±0,85	1,87±0,15	0,58±0,07	530,63±76,38a	907,38±64,02a
Método de insensibilização								
Asfíxia		229,89±17,84 ^a	8,05±1,20 ^a	11,74±0,73	1,57±0,14b	0,53±0,05	644,44±42,66a	944,25±49,41a
Termonarcole		156,01±11,35b	1,72±0,23b	13,30±0,59	1,94±0,08a	0,67±0,06	217,53±32,39b	607,35±49,73b
Teste de Dunnet		p<0,05	p<0,05	p<0,05	p>0,05	p<0,05	p<0,05	p<0,05
Valores de P								
Efeito Densidade de estocagem x Método de insensibilização		0,0018	0,0002	0,5421	0,6645	0,3259	0,1401	0,8874
Efeito densidade de estocagem		0,3338	0,0007	0,5311	0,1885	0,5743	0,0001	0,0001
Efeito métodos de insensibilização		0,0003	0,0001	0,1223	0,0350	0,0842	0,0001	0,0001

Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnet (p<0,05); média na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey. Dados expressos em média ± erro padrão. ¹ Proteína; ² Albumina; ³ Creatinina; ⁴ Creatinofosfoquinase; ⁵ Creatinoquinase.

A interação 300 kg/m³ com método de insensibilização por asfixia promoveu filés com maior perda de peso por cozimento (PPC) em relação aos demais tratamentos. A densidade de 50 kg/m³ proporcionou filés com maior intensidade de vermelho, maior força de cisalhamento, maior tempo de *pré-rigor*, e menor PPC, em relação aos filés de peixes submetidos à densidade de 300 kg/m³. A insensibilização por asfixia levou ao desenvolvimento de filés com maior luminosidade, menor intensidade de amarelo, menor força de cisalhamento, menor capacidade de retenção de água (CRA) e menor tempo de *pré-rigor mortis*, quando comparados a insensibilização por termonarçose.

Comparando as médias do esquema fatorial com o tratamento controle, as médias obtidas para pH, luminosidade e CRA nos filés do controle não diferiram ($p > 0,05$) das demais.

Tabela 3 - Tempo de *pré-rigor mortis* e parâmetros de qualidade de filés de *Oreochromis niloticus* submetidas à depuração em diferentes densidades de estocagem (50 e 300 kg/m³) e métodos de insensibilização (termonar cose e asfixia).

Densidade de estocagem (kg/m ³)	Método de insensibilização	Pré-rigor mortis (min)	pH	L*	a*	b*	Força de cisalhamento (kgF)	CRA (%)	PPC (%)
50	Asfixia	190±20*	6,87±0,04	39,79±0,40	-0,02±0,10*	-2,61±0,21	3,38±0,32	54,17±0,35	4,48±0,20b*
	Termonar cose	325±25	6,68±0,04	36,92±0,63	0,25±0,18*	-1,70±0,29*	3,93±0,22	56,02±0,67	5,65±0,39b
300	Asfixia	54±11*	6,86±0,05	39,86±0,41	-0,27±0,10	-2,54±0,23	2,64±0,32*	54,38±0,51	7,19±0,45a
	Termonar cose	289±56	6,86±0,06	37,83±0,39	-0,18±0,11	-2,41±0,17	3,52±0,29	56,43±0,51	5,52±0,24b
Controle		438±55	6,77±0,04	38,39±0,57	-0,52±0,10	-2,66±0,15	4,32±0,20	56,13±0,72	6,79±0,39
Densidade de estocagem (kg/m³)									
50		250±28 ^a	6,77±0,04	38,35±0,49	0,11±0,11a	-2,15±0,20	3,66±0,20a	55,10±0,47	5,01±0,27b
300		184±51b	6,86±0,04	38,90±0,37	-0,23±0,07b	-2,48±0,14	3,06±0,23b	55,41±0,48	6,35±0,37a
Método de insensibilização									
Asfixia		129±27b*	6,86±0,03	39,83±0,28a	-0,15±0,07	-2,58±0,15a	3,01±0,24b	54,28±0,29b*	5,71±0,48
Termonar cose		305±32 ^a	6,76±0,04	37,35±0,38b	0,05±0,12	-2,03±0,19b	3,73±0,18a	56,23±0,40a	5,58±0,22
Valores de P									
Efeito densidade de estocagem x método de insensibilização		0,1812	0,052	0,381	0,490	0,104	0,5790	0,8537	0,0004
Efeito densidade de estocagem		0,0298	0,077	0,303	0,013	0,175	0,0434	0,5597	0,0009
Efeito método de insensibilização		0,0001	0,054	0,000	0,160	0,031	0,0193	0,0018	0,4518

L*: luminosidade (L*= 0 preto e L*=100 branco), croma a* (componente vermelho-verde) e croma b* (componente amarelo-azul). CRA: Capacidade de retenção de água. PPC: Perda de peso por cozimento. Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey. *Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnett (P<0,05); Dados expressos em média ± erro padrão.

Para os atributos sensoriais analisados, a interação entre os fatores densidade de estocagem e método de insensibilização não foi significativa ($P > 0,05$) (Tabela 4). Entretanto, avaliando o método de insensibilização isoladamente, foram observados valores diferentes para os atributos de suculência ($P < 0,01$) e aceitabilidade geral ($P < 0,05$), sendo que a insensibilização por termonarcese proporcionou filés com maiores escores nestes atributos. Comparando as médias do esquema fatorial com o tratamento controle, observou-se que os filés de peixes submetidos à densidade de estocagem de 50 Kg/m^3 com insensibilização por termonarcese apresentaram médias superiores para textura, suculência e aceitabilidade geral.

Ao comparar as médias dos atributos sensoriais somente nas duas densidades de estocagem (50 e 300 kg/m^3) com as médias do tratamento controle, pode-se observar que para a densidade de estocagem de 50 kg/m^3 , a qualidade da textura, suculência e aceitabilidade geral foram superiores ($P < 0,05$) às médias do controle. Comparando as médias dos métodos de insensibilização (asfixia e termonarcese) com as médias do tratamento controle, observou-se que a termonarcese levou ao desenvolvimento de filés com melhores escores para os atributos qualidade da textura, suculência e aceitabilidade geral, em relação ao controle ($P < 0,05$).

Tabela 4- Perfil sensorial de filés de *Oreochromis niloticus* submetidas a diferentes densidades (50 e 300 kg/m³) e diferentes métodos de insensibilização (termonarçose e asfixia).

Densidade de estocagem (kg/m ³)	Método de insensibilização	Qualidade e da cor	Qualidade da textura	Qualidade da suculência	Aceitabilidade geral
50	Asfixia	6,88±0,18	7,15±0,18	6,96±0,19	6,93±0,18
	Termonarçose	6,75±0,18	7,48±0,14*	7,46±0,14*	7,27±0,13*
300	Asfixia	6,66±0,18	6,98±0,20	6,67±0,20	6,67±0,19
	Termonarçose	6,99±0,19	7,19±0,20	7,37±0,19*	7,19±0,19
Controle		6,82±0,19	6,80±0,19	6,62±0,20	6,61±0,20
Densidade de estocagem (kg/m ³)					
50		6,82±0,13	7,32±0,11*	7,21±0,12*	7,10±0,11*
300		6,81±0,13	7,08±0,14	7,00±0,14	6,92±0,14
Método de insensibilização					
Asfixia		6,77±0,13	7,07±0,13	6,81±0,14 b	6,80±0,13 a
Termonarçose		6,86±0,13	7,34±0,12*	7,42±0,12 a*	7,23±0,11 b*
Valores de P					
Efeito densidade de estocagem x método de insensibilização		0,2068	0,7356	0,5805	0,6032
Efeito densidade de estocagem		0,9663	0,1980	0,2856	0,3260
Método de insensibilização		0,5803	0,1326	0,0010	0,0143

Escala hedônica entre 1 (desgostei extremamente) e 9 (gostei extremamente). Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey). *Médias diferem do tratamento controle pelo teste de Dunnet (P<0,05). Dados expressos em média ± erro padrão.

4- DISCUSSÃO

A densidade de estocagem durante o processo de descanso pode ter influência no bem estar dos peixes, restabelecendo as características fisiológicas antes do manejo de transporte. Estudos de manejo são de suma importância para otimizar a cadeia produtiva do pescado (Anders et al., 2020; Goes et al., 2019; Hong et al., 2019). Neste ensaio demonstramos que a densidade de estocagem pode influenciar a função respiratória e ter consequências na homeostasia. No entanto, a associação com o método de insensibilização que os peixes são submetidos podem exacerbar os efeitos adversos tendo consequências na qualidade de carne (Mendes, et al.,2015; Goes et al.,2019).

O aumento das respostas ventilatórias não foram suficientes para manter a dinâmica de oxigênio logo após o transporte e também nos peixes submetidos a

densidade de estocagem de 300kg/m³, resultando em acidose (Anders et al., 2020), apesar do aumento do HCO₃ no sangue.

Os peixes, após o transporte e em densidade de estocagem de 50 Kg/m³ mantiveram-se com valores basais, sugerindo que o equilíbrio ácido-base foi restaurado. Ressalta-se que a densidade de estocagem é eficaz para o restabelecimento da homeostasia, demonstrando pelos valores de pH sanguíneos perto da neutralidade. O equilíbrio ácido base é importante (Goes et al., 2019) tem relação direta com as funções respiratórias (Acerete et al., 2004) e conseqüentemente o gasto de energia (Anders et al., 2020).

Dentre as alterações mais pronunciadas no manejo associado ao transporte é a glicose plasmática (Hong et al., 2019). A hiperglicemia relacionada ao estresse é descrita para várias espécies de peixes (Venturini et al. 2018; Goes et al. 2019; Fantini et al. 2020) sendo uma alteração comum ao transporte (Acerete et al., 2004; Hong et al., 2019). No entanto, o restabelecimento dos níveis de glicose para valores basais é requerido para a garantia da qualidade do pescado a ser comercializado (Sampaio and Freire, 2016; Fantini et al., 2020).

No método de insensibilização por asfixia os peixes apresentaram hiperglicemia em relação a insensibilização por termonarcole em decorrência do aumento do glicocorticóides, corticosteróides e catecolaminas elevarem o nível de açúcar do sangue (Tejpal et al., 2009), resposta aliada também aumentaram o consumo de glicogênio, o principal carboidrato de reserva do peixe (Enes et al., 2009). A asfixia promove morte mais lenta ao animal (Pedrazzani et al., 2007; Lines & Spence, 2012), que passa mais tempo se movimentando em condições anaeróbicas.

A termonarcole é amplamente utilizada para diversas espécies de peixes, principalmente para peixes tropicais, pois o resfriamento rápido resulta na rápida interrupção da movimentação dos peixes (Lines & Spence, 2012). Entretanto, diversos estudos apontam que, embora as reações físicas parem ou desacelerem rapidamente no gelo, a atividade cerebral indica a continuação da consciência por um período substancial (Vis et al., 2003; Bagni et al., 2007; Roth et al., 2009).

Alterações na creatinina foram observadas em situação que proporcionaram maior movimentação e aumento de glicose plasmática. A creatinina é um metabolito do tecido muscular, indicativo de catabolismo de proteína muscular (Yousefi et al., 2016). Peixes submetidos a condições de estresse tendem a mobilizar fontes de energia

elevando as concentrações de lactato nos músculos (Arbeláez-rojas et al., 2019) e da creatinina sérica (Hong et al. 2019).

O aumento de creatinina, como indicativo de catabolismo de proteína muscular, pode indicar que os peixes nas condições de alta densidade de estocagem requer maior esforço natatório, e em situações de estresse hipóxico promoveu danos mais severos a musculatura (Li et al., 2021). Resultados estes respaldados pela maior atividade da CK e CKMB observadas nos peixes destes tratamentos. As atividades de CK e CKMB, também aumentaram em *Carpas* prateadas sob hipóxia (Li et al., 2021) e em animais sob fadiga (Tsai et al., 2022). Níveis elevados de creatina quinase no soro são indicativos de estresse, dano muscular e fadiga muscular (Sabow et al., 2016).

Os métodos de insensibilização que envolvem maior atividade física antes da morte, combinado ao estresse pré-abate, levam ao consumo da reserva de energia de glicogênio às custas do ATP, ao mesmo tempo em que a produção de ácido láctico ocorre no músculo (Acerete et al., 2009) promovendo lesões musculares constatado pela presença de CK e CKMB (Tsai et al., 2022). Pelo método da asfixia, o peixe leva muito tempo até que esteja morto, o que provoca movimentos vigorosos e respostas comportamentais de agitação nos animais (Rahmanifarah et al., 2011), resultando no maior gasto da reserva energética (ATP) antes da morte e diminuição do período de permanência no *pré-rigor mortis*.

Tal condição foi observada neste estudo, onde a entrada no *rigor mortis* foi mais rápida em peixes submetidos a maior estresse (pela densidade mais alta e pelo abate por asfixia). Porém, os peixes submetidos à termonarcorese, independentemente da densidade de estocagem aplicada, apresentaram tempo de entrada no *rigor mortis* semelhante ao do tratamento controle, e isto parece estar relacionado à rápida diminuição da atividade física em função do choque térmico. Para a indústria, a extensão do período de *pré-rigor mortis* é importante pois esta fase é ideal para o processamento, uma vez que a filetagem do peixe no estado de rigor pleno leva a uma redução no rendimento de filé (Concollato et al., 2014).

A geração de íons H^+ associados à produção de ácido láctico, bem como o colapso das reservas de ATP, resultam na redução do pH muscular (Poli et al., 2005) em diversas espécies de peixe, como salmão (Einen et al., 2002), enguia (Morzel & Van de Vis, 2003) e pargo (Matos et al., 2010). No presente estudo, o manejo experimental não afetou o pH após 24 horas dos filés de tilápia do Nilo. De fato, diversos trabalhos apontam que o pH final (após 24 horas) em filés de tilápia não é afetado por diferentes

níveis de estresse pré-abate, apesar deste estresse afetar outras características de qualidade da carne (Zuanazzi et al., 2018; Goes et al., 2015; Goes et al., 2018).

Neste estudo, a coloração instrumental dos filés foi afetada pelo estresse pré-abate. A coloração é geralmente considerada a característica sensorial mais importante quando se avalia a aparência de um alimento, especialmente de carne, é o principal critério pelo qual os consumidores avaliam a qualidade e aceitabilidade da carne (Macdougall, 1994).

A cor depende do estado químico do pigmento mioglobina, que é responsável pela cor vermelho púrpura, tendo alterações devido à presença de pigmentos naturais. Estes pigmentos são instáveis e participam de diferentes reações. Em função disto, a alteração de cor de um alimento é um indicador das alterações químicas e bioquímicas possíveis de ocorrer durante o processamento e estocagem (Nates et al., 2014), além de variáveis como condições pré-abate, estado de oxigenação e oxidação do músculo (Faria et al., 2021). Os peixes da densidade mais alta apresentaram neste estudo carne com menor intensidade de vermelho fator este que pode ser atribuído a ausência de petéquias ou hemorragias, a falta de pigmentação nos músculos do peixe e aves é desejada pelo consumidor (Nates et al., 2014).

Os animais submetidos a asfixia, maior luminosidade e menor intensidade de amarelo. Essas mudanças na cor são causadas pela redução de proteínas musculares solúveis na carne de peixes estressados; essas proteínas sofrem desnaturação, tornando-se insolúveis e causando uma perda de água da carne, que resultam em mudanças no reflexo da luz da superfície, provocando então mudanças na luminosidade (L^*), na intensidade de vermelho (croma a^*) e de amarelo (croma b^*) (Robb et al., 2000). Para o bacalhau, a cor amarela nos filés de peixes não estressados foi significativamente maior do que nos filés estressados (Hultmann et al., 2012).

O alto estresse pré-abate, em *O. Niloticus* submetidas a alta densidade e ao abate por asfixia, também ocasionou o desenvolvimento de filés menos firmes em relação ao de peixes que passaram por menor densidade de estocagem e pela insensibilização por termonarcose. Um amolecimento excessivo da carne de peixe geralmente a torna muito frágil para processamento (Bahuaud et al., 2010a), além de afetar a aceitação por parte dos consumidores (Goes et al., 2019).

Para diversas espécies de peixes, o estresse pré-abate ocasiona em filés muito macios, a exemplo do *Gadus morhua* (Digre et al., 2010; Hultmann et al., 2012), *Salmo salar L.* (Bahuaud et al., 2010b) e *Oreochromis niloticus* (Goes et al., 2019). Diversos

mecanismos têm sido associados ao amolecimento muscular do pescado em função do estresse agudo no pré-abate, como a diminuição do pH inicial da carne (Bahuaud et al., 2010b), aumento do grau de desnaturação das proteínas e, assim, aumento do acesso de enzimas proteolíticas a substratos proteicos (Hultmann et al., 2012), além do estresse oxidativo pode ocasionar em oxidação de proteínas (Goes et al., 2019), sendo este último fator responsável por muitas modificações biológicas, tais como fragmentação ou agregação de proteínas e diminuição da sua solubilidade, o que afeta a qualidade da carne (Terevinto et al., 2010).

A capacidade de retenção de água (CRA) é outro parâmetro de qualidade afetado pelo estresse pré-abate. No presente estudo, o abate por asfixia acarretou o desenvolvimento de filés com menor CRA em relação a insensibilização por termonarose, bem como por abate por secção da medula (controle). A capacidade de retenção de líquidos é economicamente importante, pois essas perdas que causam redução de peso e exsudatos não são atraentes (Kiessling et al., 2004). Estudo anterior com *O. Niloticus* relatou diminuição da CRA conforme o nível de estresse (Goes et al., 2015), e isso pode ser explicado por alterações nas propriedades proteicas importantes tanto para a capacidade de retenção de água quanto para as propriedades texturais no músculo (Hultmann et al., 2012).

A capacidade do músculo em reter água é afetada por vários fatores, como pH, oxidação das proteínas pós-morte, atividade proteolítica das enzimas do amaciamento da carne, e ligação cruzada das proteínas miofibrilares (Lund et al., 2011). A perda excessiva de água não é desejável nem à indústria nem ao consumidor, já que provoca perdas nas características sensoriais da carne, como a textura, a maciez, a coloração e a suculência, tornando-a pouco atrativa, além de diminuir seu rendimento e valor nutritivo (Roque-Specht et al., 2009).

A perda de peso por cozimento (PPC) dos filés também foi afetada pelo estresse pré-abate, sendo que os peixes submetidos a 300 kg/m³ e insensibilização por asfixia apresentaram as maiores perdas de água após o cozimento. O abate por sangria das brânquias de carpa prateada ocasionou em maior PPC em relação ao abate por percussão craniana e insensibilização por termonarose (Zhang et al., 2017), demonstrando que o alto estresse durante o pré-abate e abate pode afetar também as perdas em função do cozimento.

As alterações observadas na qualidade instrumental dos filés acarretaram também em mudanças nos atributos sensoriais, no qual os filés que passaram por asfixia

apresentaram resultados inferiores em relação a insensibilização por termonarcese os atributos suculência e aceitabilidade geral. Em um estudo feito com bacalhau, constatou-se que peixes menos estressados também obtiveram maiores pontuações nesses atributos (Sveinsdottir et al., 2010).

A menor média obtida para o atributo suculência, nos peixes submetidos à asfixia, pode estar relacionada a menor capacidade de retenção de água destes filés, uma vez que este parâmetro traz a sensação de suculência durante a mastigação (Desmond, 2006). Além disso, os filés de peixes que passaram por asfixia também possuíam menor firmeza, e sabe-se que filés muito macios são altamente indesejáveis, podendo causar grande impacto na aceitação dos consumidores (He et al., 2014; Goes et al., 2019). Apesar da densidade de 50 Kg/m³ acarretar em aumento dos custos de abate na indústria aquícola, maiores estudos devem ser realizados no sentido de elucidar se este produto gerado pode proporcionar aumento de vida de prateleira que possam diminuir os impactos econômicos.

5 - CONCLUSÃO

Neste trabalho conclui-se que a densidade de estocagem de 50 Kg/m³ durante o pré abate, aliado ao método de insensibilização por termonarcese, proporcionam menor incidência de lesão muscular e cardíaca que se refletem em maior período de permanência no *pré rigor mortis*, o que acarretará em filés com melhor perfil sensorial.

6 - REFERÊNCIAS

ACERETE, L.; BALASCHA, J. C.; ESPINOSA, E.; JOSAB, A.; TORTA, L.. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis* , L .) subjected to stress by transport and handling. **Aquaculture**, v. 237, p. 167–178, 2004.

ACERETE, L.; REIG, L.; ALVAREZ, D.; FLOS, R.; TORT, L. Comparison of two stunning/slaughtering methods on stress response and quality indicators of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, v.287, n.1-2, p.139-144, 2009.

AGEEVA, T. N., OLSEN, R. L., JOENSEN, S., & ESAIASSEN, M. Effects of Long-Term Feed Deprivation on the Development of Rigor Mortis and Aspects of Muscle Quality in Live-Stored Mature Atlantic Cod (*Gadus Morhua* L.). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, 27(4), 477–485, 2018.

BAGNI, M.; CIVITAREALE, C.; PRIORI, A.; BALLERINI, A.; FINOIA, M.; BRAMBILL, A.; MARINO, G. Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affectin quakity and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, 355 v.263, p.52-60, 2007.

BAHUAUD, D.; GAARDER, M.; VEISETH-KENT, E.; THOMASSEN, M. Fillet texture and protease activities in different families of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v.310, n.1-2, p.213-220, 2010a.

BAHUAUD, D.; MORKORE, T.; OSTBYE, T. K.; VEISETH-KENT, E.; THOMASSEN, M.S.; OFSTAD, R. 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**, v.118, n.3, p.602-615, 2010b.

BANHARA, D. G. D. A. et al. Effect of different stocking densities on pre-slaughter stress based on respiratory parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 16, n. 3, p. 270–275, 2021.

BARBUT, S. Estimates and detection of the PSE problem in young turkey breast meat. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76, n.3, p.455-457, 1996.

BITO, M. Studies on rigor mortis of fish - I. Difference in the mode of rigor mortis among some varieties of fish. By modified cuttingns methods. **Bulletin Tokai Regional Fisheries Research Laboratory**, v.109, p.89-96, 1983.

BOSWORTH, B.G.; SMALL, B.C.; GREGORY, D.; KIM, J.; BLACK, S.; JERRETT, A. Effects of rested-harvest using the anesthetic AQUI-S on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, physiology and fillet quality. **Aquaculture**, v.262, p.302–318, 2007.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CASON, J. A.; LYON, C. E.; PAPA, C. M. Effect of muscle opposition during rigor on development of broiler breast meat tenderness. **Poultry Science**, v.76, p.725-787, 1997.
 CONCOLLATO, A., PARISI, G., OLSEN, R. E., KVAMME, B. O., SLINDE, E., & DALLE ZOTTE, A. Effect of carbon monoxide for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) slaughtering on stress response and fillet shelf life. **Aquaculture**, v.433, p.13-18, 2014.

DESMOND, E. Reducing salt: a challenge for the meat industry. **Meat Science**, v.74, p.188-196, 2006.

DIGRE, H; ERIKSON, U; MISIMI, E.; LAMBOOIJ, B.; VAN DE VIS, H. Electrical stunning of farmed Atlantic cod *Gadus morhua* L.: A comparison of an industrial and experimental method. **Aquaculture Research**, v.41, p.1190-1202, 2010.

EINEN, O.; GUERIN, T.; FJÆRA, S.O.; SKJERVOLD, P.O. Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. **Aquaculture**, v.212, p.129-140, 2002.

ENES, P., PANSERAT, S., KAUSHIK, S., OLIVA-TELES, A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.35, p.519–539, 2009.

FANTINI, L. E.; RODRIGUES, R. A.; HONORATO, C. A.; GOES, E. S. R.; FERRAZ, L. J.; LARA, J. A. F.; HANSON, T.; CAMPOS, C. M. Resting time before slaughter restores homeostasis, increases rigor mortis time and fillet quality of surubim *Pseudoplatystoma* spp. **PLoS ONE**, v. 15, n. 5, p. 1–15, 2020.

FARIA, F. F.; MOREIRA, P. S. A.; BERBER, R. C. A. Características da carne de novilhos Nelore e F1 Rubia Gallega x Nelore suplementados com cromo. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 7, p. 1–7, 2021.

FONT I FURNOLS, M. F.; GISPERT, M.; GUERRERO, L.; VELARDE, A.; TIBAU, J.; SOLER, J.; HORTÓS, M.; GARCIA-REGUEIRO, J.A.; PÉREZ, J.; SUÁREZ, P.; OLIVER, M.A. Consumers' sensory acceptability of pork from immunocastrated male pigs. **Meat Science**, v.80, n.4, p.1013-1018, 2008.

GOES, E. S.R., LARA, J. A.F., GASPARINO, E., DEL VESCO, A. P., GOES, M. D., ALEXANDRE FILHO, L., & RIBEIRO, R. P. Pre-slaughter stress affects ryanodine receptor protein gene expression and the water-holding capacity in fillets of the Nile tilapia. **PloS one**, 10(6), e0129145, 2015.

GOES, E. et al. Food Science and Technology | Research Article Effects of transportation stress on quality and sensory profiles of Nile tilapia fillets. **Scientia Agricola**, v. 75, n. Agosto, p. 321–328, 2018.

GOES, E. S.R., GOES, M. D., CASTRO, P. L., LARA, J. A. F., VITAL, A. C. P., & RIBEIRO, R. P. Imbalance of the redox system and quality of tilapia fillets subjected to pre-slaughter stress. **PloS one**, 14(1), e 0210742, 2019.

HE, HONG-JU; WU, DI; SUN, DA-WEN. Rapid and non-destructive determination of drip loss and pH distribution in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets using

visible and near-infrared (Vis–NIR) hyperspectral imaging. **Food chemistry**, v.156, p.394-401, 2014.

HONG, J. et al. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus ovatus*) fingerlings during transportation. **Aquaculture**, v. 507, Fevereiro, p. 260–265, 2019.

HONORATO, C. A. et al. Utilização do eugenol em Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus*): implicações na sedação e avaliação hemogasométrica Use of eugenol in Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus*): effects on sedation and evaluation hemogasometry. **Semina: Ciências agrárias**, 2014.

HULTMANN, L.; PHU, T.M.; TOBIASSEN, T.; AAS-HANSEN, O.; RUSTAD, T. Effects of pre-slaughter stress on proteolytic enzyme activities and muscle quality of farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Food chemistry**, v.134, n.3, p.1399-1408, 2012.

JUNG-SCHROERS, V. et al. Is humane slaughtering of rainbow trout achieved in conventional production chains in Germany? Results of a pilot field and laboratory study. **BMC Veterinary Research**, v. 16, n. 1, p. 1–16, 2020.

KIESSLING, A.; ESPE, M.; RUOHONEN, K.; MORKORE, T. Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO₂ anaesthesia. **Aquaculture**, v.236, n.1-4, p.645-657, 2004.

LERFALL, J., ROTH, B., SKARE, E. F., HENRIKSEN, A., BETTEN, T., DZIATKOWIAK-STEFANIAK, M. A., & ROTABAKK, B. T. Pre-mortem stress and the subsequent effect on flesh quality of pre-rigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during ice storage. **Food chemistry**, 175, 157-165, 2015.

LI, X. et al. Physiological responses and molecular strategies in heart of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) under hypoxia and reoxygenation. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics**, v. 40, n. August, p. 100908, 2021.

LINES, J. A., & SPENCE, J. Safeguarding the welfare of farmed fish at harvest. **Fish physiology and biochemistry**, 38(1), 153-162, 2012.

LUND, M.N.; HEINONEN, M.; BARON C.P.; ESTÉVEZ, M. Protein oxidation in muscle foods: A review. **Molecular nutrition & food research**, v.55, p.83–95, 2011.

LUPATSCH, I.; SANTOS, G.A.; SCHRAMA, J.W.; VERRETH, J.A.J. Effect of stocking density and feeding level on energy expenditure and stress responsiveness in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. **Aquaculture**, v.298, p.245–250, 2010.

MACDOUGALL, D. B. Colour meat- its basis and importance. In: PEARSON, A. M.; DUTSON, T. R. (Ed.). **Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish product**. London: Black Academic, chap. 9, p. 34 - 80. Advances in meat research series, 9, 1994.

MACFIE, H. J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L. V. L. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**. V. 4, p. 129–148, 1989.

MATOS, E.; GONÇALVES, A.; NUNES, M.L.; DINIS, M.T.; DIAS, J. Effect of harvesting stress and slaughter conditions on selected flesh quality criteria of gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture**, v.305, p.66-72, 2010.

MENDES, J. M.; INOUE, L. A. K. A.; DE JESUS, R. S. Influência do estresse causado pelo transporte e método de abate sobre o rigor mortis do tambaqui (*colossoma macropomum*) influence of transport stress and slaughter method on rigor mortis of tambaqui (*colossoma macropomum*). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 2, p. 162–169, 2015.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E A. Manual De Abate Humanitário de Peixes. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA**, 2022.

NATES, V. A.; FERREIRA, M. W.; TRINDADE, C. S. P. C.; SANTOS, R. M.; SILVA, T. A. S.; VALADARES, R. S. S. Filés de tambacu submetidos a salga seca e salga úmida. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 15, n. 2, p. 450–458, 2014.

MORKORE, T. Relevance of dietary oil source for contraction and quality of pre-rigor filleted Atlantic cod, *Gadus morhua*. **Aquaculture**, v.251, p.56-65, 2006.

MORZEL, M. & VAN DE VIS, H. Effects of the slaughter method on the quality of raw and smoked eels (*Anguilla Anguilla L.*). **Aquaculture Research**, v.34, p.1-11, 2003.

OLIVEIRA FILHO, P. RC.; OLIVEIRA, P. JMG.; VIEGAS, E. MM.; MELO, M. P.; NATORI, M. M.; BALDI, S. C. Physiological stress and meat quality of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to CO₂ narcosis, hypothermia and electrical stunning. **Aquaculture research**, 2021, Vol.52, v. 52, n. 10, p. 5034–5043, 2021.

PEDRAZZANI, A.S.; MOLENTO, C.F.M., CARNEIRO, P. C. F.; CASTILHO, M.D. Senciência e bem-estar de peixes: uma visão de futuro do mercado consumidor. **Panorama da Aquicultura**, v.102, p.24-29, 2007.

POLI, B.M.; PARISI, G.; SCAPPINI, F.; ZAMPACAVALLLO, G. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. **Aquaculture International**, v.13, n.1-2, p.29-49, 2005.

RAHMANIFARAH, K.; SHABANPOUR, B.; SATTARI, A. Effects of Clove Oil on Behavior and Flesh Quality of Common Carp (*Cyprinus carpio L.*) in Comparison with Pre-slaughter CO₂ Stunning, Chilling and Asphyxia. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.11, n.1, p.139-147, 2011.

ROBB DHF, KESTIN SC, WARRISS PD. Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. **Aquaculture**, 182, 261–269, 2000.

ROBB, D. H. F., & KESTIN, S. C. Methods used to kill fish: field observations and literature reviewed. **Animal welfare**, 11(3), 269-282, 2002.

ROQUE-SPECHT, V.F.; SIMON, V., PARISE, N.; CARDOSO, P.G. Avaliação da capacidade de retenção de água em peitos de frango em função do pH final. **Current Agricultural Science and Technology**, v.15, n.1-4, p.77-81, 2009.

ROTH, B.; IMSLAND, A.K.; FOSS, A. Live chilling of turbot and subsequent effect on behaviour, muscle stiffness, muscle quality, blood gases and chemistry. **Animal Welfare**, v.18, p.33–41, 2009.

RUCINQUE, D. S.; WATANABE, A. L.; MOLENTO, C. F. M. Electrical stunning in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) using direct current waveform. **Aquaculture**, v. 497, n. Julho, p. 42–48, 2018.

SABOW, A. B. et al. Blood parameters and electroencephalographic responses of goats to slaughter without stunning. **Meat Science**, v. 121, p. 148–155, 2016.

SVEINSDOTTIR, K.; MARTINSDOTTIR, E.; HYLDIG, G.; SIGURGÍSLADÓTTIR, S. Sensory characteristics of different cod products. **Journal of sensory studies**, v.25, n.2, p.294-314, 2010.

TEJPAL, C. S., PAL, A. K., SAHU, N. P., KUMAR, J. A., MUTHAPPA, N. A., VIDYA, S., RAJAN, M. G. Dietary supplementation of L-tryptophan mitigates crowding stress and augments the growth in *Cirrhinus mrigala* fingerlings. **Aquaculture**, 293, 272–277. 2009.

TEREVINTO, A.; RAMOS, A.; CASTROMAN, G.; CABRERA, M.C.; SAADOUN, A. Oxidative status, in vitro iron-induced lipid oxidation and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rhea meat. **Meat science**, v.84, n.4, p.706-710, 2010.

TSAI, H. Y. et al. The Effect of Hot Water Extract of Tilapia on Exercise Capacity in Mice. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 12, n. 5, 2022.

VALENTI, W. C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports**, v. 19, Janeiro, p. 100611, 2021.

VENTURINI, F. P. et al. Effects of different stunning methods on blood markers and enzymatic activity of stress responses of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 4, p. 1094–1098, 2018.

VIS, J.H.; KESTIN S.C.; ROBB, D.H.F.; OEHLENSCHLÄGER, J.; LAMBOOIJ, E.; MÜNKNER, W.; KUHLMANN, W.; KLOOSTERBOER, K.; TEJADA, M.; HUIDOBRO, A.; TEJADA, M.; OTTERÅ, H.; ROTH, B.; SORENSEN, N.K.; ASKE, L.; BYRNE, H.; NESVADBA, P. Is humane slaughter of fish possible for industry? **Aquaculture Research**, v.34, p.211–220, 2003.

ZHANG, L.; LI, Q.; LYU, J.; KONG, C.; SONG, S.; LUO, Y. The impact of stunning methods on stress conditions and quality of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets stored at 4 C during 72 h postmortem. **Food chemistry**, v.216, p.130-137, 2017.

ZUANAZZI, J.S.G.; GOES, E.S.D.R.; ALMEIDA, F.L.A.D.; OLIVEIRA, C.A.L.D.; RIBEIRO, R.P. Anoxia stress and effect on flesh quality and gene expression of tilapia. **Food Science and Technology**, n. AHEAD, 2018.

ZUANAZZI, J. S. G. et al. Anoxia stress and effect on flesh quality and gene expression of tilapia. **Food Science and Technology**, v. 2061, n. 1, p. 195–202, 2019.