

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

EFEITO DO RESFRIAMENTO SOBRE A TEXTURA *POST-MORTEM* DA CARNE DO MATRINXÃ *Brycon cephalus* (PISCES: CHARACIFORME)

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciências dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Beirão

HECTOR SUAREZ MAHECHA

Florianópolis

2002

**EFEITO DO RESFRIAMENTO SOBRE A TEXTURA *POST-MORTEM* DA
CARNE DO MATRINXÃ *Brycon cephalus* (PISCES: CHARACIFORME)**

Por

HECTOR SUAREZ-MAHECHA

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela Comissão formada por:

Presidente:

Prof. Dr. Luiz Henrique Beirão

Membro:

Profª. Dra. Alicia de Francisco

Membro:

Profª. Dra. Débora Machado Fracalossi

Membro:

Profª. Dra. Edna Regina Amante

Coordenadora:

Profª. Dra. Roseane Fett

Florianópolis, 25 de novembro de 2002

**À
Clementina, Andréa e David**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique Beirão pelo apoio, orientação e confiança oferecida durante o curso e pela paciência nas correções que em muito contribuíram na minha formação.

A Profa Dra. Alicia de Francisco, pelo respaldo, amizade e ajuda incondicional desde o início da minha etapa na UFSC.

A Profa Dra. Laura L. Okada, pela amizade, e apoio durante a realização dos testes na Unesp.

A Profa. Dra. Elizabeth Urbinati Criscuolo, Diretora do Caunesp, pela doação dos peixes matrinxã para o desenvolvimento da presente pesquisa.

Aos funcionários do laboratório de microscopia eletrônica de varredura e transmissão, Claudia Aparecida Rodriguez e Antonio Carlos Homem da Unesp, pela oportuna ajuda e colaboração no processamento das amostras e observações histológicas.

A Claudinei Da Cruz Doutorando em Aqüicultura do Caunesp, pela ajuda e orientação nos cortes dos tecidos para a microscopia eletrônica de transmissão.

Aos professores, funcionários e colegas do Curso de Mestrado em Ciências e tecnologia de Alimentos pela oportunidade e confiança oferecida.

Ao Prof. Dr. Wálter Vásquez Torres e família, pela companhia e solidariedade durante nossa estadia em Florianópolis.

Ao Prof. Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana e família meu eterno agradecimento pela acolhida em Florianópolis.

Ao Prof Dr. Pablo Emilio Cruz Casallas, pela orientação e ajuda na primeira avaliação da presente pesquisa.

Aos meus amigos do IALL que sempre estiveram apoiando a realização de meu trabalho, especialmente ao Carlos Isaquita Almanza.

À Doutoranda Adriana Muñoz Ramirez, pelo apoio nas viagens a Jaboticabal e na procura de bibliografia.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudos.

Aos donos dos meus sonhos, aos meus criadores e às minhas criações, muito obrigado.

SUMÁRIO

Resumo	6
Abstract	8
Introdução geral	9
Capítulo primeiro: Efeito do resfriamento sobre a textura post-mortem da carne do peixe matrinxã <i>Brycon cephalus</i> (pisces: characiforme)	
Resumo	18
Introdução	19
Material e métodos	20
Resultados e Discussão	23
Conclusões	28
Referências bibliográficas	28
Tabelas	34
Fotos	35
Capítulo segundo: Análise da microestrutura do amolecimento post-mortem da carne de peixe durante a armazenagem a frio	
Abstract	38
Resumo	39
Introdução	39
O tecido conectivo	41
O colágeno	42
Composição do colágeno em aminoácidos	45
Morfologia em peixes	47
Deterioração do tecido conectivo	48
Referências bibliográficas	56
Tabelas	60
Figuras	61
Considerações finais	62
Referências bibliográficas da introdução geral	63
Guia para autores da revista British Food Journal	67
Guia para autores da revista Brazilian Journal of Biology	68

RESUMO

O amolecimento da carne dos peixes, *post-mortem*, é um fator de qualidade diretamente influenciado pelas características dos tipos de colágenos presentes em cada espécie. A degradação do colágeno está relacionada com a armazenagem dos peixes sob resfriamento. Algumas pesquisas têm demonstrado, através de testes bioquímicos e, principalmente, através da utilização das microscopias eletrônicas de varredura e de transmissão, que a perda da textura na carne dos peixes está relacionada com a degradação do tecido conectivo pericelular e não do miocommata ou do tecido conectivo intersticial. Para determinar os mecanismos que causam o amolecimento *post-mortem* da carne do matrinxã (*Brycon cephalus*), foram observadas as mudanças na microestrutura do músculo imediatamente após à morte e depois de 12 horas de armazenamento a -3°C . Foi utilizado o microscópio eletrônico de transmissão e as observações foram correlacionadas com os resultados obtidos na força de ruptura do músculo, medido com texturômetro. Quando comparados os valores da força para ruptura da carne antes e depois da estocagem, encontrou-se uma significativa diminuição deste, após do resfriamento ($P < 0,001$). Ao mesmo tempo, foi observado que as fibras do tecido conectivo pericelular foram desintegradas e houve perda da arquitetura das miofibrilas. Não obstante, foi observada pouca degradação da linha Z na fibra muscular. De acordo com os resultados encontrados, sugere-se que o amolecimento *post-mortem* da carne do matrinxã como efeito da estocagem sob resfriamento, pode-se dever à desintegração das fibras de colágeno no tecido conectivo pericelular e em menor grau à degradação da linha Z. São propostas algumas teorias e práticas que poderiam explicar este fenômeno.

Palavras-chave: peixe, *Brycon cephalus*, post-mortem, amolecimento, armazenagem, textura, colágeno.

ABSTRACT

The softening of post-mortem fish meat, is a quality factor directly influenced by the collagen characteristics present in the fish. The degradation of collagen is related to cold storage of the fish. Some studies haven demonstrated through biochemical tests, and specially through scanning (SEM) and transmission (TEM) electron microscopy, that loss of meat texture in fish is related to the degradation of the connective pericelular tissue and not of the miocommata or of the connective interstitial tissue. To determine the mechanisms that cause the post-mortem meat's softening of matrinxã (*Brycon cephalus*), microstrucural changes in the muscle were monitored after 12 hours of storage at -3° C. The TEM results were correlated with textural changes (breaking strength) obtained with a texturometer. The breaking strength values were lower for the cold stored fish ($P < 0,001$). At the same time it was observed that the pericelular connective tissue fibers were disintegrated and the miofibrilas had lost their original architecture. Nevertheless, the muscular fibers showed little degradation of the disc Z. Basis these results, it is suggested that the post-mortem softening of matrinxã's meat as effect of cold-storage, might be a due to disintegration of collagen fibers in tissue pericelular connective tissue and to a smaller degree, due to the degradation of the disc Z. Hipotesis about this phenomenon are proposed.

Keywords: fish, *Brycon cephalus*, post-mortem, softening, storage, texture, collagen.

INTRODUÇÃO

Em razão de sua posição geográfica, o Brasil apresenta inúmeras vantagens no setor aquícola e especialmente na piscicultura. Atualmente estão sendo cultivadas espécies de água doce, que anteriormente eram consideradas como “potenciais para a piscicultura”, mas na atualidade tem virado de interesse econômico. Este é o caso do matrinxã que, segundo diversos estudos de cultivo, tem demonstrado ser uma excelente espécie para a piscicultura.

Esta espécie está sendo atualmente preferida nos “pesque e pague” e em algumas regiões começa a ser explorada de forma intensiva. Em outros países como Peru e Colômbia, o gênero *Brycon* já faz parte de muitas granjas dedicadas à piscicultura. A produção é cada vez maior, devido à grande demanda ocasionada pela preferência dos consumidores, que consideram algumas espécies deste gênero como peixe de carne nobre e de sabor superior frente a outras espécies.

Na produção intensiva, também tem-se identificado alguns problemas referentes à textura da carne, que ainda não foram resolvidos. Os produtores de carne de matrinxã estão encontrando problemas na textura da carne quando este é submetida a resfriamento, eles relatam que toda vez que beneficiado o matrinxã e colocado em resfriamento aproximado dos 0°C para a sua posterior comercialização, a carne torna-se mole depois de alcançar a temperatura ambiente, dificultando processos tecnológicos como descamação e cortes verticais feitos no nível do músculo dorsal para quebrar as espinhas. Também descrevem os piscicultores, que este fenômeno não é tão evidente em peixes com pesos superiores a 1.500 gramas e, acreditam, que fornecendo como alimento grãos de milho e soja podem melhorar a textura da carne.

A firmeza é um fator muito importante para avaliação da qualidade da carne de peixe, sendo fundamental no momento de comercializar os produtos da piscicultura. Geralmente é aceito que o músculo do peixe amolece durante o armazenamento em temperaturas baixas (Hatae *et al.* 1985; Toyohara e Shimizu, 1988; Montero e Borderias, 1990; Muchizuki e Sato, 1996). Alguns estudos tem sido realizados em peixes marinhos para estudar a causa do amolecimento “post-mortem” na carne dos peixes (Ando *et al.*1999). Estas pesquisas, entretanto não foram ainda realizadas com espécies nativas de água doce do Brasil.

A firmeza do músculo também é um importante índice de frescor, o amolecimento pode indicar deterioração da qualidade da carne. É necessário conhecer os mecanismos do amolecimento para desenvolver métodos que possam ser utilizados na piscicultura a fim de prevenir este processo deteriorativo.

1. A Espécie

O matrinxã ou matrinhã é a denominação popular do *Brycon cephalus* (Günther 1869), que tem sua classificação sistemática apresentada a seguir:

Classe: Osteichthyes

Superordem: Ostariophysii

Ordem: Characiformes

Família: Characidae

Sub-família: Bryconinae

Gênero: Brycon

Espécie: *Brycon cephalus* (Günther1869)

A figura 1 ilustra a espécie em menção obtida em cultivo.



Figura 1. Matrinxã (*Brycon cephalus*). Crédito fotográfico: D. M. Fracalossi

Algumas espécies nativas de peixes têm despertado interesse de piscicultores e das instituições de pesquisa. Dentre elas, destacamos as do gênero *Brycon*, especialmente, o *Brycon cephalus*, considerado por Graef *et al.* (1987) como uma das mais promissoras para a piscicultura, apresentando um enorme potencial de crescimento. Apresenta excelentes características sensoriais na sua carne, a qual é considerada nobre. Esta espécie vem sendo muito procurada para a pesca esportiva no Estado de São Paulo.

Howes (1982) apresenta uma das revisões mais importantes para organizar a sistemática do gênero *Brycon*, sendo considerado um dos gêneros de caracídeos neotropicais mais numerosos, com mais de 60 espécies nominais das quais aproximadamente 40 são espécies identificadas. Este autor relata que o *Brycon cephalus* ocorre somente na Bacia Amazônica.

O matrinxã tem grande importância econômica na região Amazônica, ocupando os primeiros lugares nos desembarques de Manaus e Porto Velho, alcançando entre 3 - 4 kg de peso e atingindo a maturação sexual aos três anos de idade (Graef, 1993). Honda (1972), em uma pesquisa sobre os peixes encontrados nos mercados de Manaus relata que, para a comercialização, os peixes são classificados de acordo com a procura, e o matrinxã está incluído entre os de “1ª classe”. Honczaryk (1999) relata que o matrinxã é um importante peixe da Bacia Amazônica e de grande interesse comercial, sendo considerada uma espécie promissora para aqüicultura desta região, pois apresenta rápida taxa de crescimento e alto valor de mercado. Segundo Guimarães e Storti-Filho (1997), o matrinxã é um peixe promissor para aqüicultura brasileira.

Zaniboni Filho *et al.* (1988), com o objetivo de esclarecer as dúvidas e controvérsias existentes entre alguns autores quanto à real identidade do matrinxã, em relação às formas que mais se aproximam do matrinxã (*Brycon cephalus*, *B. erythropterum* e *B. melanopterum*) afirmam que os exemplares de matrinxã analisados, procedentes do Rio Solimões, Baixo e Médio Rio Negro enquadraram-se perfeitamente com a descrição original da espécie *Megalobrycon cephalus*, apresentada por Günther (1869) e com a descrição de Howes (1982). Os mesmos autores concluíram que o matrinxã pode ser identificado como *Brycon cephalus* e também que o “sabalo de cola roja” do Peru, e o matrinxã do Rio Negro são denominações de uma mesma espécie. O gênero *Brycon* é amplamente disseminado na América do Sul, podendo ser encontrado nas bacias do Amazonas (*Brycon cephalus*), Orinoco (*Brycon siebethalae*), Prata (*Brycon orbignianus*) e São Francisco (*Brycon sp.*) (Goulding, 1980; Useche e Cala, 1993).

O matrinxã é uma espécie migratória e sua reprodução em ambiente natural ocorre no período entre novembro e dezembro, podendo alargar-se até fevereiro

(Zaniboni, 1985). Para o *Brycon siebenthalae*, peixe nativo da Colômbia, onde é conhecido popularmente como “yamú,” este evento inicia em março e termina em maio. Em condições especiais de manejo (domesticação), responde aos tratamentos hormonais com extrato de pituitária de carpa, embora a porcentagem de êxito da indução seja baixo (Pardo-Carrasco *et al.* 1998, 1999).

De acordo com Graef *et al.* (1987) o matrinxã alcança de 0,7kg até 1kg/ano e 1,3 - 1,6kg no segundo ano, mostrando ser uma espécie para o cultivo em cativeiro.

Devido à alta taxa de crescimento, amplo espectro alimentar, fácil adaptação a rações artificiais, tolerância à estocagem em altas densidades, refinado sabor da carne e significativo valor comercial (Villacorta Correa, 1987; Cyrino *et al.* 1986; Honczaryk, 1994), o matrinxã é denominada por alguns autores como a “ truta de água quente” (Gomez, 1998).

2 Condições para o cultivo e aspectos nutricionais

Os bryconídeos apresentam vantagens que os fazem adequados para a piscicultura, uma delas é a adaptação a baixos níveis de oxigênio. Braum e Junk (1982), observaram que o matrinxã, também como outras espécies com respiração branquial, quando são submetidos à situação de hipóxia, têm como estratégia de sobrevivência respirar na lâmina superficial de água, onde existe maior quantidade de oxigênio dissolvido. Observaram também a ocorrência de uma extensão dérmica do maxilar inferior, quando valores de oxigênio dissolvido na água são 0,5 mg/L. Segundo estes autores, o matrinxã é uma espécie tolerante a baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água.

Quanto a seus hábitos alimentares, são vários os trabalhos desenvolvidos para espécies do gênero *Brycon*. Autores como Knoppel (1970), Guevara (1974), Honda (1974), Goulding (1979 e 1980), Canepa (1982) e Paima (1997) classificam o hábito alimentar dessas espécies como onívoro, sendo esta outra característica vantajosa para a piscicultura.

Os estudos sobre cultivos são numerosos. Um estudo comparativo sobre o crescimento do matrinxã em viveiros adubados e alimentados com uma ração comercial, foi desenvolvido por Honeczaryk *et al.* (1999) indicando que o matrinxã é incapaz de filtrar efetivamente o plâncton, devido a estrutura de seus raios branquiais.

O gênero *Brycon* apresenta vantagens no cultivo em relação a outras espécies. Pezzato *et al.* (1994) realizaram um experimento para avaliar o ganho de peso do matrinxã em condições de clima subtropical, usando dois níveis de proteína bruta (26% e 30%) e concluíram que a espécie não exige altos níveis protéicos durante seu período de finalização, demonstrando facilidade de adaptar-se em condições climáticas adversas do Estado de São Paulo.

Devido ao alto custo da farinha de peixe, usam-se outro tipo de fontes protéicas nas dietas. Mendonza *et al.* (1993) estudaram a influência de diferentes fontes protéicas no crescimento do matrinxã e confirmaram que a farinha de soja pode ser utilizada como substituto da farinha de peixe.

3. O tecido conectivo

Vários estudos determinaram a importância do tecido conectivo na firmeza da carne nos peixes e o valor deste fator no momento de comercializar os peixes. Na

atualidade segundo FAO (2000) aproximadamente o 70% dos produtos da aquicultura são comercializados como produtos frescos.

Durante o armazenamento a frio dos peixes é conhecido que o tecido conectivo amolece após 24 horas (Sato et al. 1986; Hatae et al. 1986). Considera-se que o tecido conectivo responsável pelo amolecimento post-mortem é o tecido conectivo pericelular. Entretanto, os primeiros estudos apontavam como responsável pelo amolecimento post-mortem às mudanças nos componentes das proteínas do músculo. Em algumas espécies demonstrou-se como responsável ao tecido conectivo do miocommata e em outras à degradação da conectina, embora estes estudos reconheçam que existiam outros fatores, os quais poderiam ser causados por mudanças nas estruturas do tecido muscular (Hatae et al. 1985).

Os mecanismo pelo qual acontece a degradação do tecido conectivo pericelular ainda não está claro, são propostas algumas teorias tanto para medir a degradação do colágeno como para evitar e prevenir este evento.

Com relação à proteólise enzimática, segundo Conn et al. (1980) a maioria das enzimas proteolíticas tem baixa atividade no colágeno nativo, porém, degradam facilmente o colágeno desnaturado. Têm-se identificado colagenases em diversos tecidos animais, entretanto, é difícil detectar sua presença devido ao fato de exibirem uma escassa atividade.

Os testes na atualidade para quantificar especificamente os aminoácidos presentes no colágeno, especialmente hidroxiprolina, e determinar a sua responsabilidade na degradação do tecido conectivo pericelular, também não está claro. Segundo Ando et al. (1999) não encontraram-se diferenças neste aminoácido medido antes e após do armazenamento a frio de peixes pelágicos e demersais, possivelmente porque a

molécula de colágeno pode ser degradada em um lugar onde a hidroxiprolina não esta presente.

Por outra parte, tem-se determinado a degradação do tecido conectivo nos peixes utilizando preferencialmente a microscopia eletrônica de transmissão, que permite realizar observações histológicas dos lugares onde realmente acontece a degradação deste tecido, embora seja um método complexo e oneroso, os estudos atuais sugerem como o melhor método para este tipo de estudos.

4. Problemas na pesquisa

Durante o desenvolvimento da parte prática foram encontrados diferentes problemas, os quais descreveremos a seguir:

Foram utilizados peixes dos seguintes tamanhos; pesos de 120 g, 230 g, 350 g e comprimentos de 15 cm, 18 cm, 22 cm, respectivamente. O CAUNESP (Centro de Aqüicultura da Universidade estadual de São Paulo) não conseguiu finalmente disponibilizar peixes de maiores tamanhos para nossa pesquisa. O IBAMA proíbe o traslado de espécies alóctones (de bacias hidrográficas diferentes), e isto impediu a utilização dos peixes de maiores tamanhos para nossa pesquisa por serem destinados à reprodução induzida no CAUNESP.

Os reagentes químicos utilizados para microscopia eletrônica de transmissão foram importados devido ao alto custo por parte dos fornecedores nacionais. A FAPEU só foi autorizada para reiniciar as importações a partir de abril de 2002 e o material finalmente chegou em outubro deste ano. Entretanto foram feitos os testes preliminares com material emprestado por parte do laboratório de histologia do Departamento de

Biologia da UFSC e do Departamento de Histologia e Embriologia da UNICAMP. O processamento final e observações histológicas foram feitas no Laboratório de microscopia eletrônica da UNESP sede Jaboticabal. A pesquisa foi compartilhada e foi aceito parte dos reagentes como parte de pago, para diminuir os elevados custos que origina este tipo de estudos, pois foi necessário utilizar durante varias horas o microscópio eletrônico de transmissão.

A pesar das dificuldades referidas, a presente pesquisa cumpriu com os objetivos propostos e os resultados encontrados são inéditos e de grande valor.

CAPÍTULO I.

**Efeito do resfriamento sobre a textura post-mortem da carne do peixe
matrinxã *Brycon cephalus* (Pisces: Characiforme)**

Héctor Suárez Mahecha e

Universidad de los Llanos, Instituto de Acuicultura de los Llanos, Colombia

Luiz Henrique Beirão

*Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil*Palavras chave *Peixe, textura, colágeno, Brycon cephalus, tecido conectivo***Resumo**

Para determinar os mecanismos que causam o amolecimento post-mortem da carne do peixe matrinxã, foram observadas as mudanças na microestrutura do músculo imediatamente após da morte e depois de 12 horas de estocagem a -3°C . As observações realizadas com microscópio eletrônico de transmissão, apresentam concordância com os resultados obtidos na força de ruptura do músculo medido com texturómetro. Os valores da força da ruptura foram menores para a carne de peixe após resfriamento. Ao mesmo tempo, foi observado que as fibras do tecido conectivo pericelular foram desintegradas. Além disso, foi observado pouca degradação da linha Z. Sugere-se que o amolecimento post-mortem da carne do matrinxã, como efeito do resfriamento, foi devido à desintegração das fibras de colágeno no tecido conectivo pericelular e em menor grau à degradação da linha Z.

Introdução

A firmeza é um fator muito importante para avaliação da qualidade da carne de peixe e fundamental no momento de comercializar os produtos da piscicultura. Geralmente é aceito que a carne de peixe amolece depois de 24 horas de armazenamento em baixas temperaturas (Hatae *et al.*, 1985; Toyohara e Shimizu, 1988; Montero e Borderias, 1990; Oka *et al.*, 1990; Muchizuki e Sato, 1996).

Alguns estudos têm sido realizados principalmente em peixes marinhos para estudar a causa do amolecimento post-mortem na carne dos peixes, sendo poucos em espécies de água doce como o realizados em carpa (*Cyprinus carpio*) e truta (*Oncorhynchus mykiss*, *Salmo irideus*) (Ando *et al.*, 1999).

O colágeno é o maior constituinte do tecido conectivo intramuscular dos peixes e, como tem sido demonstrado, exerce um importante significado na textura da carne de peixes (Sato *et al.* 1986; Hatae *et al.* 1986). Estudos histológicos têm demonstrado que o tecido conectivo pericelular é degradado mais intensamente durante a armazenagem a baixas temperaturas do que o tecido conectivo intersticial (Bremner e Hallett, 1985, 1986; Hallett e Bremner 1988; Ando *et al.*, 1991b, 1995; Kubota *et al.*, 1996).

Atualmente é aceito que existem distintos colágenos, química e geneticamente diferentes, entre mesmos indivíduos (Borstein e Sage, 1980). Nos peixes, no tecido conectivo pericelular é reconhecida a existência do colágeno tipo I, e em maior proporção o colágeno tipo V, este último, sugerido como responsável pela textura post-

mortem (Sato *et al.*, 1991; Sato *et al.*, 1997). O colágeno tipo V aparece identificado pelo seu diâmetro menor nos estudos de microscopia eletrônica de transmissão (Ando *et al.*, 1999; Sato *et al.*, 1997). Também, tem-se demonstrado que o diâmetro da fibra de colágeno diminui com incremento do colágeno tipo V (Adachi e Hayashi 1986; Birk *et al.*, 1990)

A firmeza do músculo também é um importante índice de frescor e o amolecimento indica deterioração da qualidade da carne. Faz-se necessário conhecer os mecanismos do amolecimento, para desenvolver métodos que possam ser utilizados na piscicultura a fim de prevenir este processo de perda da qualidade na textura da carne. Algumas pesquisas referem este fenômeno, especialmente, a certas espécies cultivadas em viveiro mais do que à espécies capturadas no meio natural (Hatae *et al.*, 1989; Tachibana *et al.*, 1993; Mochizuki, *et al.*, 1998; Ando *et al.*, 1999)

A produção de peixes de viveiro tem aumentado cada vez mais, e o matrinxã é uma das espécies que no Brasil é procurada para esse fim (Pezzato *et al.*, 1994; Graef *et al.*, 1987; Guimarães *et al.*, 1997). No entanto, se desconhecem as causas do amolecimento post-mortem na armazenagem em baixas temperaturas, neste peixe. Nosso objetivo foi determinar a possível desintegração do tecido conectivo pericelular e sua relação com a perda de textura em matrinxã.

Material e métodos

Para análise, utilizou-se matrinxãs de 3 tamanhos, com peso e comprimento de 120 g, 230 g, 350 g e 15 cm, 18 cm, 22 cm, respectivamente. O Centro de Aqüicultura

da Universidade Estadual de São Paulo, CAUNESP, fez a doação dos peixes, que foram criados e cultivados em viveiro, e abatidos por meio de punção no cérebro. Imediatamente depois de mortos, retirou-se amostras do músculo dorsal para análise microscópica. O restante dos peixes foi empacotado em sacola de polietileno e armazenados a -3°C durante 12 horas. Utilizou-se três peixes por cada tamanho.

Análise instrumental

A firmeza da carne foi determinada ao nível do músculo dorsal, segundo Ando *et al.*(1992), em uma porção de músculo de 10 mm de espessura. Foi registrada a máxima força de penetração, um êmbolo cilíndrico de 3mm de diâmetro foi forçado a entrar na fatia de músculo, paralelo a orientação das fibras do músculo, a uma velocidade de 60mm/min. Os resultados foram expressos como força à ruptura, sendo a média de 5 a 8 medições \pm erro padrão. O aparelho empregado foi o Texture Analyser TA-XT2, marca STABBLE MICRO SYSTEMS. As medições foram feitas antes e após o esfriamento.

Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

As amostras de músculo dorsal (1 mm x 1 mm x 5 mm) foram fixadas em glutaraldeído 2,5% por 2 horas, lavadas várias vezes em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2; pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1%, por 2 horas, em seguida, lavadas no mesmo tampão e desidratadas com passagens em soluções de concentrações crescentes de etanol: 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% e 100% por 20 minutos em cada uma destas soluções. O procedimento seguinte foi a infiltração, iniciada com a imersão das

amostras numa mistura de araldite e etanol puro (1:1) por 12 horas, à temperatura ambiente.

A inclusão foi realizada em mistura plena de resina araldite. O material incluído foi colocado na estufa a temperatura de 60°C por 72 horas, para efetuar a polimerização. Após, foram feitos cortes de 0,3 µm para análise e seleção das áreas a serem observadas à microscopia eletrônica. Estes cortes foram corados com azul de toluidina a 1% em ácido bórico saturado. Tais cortes foram também observados, selecionados e os melhores fotomicrografados com auxílio de fotomicroscópio. Seguindo este procedimento, cortes ultrafinos com 70 nm de espessura foram obtidos em ultramicrótomo modelo ULTRACUT-LEICA, com navalha de vidro, montados em grade de cobre e contrastados com acetato de uranila e citrato de chumbo e, então, observados e eletronicografados em microscópio eletrônico de transmissão JEOL – JEM 1010, com uma aceleração de 80 kv.

Análise estatística

Nos valores da textura (força de ruptura) foi feita Análise de variância com posterior teste de Tukey em caso de diferença estatística. O nível de significância adotado foi de $P < 0.005$.

Resultados e discussão

Mudanças na firmeza do músculo

Os resultados da força de ruptura aparecem descritos na Tabela 1. A firmeza do músculo diminuiu significativamente depois de 12 horas de resfriamento ($P < 0.001$).

Também foram comparados os resultados da força de ruptura dependendo do tamanho dos peixes utilizados, não havendo encontrado diferenças, significativas, que possam associar o grau de perda de firmeza com o peso dos peixes utilizados. Embora, observou-se uma tendência no aumento da força de ruptura à medida que aumenta o peso do matrinxã (dados não mostrados). Segundo Love *et al.* (1972) e (1992), o colágeno do miocommata dos peixes velhos é mais débil e tem menos ligações cruzadas que o colágeno dos peixes jovens. No presente estudo, entre tanto, utilizou-se somente peixes jovens, sendo que o matrinxã alcança de 3 – 4 kg no estado adulto (Graef, 1987).

Tabela 1. Valores da média e desvio padrão da força de ruptura antes e depois do resfriamento em matrinxã de três pesos distintos, medidos com texturômetro.

Força de ruptura (g) *	Peso dos peixes		
	120 g	230 g	350 g
Tratamento			
Antes do resfriamento	211,8 ± 16,9 ^a	196,4 ± 6,8 ^a	242,3 ± 23,5 ^a
Depois do resfriamento	116,5 ± 11,5 ^b	83,0 ± 2,1 ^b	102,1 ± 6,5 ^b

* Valores seguidos de letras diferentes, indicam diferença estatística ($P < 0,001$), tanto para colunas quanto para linhas.

Observações histológicas

A microestrutura do músculo do peixe matrinxã foi observada por microscopia eletrônica de transmissão (TEM), e é mostrada nas Figuras 1 a 3. As fibras de colágeno no tecido conectivo pericelular foram observadas, as quais tem sido demonstrado mantém estreita relação com amolecimento *post-mortem* da carne de peixe armazenada a baixas temperaturas (Ando *et al.*, 1992, 1995, 1999; Sato *et al.*, 1997). No músculo, imediatamente após a morte (Figura 1a), as fibras de colágeno do tecido conectivo pericelular são observados claramente, mantendo uma arquitetura ordenada junto com a fibra muscular. Depois do armazenamento durante 12 horas a -3°C (Figura 1b), as fibras do tecido conectivo pericelular foram desintegradas e, observou-se perda do arranjo arquitetônico em relação a fibra muscular.

Inserir aqui Figura 1a e 1b. (Figura 1. Mudanças na microestrutura do colágeno pericelular no músculo de matrinxã. **(a)** fibra muscular e colágeno em estado fresco. **(b)** perda da arquitetura da fibra muscular e degradação do colágeno depois de 12 horas de armazenamento a -3°C . **M.** fibra muscular; **C.** fibras de colágeno. Barra representa 500 nm.)

Na Figura 2a pode-se observar claramente a simetria das fibras de colágeno no tecido conectivo pericelular, imediatamente, após a morte. Já na Figura 2b, observa-se o efeito do armazenamento em baixa temperatura sobre o tecido conectivo pericelular, sendo que as fibras de colágeno apresentam-se completamente degradadas e não é possível determinar a simetria da fibra.

Por outro lado, não foi observada alteração ou degradação em nenhuma das fibras de colágeno no tecido conectivo do miocommata, depois do tempo de armazenamento utilizado neste estudo. O diâmetro da fibra de colágeno no tecido conectivo pericelular esteve entre 20-28 nm, coincidindo com outros estudos (Sato *et al.*, 1997; ando *et al.*, 1999).

Inserir aqui Figura 2a e 2b. (Figura 2. Tecido conectivo pericelular no músculo de matrinxã. (a) fibras de colágeno em estado fresco após da morte. (b) fibras de colágeno completamente degradadas após a armazenagem em baixa temperatura durante 12 horas. Barra representa 500 nm.)

A desintegração das fibras de colágeno no tecido conectivo pericelular mostram uma evidente relação com a diminuição na força de ruptura obtida no teste instrumental, fato conhecido como amolecimento post-mortem. De acordo com estes resultados, o amolecimento post-mortem da carne de matrinxã poderia ser causado pela desintegração das fibras de colágeno do tecido conectivo pericelular.

A microestrutura da fibra muscular é mostrada na figura 3. No músculo em estado fresco, a linha Z está localizada no centro dos filamentos de actina podendo ser identificada. Entretanto, após o armazenamento, a estrutura da linha Z apresenta dificuldade na observação e pode-se apreciar certa perda do arranjo.

Inserir aqui Figura 3a e 3b. (Figura 3. Cortes longitudinais da miofibrila muscular. (a) nota-se claramente a linha Z, em estado fresco. (b) depois do armazenamento as linhas Z apresentam-se pouco definidas. Barra representa 500 nm.)

Durante o manuseio e armazenagem em baixas temperaturas dos peixes, a união dos blocos musculares ao miocommata poderia falhar, causando o conhecido “gaping” (Love *et al.*, 1969), e segundo este autor, dois tipos de “gaping” foram identificados. O primeiro acontece durante o congelamento em estado de rigor mortis, e foi atribuído ao enfraquecimento das conexões de colágeno devido à formação de cristais de gelo. Nesta pesquisa, os peixes foram resfriados em estado de pré-rigor. A causa do segundo tipo de “gaping” pode acontecer ao longo do tempo em peixes armazenados.

Hallet e Bremner (1988) determinaram que o “gaping” causado pela degradação das fibras de colágeno entre a fibra muscular e o miocommata, foi o responsável pelo amolecimento do músculo de “hoki” (*Macruronus novaezelandiae*). Embora, eles não tenham realizado testes de firmeza no músculo. Ando *et al.* (1992) sugerem que a relação entre “gaping” e amolecimento do músculo permaneça pouco clara. Se o “gaping” tem estreita relação com o amolecimento do músculo, o peixe “hoki” tem a possibilidade de causar o amolecimento relativamente tarde, quando comparada a outros peixes (Toyohara *et al.*, 1988; Oka *et al.*, 1990; Sato *et al.*, 1997; Ando *et al.*, 1991, 1997, 1999), porque não foram observadas mudanças no músculo de “hoki” após 24 horas de armazenamento. Não obstante, no presente estudo não tem-se encontrado mudanças nas fibras de colágeno do miocommata que possam relacionar o amolecimento do músculo do matrinxã a algum tipo de “gaping”.

Kumano e Seki (1993) tem demonstrado a desintegração dos filamentos de conectina, os quais estão compostos por α -conectina. Filamentos que são altamente elásticos e conectam as linhas Z com o filamento de miosina. A diminuição de α -

conectina também aconteceu rapidamente quando o músculo de carpa (*Cyprinus carpio*) e truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*) alcançaram a temperatura de armazenamento a -2°C . Embora, o músculo de carpa após do descongelamento, continua diminuindo nos valores da força de ruptura, depois de haver degradado completamente o α -conectina. Não obstante, no músculo de truta arco íris a força da ruptura diminuiu mais rapidamente que em α -conectina. Estes resultados sugerem que existem outros fatores adicionais relacionados com o amolecimento post-mortem, porque neste estudo não foram feitas observações histológicas. Além disso, outros autores coincidem em sugerir que as mudanças nas fibras de conectina influenciaram junto com outras possíveis mudanças estruturais no músculo, como as causas do amolecimento post-mortem (Tachibana *et al.*, 1993; Sato *et al.*, 1997). Na presente pesquisa, não fizemos testes bioquímicos sobre os filamentos de conectina.

De outra parte, tem sido demonstrado que o diâmetro da fibra de colágeno no tecido conectivo pericelular flutua entre 20-30 nm e corresponde ao colágeno tipo V, presente em maior quantidade (Hallet e Bremner 1988; Adachi e Hayashi 1986; Birk *et al.*, 1990, Sato *et al.*, 1997; Ando *et al.*, 1999). No amolecimento da carne de diferentes peixes, Sato *et al.* (1988, 1988a, 1997) propõe ao colágeno tipo V como principal constituinte no tecido conectivo pericelular sendo responsável pelo amolecimento *post-mortem*. Embora, o motivo pelo qual acontece preferencialmente a degradação deste colágeno, ainda não está claro, logo, são propostas algumas hipóteses. Yamashita e Konagaya (1991a, 1991b) reporta que a catepsina L foi a responsável pelo amolecimento da carne de salmão chum, encontrando fagócitos ao redor das fibras musculares. Em nossa pesquisa não foram observados fagócitos ao redor das fibras de colágeno degradadas, no tecido conectivo pericelular, coincidindo com Ando *et al.*

(1999). Outra possível hipótese tem proposto que, os peptídeos que contém hidroxiprolina, possivelmente como produto da degradação do colágeno, poderiam ser quantificados e serviriam como indicadores da degradação do colágeno. Embora, Ando *et al.* (1999), não encontraram diferenças nos níveis de hidroxiprolina em peixes pelágicos e demersais, porque a molécula de colágeno pode ser degradada em uma região onde o colágeno não está presente. Mesmo que, possam existir outros fatores envolvidos no amolecimento *post-mortem* da carne de matrinxã, pode ser conveniente iniciar estudos comparados de espécies provenientes de viveiro e de ambiente natural nativas do Brasil.

Conclusões

O amolecimento da carne do peixe matrinxã foi causado pela degradação do tecido conectivo pericelular, como efeito do resfriamento a -3°C durante 12 horas. As observações histológicas coincidem com a perda significativa da textura ($P < 0,001$), medido no texturômetro.

Referencias Bibliográficas

- Adachi, E and Hayashi, T. (1986), “In vitro formation of hybrid fibrils of type V collagen and type I collagen”, *Connective Tissue Res.* No. 14, pp. 257-266.
- Ando, M. (1997), “Softening mechanism of fish meat”, *Suisangaku Series. Kouseisha Kouseikaku*. Tokyo. Japan. No. 114, pp. 73-82.

- Ando, M., Nishiyabu, A., Tsukamasa, Y., Makinodan, Y. (1999), "Post-mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding". *Journal of Food Science*. Vol. 64. No. 3. pp. 423-428.
- Ando, M., Toyohara, H., and Sakaguchi, M. (1992), "Post-mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by the disintegration of collagen fibers in the pericellular connective tissue", *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No. 58. pp. 567-570.
- Ando, M., Toyohara, H., Shimizu, Y., Sakaguchi, M. (1991), "Validity of a puncture test for evaluating the change in muscle firmness of fish during ice storage", *Nippon Suisan Gakkaishi*. No. 57. pp. 2341.
- Ando, M., Toyonara, H., Shimizu, Y., and Sakaguchi, M. (1991b), "Post-mortem tenderization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure", *Journal Science Food Agriculture*, No. 55. pp. 589-597.
- Ando, M., Yoshimoto, Y., Inabu, K., Nakagawa, T., and Makimodan, Y. (1995), "Post-mortem change of three-dimensional structure of collagen fibrillar network in fish muscle pericellular connective tissues corresponding to post-mortem tenderization", *Fisheries Science*, No. 61. pp. 327-330.
- Birk, D. E., Fitch, M. J., Babiarz, P. I. and Linsenmyer, E. T. (1990), "Fibrogenesis in vitro: interaction of type I and V collagen regulates fibril diameter", *Journal Cellular Science*. No.95. pp. 649-657.
- Bornstein, H. , Sage, H. (1980), " Structurally distinct collagen types", *Ann. Rev. Biochemical*, No. 49. pp. 957-1003,

- Bremmer, A. H. and Hallet, C. I. (1985), "Muscle fiber-connective tissue junctions in the fish blue grenadier (*Macruronus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study", *Journal of Food Science*. No. 50. pp. 975-980.
- Bremmer, A. H. and Hallet, C. I. (1986), "Degradation muscle fibre-connective tissue junctions in the Spotted Trevalla (*Seriolella punctata*) Examined by Scanning Electron Microscopy", *Journal of Science Food and Agriculture*. No. 37. pp. 1011-1018.
- Graef, E.W.; Resende, E.K. Petry, P.; Storti Filho, A. (1987), "Policultivo de matrinhã (*Brycon sp*) e jaraqui (*Semaprochilodus sp*) em pequenas represas", *Acta Amazônica*, Vol. 16/17, No. único. pp. 33-42..
- Guimarães, S.F. e Storti-Filho, A. (1997), The effects of temperature on survival of young Matrinhã (*Brycon cephalus*) under laboratory conditions. In: *Internacional Symposium Biology of Tropical Fishes*, Manaus, AM. Livro de Resumos, pp. 41.
- Hallet, C. I. and Bremmer, A. H. (1988), "Fine structure of the myocommata muscle fiber junction in hoki (*Macruronus novaezelandie*)", *Journal of Science Food and Agriculture*. No. 44. pp. 245-261.
- Hatae, K., Lee, K. H., Tsuchiya, T and Shimada, A. (1989), "Textural properties of cultured and wild fish meat", *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No.55. pp. 363-368.
- Hatae, K., Tamari, S., Miyanaga, K., and Matsumoto, J. J. (1985), "Species difference and changes in the physical properties of fish muscle as freshness decreases", *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No.51. pp. 1155-1161.
- Hatae, K., Tobimatsu, A., Takeyama, M., and Matsumoto, J. J. (1986), "Contribution of connective tissues on the texture difference of varies fish species". *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No.52. pp. 2001-2007.

- Kubota, S., Sata, k., Ohstuki, k., Kawabata, M. (1996), “Degradation de α -connectin in raw fish muscle and softening evaluated by breaking strength occur independently during one chilled storage”, *Fisheries Science*. No.3. pp. 600-602.
- Kumano, Y., Seki, N. (1993), “Change in α -connecting content during storage of iced, frozen, and thawed fish muscle”, *Nippon Suisan Gakkaishi*. No.59. pp. 559-564.
- Love, R. M. (1992), Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish, *In: Fish Processing Technology*, G. M. HALL. (Eds) Blache Academic G. Prossional. Glasgow (UK). Pp. 1-27.
- Love, R. M., Haq, M.; Smith, G. L. (1972), “The connective tissues of fish V. Gaping in cod of different sizes as influenced by a seasonal variation in the ultimate Ph”, *Journal of Food Technology*, No. 7. pp. 281-290.
- Love, R. M., Lavety, J., Steel, P. J. (1969), “The connective tissues of fish II. Gaping in commercial species of frozen fish in relation to rigor mortis”, *Journal of Food Technology*. No. 4. pp. 39-44.
- Mochizuki., S. and Sato, A. (1996), “Effects of various killing procedures on post-mortem changes in the muscle of hose mackerel”, *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No.64. pp. 276-279.
- Montero, P. and Borderias, J. (1990), “Effect of rigor mortis and ageing on collagen in trout (*Salmo irideus*) muscle”, *Journal Science Food Agriculture*. No.52. pp. 141-146.
- Oka, H., Ohno, K., Ninomiya, J. (1990), “Changes in texture during cold storage of cultured yellowtail meat prepared by different killing methods”, *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No.6. pp. 1673-1678.
- Pezzato, L.E., Barros, M.M., Del Carratore, C.R., Salaro, A.L., Oliveira, M.C.B. (1994), “Avaliação do matrinxã (*Brycon cephalus*) mantidos sob condições de clima sub

- tropical”, In: *Simpósio brasileiro de aqüicultura*, 8, Piracicaba. Livro de Resumos. pp. 62.
- Sato K., Yoshinaka, R., Itoh, Y., Sato, M. (1988a), “Molecular species of collagen in the intramuscular connective tissue of fish”. *Composition Biochemical and Physiological*. Vol. 92B. No.1. pp. 87-91.
- Sato K., Yoshinaka, R., Sato, M., Itoh, Y., Shimizu, Y. (1988), “Isolation of types I and V Collagens from carp muscle”, *Composition Biochemical and Physiological*. Vol. 90B. No.1. pp. 155-158.
- Sato, K., Ando, M., Kubota, S., Origasa, K., Kawase, H., Toyohara, H., Sakaguchi, M., Nakagawa, T., Makinodan, Y., Ohtsuki, K., and Kawabata, M. (1997), “Involvement of type V collagen in softening of fish muscle during short-term chilled storage”. *Journal of Agriculture Food Chemical*. No. 45. pp. 343-348.
- Sato, k., Ohashi, C., Ohtsuki, K., and Kawabata, M. (1991), “Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change chilled storage of muscle”, *Journal of Agriculture Food Chemical*. No.39. pp. 1222-1225.
- Sato, K., Yoshimaka, R., Sato, M., Shimizu, Y. (1986), “Collagen content in the muscle of fishes in association with their swimming movement and meat texture”, *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No.52. pp. 1595-1600.
- Tachibana, K., Misima, T., and Tsuchimoto, M. (1993), “Changes of ultrastructure and cytochemical Mg^{2+} -ATPase activity in ordinary muscle of cultured and wild red sea bream during storage in ice”, *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No. 59. pp. 721-727.
- Toyohara, H. and Shimizu, Y. (1988), “Relation of the rigor mortis of fish body and the texture of the muscle”, *Bulletin Japan Society Science of Fish*. No. 54. pp. 1795-1798.

Yamashita, M. and Kanagaya, S. (1991a), "Hydrolytic of salmon cathepsins B and L to muscle structural proteins in respect of muscle softening". *Bulletin Japan Society Science of Fish.* No 57. pp.1917-1922.

Yamashita, M. and Kanagaya, S. (1991b), "Immunohistochemical localization of cathepsins B and L in the white muscle of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in spawning migration: Probable participation of phagocytes rich in cathepsins in extensive muscle softening of the nature salmon". *Journal of Agriculture Food Chemical.* No.39. pp. 1402-1405.

Tabelas

Tabela 1. Valores da média e desvio padrão da força de ruptura antes e depois do resfriamento em matrinxã de três pesos distintos, medidos com texturômetro.

Força de ruptura (g) *	Peso dos peixes		
	120 g	230 g	350 g
Tratamento			
Antes do resfriamento	211,8 ± 16,9 ^a	196,4 ± 6,8 ^a	242,3 ± 23,5 ^a
Depois do resfriamento	116,5 ± 11,5 ^b	83,0 ± 2,1 ^b	102,1 ± 6,5 ^b

* Valores seguidos de letras diferentes, indicam diferença estatística ($P < 0,001$), tanto

para colunas quanto para linhas.

Fotos

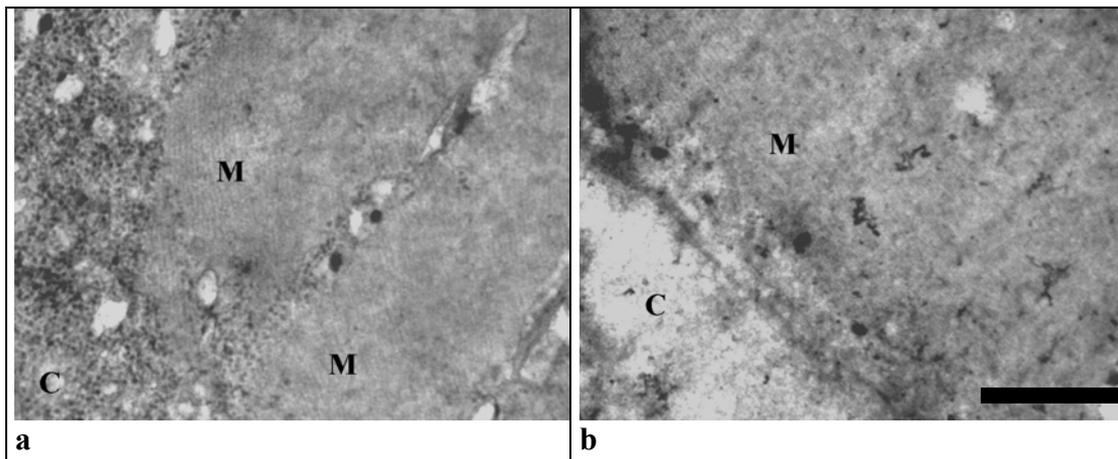


Figura 1. Mudanças na microestrutura do colágeno pericelular no músculo de matrinxã.

(a) fibra muscular e colágeno em estado fresco. (b) perda da arquitetura da fibra muscular e degradação do colágeno depois de 12 horas de armazenamento a -3°C . **M.** fibra muscular; **C.** fibras de colágeno. Barra representa 500 nm.

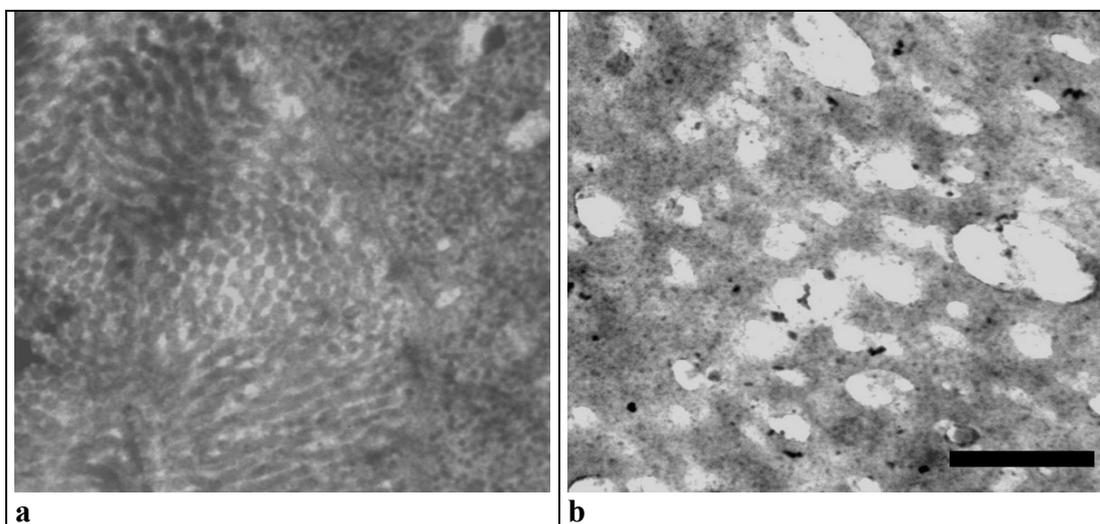


Figura 2. Tecido conectivo pericelular no músculo de matrinxã. (a) fibras de colágeno em estado fresco após da morte. (b) fibras de colágeno completamente degradadas após da armazenagem a frio durante 12 horas. Barra representa 500 nm.

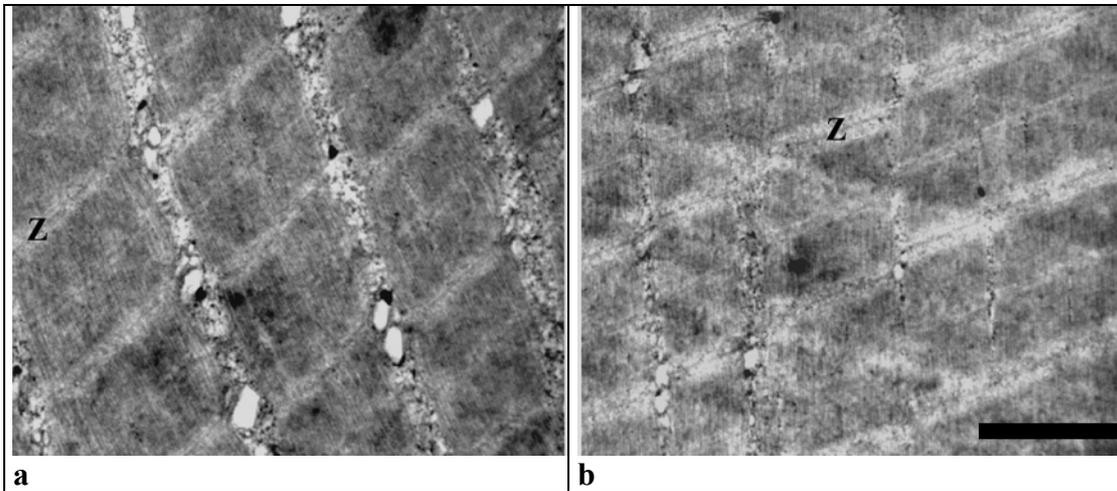


Figura 3. Cortes longitudinais da miofibrila muscular. (a) nota-se claramente a linha Z, em estado fresco. (b) depois do armazenamento as linhas Z apresentam-se pouco definidas. Barra representa 500 nm.

CAPITULO II.

**ANÁLISE DA MICROESTRUTURA DO AMOLECIMENTO *POST-MORTEM*
DA CARNE DE PEIXE DURANTE A ARMAZENAGEM A FRIO**SUÁREZ, M. H.,¹ BEIRÃO, L. H.²

¹ Mestre em Ciências dos Alimentos, UFSC. Instituto de Acuicultura, Universidad de los llanos, Meta, Colombia.

² Docente Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFSC. SC. Brasil
Endereço/Address: Hector suarez Mahecha Universidad de los Llanos, Km. 12 vía
Puerto López, Villavicencio, Meta, Colombia. AA 2621. e-mail:
hectorsuarez3@hotmail.com

ABSTRACT**Analyze of microstructure post mortem softening of fish meat during
chilled storage**

It was made a literature revision on the conformation and importance of connective tissue in the meat of the fish. The softening of meat fish "post mortem" as quality factor this influenced by the characteristics the present collagens in each species. The degradation of collagen has to do with the phenomena that happen as effect of cold. Very researches it has been demonstrating it influences of loss texture in meat fish as effect for degradation the tissue connective pericelular and not for tissue connective interstitial by biochemical tests, but mainly with the use of scanning and transmission electron microscope. At the present time some are proposed practice post crop to reduce this phenomenon.

Key words: post harvest, fish, softening, storage, texture, collagen.

RESUMO

Este trabalho consiste em uma revisão de literatura sobre a conformação e importância do tecido conectivo na carne dos peixes. O amolecimento da carne dos peixes, pós morte, é um fator de qualidade diretamente influenciado pelas características dos colágenos presentes em cada espécie. A degradação do colágeno está relacionada aos fenômenos que acontecem com a armazenagem a frio ou congelamento. Várias pesquisas têm demonstrado por meio de testes bioquímicos e, principalmente, utilizando a microscopia eletrônica de varredura e transmissão, que a perda da textura na carne dos peixes é um dos efeitos ocasionados pela degradação do tecido conectivo pericelular e não pelo tecido conectivo intersticial. Na atualidade são propostas algumas práticas para diminuir este fenômeno.

Palavras-chaves: peixe, pós morte, amolecimento, armazenagem, textura, colágeno, microscopia

INTRODUÇÃO

A firmeza é um fator muito importante para avaliação da qualidade da carne de peixe e fundamental no momento de comercializar o produto. Porém, estudos demonstram que com certa frequência, a carne de peixe amolece depois de 24 horas de armazenamento a frio (Hatae *et al.* 1985; Toyohara & Shimizu, 1988; Montero & Borderias, 1990; Oka *et al.* 1990; Muchizuki & Sato, 1996). Estudos estão sendo realizados principalmente em peixes marinhos para estudar a causa do amolecimento pós morte na carne dos peixes, poucos destes estudos, porém, foram realizados em espécies de água doce, sendo alguns em carpa (*Cyprinus carpio*) e truta (*Oncorhynchus mykiss*, *Salmo irideus*) (Ando *et al.* 1999; Ma, *et al.* 1991).

O colágeno é o maior constituinte do tecido conectivo intramuscular dos peixes, e demonstra exercer uma importante função na textura da carne de peixes (Sato et al. 1986; Hatae et al. 1986). Por outro lado, estudos histológicos têm demonstrado que o tecido conectivo pericelular é degradado mais intensamente durante a armazenagem a frio que o tecido conectivo intersticial (Bremner & Hallett, 1985, 1986; Hallett & Bremner 1988; Ando et al. 1991, 1995; Kubota et al. 1996). Alguns estudos relacionam o amolecimento da carne com a presença de alguns tipos de colágeno existentes nos peixes, especialmente o colágeno tipo V, enquanto outros relacionam este fato a presença de colágenos que diferem genética e quimicamente entre indivíduos da mesma espécie (Borstein & Sage, 1980).

A firmeza do músculo é também um importante índice de frescor da carne, porém, o amolecimento, resulta em uma diminuição da qualidade da mesma. Sendo então de extrema importância o conhecimento dos mecanismos que provocam este amolecimento, para que seja possível o desenvolvimento de métodos que, ao serem usados na piscicultura, sejam capazes de prevenir este processo de perda de textura e conseqüentemente, da qualidade da carne. Nesse sentido, alguns trabalhos referindo-se a este fenômeno, especialmente relacionados a espécies cultivadas em viveiro, vem sendo realizados (Hatae et al. 1989; Tachibana et al. 1993; Ando et al. 1999).

Com o propósito de tornar o tema sobre o amolecimento da carne dos peixes mais claro, descreveremos inicialmente o tecido conectivo e sua função, com relevância ao colágeno, e finalmente relataremos os resultados obtidos nas principais pesquisas realizadas nesta área, assim como algumas alternativas para a solução deste problema, no intuito de diminuir este fenômeno.

O Tecido conectivo

O tecido conectivo mantém e suporta os músculos estriados esqueléticos através dos tendões, epimísio, perimísio e endomísio, que envolvem todos os feixes, cada feixe e cada fibra muscular, respectivamente. É formado por várias fibras colágenas, elásticas e reticulares, diversos tipos de células e por uma substância fundamental amorfa.

A substância fundamental amorfa é uma mistura que não apresenta estrutura definida, formada por carboidratos, proteínas e lipídeos. Certa quantidade desta mistura envolve a célula formando parte do sarcolema, que é a membrana plasmática da fibra ou célula muscular. O sarcolema que envolve a fibra muscular está ligado ao tecido conjuntivo pela mediação de uma camada de substância intersticial constituída por glucosaminoglicanos, envolto por finas fibras de colágeno. Este conjunto constitui o endomísio (Lindent-Lorient, 1996).

No tecido conectivo existem diversos tipos de células: fibroblastos, células mesenquimatosas, macrófagos, mastócitos, plasmócitos, células adiposas e células leucocitárias (neutrófilos, eosinófilos e os linfócitos). Este tecido envolve o músculo através de uma membrana que une o colágeno dos tendões que se inserem no músculo (miocommata-miômero). Os constituintes protéicos principais dos tendões são o colágeno e a elastina, sendo que a maior parte do tecido conectivo é constituído por colágeno (70 a 80% matéria seca) (Cheftel, 1989).

Segundo Cheftel (1989), Lindent-Lorient (1996) e Ando et al (1999) estas são algumas características identificadas no sistema muscular dos peixes:

- O conteúdo do tecido conectivo muscular é menor que nos mamíferos e as proteínas do estroma representam 3-10% das proteínas totais.

- As fibras musculares são curtas, com alguns centímetros de comprimento e organizadas em lamínulas (miótomos).
- A miosina, que representa 40% das proteínas totais, é dificilmente separável da actina (20%). Esta proteína é mais sensível à desnaturação (calor-seco) e à proteólise que a miosina dos animais homeotérmicos.
- A rigidez cadavérica e a maturação são fenômenos relativamente rápidos no peixe. A queda pós morte do pH é menor, de 7 a 6,5-6,2 dando ao peixe uma maior instabilidade microbiológica.
- A temperatura de gelatinização do colágeno no peixe é inferior à da carne vermelha .
- O perímetro da fibra do colágeno é maior em peixes pelágicos e menor em demersais.

O Colágeno

O colágeno é uma proteína fibrosa, sendo a fração principal do tecido conectivo. Este componente contribui com a firmeza e dureza da carne. O colágeno é abundante nos tendões, na pele, nos ossos, no sistema vascular dos animais e nos envoltórios do tecido conectivo que rodeiam o músculo. A unidade estrutural do colágeno é o tropocolágeno, uma proteína em forma de hélice (15 Å de diâmetro e 3000 Å de comprimento) formada por três cadeias polipeptídicas chamadas cadeias α superenvolvidas em uma tripla hélice. Cada cadeia α forma uma hélice com giro à esquerda com três aminoácidos a sua volta. O envolvimento das três cadeias forma a tripla hélice apresentando giro a direita.

As cadeias polipeptídicas das unidades do tropocolágeno estão unidas por meio de ligações cruzadas covalentes, onde participam cadeias laterais de lisina e histidina. As ligações cruzadas, são reduzíveis e durante a maturação do tecido conectivo vão sendo gradualmente substituídas por ligações não reduzíveis (Belitz, 1988). Em animais mais velhos, como por exemplo os mamíferos, este tipo de ligações cruzadas não reduzíveis são responsáveis pela dureza da carne.

As cadeias α contém 100 tipos de resíduos de aminoácidos, sendo sua composição variada. Esta diversidade na composição dos aminoácidos das cadeias α é a causa da existência dos cinco tipos principais de colágeno (Tabela 1).

Tabela 1. Principais tipos de colágeno encontrados no músculo

Tipo	Cadeias peptídicas	Composição molecular	Distribuição
I	$\alpha^1 \alpha^2$	$[\alpha^1 (I)]_2 \alpha^2 (I)$	Pele, tendões, ossos e músculos (epimísio)
II	α^1	$[\alpha^1 (II)]_2$	Cartilagem
III	α^1	$[\alpha^1 (III)]_3$	Pele fetal, sistema cardiovascular, membranas sinoviais, órgãos internos e músculos (perimísio)
IV	$\alpha^1 \alpha^2$	$[\alpha^1 (IV)]_3 (?)^h (?)$	Membranas basais, cápsula do cristalino, glomérulos, membrana placentária, pulmões e músculos (endomísio).
V	$\alpha A, \alpha B, \alpha C$ (?)	$[\alpha B], \alpha A$ o $(\alpha B)_3$ $+(\alpha A)_3$ o $(\alpha C)_3$ (?)	Membrana placentária, sistema cardiovascular, pulmões e músculos (endomísio). São também componentes secundários de muitos tecidos.

Fonte: Belitz, 1988.

O colágeno existe em diversas formas polimorfas. O tipo mais comum é conhecido como colágeno tipo I que é formado por três cadeias polipeptídicas; duas delas denominadas $\alpha 1$, idênticas e unidas entre si por pontes de hidrogênio e pela terceira cadeia alfa 2, que possui uma seqüência de aminoácidos diferente. Cada cadeia tem peso molecular de 100.000 Daltons, dando um peso molecular total de 300.000 Daltons para o colágeno (Lindent & Lorient, 1996).

Outro tipo de colágeno encontrado no músculo, é conhecido como tipo III e está formado por três cadeias alfas idênticas denominadas $\alpha 1$ (III). Este tipo de colágeno possui ligações dissulfeto intramoleculares no peptídeo não helicoidal carboxiterminal.

Outra classe de moléculas de colágeno, conhecida como tipo IV, é mais complexa e parece encontrar-se formada por cadeias polipeptídicas de tamanhos diferentes.

Já a composição do colágeno de tipo V ainda não está muito clara e parece apresentar mais de um tipo de conformação molecular. Este tipo de colágeno encontra-se em peixes.

O colágeno é um grupo de moléculas similares, embora seus componentes ainda não tenham sido completamente identificados. O colágeno de tipo III parece exercer um papel importante na dureza do músculo. Em alguns casos, as cadeias de peptídeos que constituem o colágeno estão unidas mediante ligações covalentes cruzadas. Quando dois peptídeos se ligam desta maneira, chama-se componente β , e quando os três estão unidos, o produto é conhecido como componente gamma. A solubilidade do colágeno diminui a medida que aumentam as ligações cruzadas intermoleculares.

Segundo Ando *et al* (1999), o colágeno presente no músculo dos peixes poderia estar formado pelo tipo I e V, e conter fibras heterotípicas. A alta proporção em fibras do tipo V, resulta na formação de fibras delgadas, fato mostrado através do estudo de peixes pelágicos, incluindo maior quantidade de fibras de colágeno do tipo V. Para peixes demersais, o autor relata que o diâmetro da fibra de colágeno está entre 20.6 nm e 26,3 nm. Sendo que este tipo de colágeno tem tendência a se degradar durante a estocagem, permitindo que a carne amoleça no período pós morte.

Composição do colágeno em aminoácidos

Em geral, os aminoácidos encontrados no colágeno, caracterizam-se por sua elevada riqueza em glicina 33%, prolina 12% e alanina 11% e por conter dois aminoácidos pouco freqüentes nas demais proteínas, hidroxiprolina 12% e hidroxilisina 1%.

Nas cadeias polipeptídicas do colágeno são produzidas duas importantes oxidações: a conversão de prolina em hidroxiprolina e a conversão de lisina em hidroxilisina. Os sistemas enzimáticos utilizam oxigênio molecular, α cetoglutarato, íon ferroso e uma substância redutora, como o ascorbato. Este último favorece a cicatrização das feridas devido a seu papel na síntese do colágeno. Na deficiência de ácido ascórbico, os mucopolissacarídeos da substância basal da célula apresentam um caráter anormal e há mudanças significantes na natureza das fibrilas do colágeno que são formadas. No nível enzimático existe um indício de que o ácido ascórbico está envolvido na conversão de prolina a hidroxiprolina, funcionando como um agente redutor (Conn *et al.* 1980).

Nos mamíferos, com o passar dos anos, as ligações cruzadas do colágeno mudam de uma forma reduzível a outra não reduzível, mais estável. A natureza desta ligação cruzada não reduzível é desconhecida, ainda que existam diversas hipóteses. Esse aumento de ligações cruzadas do colágeno que aumentam com a idade, podem explicar parcialmente porque a carne de mamíferos velhos é mais dura que a carne de mamíferos jovens, ainda que os músculos dos animais jovens geralmente contenham mais colágeno.

Em peixes, esta situação é muito diferente. O colágeno dos miocommata dos peixes mais velhos é mais débil e tem menos ligações cruzadas que aquele de peixes jovens. Por outro lado, peixes mais velhos têm mais colágeno (fato evidenciado pela presença de miocommata mais espessa) que peixes mais jovens (Love, et al 1992; Love, et al 1972) .

A medida que as ligações cruzadas do colágeno vão se formando, sua solubilidade, em diversos solventes, como soluções salinas e ácidas, vai diminuindo. Portanto, enquanto a quantidade de colágeno insolúvel aumenta nos mamíferos com o passar da idade, em peixes, como por exemplo o bacalhau, ela permanece quase inalterada. Já o colágeno solúvel aumenta claramente em peixes. Entretanto, peixes submetidos a uma subalimentação prolongada, produzem mais colágeno com ligações cruzadas que os peixes bem alimentados (Fenema, 1993). Isto poderia ser utilizado para melhorar a textura da carne de aqueles peixes que apresentam o amolecimento pós morte.

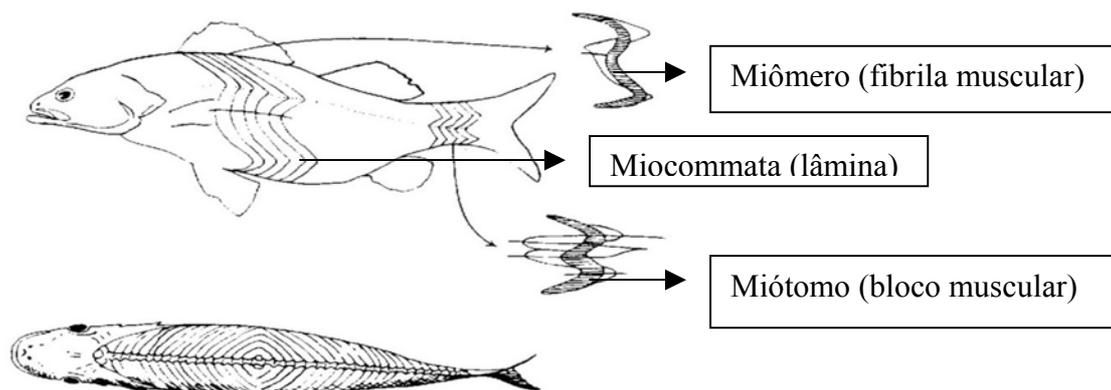
Com relação à proteólise enzimática, segundo Conn *et al.* (1980) a maioria das enzimas proteolíticas têm baixa atividade no colágeno nativo, porém, degradam facilmente o colágeno desnaturado. Têm-se identificado collagenases em diversos tecidos animais, entretanto, é difícil detectar sua presença devido ao fato de exibirem uma escassa atividade, sendo que este fato se deve aos mecanismos de controle que operam nos tecidos. A maioria das collagenases animais hidrolisam uma só ligações em cada uma das três cadeias da molécula de colágeno. Diversos microorganismos, especialmente *Clostridium*, produzem collagenases. Estas enzimas diferem das collagenases animais porque degradam extensamente o colágeno. As proteinases não collagenases podem hidrolisar a molécula do colágeno na região telopeptídea.

Desconhece-se a importância das enzimas colagenases para a degradação do colágeno “in-situ”, porém estas podem ter certa importância no armazenamento pós morte.

Morfologia dos peixes

A carne dos peixes teleósteos é formada por blocos musculares adjacentes, denominados miótomos e separados um do outro por lâminas de colágeno denominados mioconmata (Nurshall, 1956). Os miótomos dos dois lados do esqueleto axial têm forma de W e correm no comprimento do corpo formando séries seguidas de W. Dentro de cada miótomo, as fibras musculares (miômeros) correm de forma paralela formando ângulos que favorecem os movimentos necessários durante o nado. O mioconmata está conectado internamente à pele e ao sistema esquelético unido à membrana que divide o peixe em região epiaxial e hipoaxial através de um septum médio vertical, como pode observar-se na figura 1.

Figura 1. Disposição do miômero, mioconmata e miótomo.



Fonte: modificado de Bremmer & Hallet, 1985.

As uniões entre o miômero e o mioconmata estão relatados como processos formados por fino colágeno, o qual tem sua origem no mioconmata e envolve cada fibra muscular (Louve, 1970; Love *et al.* 1969).

A microscopia tem sido utilizada para o estudo das fibras musculares de peixes. Mais especificamente, a microscopia eletrônica de transmissão (TEM) (Jarenbäck & Liljemark, 1975; Liljemark, 1969). Apesar da importância da relação entre miômero/mioconmata no corpo dos peixes “in vivo e pós morte”, poucos ainda são os estudos nesta área. Uma possível razão para esta situação poderia ser a dificuldade na preparação das amostras (Bremner & Hallett, 1985).

Ainda que existam diferenças entre a organização das fibras musculares em peixes e animais terrestres, nos quais os músculos terminam em tendões unindo-se ao esqueleto, a microestrutura pode ser similar. Por esta razão, diversos autores utilizam para peixes, a terminologia aplicada aos músculos dos mamíferos, como por exemplo, plasmalema (sarcolema) aplicadas à membrana celular da fibra muscular de peixes. Além disso, a lâmina basal (membrana basal) que une as fibras de colágeno (reticular) ao endomísio, ocorre dentro do perimísio. Já, em peixes, a lâmina basal é contígua ao mioconmata (Bremner & Hallett, 1985).

Deterioração do tecido conectivo

Diversos estudos têm demonstrado que as mudanças ocorridas com relação às propriedades físicas da carne dos peixes, conhecidas como amolecimento durante a armazenagem, são mais causadas por mudanças nas estruturas do tecido muscular do que por mudanças nos componentes das proteínas (Hatae *et al.* 1985).

O colágeno é um dos maiores constituintes do tecido conectivo intramuscular nos peixes, e vem demonstrando exercer um papel muito importante na textura da carne (Sato *et al.*1986; Hatae *et al.*1986). Em adição, estudos histológicos mostram que o tecido conectivo pericelular é degradado mais intensamente durante o armazenamento a frio que o tecido conectivo intersticial (Bremner & Hallett, 1985, 1986; Hallett & Bremner, 1988; Ando *et al.*1991).

A partir dos anos oitenta, trabalhos específicos sobre o amolecimento da carne dos peixes como efeito da armazenagem a frio foram realizados. Em um deles, Bremner & Hallett (1986), pesquisando sobre a degradação do tecido conectivo e sua união na fibra muscular no peixe “Spotted trevalla” (*Seriolella punctata*), utilizando a microscopia eletrônica de varredura (SEM), demonstraram que neste peixe, armazenado durante vários dias em gelo, acontecia uma progressiva e visível deterioração nas fibras de colágeno. Os autores sugerem que esta provável degradação era um fenômeno comum que resultava na baixa coesão da carne de peixe armazenada a frio, e tais eventos poderiam agir juntamente com outras influências degradáveis como aumento do pH e efeitos de deterioração bacteriana.

Estudos sobre o amolecimento da carne de peixe apresentam diferentes resultados com relação à textura da carne crua e após o cozimento, para diferentes espécies. Com relação a contribuição do tecido conectivo nas diferentes texturas obtidas em cinco espécies de peixes, Hatae *et al.* (1986) relataram que os valores de firmeza para a carne crua dos peixes: “plaice” (*Limanda yokohamae*), “channel rock fish” (*Sebastolobus macrochir*), “flying fish” (Família *Exocoetidae*), “skipjack” (*Katsuwonus pelamis*) e “horse mackerel” (*Trachurus japonicus*), diminuíram respectivamente, sendo que, para a carne cozida, a ordem foi respectivamente: “skipjack”, “flying fish”, “horse mackerel”, “plaice”, e “channel rock fish”. O resultado sobre a textura foi inverso entre

a carne crua e cozida, exceto para o “channel rock fish”. Também foi correlacionado a maior quantidade de colágeno com a firmeza da carne crua, tanto que, na carne cozida a firmeza não dependia da quantidade das proteínas do tecido conectivo, mas provavelmente dos outros fatores associados às características da fibra muscular.

Na pesquisa realizada por Hallett & Bremner (1988), utilizando a microscopia eletrônica de varredura sobre a fina estrutura da união da miocommata-fibra muscular em “Hoki” (*Macruronus novazelandiae*), durante nove dias de armazenamento em gelo, foi observado que esta estrutura permanece igual durante o pré rigor e rigor mortis e somente é afetada durante o post-rigor, acontecendo uma debilidade na invaginação das fibras de colágeno e a lâmina basal, resultando numa desconexão das fibras musculares do miocommata. Estes autores sugerem o congelamento em estado de pré-rigor para preservar a estrutura da carne deste peixe.

Os métodos de abate também foram pesquisados, pois existiam dúvidas sobre a sua influência na textura da carne. Estudos foram realizados por Azam *et al.* (1989) sobre os efeitos dos métodos de abate como: eletrocussão, concentrações elevadas de dióxido de carbono e golpe na cabeça, sobre a qualidade da carne da truta (*Salmo gairdneri*) armazenada em gelo. Nenhum efeito significativo sobre a firmeza da carne, medida com texturômetro, foi encontrado. Resultados similares foram relatados para “channel catfish” por Boggess *et al.* (1973). Oka *et al.* (1990) também não encontraram correlações com a firmeza da carne quando utilizaram como métodos de abate, o corte espinal, gelo na água e asfixia.

Outro aspecto importante que deve ser levado em conta é quanto a procedência dos peixes, que podem apresentar diferenças quanto às propriedades físicas da carne. Sobre a textura da carne de peixes marinhos cultivados e de ambiente natural, diferenças variadas com relação às propriedades físicas foram encontradas por Hatae *et al.* (1989).

Quando comparada a firmeza da carne da mesma espécie cultivada e de ambiente natural, apresentou-se de forma decrescente para “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*), seguido pelo “red sea bream” (*Pagrus major*) e finalmente “flounder” (*Paralichthys olivaceus*). Quando a carne foi cozida, pequenas diferenças foram encontradas para “yellowtail” e “red sea bream”, entretanto, para “flounder”, foram encontradas diferenças significativas.

A influência da origem dos peixes também tem sido estudada, através da correlação de testes bioquímicos e diferenças na textura da carne. Tachibana *et al.*(1993), em estudo da microestrutura e citoquímica do músculo do peixe “red sea bream” (*Pagrus major*) de ambiente natural e de cultivo, mostraram como a degeneração das linhas Z durante o primeiro dia de armazenamento em gelo é iniciada nos peixes de cultivo. Neste estudo, para peixes de ambiente natural, as linhas Z apresentaram continuidade durante os três dias de armazenamento. Kumano & Seki (1993) pesquisando sobre o α -conectina, filamentos que unem o disco Z com os filamentos grossos (miosina), estudaram peixes de cultivo: carpa (*Cyprinus carpio*), truta “arco íris” (*Oncorhynchus mykiss*), e “flatfish” (*Paralichthys olivaceus*) e de ambiente natural: “stone flounder” (*Kareius bicoloratus*), em condições de armazenamento em gelo, congelados e descongelados. Ao final do trabalho, sugerem que existem outros fatores que causam um forte amolecimento do músculo descongelado em adição à desintegração da α -conectina. Estes fatores poderiam ser responsáveis pela desintegração estrutural do músculo, afetando em diferentes intensidades cada espécie de peixe. Resultados similares foram encontrados por Kubota *et al.*(1996) onde não foi comprovada correlação entre o amolecimento da carne de peixes de cultivo, entre eles carpa (*Cyprinus carpio*), “tiger puffer” (*Fugu rubripes*), “truta” (*Oncorhynchus mykiss*) com peixes de ambiente natural “red sea bream”

(*Pagrus major*), flounder (*Paralichthys olivaceus*) e “sardinha” (*Sardinops melanostica*), assim como mudanças no α -conectina durante um dia de refrigeração a 5°C.

Outro evento também relacionado ao amolecimento da carne foi a resolução do rigor mortis, a qual poderia ter relação com a firmeza da carne. Para determinar a possível relação entre o amolecimento da carne de peixe e a resolução do rigor mortis, Ando *et al.*(1991) utilizaram o índice do rigor e a força à ruptura da carne medido por texturômetro. Foram empregados os seguintes peixes: “Plaice” (*Paralichthys olivaceus*), “parrot bass” (*Oplegnathus fasciatus*), “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*), “carpa” (*Cyprinus carpio*), “red sea-bream” (*Pagrus major*), “striped grunt” (*Parapristipoma trilineatum*), “tiger puffer” (*Fugu rubripes*) e truta “arco íris” (*Oncorhynchus mykiss*). Alguns peixes conseguiram alcançar o máximo rigor mortis 24 horas após a morte. Para alguns peixes a duração do rigor foi superior a 72 horas após a morte e não foi observada a resolução do rigor dentro deste período. A carpa só atingiu 60% do índice de rigor, entretanto, a força à ruptura dos músculos de todos os peixes testados com texturômetro, exceto para “tiger puffer”, diminuiu rapidamente dentro das 24 horas após a morte e decresceu gradualmente. Os valores encontrados então, são diferentes para cada espécie, demonstrando que o amolecimento do músculo dos peixes é um processo independente do rigor mortis.

No que diz respeito a testes bioquímicos, pesquisas feitas por Montero & Borderias (1990) determinaram que as fibras de colágeno relacionadas com o amolecimento da carne em truta (*Salmo irideus*), sob refrigeração após 24 horas, são fatores presentes no período de post-rigor. Estes pesquisadores não encontraram relação entre enzimas proteolíticas durante o pré-rigor e o rigor mortis, encontrando somente colágeno tipo I. Este amolecimento foi associado à presença de ácido láctico produzido

pela glicólise anaeróbica, como atividade das proteases, num período de armazenamento superior a 72 horas.

Estudos vem demonstrando a presença de vários tipos de colágeno em peixes, associados ao amolecimento da carne. Recentemente Sato *et al.*(1988, 1989a) demonstraram a presença dos tipos de colágeno I e V no músculo de várias espécies de peixes, por outro lado, Montero & Borderias (1990), Montero & Mackie (1992), detectaram somente tipo I no músculo de truta (*Salmo irideus*).

Sato *et al.* (1991), pesquisando as mudanças pós morte nos tipos de colágeno I e V no músculo de truta arco íris em relação ao amolecimento do músculo durante o armazenamento a 5°C, não encontraram degradação na região helicoidal do colágeno. Por outro lado foi observado que a solubilidade do colágeno tipo V aumentou de forma significativa, enquanto que o colágeno tipo I não mudou. Estes fatores sugerem que a degradação das regiões não helicoidais ou intermoleculares acontecem preferivelmente em colágenos do tipo V. Para esta espécie, o amolecimento pós morte do músculo, causado pela desintegração das fibras de colágeno pericelular, foi demonstrado por Ando *et al.*(1992). Utilizando o microscópio eletrônico de transmissão, estes autores observaram as mudanças da ultra estrutura do músculo durante a armazenagem e relacionaram-nas com as informações obtidas pelo texturômetro. Concluíram, então, que a perda da firmeza da carne foi causada pela desintegração das fibras de colágeno no tecido conectivo pericelular. Ando *et al.* (1991) têm sugerido que a integridade da estrutura da matriz extracelular, especificamente do colágeno é muito importante para a firmeza do músculo do peixe. Em microscopia de luz, observaram que ocorre uma gradual desintegração da estrutura matriz extracelular, onde pequenas mudanças foram observadas dentro do tecido conectivo após um teste de compressão feito a uma porção do músculo do peixe, armazenado em gelo a 5°C. Estes autores concluem que o

amolecimento pós morte do músculo de peixe está relacionado a desintegração gradual da matriz extracelular depois da morte.

A partir do levantamento bibliográfico, nos últimos cinco anos sobre o fenômeno do amolecimento da carne do peixe, observa-se uma tendência de realização de pesquisas, preferencialmente, utilizando a microscopia, onde é possível demonstrar a degradação do tecido conectivo e sua correlação com a firmeza da carne através de métodos mensuráveis (Ando *et al.*1991). Em uma pesquisa feita com microscopia eletrônica de varredura (SEM), Ando *et al.*(1995) demonstraram as mudanças tridimensionais na rede de tecido conectivo pericelular correspondente ao amolecimento pós mortem. Estes autores utilizaram a truta “arco íris”, “yellowtail”, e “tiger puffer”. A carne da truta “arco íris” e o “yellowtail” foram amolecidas durante o armazenamento, mas o músculo do “tiger puffer” não foi afetado pelo amolecimento após 72 horas de armazenamento. De acordo com as observações histológicas, as fibras do tecido conectivo pericelular no músculo da truta “arco íris” e do “yellowtail” começam a diminuir após 24 horas. Porém, no músculo de tiger puffer, não foram observadas mudanças estruturais. Estes resultados mostram que as mudanças na rede do colágeno fibrilar correspondem ao amolecimento pós morte.

Os estudos nestes últimos anos também confirmam a presença de alguns tipos específicos de colágeno nos peixes, especialmente tipo I e V, Sato *et al.* (1988, 1989a); Montero & Borderias (1990); Sato *et al.* (1991). Sato *et al.*(1997) pesquisando sobre a responsabilidade do colágeno tipo V no amolecimento da carne de sardinha (*Sardinops melanosticta*) e “tiger puffer” (*Fugu rubripes*) encontraram que, para a sardinha, durante um dia de armazenamento a 5⁰C, que o colágeno tipo V começa a solubilizar-se simultaneamente com o amolecimento do músculo. Tal fato pode ser causado pela debilidade do tecido conectivo pericelular provocado pela desintegração das fibras

delgadas do colágeno. Embora mudanças na estrutura do tecido conectivo intersticial ou nas propriedades bioquímicas do colágeno tipo I, não tenham sido observadas. Enquanto que para o “tiger puffer” mudanças no amolecimento durante o armazenamento não foram detectadas. Estes fatores sugerem que a desintegração do colágeno tipo V causa desintegração das fibras delgadas do colágeno no tecido conectivo pericelular, debilitando o tecido conectivo pericelular e resultando num amolecimento post-colheita.

Resultados similares foram encontrados para a degradação do colágeno em peixes de cultivo pelágicos e demersais por Ando *et al.* (1999) identificando o diâmetro médio da fibrila de colágeno de 20,6 nm e 26,3 nm respectivamente. Foi utilizada a microscopia eletrônica de transmissão, sendo que, este diâmetro foi maior para os peixes demersais “red sea bram” (*Pagrus major*), “Rudder-fish” (*Girella punctatae*) “Flatfish” (*Paralichthys olivaceus*), e menor para os peixes pelágicos “Striped Jack” (*Caranx delicatissimus*), “Yellwtail” (*Seriola quinqueradiata*) e “Horse mackerel” (*Trachurus japonicus*). Considera-se que a espessura das fibras de colágeno diferem pela existência genética de diferentes formas moleculares, tipo I e V (Sato et al. 1988; Ando, 1997). Além disso, os colágenos tipo I e V podem ter fibrilas heterotípicas, e a alta proporção do colágeno tipo V resulta na formação de delgadas fibrilas (Adachi & Hayashi, 1986; Birk et al. 1990). Segundo estas pesquisas, as fibrilas de colágeno dos peixes pelágicos, as quais são mais delgadas, podem conter mais colágeno tipo V. Este tipo de colágeno tem a tendência a se degradar durante a armazenagem, causando o amolecimento pós morte. Sato *et al.* (1997) propõe a realização de uma sangria prévia nos peixes pós captura para impedir o amolecimento rápido.

Finalmente, para explicar o fenômeno do amolecimento pós morte encontrado especialmente nas espécies de viveiro, serão propostas algumas teorias. Hatae et al.

(1989), Tachibana et al. (1993) propõe simplesmente, que o amolecimento acontece mais cedo em espécies de cultivo do que na natureza. Entretanto, Ando et al. (1999) considera que peixes de cultivo bem alimentados têm uma taxa de rotação de proteína muito mais elevada que peixes de ambiente natural, isso poderia originar uma atividade de proteólise elevada no músculo dos peixes de cultivo . Por outra parte, peixes submetidos a uma subalimentação prolongada, produzem mais colágeno e com mais ligações cruzadas que os peixes bem alimentados (Fenema, 1993). Mesmo que não existam claras evidências sobre o catabolismo das proteínas do tecido conectivo, existe um marcado aumento da espessura do miocommata observado no bacalhau subalimentado (Lavety & Love, 1972; Love, 1976), provavelmente observado devido à adição das fibrilas de colágeno na camada do miocommata durante o período da subalimentação (Love, 1992), incidindo possivelmente no efeito da temperatura da armazenagem sobre a textura da carne, apresentado nos referidos peixes de ambiente natural e em cativeiro .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADACHI, E. & HAYASHI, T. 1986 In vitro formation of hybrid fibrils of type V collagen and type I collagen. *Connective Tissue Res.* 14: 257-266.
- ANDO, M. 1997 Softening mechanism of fish meat. *Suisangaku Series. Kouseisha Kouseikaku*. Tokyo. Japan. 114. 73-82.
- ANDO, M.; NISHIYABU, A.; MAKINODAN, Y. 1999 Post mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. *Journal of food science*, v 64. No. 3.
- ANDO, M.; NISHIYABU, A.; TSUKAMASA, Y.; MAKINODAN, Y. 1999 Post mortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. *Journal of Food Science*. 64: 3. 423-428.
- ANDO, M.; TOYOHARA, H.; AND SAKAGUCHI, M. 1992 Post mortem tenderization of rainbow trout muscle caused by the disintegration of collagen fibers in the pericellular connective tissue. *Bulletin Japan Society Science of Fish*. 58: 567-570.

- ANDO, M.; TOYOHARA, H.; SHIMIZU, Y.; AND SAKAGUCHI, M. 1991a Post mortem tenderization of fish muscle proceeds independently of resolution of rigor mortis. *Bulletin Japan Society Science of Fish.* 57: 1165-1169.
- ando, m.; toyohara, h.; shimizu, y.; e sakaguchi, m. 1991 Validity of a puncture test for evaluating the change in muscle firmness of fish during ice storage. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 57, 2341.
- ANDO, M.; TOYONARA, H.; SHIMIZU, Y.; AND SAKAGUCHI, M. 1991b Post mortem tenderization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle caused by gradual disintegration of the extracellular matrix structure. *Journal Science Food Agriculture.* 55: 589-597.
- ANDO, M.; YOSHIMOTO, Y.; INABU, K.; NAKAGAWA, T.; AND MAKIMODAN, Y. 1995 Post mortem change of three-dimensional structure of collagen fibrillar network in fish muscle pericellular connective tissues corresponding to post mortem tenderization. *Fisheries Science.* 61: 327-330..
- AZAM, K.; MACKIE, M.I.; SOUTH, J. 1989 The effect of slaughter method on the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during storage on ice. *Int. Journal of food Science and Technology.* 24: 69-79.
- BELITZ, H.D.; GORSCH, W. 1988 *Química de los alimentos.* Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, p. 570-588, 590-592, 596-597.
- BIRK, D. E.; FITCH, M. J.; BABIARZ, P. I. AND LINSEMYER, E. T. 1990 Fibrogenesis in vitro: interaction of type I and V collagen regulates fibril diameter. *Journal Cellular Science.* 95: 649-657.
- BOGGESE, T. S.; HEATEN, E. K.; SHEWFELT, A. L AND PARVIN, D.W. 1973 techniques for stunning channel catfish and their effects on product quality. *Journal Food Science.* 38. 1190-1193.
- BORNSTEIN, H. A.; SAGE, H. 1980 Structurally distinct collagen types. *Ann. Rev. Biochemical,* 49, 957-1003,
- BREMMER, A. H. AND HALLET, C. I. 1986 Degradation muscle fibre-connective tissue junctions in the Spotted Trevalla (*Seriola punctata*) Examined by Scanning Electron Microscopi. *Journal of Science Food and Agriculture.* 37: 1011-1018.
- BREMMER, A. H. AND HALLET, C. I. 1985 Muscle fiber-connective tissue junctions in the fish blue grenadier (*Macruronus novaezelandiae*). A scanning electron microscope study. *Journal of Food Science.* 50: 975-980.
- CHEFTEL, J.C.; CUQ, J.L.; LORIENT, D. 1989 *Proteínas alimentarias.* Ed. Acribia , S.A. Zaragoza, 756 p.
- COON, E.E.; STUMPF. 1980 *Introdução a Bioquímica.* Ed. Edgard Blucher Ltda. São Paulo, 320 p.
- FENNEMA, O. R. 1993 *Química de los alimentos.* Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España, p. 365, 369, 512-514, 572, 971.
- HALLET, C. I. AND BREMMER, A. H. 1988 Fine structure of the myocommata muscle fiber junction in hoki (*Macruronus novaezelandie*). *Journal of Science Food and Agriculture.* 44: 245-261.

- HATAE, K.; LEE, K. H.; TSUCHIYA, T AND SHIMADA, A. 1989 Textural properties of cultured and wild fish meat. *Bulletin Japan Society Science of Fish.* 55: 363-368.
- HATAE, K.; TAMARI, S.; MIYANAGA, K.; AND MATSUMOTO, J. J. 1985 Species difference and changes in the physical properties of fish muscle as freshness decreases. *Bulletin Japan Society Science of Fish.* 51: 1155-1161.
- HATAE, K.; TOBIMATSU, A.; TAKEYAMA, M.; AND MATSUMOTO, J. J. 1986. Contribution of connective tissues on the texture difference of varies fish species. *Bulletin Japan Society Science of Fish.* 52: 2001-2007.
- JARENBÄCK, L. AND LILJEMARK, A. 1975 Ultratrastural changes during frozen storage of cod (*Gadus morthua*) 1. Structure of myofibrils as rivaled by freeze etching preparation. *Journal of Food Technology.* 10: 229.
- KUBOTA, S.; SATA, K.; OHSTSUKI, K.; KAWABATA, M. 1996 Degradation de α -connectin in raw fish muscle and softening evaluated by breaking strength occur independently during one chilled storage. *Fisheries Science.* 3: 600-602.
- KUMANO, Y.; SEKI, N. 1993. Change in α -connecting content during storage of iced, frozen, and thawed fish muscle. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 59: 559-564.
- LAVETY, J. AND LOVE, R. M. 1972 The strengthening of cod connective tissue during starvation. *Comp. Biochem. Physiol.* 41A, 39-42.
- LILJEMARK, A. 1969 Influence of freezing and cold storage on the submicroscopical structure of fish muscle. In "Freezing and irradiation of fish" . p. 140, ed. Kreuzer. Fishing News (BookS) Ltd. London.
- LINDEN, G.; LORIENT, D. 1996 *Bioquimica Agroindustrial.* Ed. Acribia S. A. Zaragoza, p. 63, 85, 71, 85-88. p 430.
- LOVE, R. M. 1992 Biochemical dynamics and the quality of fresh and frozen fish, G. M. HALL. (Eds) Blache Academic G. Prossional. Glasgow (UK). In: *Fish Processing Technology* 1-27 p.
- LOVE, R. M.; HAQ, M.; SMITH, G. L. 1972 The connective tissues of fish V. Gaping in cod of different sizes as influenced by a seasonal variation in the ultimate pH. *Journal of Food Technology.* 7: 281-290.
- LOVE, R. M.; LAVETY, J.; STEEL, P. J. 1969 The connective tissues of fish II. Gaping in commercial species of frozen fish in relation to rigor mortis. *Journal of Food Technology.* 4: 39-44.
- MA, L. B. AND YAMANAKA, H. 1991 Studies on Thaw-rigor in red sea bream and carpa muscles. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 57: 1365-1368.
- MOCHIZUKI, S.; NORITA, Y.; AND MAENO K. 1998 Effects of bleeding on post mortem changes in the muscle of horse mackerel. *Bulletin Japan Society Science of Fish.* 62: 453-457.
- MOCHIZUKI, S. AND SATO, A. 1996 Effects of various killing procedures on post mortem changes in the muscle of hose mackerel. *Bulletin Japan Society Science of Fish.* 64: 276-279.
- MONTERO, P. AND BORDERIAS, J. 1990 Effect of rigor mortis and ageing on collagen in trout (*Salmo irideus*) muscle. *Journal Science Food Agriculture.* 52: 141-146.

- MONTERO, P.; MACKIE, I. M. 1992 Changes in intramuscular collagen of cod (*Gadus morhua*) during post mortem storage in ice. *Journal Science Food Agriculture*. 59: 89-96.
- NURSALL, J. R. 1956 The lateral musculature and the swimming of fish. *Proc. Zoology Society of London*. 126-127.
- OKA, H.; OHNO, K.; NINOMUYA, J. 1990 Changes in texture during cold storage of cultured yellowtail meat prepared by different killing methods. *Bulletin Japan Society Science of Fish*. 56: 1673-1678.
- SATO K.; YOSHINAKA, R.; ITOH, Y.; SATO, M. 1988a Molecular species of collagen in the intramuscular connective tissue of fish. *Composition Biochemical and Physiological*. 92B (1), 87-91.
- SATO K.; YOSHINAKA, R.; SATO, M.; ITOH, Y.; SHIMIZU, Y. 1988. Isolation of types I and V Collagens from carp muscle. *Composition Biochemical and Physiological*. 90B (1), 155-158.
- SATO K.; YOSHINAKA, R.; SATO, M.; SHIMIZU, Y. 1987 Collagen content in the muscle of fishes in association with their swimming movement and meat texture. *Bulletin Japan Society Science of Fish*. 52 (9) 1595-1600.
- SATO, K.; ANDO, M.; KUBOTA, S.; ORIGASA, K.; KAWASE, H.; TOYOHARA, H.; SAKAGUCHI, M.; NAKAGAWA, T., MAKINODAN, Y.; OHTSUKI, K.; AND KAWABATA, M. 1997 Involvement of type V collagen in softening of fish muscle during short-term chilled storage. *Journal of Agriculture Food Chemical*. 45: 343-348.
- SATO, K.; OHASHI, C.; OHTSUKI, K.; AND KAWABATA, M. 1991 Type V collagen in trout (*Salmo gairdneri*) muscle and its solubility change chilled storage of muscle. *Journal of Agriculture Food Chemical*. 39: 1222-1225.
- SATO, K.; YOSHIMAKA, R.; SATO, M.; SHIMIZU, Y. 1986 Collagen content in the muscle of fishes in association with their swimming movement and meat texture. *Bulletin Japan Society Science of Fish*. 52: 1595-1600.
- TACHIBANA, K.; MISIMA, T.; AND TSUCHIMOTO, M. 1993 Changes of ultrastructure and cytochemical Mg^{2+} -ATPase activity in ordinary muscle of cultured and wild red sea bream during storage in ice. *Bulletin Japan Society Science of Fish*. 59: 721-727.
- TOYOHARA, H. AND SHIMIZU, Y. 1988 Relation of the rigor mortis of fish body and the texture of the muscle. *Bulletin Japan Society Science of Fish*. 54: 1795-1798.

Tabelas

Tipos de colágeno

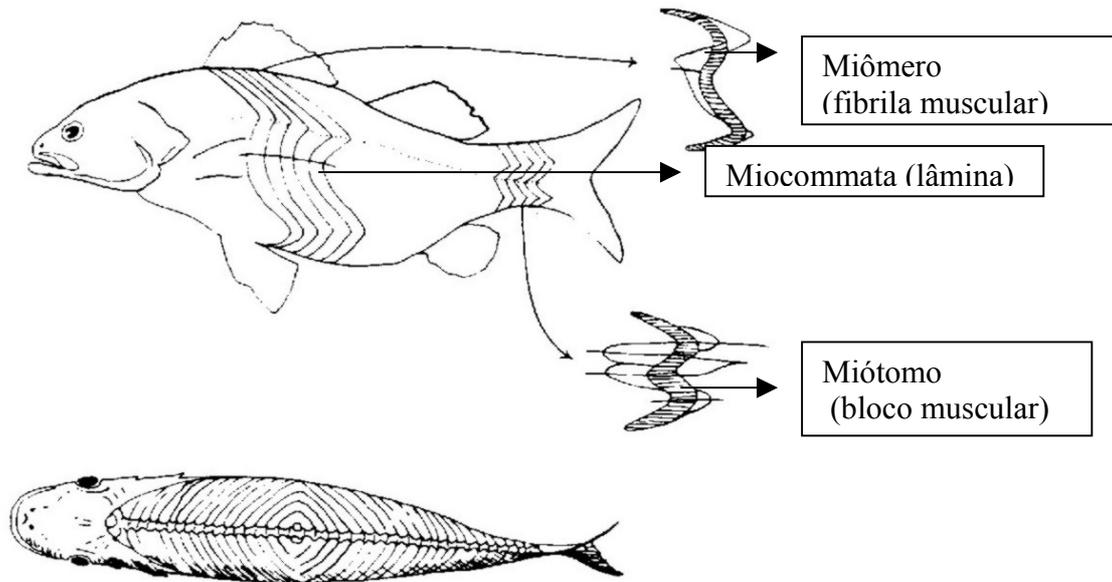
Tabela 1. Principais tipos de colágeno

Tipo	Cadeias peptídicas	Composição molecular	Distribuição
I	$\alpha^1 \alpha^2$	$[\alpha^1 (I)]_2 \alpha^2 (I)$	Pele, tendões, ossos e músculos (epimísio)
II	α^1	$[\alpha^1 (II)]_2$	Cartilagem
III	α^1	$[\alpha^1 (III)]_3$	Pele fetal, sistema cardiovascular, membranas sinoviais, órgãos internos e músculos (perimísio)
IV	$\alpha^1 \alpha^2$	$[\alpha^1 (IV)]_3 (?)^h (?)$	Membranas basais, cápsula do cristalino, glomérulos, membrana placentária, pulmões e músculos (endomísio).
V	$\alpha A, \alpha B, \alpha C$ (?)	$[\alpha B], \alpha A$ o $(\alpha B)_3$ $+(\alpha A)_3$ o $(\alpha C)_3$ (?)	Membrana placentária, sistema cardiovascular, pulmões e músculos (endomísio). São também componentes secundários de muitos tecidos.

Fonte: Belitz, 1988.

Figuras

Figura 1. Disposição do miômero, miocommata e miótomo.



Fonte: modificado de Bremner & Hallet, 1985.

Considerações finais

Devido ao fato de grande interesse que representa o amolecimento *post-mortem* dos peixes para a Ciência e Tecnologia de Alimentos entre os piscicultores e pesquisadores, o presente trabalho contribui com informações sobre este evento no matrinxã. Apresenta dados de interesse tais como: a localização do colágeno responsável pelo amolecimento, os valores de textura da carne de peixe antes e depois do resfriamento, e as observações histológicas que permitem correlacionar os resultados. Também consideramos que possivelmente seja uma das primeiras pesquisas feita com espécies nativas, que determina os fatores do amolecimento *post-mortem* especialmente no matrinxã.

Em trabalhos posteriores, recomenda-se avaliar o matrinxã considerando peixes de viveiro e de ambiente natural, utilizar tamanhos não considerados na presente pesquisa, determinar os aminoácidos presentes no colágeno mediante a análise do gotejamento, determinar a influência da subalimentação na textura final da carne e considerar outras espécies nativas, entre outros.

Os artigos gerados pelo presente trabalho serão submetidos para publicação na revista *British Food Journal* e *Brazilian Journal of Biology*.

Referencias bibliográficas da Introdução geral

1. ANDO, M.; NISHIYABU, A.; TSUKAMASA, Y.; MAKINODAN, Y. “post-mortem” softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. **Journal of Food Science**. 64: 3. 423-428. 1999.
2. BRAUM, E. & JUNK, W. J. Morphological adaptation of two Amazonian Characoids (Pices) for surviving in oxygen deficient waters. **Int. Revue ges. Hydrobiology**. 67 (6): 869-886. 1982.
3. CANEPA, J. Estudo Bioecológico del “sabalo cola roja” *Brycon erythopterus* en el Sistema de Lagunas Supay y Aledaños, Jenaro Herrera. Requena. Lima, Perú 14 p. Tesis para obtener el título de Ingeniero Pesquero-Oceanografo-Hidrobiológico. UNFVI, Programa Acadêmico de Oceanografia Y Pesqueria. , 1982.
4. COON, E.E.; STUMPF. **Introdução a Bioquímica**. Ed. Edgard Blucher Ltda. São Paulo, 320 p. 1980.
5. CYRINO, J.E.P.; CASTAGNOLLI, N.; PEREIRA FILHO, M. Digestibilidade da Proteína de Origem Animal e Vegetal pelo Matrinxã, *Brycon cephalus* GUNTHER, 1869 (Caracoidei, Characidae). In: **Simpósio brasileiro de aqüicultura**, 4, Cuiabá. Anais... Cuiabá: UFMG, p. 49-62. 1986.
6. FAO. 2000. Examen mundial de la pesca e la acuicultura. Parte I. <http://www.fao.org/DOCREP/003/X8002s/x8002s00.htm>
7. GOMEZ, S. Z. Nutrição e alimentação de peixes e crustáceos. Apostila do curso ministrada no **I congresso Sul-Americano de Aqüicultura**. Recife -PE, . 25 p 2 a 6 de Novembro de 1998.
8. GOULDING, M. **Ecologia de Pesca do rio Madeira**. Manaus, INPA. 172 p. 1979.
9. GOULDING, M. The Fishes and Forest, Explorations in Amazonian Natural History. **University of California Press**, Berkeley, Los Angeles. 280 p. 1980.
10. GRAEF, E.W. Considerações sobre a prática da piscicultura no Amazonas. In **Bases Científicas para Estratégias de Preservação e Desenvolvimento da Amazonia**. Ferreira, E.J. G.; Santos, G.M. dos; Leão, E.L.M. e Oliveira, L.A. (eds) vol. 2. **INPA. Manaus**, AM. p. 345-360. 1993.
11. GRAEF, E.W.; RESENDE, E.K. DE, PETRY, P.; STORTI FILHO, A. Policultivo de matrinxã (*Brycon* sp) e jaraqui (*Semaprochilodus* sp) em pequenas represas. **Acta Amazônica**, v16/17, n. único. p. 33-42. 1987.
12. GUEVARA, J. Estudios sobre ciclo biológico, ecologia, etologia y crianza

- experimental de “sabalos” (Piscis, Characidae) em la Amazonia peruana. Lima, Peru, 94 p. **Monografia de graduacion. Universidad de San Marcos.** 1974.
13. GUIMARÃES, S.F. e STORTI-FILHO, A. The effects of temperature on survival of young Matrinchã (*Brycon cephalus*) under laboratory conditions. In: **Internacional Symposium Biology of Tropical Fishes**, Manaus, AM. Livro de Resumos, p. 41.1997.
 14. GÜNTHER, A. Descriptions of some species of fishies from the Peruvian Amazons. **Proc. Zoology Society.** Lond.; v. 423. p. 21.1869.
 15. HATAE, K.; TAMARI, S.; MIYANAGA, K.; AND MATSUMOTO, J. J. species difference and changes in the physical properties of fish muscle as freshness decreases. **Bulletin Japan Society Science of Fish.** 51: 1155-1161. 1985.
 16. HATAE, K.; TOBIMATSU, A.; TAKEYAMA, M.; AND MATSUMOTO, J. J. Contribution of connective tissues on the texture difference of varies fish species. **Bulletin Japan Society Science of Fish.** 52: 2001-2007. 1986.
 17. HONCZARYK, A. Efeitos da densidade de estocagem sobre performance do Matrinxã, *Brycon cephalus* Günter, 1869 (Teleostei, Characidae). **Acta Amazonica.** (no prelo). 1999.
 18. HONCZARYK, A; PEREIRA FILHO, M.; STORTI FILHO, E.A. Análise comparativa do crescimento de matrinxã *Brycon cephalus* em tanques adubados ou quando alimentados com uma ração comercial. **Acta Amazonica.** 1999.
 19. HONDA, E.M. Contribuição ao conhecimento da biologia de peixes do Amazonas. II. Alimentação do tambaqui, *Colossoma bidens*. **Acta Amazonica**, 4. p. 47-53. 1972.
 20. HOWES, G.J. Review of the genus *Brycon* (Teleostei: Characoidei) . **Bulletin Brazil Muscle, Anatomy, Histology and Zoology**, v.43, n1. p. 1-47. 1982.
 21. KNOPPEL, H.A. Contribution to the nutrietent of Amazonian rain-florest-stream. Amazo. **Food of Central Amazonian Fish.** 2(3). p. 257-351. 1970.
 22. MENDONÇA, J.O.J.; SENHORINI, J.A.; FONTES, N.A.; CANTELMO, O.A. Influência da fonte protéica no crescimento do Matrinchã, *Brycon cephalus* em viveiros. **Boletim Técnico CEPTA**, Pirassununga, v.6, n1. p. 51-57. 1993.
 23. MOCHIZUKI.; S. AND SATO, A. Effects of various killing procedures on “post-mortem” changes in the muscle of hose mackerel. **Bulletin Japan Society Science of Fish.** 64: 276-279. 1996.

24. MONTERO, P. AND BORDERIAS, J. Effect of rigor mortis and ageing on collagen in trout *Salmo irideus* muscle. **Journal Science Food Agriculture**. 52: 141-146. 1990.
25. PAIMA, E.G.P. Estudo da Alimentação e composição corporal do matrinxã, *Brycon cephalus* (GUNTHER, 1869) (CHARACIFORMES, CHARACIDAE) na Amazonia Central. Manaus, 75 p. Dissertação (Mestrado) -. **INPA-UFAM**. 1997.
26. PARDO-CARRASCO, S.C; V.J. ATENCIO, J.A. ARIAS; E. ZANIBONI & W. VASQUEZ. 1999. Experiencias sobre reproducción inducida en el Yamú, *Brycon siebenthalae*, en los llanos de Colombia. en: **Memorias do II curso internacional de acuicultura**, Santa fe de Bogotá, D.C.; Marzo 25 ao 27 de 1999.
27. PARDO-CARRASCO; S.C. J.A. ARIAS; V.J. ATENCIO-GARCÍA; E. ZANIBONI-FILHO E W. VÁSQUEZ. 1998. ensayos de reproducción inducida del Yamú *Brycon siebenthalae* en: os llanos colombianos. **X Simpósio Brasileiro de Aquicultura, Recife, 2 ao 6 de noviembre de 1998**. en resúmenes.
28. PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; DEL CARRATORE, C.R.; SALARO, A.L.; OLIVEIRA, M.C.B. Avaliação do matrinxã (*Brycon cephalus*) mantidos sob condições de clima sub tropical. In: **Simpósio brasileiro de aquicultura, 8, Piracicaba**. Livro de Resumos. p. 62. 1994.
29. SATO, K.; YOSHIMAKA, R.; SATO, M.; SHIMIZU, Y. 1986 Collagen content in the muscle of fishes in association with their swimming movement and meat texture. *Bulletin Japan Society Science of Fish*. 52: 1595-1600.
30. TOYOHARA, H. AND SHIMIZU, Y. Relation of the rigor mortis of fish body and the texture of the muscle. **Bulletin Japan Society Science of Fish**. 54: 1795-1798. 1988.
31. USECHE C. P. HURTADO, e CALA .H. Sobre la ecología de *Brycon siebenthalae* e *Milossoma duriventris*_(Piscis: characidae) en el río cafre, Orinoquia, **Revista Caldasia**. Vol.17 :341-352. 1993 .
32. VILLACORTA-CORREA. M. A. Crescimento do matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Teleostei, characidae) no rio Negro, seus afluentes e no baixo rio solimões. Dissertação de Mestrado. **INPA/FUA**, Manaus, AM. 124p. 1987.
33. ZANIBONI FILHO, E.; CARVALHO, J. L.; VILLACORTA-CORREA, M. A.; Resende, E. K. Caracterização morfológica do matrinxã, (*Brycon cephalus*, 1869) (Teleostei: Characidadae). **Revista Brasileira de Biologia**. 48(1): 41-50. 1988.
34. ZANIBONI, FILHO, E. Biologia da reprodução do matrinxã, *Brycon cephalus*

- (Günther, 1869) (Teleostei, characidae). Dissertação de Mestrado. **INPA/FUA**, Manaus, AM. 138p. 1985.
35. ZANIBONI-FILHO, E.; LOPES DE CARVALHO, J.; CORREA, M.A.V.; RESENDE, E.K. Caracterização morfológica do matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) (Teleostei: Characidae). **Revista Brasileira de Biologia**. Rio de Janeiro. v. 48, n.1. p. 41-50. 1988.