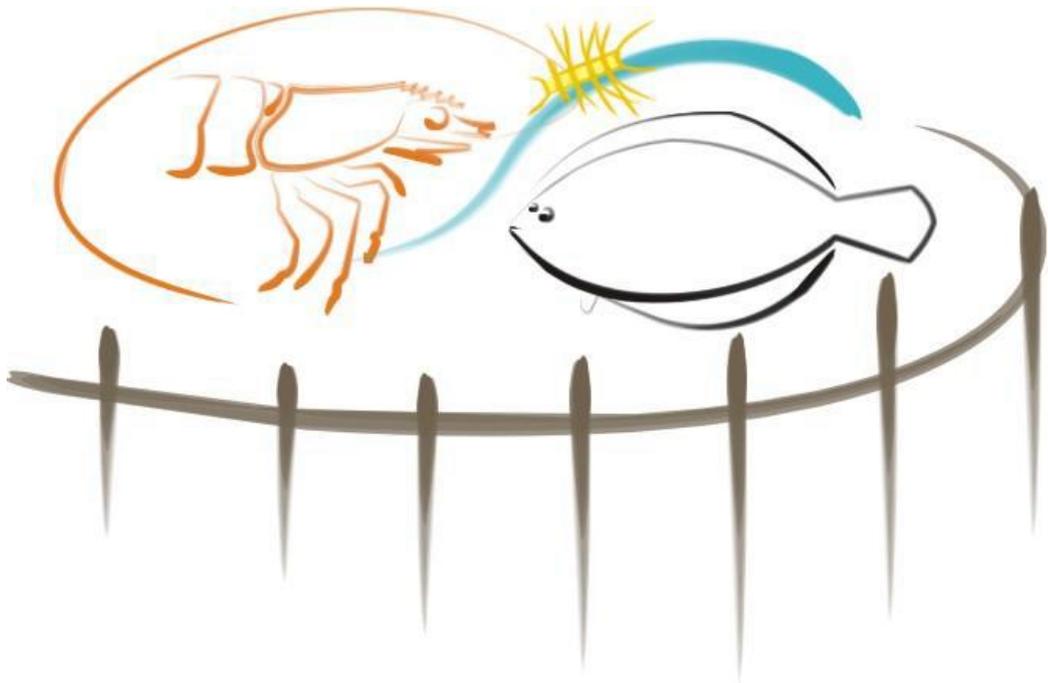


UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**EFEITOS DA AMÔNIA SOBRE OS PARÂMETROS METABÓLICOS E
QUALIDADE DO MÚSCULO DO PACU *Piaractus mesopotamicus*
(HOLMBERG 1887)**

LILIAN FIORI NITZ

**RIO GRANDE, RS
2015**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE-FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**EFEITOS DA AMÔNIA SOBRE OS PARÂMETROS METABÓLICOS E
QUALIDADE DO MÚSCULO DO PACU *Piaractus mesopotamicus*
(HOLMBERG 1887)**

LILIAN FIORI NITZ

ORIENTADOR: PROF DR. CARLOS PRENTICE-HERNÁNDEZ
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. LUCIANO DE OLIVEIRA GARCIA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura pelo Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

RIO GRANDE, RS

AGOSTO DE 2015

N733e Nitz, Lilian Fiori

Efeitos da amônia sobre os parâmetros metabólicos e qualidade do músculo do Pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) / Lilian Fiori Nitz. – 2015.
55 f.

Orientador: Carlos Prentice-Hernández
Co-orientador: Luciano de Oliveira Garcia
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande,
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

1. Piscicultura. 2. Qualidade da água. 3. Peroxidação lipídica. 4.
Amônia I. Prentice-Hernández, Carlos. II. Garcia, Luciano de Oliveira. III.
Título.

CDU 639.3

Bibliotecária responsável pela catalogação: Clarice Pilla de Azevedo e Souza - CRB10/923

Índice

Agradecimentos.....	vi
Resumo geral.....	vii
Abstract.....	viii
Introdução Geral.....	9
Objetivos.....	15
Referências Bibliográficas.....	16
Capítulo I:.....	21
Conclusões Gerais.....	53
Anexos.....	54
Anexo A.....	55

Dedicatória

*DEDICO a minha família Feda e Wilson
Cristiane e Bruno Daniel,
em especial ao meu noivo Lucas!*

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos que direta ou indiretamente me ajudaram para que esse momento se tornasse possível.

Primeiramente a Deus, obrigado pela força, por nunca me permitir desanimar, nem desistir mesmo nos momentos mais difíceis.

Agradeço a meu noivo Lucas, que durante todos os momentos esteve presente comigo, Você foi minha âncora, meu incentivo, meu motivo. Por entender minha ausência, falta de tempo e paciência. Obrigada por me acompanhar e não ter medo de se aventurar sem ter certeza do que viria. Enfim não tenho palavras para agradecer. Te amo!

Um agradecimento especial a minha família, mãe Ieda, minha rainha linda maravilhosa que amo mais que tudo na vida, pai Wilson o melhor pai do mundo, Cristiane minha irmã mais linda (a única)! Que me deu o sobrinho mais lindo do mundo Bruno Daniel e ao meu cunhado querido Daniel.

Aos meus amigos de sempre pela parceria. Valeu galerinha top. Mari, Lucas, Mário, Daniel, Giovanna, Juan, Camila, Denis, Manoel, Kenia.

Aos amigos do LAC, Cláudia, Aldemar e Simoni obrigada pela amizade e parceria de sempre.

Ao meu orientador Dr. Carlos Prentice-Hernández pela ajuda e paciência.

Ao meu querido co-orientador Dr. Luciano de Oliveira Garcia, pela ajuda, parceria, brincadeiras, ensinamentos e principalmente pela atenção.

À FURG e ao Programa de Pós Graduação em Aquicultura pela oportunidade.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

Resumo Geral

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição a níveis subletais de amônia não-ionizada sobre os parâmetros sanguíneos e na qualidade do músculo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Para a realização deste estudo foram utilizados 117 juvenis ($27,1 \pm 5,4$ g) expostos a três concentrações de amônia não-ionizada 0,5 e 1,0 mg $\text{NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ e um controle 0,0 mg $\text{NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. O experimento teve duração de vinte dias, dez dias de exposição a amônia, seguido pelo mesmo período de recuperação com a água em concentrações mínimas de amônia ($<0,05$). Foram realizadas cinco coletas, no início do experimento (9 peixes) considerados como controle tempo zero e durante o período experimental as coletas de tecido (músculo) para TBARS, filé para análise sensorial e sangue (glicose, lactato e hematócrito), no primeiro, quinto, décimo e no vigésimo dia (nove peixes/coleta/tratamento). As concentrações de glicose foram mais elevadas nos tratamentos expostos a amônia do que no grupo controle em todos os tempos amostrados exceto no período de recuperação. Após 10 dias de exposição à amônia os peixes expostos a concentrações mais elevadas de NH_3 apresentaram valores menores de hematócrito, comparados ao controle. Os níveis de lactato nos dias 1 e 10 foram menores que o controle nos tratamentos expostos a amônia. O índice hepatossomático após 10 dias de exposição a amônia apresentaram valores menores quando comparados ao controle. O consumo de ração no dia 10 se apresentou menor nos tratamentos expostos a amônia em relação ao controle. Após o período de recuperação os parâmetros hematológicos não apresentaram diferença indicando a recuperação dos peixes. As características químicas do músculo e valores de TBARS não apresentaram diferença entre os tratamentos. A análise sensorial do filé fresco após dez dias de exposição à amônia apresentou valores menores nos quesitos cor e aparência global no tratamento 1,0 mg $\text{NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ quando comparados ao controle. Desta forma, concluímos que a exposição à amônia não-ionizada foi capaz de causar alterações nos parâmetros hematológicos e na análise sensorial do músculo de juvenis de pacu. Além disso, o período de recuperação se mostrou suficiente para restabelecer, os índices normais, para os parâmetros hematológicos e os atributos avaliados na análise sensorial do músculo do pacu.

Palavras chave: peroxidação lipídica, piscicultura, análise sensorial, qualidade da água, lactato.

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of exposure to sub-lethal levels of un-ionized ammonia over the blood parameters and quality of the muscle of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). For this study were used 144 juveniles (27.1 ± 5.4 g) exposed to three concentrations of un-ionized ammonia: 0.5 and 1.0 mgNH₃ L⁻¹ and a control group (0.0 mgNH₃ L⁻¹). The experiment lasted 20 days, ten days of exposure to ammonia followed by the same period of recovery in water with minimum ammonia concentrations (<0.05). Five samples were taken: at the beginning of the experiment (9 fish) considered as control time 0 and during the trial period sampling of tissue (muscle) for TBARS, fillet for sensory analysis and blood (glucose, lactate and hematocrit) at the first, fifth, tenth and twentieth day (nine fish/sample/treatment). The glucose concentrations were more elevated in the treatments exposed to ammonia than the control group in all time sampled, except during the period of recovery. After 10 days of exposure to ammonia, fish exposed to more elevated concentrations of NH₃ showed values lower of hematocrit compared to control. The levels of lactate at days 1 and 10 were lower than control in the treatments exposed to ammonia. The hepatosomatic index after ten days of exposure to ammonia showed values lower compared to control. The feed intake at day 10 was lower than control in the treatments exposed to ammonia. After the period of recovery, the hematological parameters did not show differences indicating the full recovery of fish. The chemical characteristics of muscle and TBARS content did not show significant differences among treatments. The sensory analysis of fresh fillet after 10 days of exposure to ammonia showed lower values in the parameters color and global aspect in the treatment 1.0 mgNH₃ L⁻¹ when compared to control. In conclusion, the exposure to un-ionized ammonia induces changes in hematological parameters and sensory analysis of muscle in juveniles of pacu. Additionally, the recovery period was sufficient to reestablish the hematological parameters and attributes evaluated in sensory analysis of the muscle.

Keywords: lipid peroxidation, fish farming, sensory analysis, water quality, lactate.

Introdução

Nas últimas décadas, a população mundial apresentou um aumento considerável no número de habitantes do planeta, onde a população atual é 7,2 bilhões segundo dados da FAO (2014). De acordo com este aumento populacional também houve maior procura e consumo per capita de alimentos aquáticos. Segundo estimativas da FAO (2012) o mundo vai precisar de um adicional de 23 milhões de toneladas até 2020 para atender essa demanda.

A aquicultura se destaca como o setor da produção animal que mais cresce no mundo (De Carvalho 2013), quando comparada a outras fontes de proteína. A produção aquícola mundial atual é de 90,4 milhões de toneladas, sendo que o Brasil é o 12º maior produtor mundial de peixes (FAO 2014).

Dados do IBGE (2013) demonstraram que a produção total brasileira de peixes foi de 392,483 mil toneladas e a região Sul foi a segunda maior produtora (22,4%), atrás apenas da região Centro Oeste (26,8%). Dentre as espécies mais produzidas em nível nacional se destacam a tilápia (169,306 mil t) e o tambaqui (88,718 mil t). Já o pacu *Piaractus mesopotamicus* com uma produção de 13,652 mil toneladas é a quinta espécie mais produzida no Brasil.

O Pacu pertencente a superordem Ostariophysi, onde se encontram as espécies de maior valor comercial para a piscicultura brasileira, a ordem Characiformes, que é amplamente distribuído na região neotropical e apresenta o maior número de famílias. É membro da família Characidae, a qual possui o maior número de espécies da ordem e a subfamília Myleinae que é representado por peixes herbívoros, dentre os gêneros se destaca o *Piaractus* e a espécie *Piaractus mesopotamicus* (Urbinati *et al* 2010).

O pacu é uma espécie nativa da Bacia do Prata, podendo ser encontrado nos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Godoy 1975). É uma espécie de hábito alimentar onívora (Urbinati, *et al* 2010), que possui boa aceitação no mercado consumidor pela qualidade da carne (Jomori *et al* 2003; Drumond 2012). Além disso, apresenta alta taxa de crescimento e fecundidade, facilidade de adaptação ao manejo e é muito apreciado na pesca esportiva, sendo uma espécie de elevado valor para a piscicultura brasileira (Povh *et al* 2009; Queiroz *et al* 2005). Destaca-se ainda pela rusticidade podendo resistir a baixas concentrações de oxigênio dissolvido e apresenta tolerância ao clima Sul e

Sudeste do país (Urbinati *et al* 2010; Drumond 2012), além de ter boa tolerância a amônia (Abreu *et al* 2012).

Durante a criação em sistemas de cultivos intensivos os compostos nitrogenados, principalmente a amônia, são um dos principais limitantes pela sua elevada toxicidade para organismos aquáticos (Abreu *et al* 2012).

A amônia é um composto resultante do catabolismo das proteínas (Dabrowski 1986), sendo o principal produto da excreção na maioria dos peixes teleósteos, representando de 70 a 90% do total de nitrogênio excretado (Randall & Tsui 2002). Além da excreção dos animais, a decomposição de matéria orgânica (fezes, restos de ração) também contribui para o acúmulo de amônia no sistema (Kamstra *et al* 1996).

Este composto pode estar presente em duas formas: amônia não ionizada (NH_3) e amônia ionizada (NH_4^+), sendo que a concentração de cada uma irá depender da temperatura, salinidade e principalmente do pH (Bower e Bidwell 1978). A amônia não ionizada é considerada a mais prejudicial, pois pode facilmente se difundir nas membranas das brânquias devido a sua característica lipofílica (Liew *et al* 2013). Além disso, concentrações elevadas de NH_3 , dificultam a excreção, devido à diminuição do gradiente de concentração que ocasiona um acúmulo no plasma e nos tecidos (Haywood 1983; Wilkie & Wood 1996).

A causa primária da toxicidade da amônia para peixes está relacionada ao efeito despolarizante do íon NH_4^+ nos neurônios e músculo branco, que atua em substituição ao K^+ , o que leva a uma ativação excessiva de receptores para glutamato do tipo NMDA (N-Metil-D-Aspartato). Esta ativação excessiva ocasiona um aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} ativando enzimas Ca^{2+} -dependentes que desencadeia uma série de reações que levam a morte da célula (Randall & Tsui 2002).

Os efeitos da exposição à amônia podem variar, dependendo do período de exposição e severidade, afetando os peixes de diversas formas, podendo gerar estresse (Abreu *et al* 2012; Rama & Manjabhat 2014; Sung *et al* 2014), ocasiona alterações fisiológicas (Sinha *et al* 2012; Liew 2013), alterações morfológicas (Benli & Koksall 2005; Benli *et al* 2008), alterações comportamentais (Suski *et al* 2007) e em casos extremos, a morte.

A exposição dos animais ao estresse pode desencadear uma série de fatores, os quais ativam uma reação em cadeia, onde o sistema nervoso prepara o organismo para

sobreviver a adversidade através de mudanças na fisiologia do animal, desencadeada pelo sistema hormonal (Sabioni 2014).

Alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos sanguíneos são uma das primeiras respostas observadas nos peixes expostos a situações de estresse (Heath 1995). Estas alterações ocorrem devido ao aumento das catecolaminas no plasma, o que resulta na liberação do cortisol na corrente sanguínea, a qual é considerada como uma reação primária, seguida de alterações metabólicas e hematológicas (Sabioni 2014). Alterações nos parâmetros hematológicos (Yang *et al* 2010a) e bioquímicos sanguíneos, tais como nos níveis de glicose e lactato (Das *et al* 2004; Sinha *et al* 2012), vem sendo comumente utilizados na avaliação dos efeitos da exposição de diversas espécies de peixe à amônia.

O aumento das catecolaminas no plasma, seguida de mudanças secundárias como aumento da mobilização de energia pode causar uma aceleração no processo de deterioração na qualidade da carne do pescado, uma vez que peixes estressados aceleram o processo de rigor mortis, afetando diretamente atributos como a textura (Sigholt *et al* 1997) pela mobilização de reserva energética através de processos anaeróbios, que ocasionam o acúmulo de lactato no músculo branco e plasma de pescados.

A crescente busca por alimentos de qualidade confere ao pescado vantagens devido a suas características nutricionais, de modo especial quando apresenta aspectos que chamem a atenção do consumidor como cor, textura e aparência agradável. O músculo apresentado como filé é a parte principal do pescado a ser comercializada e este deve apresentar características que agradem o consumidor (Rios *et al* 2009). Entretanto, estas características podem ser afetadas de diferentes formas, no que diz respeito à qualidade nutricional e sensorial, bem como a composição química (Maftoonazad & Badii, 2009).

Diversos fatores podem estar relacionados a estas alterações, como a dieta dos animais e os fatores ambientais. Durante a produção de peixes os parâmetros de qualidade da água devem ser controlados, pois podem ocasionar estresse nos peixes e influenciar diretamente nos processos metabólicos (Silveira *et al* 2009). Veeck *et al* (2013) encontraram diferença na composição proximal de dourado (*Salminus*

brasiliensis) quando esses animais foram expostos a diferentes níveis de amônia e oxigênio dissolvido *in vivo*.

Os efeitos que geram uma mudança na fisiologia do organismo para sobreviver a uma adversidade, como a exposição à amônia podem variar, desde a incapacidade de sintetizar proteínas pela dificuldade de síntese de ATP (Veeck *et al* 2013) até a indução da formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que podem desencadear um processo de oxidação lipídica (Hegazi *et al* 2010), considerado por vários autores como um dos principais responsáveis pela perda de qualidade dos alimentos (Degáspari Waszczynskyj 2004).

O filé de pescado após o abate e durante o processo de armazenamento apresenta perda da qualidade devido a sua composição, por apresentar grande concentração de água (60-80%) (Sikorski 1994), além do perfil lipídico e ácidos graxos poliinsaturados (Ramos Filho *et al* 2008), os quais podem se degradar facilmente devido a oxidação dos lipídios.

Segundo Inhamuns & Franco (2001) é importante conhecer a composição lipídica do pescado, pois a qualidade do produto final pode ser afetada por diversos fatores, inclusive pela época do ano. Os lipídios desempenham papel fundamental em propriedades sensoriais como cor e textura além de conferir qualidade nutricional por representarem fonte de ácidos graxos essenciais (Silva *et al* 1999).

Algumas espécies de peixes apresentam um teor lipídico maior em sua composição, sendo considerados peixes “gordos”, que são mais suscetíveis à degradação. Ackman (1989) classificou os peixes em quatro classes levando em consideração o teor lipídico: muito magro, magro, meio gordo e gordo. Esta classificação se deve aos teores de lipídios na composição corporal, onde os animais que apresentam até 2% de lipídios são muito magros; com 2 a 4% são magros; com 4 a 8% são meio gordos e aqueles considerados peixes gordos possuem acima de 8% de lipídio.

Diversos autores tem relatado a diferença com relação a teores de lipídios no músculo do pacu, que variam entre 10 a 19,8%; de modo geral essa espécie tem sido reportada como uma espécie gorda (Ramos Filho *et al* 2008; Tanamati *et al* 2009; Freitas 2011; Goes 2012) o que ocasiona um aumento da tendência a degradação dos lipídios.

A composição proximal em peixes depende de fatores intrínsecos e extrínsecos como estação do ano e alimentação, sendo que a mesma tem influência nas características sensoriais do produto final (Contreras-Guzmán 1994), além disso, outros fatores podem alterar a composição proximal dos peixes.

Esses fatores aliados a mudança fisiológica gerada pela exposição à amônia, aceleram o processo de degradação da qualidade do produto final e conseqüente redução da vida útil do pescado (Degáspari & Waszczyński 2004). Além disso, há uma maior chance de rejeição do produto pelo consumidor, pois os lipídios são altamente suscetíveis a deterioração sofrendo um processo de degradação por diversos mecanismos de oxidação, causando o comprometimento da qualidade do filé no momento do armazenamento, no que diz respeito a diminuição da vida útil e degradação das características nutricionais (Ólafsdóttir *et al* 1997) além disso, afeta diretamente a cor do filé.

A peroxidação lipídica é um dos principais fatores que podem causar perda de qualidade dos alimentos, pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, além de alterações na cor, textura e valor nutritivo, que podem levar à rejeição do produto pelo consumidor (Veeck *et al* 2013).

Existem métodos para avaliar as condições de qualidade do filé (perda do valor nutricional, mudança nas condições químicas), como os aspectos que determinam a aceitação do produto pelos consumidores num aspecto global de avaliação (cor, odor e textura), como a análise sensorial. Além disso, existem outras ferramentas físicas e químicas que determinam a qualidade do peixe fresco ou o grau de frescor, como a avaliação da peroxidação lipídica (TBARS) (Borges 2014).

Atualmente a avaliação sensorial é considerada uma ferramenta importante, indicando medidas das propriedades sensoriais e determinando a importância dessas como base para a aceitação do mercado consumidor (Dutcosky 2007). Os métodos sensoriais podem ser divididos em discriminativos que avaliam a diferença entre duas ou mais amostras, e descritivos, os quais descrevem e quantificam diferenças sensoriais (Stone & Sidel 2004).

Cada vez mais se encontram evidências de que o aumento no dano oxidativo está ligado a toxicidade da amônia (Hegazi *et al* 2010; Veeck *et al* 2013; Rama e Manjabhat 2014). Ching *et al* (2009) avaliando a exposição a níveis subletais de amônia

comprovaram que houve a indução a peroxidação lipídica nas brânquias e cérebro de *Boleophthalmus boddarti* quando expostos continuamente a amônia.

Apesar de existir um grande número de estudos avaliando o efeito dos níveis de amônia sobre a resposta biológica de várias espécies de peixes (Randall & Tsui 2002; Yang *et al* 2010b; Abreu *et al* 2012; Sinha *et al* 2012; Baldisserotto *et al* 2014), ainda existe uma deficiência de informação sobre a sua influência sobre a qualidade dos filés (Veeck *et al* 2013).

Desta forma este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da exposição a amônia não-ionizada (níveis subletais) nos parâmetros sanguíneos e na avaliação sensorial no filé de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Objetivos

Objetivo Geral

Verificar os efeitos da exposição à amônia não-ionizada, em níveis subletais, nos parâmetros sanguíneos e na avaliação da qualidade do músculo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Objetivos Específicos

- Avaliar os parâmetros metabólicos (glicose, lactato) e a taxa de hematócrito em juvenis de pacu expostos a níveis subletais de amônia não-ionizada;
- Avaliar o consumo de ração em juvenis de pacu expostos a níveis subletais de amônia não-ionizada e após o período de recuperação;
- Verificar o índice hepatossomático em juvenis de pacu expostos a níveis subletais de amônia não-ionizada e após o período de recuperação;
- Determinar o dano lipídico, decorrente da exposição de juvenis de pacu a níveis subletais de amônia não ionizada através da lipoperoxidação (TBARS) no músculo;
- Verificar o período de pós recuperação dos juvenis de pacu exposto a níveis subletais de amônia não-ionizada;
- Avaliar a análise sensorial do músculo de pacu exposto a diferentes níveis subletais de amônia não- ionizada e após o período de recuperação.

Referências Bibliográficas

- ABREU, JS, ESTEVES, FR, URBINATI, EC. 2012. Stress in pacu exposed to ammonia in water. *R. Bras. Zootec.*, 41(7): 1555-1560.
- ACKMAN, RG. Nutritional composition of fats in sea foods. 1989. *Prog. Food. Nutr. Sci.*, 13:161–241.
- BALDISSEROTTO, B, MARTOS-SITCHA, JA, MENEZES, CC, TONI, C, PRATI, RL, GARCIA, LO, SALBEGO, J, MANCERA, JM, MARTÍNEZ-RODRIGUEZ, G. 2014. The effects of ammonia and water hardness on the hormonal, osmoregulatory and metabolic responses of the freshwater silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquat. Toxicol.*, 152:341–352.
- BENLI, AÇK. KÖKSAL, G. 2005. The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae e fingerlings. *Tur. J. Vet. Anim. Sci.*, 29: 339-344.
- BENLI, ACK, KÖKSAL, G, ÖZKUL, A. 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere* 72: 1355–1358.
- BORGES, A, CONTE-JUNIOR, CA, FRANCO, RM, MÁRSICO, ET, FREITAS, MQ. 2014. Quality Index Method (QIM) for the hybrid tambacu (*Colossoma macropomum* _ *Piaractus mesopotamicus*) and the correlation among its quality parameters. *LWT - Food Sci. Technol.*, 56: 432-439.
- CHING, B, CHEW, SF, WONG, WP, IP, YK. 2009. Environmental ammonia exposure induces oxidative stress in gills and brain of *Boleophthalmus boddarti* (mudskipper). *Aquat. Toxicol.*, 95: 203–212.
- CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. 1994. Bioquímica de Pescados e Derivados. Jaboticabal, FUNEP. 409 p.
- DABROWSKI, KR. 1986. Active metabolism larval and juvenile fish: ontogenetic changes, effect of water temperature and fasting. *Fish Physiol. Biochem.*, 1: 125–144.
- DAS, PC, AYYAPPAN, S, JENA, JK, DAS, BK. 2004. Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected hematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquacult. Res.*, 35: 134-143.

- DE-CARVALHO, HRL, SOUZA, RAL, CINTRA, IHA. 2013. A aquicultura na microrregião do Guamá, Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil. *Rev. Cienc. Agrar.*, 56(1): 1-6.
- DEGÁSPARI, CH, WASZCZYNSKYJ, N. 2004. Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos. *Visão Acadêmica*, 5(1): 33-40.
- DRUMOND, MM. 2012. Ractopamina para pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em fase de terminação. Tese. (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras. 76f.
- DUTCOSKY, S. D. Análise Sensorial de Alimentos. 2ª ed. Curitiba: Champagnat, 2007. 246 p.
- FAO. 2012. Food And Agriculture Organization Of The United Nations. 2012. The state of world fisheries and aquaculture. 203f. Rome.
- FAO. 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2012. The state of world fisheries and aquaculture. 223f. Rome.
- FREITAS, JMA, HIGUCHI, LH, FEIDEN, A, MALUF, MLF, DALLAGNOL, JM, BOSCOLO, WR. 2011. Salga seca e úmida de filés de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Ciências Agrárias*, 32(2): 613-620.
- GODOY, MP. 1975. Peixes do Brasil: subordem *Characoidei*: bacia do rio Mogi-Guassu. Piracicaba: Franciscana, 1-4, 216p.
- GOES, ESR. 2012. Suplementação de Selênio e vitamina E em dietas para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 57f.
- HAYWOOD, GP. 1983. Ammonia Toxicity in Teleost Fishes: A Review. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1177, 35 p.
- HEATH, A.G. 1995. Water pollution and fish physiology. Florida: Lewis Publishers. 359p.
- HEGAZI, MM, ATTIA, ZI, ASHOUR, OA. 2010. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. *Aquat. Toxicol.*, 99:118–125
- IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística, 2013. *Produção da pecuária municipal*. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Rio de Janeiro, Brasil, 41:34-94.

- INHAMUNS, AJ, FRANCO, MRB. 2001. Composition of Total, Neutral, and Phospholipids in Mapara (*Hypophthalmus* sp.) from the Brazilian Amazonian Area. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 4859-4863.
- JOMORI, RK, CARNEIRO, DJ, MALHEIROS, EB, PORTELLA, MC. 2003. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture*, 221(1-4): 277-287.
- KAMNSTRA, A, SPAN, JA, WEERD, JH. 1996. The acute toxicity and sublethal effects of nitrite on growth and feed utilization of European eel, *Anguilla Anguilla* (L.). *Aquacult. Res.*, 27: 903-911.
- LIEW, HJ, SINHA, AK, NAWATA, CM, BLUST, R, WOOD, CM, BOECK, GD. 2013. Differential responses in ammonia excretion, sodium fluxes and gill permeability explain different sensitivities to acute high environmental ammonia in three freshwater teleosts. *Aquat. Toxicol.*, 126: 63-76.
- MAFTOONAZAD, N, BADI, F. 2009. Use of Edible Films and Coatings to Extend the Shelf Life of Food Products. *Recent. Pat. Food Nutr. Agric.*, 1:162-170.
- ÓLAFSDBTTIR, G, MARTINSDBTTIR, E, OEHLENSCHBGER, J, DALGAARD, P, JENSEN, B, UNDELAND, I, MACKIE, IM, HENEHAN, G, NIELSEN, J, NILSEN, H. 1997. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends Food Sci. Tech.*, 8.
- POVH, JA, RIBEIRO, RP, LOPERA-BARRERO, NM, GOMES, PC, BLANCK, DV, VARGAS, L, JACOMETO, CB, LOPES, TS. 2009. Monitoramento da variabilidade genética do pacu, *Piaractus mesopotamicus*, do programa de aumento do estoque do rio Paranapanema. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61 (5): 1191-1195.
- QUEIROZ, JF, LOURENÇO, JNP, KITAMURA, PC, SCORVO FILHO, JD, CYRINO, JEP, CASTAGNOLLI, N, VALENTI, WC, BERNARDINO, G. 2005. Aquaculture in Brazil: research priorities and potential for further international collaboration. *World Aquacult. Magazine*, 36: 45-50.

- RAMA, S, MANJABHAT, SN. 2014. Protective effect of shrimp carotenoids against ammonia stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Ecotox. Environ. Safe.*, 107: 207–213.
- RAMOS FILHO, MM, RAMOS, MIL, HIANE, PA, SOUZA, EMT. 2008. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 28(2): 361-365.
- RANDALL, DJ, & TKN, TSUI. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Mar. Poll. Bull.*, 45: 17-23.
- RIOS, FS, DONATTI, L, FERNANDES, MN, KALININ, AL, RANTIN, FT. 2009. Effects of Food Deprivation in Muscle Structure and Composition of Traíra (*Hoplias malabaricus*): Potential Implications on Flesh Quality. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 52 (2): 465-471.
- SABIONI, RE. 2014. Estresse e Imuno Modulação por Beta-Glucano em Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP. 102p.
- SIGHOLT, T, ERIKSON, U, RUSTAD, T, JOHANSEN, S, NORDTVEDT, TS, SELAND, A. 1997. Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Sci.*, 62 (4): 898–905.
- SILVEIRA, US, LOGATO, PVR, PONTES, EC. 2009. Fatores estressantes em peixes. *Revista Eletrônica Nutrime*, 6(4): 1001-1017.
- SINHA, A K, LIEW, H J, DIRICXA, M, BLUSTA, R, BOECK, G. 2012. The interactive effects of ammonia exposure, nutritional status and exercise on metabolic and physiological responses in gold fish (*Carassius auratus* L.). *Aquat. Toxicol.*, 109: 33– 46.
- STONE, H, SIDEL, JL. Sensory evaluation practices. Londres: Academic Press. 2004. 311 p.
- SUNG, YY, LIEW, HJ, BOLONG, AMA, WAHID, MEA, MACRAE, TH. 2014. The induction of Hsp70 synthesis by non-lethal heat shock confers thermotolerance and resistance to lethal ammonia stress in the common carp, *Cyprinus carpio* (Linn). *Aquac. Res.*, 45: 1706–1712.
- SUSKI, CD, KIEFFER, JD, KILLEN, SS, TUFTS, BL. 2007. Sub-lethal ammonia toxicity in largemouth bass. *Comp. Biochem. Physiol.*, A, 146 : 381–389.

- TANAMATI, A, STEVANATO, FB, VISENTAINER, JEL, MATSUSHITA, M, SOUZA, NE, VISENTAINER, JV. 2009. Fatty acid composition in wild and cultivated pacu and pintado fish. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 111, 183–187.
- URBINATI, EC, GONCALVES, FD, TAKAHASHI, LS. Pacu *Piaractus mesopotamicus*. In: Baldisseroto, B, Gomes, LC. (Org.). 2010. Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. 2 edição revista e ampliada. Santa Maria: Editora UFSM, capítulo 8, p. 1-606.
- VEECK, AP, GARCIA, LO, BALDISSEROTTO, B, ZANIBONI FILHO, E, EMANUELLI, T. 2013. Proximate composition and lipid stability of dourado (*Salminus brasiliensis*, Cuvier, 1817) fillets exposed to different levels of ammonia and oxygen *in vivo*. *J. Sci. Food Agric.*, 93: 2590–2595.
- YANG, W, XIANG, F, SUN, H, CHEN, Y, MINTER, E, YANG, Z. 2010a. Changes in the selected hematological parameters and gill Na⁺/K⁺ ATPase activity of juvenile crucian carp *Carassius auratus* during elevated ammonia exposure and the post-exposure recovery. *Biochem. Syst. Ecol.*, 38: 557–562.
- YANG, WFH, XIANG, LG, LIANG, Z, YANG. 2010b. Toxicity of ammonia and its effects on oxidative stress mechanisms of juvenile crucian carp (*Carassius auratus*). *J. Freshwater Ecol.*, 25: 297–302.
- WALSH, PW, VEAUUVY, CM, MCDONALD, D, PAMENTER, ME, BUCK, LT, WILKIE, MP. 2007. Piscine insights into comparisons of anoxia tolerance, ammonia toxicity, stroke and hepatic encephalopathy. *Comp. Biochem. Physiol.*, A, 147: 332–343.
- WILKIE, MP, WOOD, CM. 1996. The Adaptations of Fish to Extremely Alkaline Environments. *Comp. Biochem. Physiol.*, 113B, (4): 665-673.

Capítulo I

**EFEITOS DA AMÔNIA SOBRE OS PARÂMETROS METABÓLICOS E
QUALIDADE DO MÚSCULO DO PACU *Piaractus mesopotamicus*
(HOLMBERG 1887)**

Lilian F Nitz^{1*}, Lucas C Maltez¹, Lucas Pellegrin¹, Luciano O Garcia¹, Carlos Prentice²

¹Instituto de Oceanografia, Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal de Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS Brasil.

²Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Rio Grande, FURG, Rio Grande, RS Brasil.

*Autor responsável: Laboratório de Aquacultura Continental, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, 96203-900, Rio Grande, RS, Brazil. Phone: 55 99764302; E-mail: lilian_fiori@hotmail.com

Abstract

This study aimed to evaluate the effect of the exposure to sub-lethal levels of un-ionized ammonia over the blood parameters and muscle quality of juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). A total of 117 juvenile (27.1 ± 5.4 g) were exposed to three ammonia concentrations (0.5; 1.0 and a control 0.0 mg NH₃.L⁻¹). The experiment lasted 20 days, 10 days of exposure to ammonia followed by the same period of recovery with water containing minimum ammonia concentrations (< 0.05 mg L⁻¹). Five sampling periods were performed, one at the beginning of the experiment (9 fish) considered as control time 0 and during the trial (days 1, 5, 10 and 20) for the sampling of tissue (muscle) for TBARS, fillet for sensory analysis and blood (glucose, lactate and hematocrit), always using 9 fish/sampling period/treatment. The period of 10 days of exposure to un-ionized ammonia affected the hematological parameters and the sensory analysis of pacu muscle. However, it did not cause changes in the proximate composition, nor was able to induce lipid peroxidation in the muscle. Thus, we conclude that the exposure to un-ionized ammonia changes the hematological parameters and sensory analysis of the muscle of juvenile pacu and the recovery period showed efficiency to reestablish those parameters.

Keywords: lipid peroxidation, fish farming, sensory analysis, water quality, lactate.

Introdução

O pacu *Piaractus mesopotamicus* é uma espécie nativa da Bacia do Prata (Godoy 1975), e apresenta elevado valor para a piscicultura brasileira (POVH *et al* 2009; Queiroz *et al* 2005). Esta espécie possui hábito alimentar onívoro (Urbinati *et al* 2010), boa aceitação no mercado consumidor pela qualidade da carne (Jomori *et al* 2003), alta taxa de crescimento e fecundidade, facilidade de adaptação ao manejo e é muito apreciado na pesca esportiva. Destaca-se ainda pela rusticidade podendo resistir a concentrações baixas de oxigênio dissolvido e apresenta tolerância ao clima das regiões Sul e Sudeste do país (Urbinati *et al* 2010).

Durante a criação em sistemas de cultivos intensivos os compostos nitrogenados, principalmente a amônia, são um dos principais limitantes por sua elevada toxicidade para organismos aquáticos (Abreu *et al* 2012). A amônia é um composto resultante do catabolismo das proteínas (Dabrowski 1986), sendo o principal produto da excreção na maioria dos peixes teleósteos, representando de 70 a 90% do total de nitrogênio excretado (Randall & Tsui 2002). Este composto pode estar presente em duas formas: a amônia não ionizada (NH_3) e a amônia ionizada (NH_4^+), sendo que a concentração de cada uma irá depender da temperatura, salinidade e principalmente do pH (Bower e Bidwell 1978). A amônia não ionizada é considerada a mais prejudicial, pois pode facilmente se difundir nas membranas das brânquias devido a sua característica lipofílica (Liew *et al* 2013). Além disso, concentrações elevadas de NH_3 , dificultam a excreção de amônia, devido a diminuição do gradiente de concentração ocasionando um acúmulo no plasma e nos tecidos (Haywood 1983; Wilkie & Wood 1996). A causa primária da toxicidade da amônia para peixes está relacionada ao efeito despolarizante do íon NH_4^+ nos neurônios e músculo branco, atuando em substituição ao K^+ , o que leva a uma ativação excessiva de receptores para glutamato do tipo NMDA (N-Metil-D-Aspartato). Esta ativação excessiva ocasiona um aumento na concentração intracelular de Ca^{2+} ativando enzimas Ca^{2+} dependentes desencadeando uma série de reações que levam a morte da célula (Randall & Tsui 2002).

Os efeitos da exposição à amônia podem variar dependendo do período de exposição e severidade, afetando os peixes de diferentes formas, podendo gerar estresse (Abreu *et al* 2012; Rama & Manjabhat 2014; Sung *et al* 2014), ocasionar alterações fisiológicas (Sinha *et al* 2012a; Liew 2013), morfológicas (Benli *et al* 2008; Al-Zaidan

et al 2013; Schram *et al* 2014), comportamentais (Suski *et al* 2007) e em casos extremos a morte (Gomulka *et al* 2014).

O músculo representado pelo filé é a parte principal do pescado a ser comercializada e este deve apresentar características que agradem o consumidor como cor, textura e aparência agradável. Entretanto, existem diversos fatores que podem influenciar no que diz respeito a qualidade nutricional e sensorial do músculo, como a estação do ano, alimentação, estresse pré abate e condições de cultivo inadequadas, bem como a composição química (Dal Bosco *et al* 2012; Saidi *et al* 2010; Ribas *et al* 2007). A composição proximal em peixes depende de fatores intrínsecos e extrínsecos e tem influência nas características sensoriais do produto final (Contreras-Guzmán 1994). Veeck *et al* (2013) demonstraram em estudo com exposição a amônia que este composto é capaz de alterar a composição química do músculo de dourado (*Salminus brasiliensis*). Em outro estudo com a espécie (*Pelteobagrus vachelli*) exposto a amônia a composição proximal foi afetada (Li *et al* 2013).

Os efeitos na fisiologia dos organismos para sobreviver a uma adversidade, como a exposição à amônia, varia desde o aumento das catecolaminas no plasma, desencadeando um processo de estresse, até o aumento da mobilização de energia causando uma aceleração no processo de deterioração na qualidade da carne do pescado, uma vez que peixes estressados aceleram o processo de rigor mortis (Sigholt *et al* 1997).

Cada vez mais se encontram evidências de que o aumento no dano oxidativo está envolvido na toxicidade da amônia (Veeck *et al* 2013; Rama e Manjabhat 2014). A exposição à amônia causa a indução da formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e desencadeia um processo de oxidação lipídica (Hegazi *et al* 2010). Este processo pode ser considerado um dos principais responsáveis pela perda de qualidade dos alimentos (Degáspari Waszczyński 2004) pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, além de alterações na cor, textura e valor nutritivo, que podem levar à rejeição do produto pelo consumidor (Veeck *et al* 2013).

Atualmente a avaliação sensorial é considerada ferramenta importante, indicando medidas das propriedades sensoriais e determinando a importância dessas como base para a aceitação do mercado consumidor (Dutcosky 2007). Entretanto ainda existe uma deficiência de informação sobre a influência da amônia na qualidade do

músculo de peixes (Veeck *et al* 2013). Desta forma este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da exposição a níveis subletais de amônia não-ionizada nos parâmetros sanguíneos e na qualidade do músculo de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Material e Métodos

Animais e Condições Experimentais

Foram utilizados 117 juvenis de pacu ($27,1 \pm 5,4$ g), obtidos em piscicultura comercial (na cidade de Ajuricaba, RS). Estes animais foram transportados até o Laboratório de Aquacultura Continental (LAC) da Universidade Federal de Rio Grande (FURG), onde foram distribuídos e mantidos em 9 tanques de 250 L (volume útil) cada (13 animais por tanque) e aeração individual para um período de aclimação as condições do laboratório, durante 15 dias, em sistema semi-estático.

Durante o período de aclimação os animais permaneceram nas seguintes condições: temperatura (26°C) mantido com auxílio de ar condicionado, concentração de oxigênio dissolvido (acima de $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), pH (7,6), alcalinidade ($> 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), amônia e nitrito em concentrações mínimas ($< 0,05\text{ mg}\cdot\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$), da mesma forma que durante o período experimental, exceto as concentrações de amônia. Após este período os animais foram submetidos as condições experimentais

Durante o período de aclimação e experimentação os animais foram alimentados com ração comercial da marca Supra Acqua *line* que continha na sua composição 32% de proteína bruta (PB), umidade 12%, energia digestível $3000\text{ kcal}\cdot\text{kg}^{-1}$, extrato etéreo 5%, cálcio 2,5% fósforo 1% e vitamina C $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ *ad libitum* (9:00 e 16:00h). Durante o período experimental foi estimado o consumo de ração aparente.

Para a realização do experimento os animais foram expostos durante 10 dias a três concentrações de amônia não-ionizada (0,0 ou controle; 0,5 e $1,0\text{ mg}\cdot\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$), cada tratamento com 3 repetições. Os níveis de amônia foram mantidos dentro da faixa desejada com a adição de NH_4Cl ou com troca da água, quando necessário. As concentrações de amônia não-ionizada utilizadas neste experimento foram estimadas a partir de estudo realizado anteriormente com pacu por Abreu *et al* (2012), seguidos de pré-testes, onde concentrações igual a $1,5\text{ mg}\cdot\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ e inferiores não apresentaram mortalidade, nessas condições.

Ao final do período de exposição a água dos tanques foi completamente renovada e os animais permaneceram, por mais 10 dias nas unidades experimentais, porém com a água em concentrações mínimas de amônia não-ionizada ($< 0,05$), para avaliar uma possível recuperação dos animais.

Os parâmetros de qualidade da água nos tanques, temperatura e oxigênio dissolvido (oxímetro, EcoSense DO 200A), pH (pHmetro, HANNA HI 8424), amônia total (UNESCO, 1983), amônia não-ionizada (Colt 2002), nitrito (Bendschneider e Robinson 1952) e alcalinidade total (Eaton *et al* 1995) foram verificados diariamente, sempre pela manhã, antes da alimentação.

Coletas

Foi realizada uma coleta inicial de nove peixes, os quais foram considerados como controle (tempo zero) e durante o período experimental (10 dias) foram realizadas coletas de tecidos dos animais (nove peixes/coleta/tratamento) no primeiro, quinto e décimo dia após os peixes terem sido submetidos às condições experimentais e após o período de recuperação (vigésimo dia).

Os peixes foram retirados dos tanques (com auxílio de um puçá) e anestesiados com cloridrato de benzocaína (50 mg L⁻¹). Após serem anestesiados foi realizada a coleta de sangue, via veia caudal, com o auxílio de seringas heparinizadas (1 mL). Imediatamente após a coleta do sangue os mesmos foram eutanasiados com uma solução de cloridrato de benzocaína (500 mg L⁻¹). Para o índice hepatossomático (IH), o fígado foi retirado e pesado individualmente. Para a análise da lipoperoxidação foi coletada uma fração do músculo e armazenado em tubos “ependorf” de 2 mL. Estes tubos foram acondicionados em caixa térmica com gelo seco, no momento da coleta e armazenados em ultrafreezer (-80 °C). Também foi realizada a coleta do músculo (filé), o qual foi acondicionado em caixa térmica com gelo e utilizado para avaliação sensorial do músculo fresco ao final do período de exposição (décimo dia) e ao final do período de recuperação (vigésimo dia).

Análise Sanguínea

Foram coletados aproximadamente 0,5 mL de sangue onde cada alíquota foi utilizada para as seguintes análises: glicose com glicosímetro (Accu-Chek Performa/Roche[®], Alemanha), níveis de lactato com aparelho portátil (Accutrend Plus Cobas /Roche[®], Alemanha) e hematócrito segundo a metodologia de Goldenfarb *et al* (1971), que consiste no preenchimento de 2/3 de um microcapilar heparinizado e vedado em uma das suas extremidades, com massa de modelar. A centrifugação é realizada em

centrífuga de micro hematócrito a 12.000 rpm durante 5 minutos. A leitura é realizada em cartão de leitura e o resultado é expresso em porcentagem de células vermelhas em relação ao sangue total.

Composição Proximal

A composição proximal química dos filés de pacu foi realizada utilizando metodologia recomendada pela A.O.A.C. (1995). A determinação da umidade foi realizada de acordo com o método gravimétrico que se baseia na evaporação da água presente na amostra em estufa a 105° C até peso constante. O método para a determinação das cinzas consistiu na incineração dos compostos orgânicos, restando somente os compostos inorgânicos em mufla a 550°C até peso constante. O teor de lipídios foi determinado segundo o método de extração de Soxhlet, baseado na extração intermitente da fração lipídica pelo uso do solvente éter petróleo. A quantificação de proteínas foi realizada empregando a metodologia oficial para determinação de nitrogênio total pelo Método de semi-micro Kjeldahl, multiplicado por 6,25.

Peroxidação Lipídica

Amostra de tecido do músculo foram homogeneizadas, a uma proporção de 1: 5 (w/v) em tampão de GCL (Tris-HCl -100 mM; EDTA - 2 mM e MgCl₂.6H₂O - 5 mM). Os sobrenadantes resultantes da centrifugação dos homogeneizados (10.000 × g, 20 minutos, 4 °C) foram utilizados para as análises do teor de proteína total pelo método de Biureto e de peroxidação lipídica através da metodologia descrita por Oakes e Van Der Kraak (2003). Para determinar as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) pela quantificação de MDA (malondialdeído), 20 µl de solução de BHT (67µM), 150 µl de solução de ácido acético a 20%, 150 µl de 0,8% de solução de TBA, 50 µl de H₂O Milli-Q, e 20 µl de SDS a 8,1% foram adicionados a 30 µl de cada amostra homogeneizada antes de ser aquecida a 95 °C com banho de água durante 30 minutos. Em seguida, 100 µl de H₂O Milli-Q e 500 mL de nbutanol e pryridine (15: 1 v/v) de solução foram adicionados à solução final. O sobrenadante remanescente da centrifugação (3000 rpm, 10 minutos, 15° C) foi utilizada para determinar a fluorescência (553 nm) e os resultados foram expressos em nmoles de MDA⁻¹ mg de proteína.

Análise sensorial

A análise sensorial do músculo do pacu foi realizada por um grupo de 30 provadores não treinados compostos de 48% do sexo feminino e 52% do sexo masculino, com idade entre 23 e 45 anos. A avaliação sensorial foi realizada no Laboratório da Estação Marinha de Aquacultura (EMA), individualmente, em sala provida com luz branca. Cada pessoa recebeu uma ficha para avaliação de cor, textura, odor e aceitação geral, com uma escala hedônica de 9 pontos (Anexo A) que tem como extremos 1 (desgostei muitíssimo) e 9 (gostei muitíssimo) de acordo com a metodologia de Stone & Sidel (2004). A avaliação foi realizada pelo mesmo grupo de pessoas logo após o momento da coleta do músculo, no décimo e vigésimo dia.

Análise estatística

Todos os resultados foram expressos com média \pm desvio padrão. A normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias foram previamente testadas com Shapiro-Wilk e teste de Levene, respectivamente. Como esses pressupostos não foram atendidos, foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido do teste de Mann-Whitney utilizando o programa Statistica 7.0. Todas as análises foram realizadas em nível mínimo de significância de 5% ($p < 0,05$) (Zar 1999).

Resultados

Os parâmetros de qualidade da água, com excreção de amônia, se mantiveram dentro dos níveis considerados adequados para a espécie. Durante todo o período experimental se mantiveram nas seguintes condições: temperatura ($25,77 \pm 0,05^\circ\text{C}$), pH ($7,51 \pm 0,04$), oxigênio dissolvido ($7,63 \pm 0,06 \text{ mg. L}^{-1}$), alcalinidade ($48,3 \pm 2,88 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$). As concentrações de NH_3 nominais foram: controle; 0,5 e 1,0; sendo que durante o experimento as concentrações de NH_3 se mantiveram em: controle ($0,01 \pm 0,01 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$); ($0,5 \pm 0,02 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$) e ($0,97 \pm 0,04 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), respectivamente. As concentrações de amônia total (NA-T) nos diferentes tratamentos foram de $0,33 \pm 0,04 \text{ mg NA-T} \cdot \text{L}^{-1}$ (controle); $18,01 \pm 1,32 \text{ mg NA-T} \cdot \text{L}^{-1}$ ($0,5 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$) e $32,90 \pm 0,98 \text{ mg NA-T} \cdot \text{L}^{-1}$ ($1,0 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), respectivamente.

Parâmetros Sanguíneos

Os níveis plasmáticos de glicose (mg.dL^{-1}) nos peixes submetidos as concentrações de 0,5 e 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ foram significativamente mais elevados, nos dias 1 e 5, em relação ao grupo controle. No décimo dia os animais submetidos a 0,5 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ apresentaram níveis significativamente maiores do que o controle e os expostos a 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ (Tabela 1).

O hematócrito dos animais expostos a 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ apresentou valores significativamente menores, quando comparado ao controle no dia 1. No quinto dia todos os tratamentos apresentaram diferença estatística entre si, apresentando as menores e maiores porcentagens de hematócrito os animais expostos a 0,5 e 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$, respectivamente. Após 10 dias de exposição a NH_3 o tratamento exposto a 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ apresentou valores significativamente menores de hematócrito em relação ao controle e ao tratamento com 0,5 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ (Tabela 1).

Juvenis de pacu expostos a 0,5 e 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ na água apresentaram valores de lactato significativamente menores do que os animais do tratamento controle no dia 1; sendo que no dia 10, os animais expostos a 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ também apresentaram os menores valores de lactato quando comparados com o controle (Tabela 1).

No período de recuperação dos animais nenhum dos parâmetros hematológicos avaliados apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 1).

Índice Hepatosomático e Consumo de Ração

O índice hepatossomático dos juvenis de pacu apresentou diferença significativa apenas no período de 10 dias após a exposição, onde os animais expostos a 0,5 e 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ apresentaram valores significativamente menores quando comparados ao controle (Figura 1).

O consumo de ração diário foi significativamente menor nos peixes expostos a 0,5 e 1,0 $\text{mg NH}_3.\text{L}^{-1}$ quando comparados ao controle após 10 dias de exposição dos animais (Figura 2).

Após o período de recuperação os animais apresentaram valores de IH e consumo de ração sem diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos (Figura 1 e 2).

Composição Proximal e Peroxidação Lipídica do músculo

A composição proximal do músculo de juvenis de pacu expostos à amônia (Tabela 2) não apresentaram diferença quanto aos teores de umidade, proteína, cinza e lipídios.

A peroxidação lipídica no músculo (Figura 3) não apresentou diferença significativa. Da mesma forma que após o período recuperação.

Análise sensorial do músculo

A avaliação sensorial dos filés (Tabela 3) de um modo geral apresentou valores entre 5 e 7 na escala hedônica indicando que a opinião dos provadores variou entre “indiferente” e “gostei regularmente”. Houve uma diminuição significativa da cor e aspecto global dos filés no tratamento exposto a 1,0 mg NH₃ .L⁻¹ após o período de 10 dias, onde os índices foram 5,63 e 5,83 respectivamente. Após o período de recuperação não houve diferença entre os tratamentos.

Discussão

Parâmetros Sanguíneos

Parâmetros hematológicos são frequentemente utilizados em estudos com peixes, por serem considerados bons indicadores de mudanças fisiológicas de diferentes origens (Sampaio *et al* 2008), além de serem uma das primeiras formas de detectar sintomas de estresse (Tavares-Dias *et al* 2003).

A exposição a diferentes níveis de amônia (0,5 e 1,0 mg NH₃.L⁻¹) ocasionou alterações nos parâmetros sanguíneos dos juvenis de pacu no presente estudo. A resposta da exposição a amônia pode ser dependente tanto da concentração, quanto do tempo de exposição (Milne *et al* 2000; Souza-Bastos *et al* 2015). Foi demonstrado ainda, que um período de recuperação com mesma duração da exposição (10 dias) em água com concentrações mínimas de amônia mostrou-se eficiente para reestabelecer os parâmetros avaliados em nosso trabalho, que retornaram aos níveis basais, em todas as concentrações. Estudos avaliando a exposição à amônia (0,0; 0,107; 0,214; 0,321; 0,428 mg NH₃. L⁻¹) durante 45 dias, seguido de um período de recuperação de 15 dias, foram realizados com goldfish (*Carassius auratus*) e foi demonstrado que esse período foi suficiente para recuperação dos parâmetros hematológicos (número total de eritrócitos e hemoglobina total) (Yang *et al* 2010).

A manutenção dos níveis de glicose pode ser influenciada por diferentes processos como a diminuição do metabolismo, mobilização do glicogênio devido a uma elevada demanda energética e síntese de glicose a partir de substratos gliconeogênicos (Blasco *et al* 1991).

As concentrações de glicose no plasma de *P. mesopotamicus*, no presente trabalho, apresentaram valores mais elevados nos tratamentos expostos a 0,5 e 1,0 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ após 24 h, o mesmo acontece para esta mesma espécie, quando submetida a 3 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ (24 h) (Abreu *et al* 2012).

Em outras espécies também foi constatado o aumento das concentrações plasmáticas de glicose, quando expostos a amônia não-ionizada, como o bagre (*Clarias gariepinus*) exposto a 15,2 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ (Schram *et al* 2010) , o jundiá (*Rhamdia quelen*) exposto a 0,5 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ (Baldisserotto *et al* 2014) e o pirarucu (*Arapaima gigas*) exposto a 2,0 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$, (Cavero *et al* 2004). Estas alterações nos níveis de glicose sanguínea durante a exposição a um contaminante, em nosso estudo a amônia, demonstra ser um bom indicador de estresse em peixes teleósteos, por se tratar de uma resposta secundária, que ocorre provavelmente devido a grande concentração de catecolaminas na corrente sanguínea (Tavares-Dias 2001). Esse aumento está relacionado ao hormônio cortisol que começa a agir após ser liberado na corrente sanguínea, sendo responsável pela ativação da gliconeogênese, e por regular a demanda da glicose na circulação periférica (Barcellos *et al* 2000).

Após o décimo dia de exposição à amônia, os níveis de glicose plasmática no tratamento exposto a 1,0 mg $\text{NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$ apresentaram valores semelhantes ao grupo controle, sugerindo um esgotamento das reservas energéticas provenientes do glicogênio hepático. Esse aumento dos níveis de glicose no sangue dos animais está relacionado com a disponibilidade de glicogênio e glicose hepática (Baldisserotto *et al* 2014).

No ambiente aquático, as brânquias dos peixes estão em contato direto com a água, reagindo de imediato a condições desfavoráveis no ambiente (Benli *et al* 2008). Alterações histopatológicas nas brânquias têm sido reportadas para diversas espécies de peixes, como a tilápia *Oreochromis niloticus* (Benli *et al* 2005), o jundiá *Rhamdia quelen* (Miron *et al* 2008) e o bagre africano *Clarias gariepinus* (Schram *et al* 2010) expostos a amônia. Essas alterações podem ocasionar desbalanço iônico (Sinha *et al*

2012b) e afetar a captação de oxigênio (Cardoso *et al* 1996; Lease *et al* 2003) com consequente alterações nas células sanguíneas.

Os valores de hematócrito podem ser afetados de diferentes formas após uma situação de estresse. No caso de aumento ou diminuição podem indicar uma hemoconcentração ou hemodiluição, respectivamente, devido a disfunção osmorregulatória (Takahashi *et al* 2006) que pode se caracterizar na exposição a amônia. Além disso, pode ocorrer aumento ou diminuição no número de células sanguíneas (Yang *et al* 2010; Li *et al* 2013; Li *et al* 2014).

No presente estudo os valores de hematócrito, do pacu, diminuíram após 24 h e 10 dias de exposição à amônia na concentração de $1,0 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, o mesmo foi observado por Abreu *et al* (2012), com a mesma espécie, após 12 horas de exposição a $3 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. Estes autores atribuem a diminuição no hematócrito, a uma redução do volume das células sanguíneas provocada pela perda iônica que pôde ser evidenciada na osmolalidade. Esse resultado pode ocorrer pela ação das catecolaminas que tem a capacidade de aumentar a permeabilidade das brânquias, já que não houve redução no número de células. Para o bagre (*Pelteobagrus vachelli*) também houve uma diminuição nos valores de hematócrito quando expostos a amônia ($0,12 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$) por um período de 60 dias (Li *et al* 2013). Em outro estudo com perca (*Sander lucioperca*), não foram encontradas diferenças nos valores de hematócrito quando expostos durante um período de 42 dias a concentrações de amônia não-ionizada entre $0,05$ e $0,26 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ (Schram *et al* 2014).

A exposição à amônia, nos peixes, afeta as brânquias que podem sofrer alterações severas, aumentando a permeabilidade e gerando um desbalanço iônico, possível responsável pela diminuição do hematócrito imediatamente após 24 horas de exposição. Entretanto, o organismo, na tentativa de recuperar a homeostase, promove um maior requerimento energético, e através da hematopoiese gera um aumento de eritrócitos e conseqüentemente do valor do hematócrito (Poli *et al* 2005). Os resultados obtidos após 5 dias de exposição a $1,0 \text{ mg NH}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ podem estar relacionados a esse fator, já que foi evidenciado um aumento do hematócrito, como uma tentativa de adaptação a essa condição. Contudo, o organismo na presença contínua do agente estressor, a amônia nesse estudo, não consegue alcançar a homeostase e os valores de hematócrito diminuem novamente após dez dias de exposição.

O aumento da demanda energética no organismo, ocasionado pela tentativa de manutenção da homeostase, pode ocasionar a quebra de glicogênio pela utilização da via anaeróbica, podendo ocasionar aumento nas concentrações de lactato (Miron *et al* 2008) relacionada a gliconeogênese (Wendeelar Bonga 1997). A concentração plasmática de lactato tem sido considerada indicador útil de limitações aeróbias (Sinha *et al* 2012a).

No presente trabalho, os valores de lactato apresentaram redução após as primeiras 24 h em ambos os tratamentos expostos à amônia. Resultados semelhantes foram encontrados para o pirarucu (*Arapaima gigas*) exposto a 20 mg TAN.L⁻¹ durante 24 h. Os autores sugerem que essa diminuição no lactato está relacionada com a diminuição no ritmo de natação, o que pode indicar uma resposta terciária ao estresse que é a mudança de comportamento (Brandão *et al* 2006).

Os baixos níveis de lactato encontrados no presente estudo podem estar relacionados aos efeitos comportamentais que a amônia causa em peixes, neste caso a letargia, com os animais permanecendo no fundo do tanque sem muita movimentação (Rama & Manjabhat 2014) e que foi observado durante o presente trabalho.

Índice hepatossomático e Consumo de ração

O fígado é o órgão responsável pela desintoxicação do organismo (Hinton & Laurén 1990). Desta forma o índice hepatossomático (IH) é utilizado especialmente como biomarcador para identificar possíveis contaminantes e indicar o estado nutricional nos peixes (Narra *et al* 2015).

Em estudo com dourado (*Salminus brasiliensis*) exposto a 0,13; 0,24 e 0,46 mg NH₃.L⁻¹ durante 77 dias não houve diferença ao final do período experimental no IH (Streit *et al* 2006). Entretanto, em estudo realizado com bagre (*Pelteobagrus vachelli*) houve um aumento do IH em peixes submetidos a exposição a amônia (0,12 mg NH₃.L⁻¹) durante 60 dias (Li *et al* 2013). Esses resultados podem estar associados a capacidade de desintoxicação que o fígado apresenta, sendo que um aumento do IH pode representar inchaço e ocorrem como resposta do organismo a presença de agentes tóxicos (Liebel *et al* 2013; Benli *et al* 2008).

Em situações de estresse, devido a presença de amônia na água, os peixes podem diminuir ou até mesmo deixar de consumir ração (Randall & Tsui 2002). No presente

estudo, os valores de IH apresentaram uma diminuição em ambos os tratamentos expostos a amônia após 10 dias. Esses resultados coincidem com a redução no consumo de ração após dez dias para ambos os tratamentos expostos a amônia e podem estar relacionados a degradação da reserva hepática, para suprir a demanda energética. Resultados semelhantes na redução no IH foram encontrados para a mesma espécie submetida à restrição alimentar, demonstrando que a restrição ou redução no consumo de alimento afeta as reservas energéticas do fígado para auxiliar na manutenção dos processos vitais (Souza *et al* 2002). Os resultados da redução no consumo de ração são semelhantes aos encontrados para outras espécies expostas a amônia como wolffish *Anarhichas minor*, 0,13; 0,25 e 0,39 mg NH₃.L⁻¹(Foss *et al* 2003), perca *Sander lucioperca*, 0,26 mg NH₃.L⁻¹(Schram *et al* 2014) e bagre africano *Clarias gariepinus*, 15,2 mg NH₃.L⁻¹ (Schram *et al* 2010).

O tempo de exposição a algum agente estressor é responsável por determinar a resposta de recuperação da homeostase no organismo (Barton 2002). No período de recuperação o consumo de ração foi restabelecido, assim como o IH demonstrando que esse depósito energético pode ser facilmente recuperado.

Composição proximal química

Os valores encontrados para umidade (59-70%), proteína (17-19%), cinzas (0,9-1,2%) e lipídios (10-19,8%) durante a análise de composição proximal química do músculo de pacu está de acordo com trabalhos anteriores com a mesma espécie (Ramos Filho 2008; Tanamati *et al* 2009; Freitas *et al* 2013; Oliveira *et al* 2014).

A composição química do músculo pode ser influenciada por vários fatores como dieta (Saidi *et al* 2010) estações do ano (Dal Bosco *et al* 2012) e alterações nos parâmetros de qualidade da água (Veeck *et al* 2013; Li *et al* 2013). Estes fatores alteram a composição do filé que está diretamente relacionada com a qualidade nutricional, sabor e estabilidade. Dentre eles, os parâmetros relacionados com a oxidação de lipídios, tem grande importância para a indústria, pois refletem na aceitação pelo mercado consumidor (Inhamuns & Franco 2001). Além disso, alterações nesses componentes podem comprometer a qualidade e a vida útil do produto final (Degáspari & Waszczynskyj 2004).

No presente trabalho a composição proximal dos filés de pacu não foi afetada em nenhum dos tratamentos expostos à amônia. Estes resultados estão de acordo com estudo realizado com bagre amarelo (*Pelteobagrus fulvidraco*) exposto à níveis crônicos de amônia (3,36; 6,76; 13,44 e 26,88 mg N-AT.L⁻¹) durante 56 dias, e não apresentou diferença na composição proximal (Li *et al* 2011). Entretanto, os resultados do presente estudo são diferentes dos obtidos para outras espécies como o dourado (*Salminus brasiliensis*) exposto a amônia (0,1 mg NH₃.L⁻¹) por um período de 15 dias (Veeck *et al* 2013) e para o bagre (*Pelteobagrus vachelli*) exposto a amônia (0,12 mg NH₃.L⁻¹) durante 60 dias (Li *et al* 2013) os quais apresentaram uma diminuição no teor de lipídios.

Peroxidação lipídica

Em situações fisiológicas normais, existe um equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e do sistema de defesa antioxidante. O estresse oxidativo ocorre quando o sistema antioxidante não é capaz de superar os níveis de ROS (Ding *et al* 2003), alterando as concentrações de malondialdeído (MDA), que é o produto final da peroxidação lipídica usado como um indicador de dano oxidativo (SUN *et al* 2008).

Em estudos realizados com diferentes espécies, observou-se que exposição à amônia é capaz de induzir a peroxidação lipídica em diferentes tecidos como as brânquias (Sinha *et al* 2014), o cérebro (Ching *et al* 2009), o fígado e o músculo (Hegazi *et al* 2010). Entretanto, no presente estudo, os níveis de amônia não ionizada (0,5 e 1,0 mg NH₃.L⁻¹), aos quais os animais foram expostos durante 10 dias, não foram capazes de causar alterações nos valores de TBARS no filé fresco. Nossos resultados estão de acordo com os encontrados para o dourado (*Salminus brasiliensis*) o qual não apresentou aumento nos níveis de TBARS exposto a amônia (0,1 mg NH₃.L⁻¹) *in vivo* por um período de 12 horas antes do abate e durante 15 dias. Entretanto os peixes expostos a amônia 12 horas antes do abate apresentam maior susceptibilidade de peroxidação dos lipídios em filés durante o congelamento (Veeck *et al* 2013).

Análise sensorial do músculo

Embora os valores de aceitação da análise sensorial, representados pela escala hedônica de 9 pontos, sejam baixos estão de acordo com a avaliação de aceitação de

músculo de pescado para a mesma espécie (*P. mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o híbrido tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*) em diferentes tempos de armazenamento. Neste estudo, os valores de modo geral ficaram entre 5 e 7 (nem gostei/nem desgostei a gostei moderadamente) para pacu; 5 e 6 (nem gostei/nem desgostei a gostei levemente) para tambaqui e 6 (gostei levemente) para tambaqui (Borges *et al* 2014), representando estes resultados serem bem aceitos pelos avaliadores. Resultados similares foram encontrados para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) enlatada e os valores obtidos foram acima de 7 (gostei moderadamente), que pode ser considerado indicativo de boa aceitação do produto (Pizato *et al* 2012).

A avaliação sensorial dos filés após a exposição à amônia, no presente trabalho, de um modo geral apresentou valores indicando que a opinião dos provadores variou entre “indiferente” e “gostei regularmente”. No tratamento exposto a 1,0 mg NH₃.L⁻¹ esses valores ficaram entre “indiferente” e “gostei ligeiramente”, sendo que estes resultados são semelhantes aos encontrados em outro estudo com a mesma espécie, após dez dias de armazenamento em gelo, sem nenhuma exposição à amônia (Borges *et al* 2014). De acordo com estes resultados podemos inferir que a amônia interfere negativamente nos atributos sensoriais do músculo de pacu, pois a avaliação sensorial de nosso estudo apresenta valores semelhantes que pescados armazenados em gelo durante dez dias.

Após o período de recuperação os valores representaram “gostei ligeiramente” a “gostei regularmente”, demonstrando que as características sensoriais avaliadas foram mais bem aceitas do que quando os peixes foram expostos a amônia. Esses resultados sugerem que, mesmo após um período de estresse, os atributos de qualidade sensorial (cor, textura, odor e aparência global) avaliados, apresentam-se inalterados se houver um período de recuperação para dos animais em condições otimizadas de qualidade da água dos tanques de cultivo.

Os resultados obtidos na análise sensorial do presente estudo podem estar associados ao estresse causado pela exposição a amônia, já que estudos relatam que peixes estressados aceleram o aparecimento do *rigor mortis*. Após a morte o aporte de oxigênio do músculo cessa e o metabolismo torna-se anaeróbico onde ocorre a

degradação do glicogênio muscular e consequente redução na qualidade da carne (Pottinger 2001).

A exposição ao estresse pré-abate pode influenciar na qualidade do produto final como é demonstrado na literatura (Kristoffersen *et al* 2006; Ribas *et al* 2007; Daniel *et al* 2014), porém a qualidade do produto também pode ser comprometida quando associada a condições de estresse no ambiente de cultivo, ou seja, aquele que antecede o pré-abate. As condições de estresse graves ao animal podem influenciar na expressão da qualidade, e nas mudanças subsequentes, durante o armazenamento do produto final, o que devem ser evitadas a fim de garantir as características sensoriais e nutricionais. Além de ser um aspecto abordado do ponto de vista ético, o bem estar do animal tem claros reflexos na qualidade do pescado (Poli *et al* 2005).

Nossos resultados indicam que existe probabilidade de redução da vida de prateleira pelas características apresentadas na análise sensorial, que para o pacu se encontra entre 11 e 13 dias segundo a literatura (Leitão *et al* 1997; Borges *et al* 2013).

Em conclusão a exposição à amônia não-ioniza durante um período de dez dias altera os parâmetros hematológicos e a análise sensorial do músculo de pacu. Entretanto, o período de recuperação se mostrou suficiente para reestabelecer os parâmetros avaliados no músculo de juvenis de pacu.

Referências

- Abreu, JS, Esteves, FR, Urbinati, EC. Stress in pacu exposed to ammonia in water. *R Bras Zootec* 41(7): 1555-1560 (2012).
- Al-Zaidan, AS, Endo, M, Maita, M, Alves, ATG, Futami, K, Katagiri, T. A toxicity bioassay study concerning the effect of un-ionized ammonia on the mucus cells response originating from the gills of zebrafish *Danio rerio*. *Fish Sci* 79:129–142 (2013).
- A.O.A.C. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society, Ed. D. Feistane, Washington D.C. (1995).
- Baldisserotto, B, Martos-Sitcha, JA, Menezes, CC, Toni, C, Prati, RL, Garcia, LO, Salbego, J, Mancera, JM, Martínez-Rodríguez, G. The effects of ammonia and water hardness on the hormonal, osmoregulatory and metabolic responses of the freshwater silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquatic Toxicol* 152 341–352 (2014).
- Barcellos, LJG, Souza, SMG, Woehl, VM. Estresse em peixes: Fisiologia da Resposta ao Estresse, Causas e Consequências (Revisão). *Bol Inst Pesca* 26 (1): 99-111(2000).
- Barton, BA. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integr Comp Biol* 42:517–525 (2002).
- Bendschneider, K, Robinson, RJ. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *J Mar Res* 11: 87-96 (1952).
- Benli, ACK, Koksall, G, Ozkul, A. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere* 72: 1355–1358 (2008).
- Blasco, J, Fernandez, J, Gutierrez, J. The effects of starvation and refeeding on plasma amino acid levels, *Cyprinus carpio* L. 1758. *J Fish Biol* 38: 587-598 (1991).
- Borges, A, Conte-Junior, CA, Franco, RM, Freitas, MQ. Quality Index Method (QIM) developed for pacu *Piaractus mesopotamicus* and determination of its shelf life. *Food Res Int* 54 311–317 (2013).
- Borges, A, Medina, BG, Conte-Junior, CA, Freitas, MQ. Aceitação sensorial e perfil de textura instrumental da carne cozida do pacu (*Piaractus mesopotamicus*), do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e do seu híbrido tambacu eviscerados e estocados em gelo. *R Bras Ci Vet* 20(3): 160-165, (2014).

- Bower, CE, Bidwell, JP. Ionization of ammonia in seawater - effects of temperature, pH, and salinity. *J Fish Res Board Can* 35: 1012-1016 (1978).
- Boyd, CE. Water Quality Management for Pond Fish Culture: Research and Development, vol. 43. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, pp. 1–37 (1998).
- Brandão, FR, Gomes, LC, Chagas, EC. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. *Acta Amazon* 36(3): 349-356 (2006).
- Cardoso, EL, Chiarini-Garcia, H, Ferreira, R M A, Poli, C R. Morphological changes in the gills of *Lophiosilurus alexandri* exposed to un-ionized ammonia. *J Fish Biol* 49: 778–787 (1996).
- Cavero, BAS, Pereira-Filho, M, Bordinhon, AM, Fonseca, FAL, Ituassú, DR, Roubach, R, Ono, EA. Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. *Pesq Agropec Bras* 39(5): 513-516 (2004).
- Ching, B, Chew, SF, Wong, WP, Ip, YK. Environmental ammonia exposure induces oxidative stress in gills and brain of *Boleophthalmus boddarti* (mudskipper). *Aquatic Toxicol* 95: 203–212 (2009).
- Colt, J. List of spreadsheets prepared as a complement. In: Wedemeyer GA (ed) Fish hatchery management. *Am Fish Soc* 91–186 (2002).
- Contreras-Guzmán, E.S. Bioquímica de Pescados e Derivados. Jaboticabal, FUNEP, 409 p (1994).
- Dabrowski, KR. Active metabolism larval and juvenile fish: ontogenetic changes, effect of water temperature and fasting. *Fish Physiol Biochem* 1: 125-144 (1986).
- Dal Bosco, A, Mugnai, C, Mourvaki, E, Castellini, C. Seasonal changes in the fillet fatty acid profile and nutritional characteristics of wild Trasimeno Lake goldfish (*Carassius auratus* L.). *Food Chem* 132: 830-834 (2012).
- Daniel, AP, Veeck, APL, Klein, B, Ferreira, LF, Cunha, MA, Parodi, TV, Zeppenfeld, CC, Schmidt, D, Caron, BO, Heinzmann, BM, Baldisserotto, B, Emanuelli, T. Using the Essential Oil of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton to Sedate Silver Catfish (*Rhamdia quelen*) during Transport Improved the Chemical and Sensory Qualities of the Fish during Storage in Ice. *J Food Sci* 79: 6 (2014).

- Degáspari, CH, Waszczyński, N. Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos. *Visão Acadêmica* 5(1): 33-40 (2004).
- Ding, WX, Ong, CN. Role of oxidative stress and mitochondrial changes in cyanobacteria-induced apoptosis and hepatotoxicity. *FEMS Microbiol Letters* 220: 1-7 (2003).
- Dutcosky, SD. Análise Sensorial de Alimentos. 2ª ed. Curitiba: Champagnat, 246p (2007).
- Foss, A, Evensen, TH, Vollen, T, Øiestad, V. Effects of chronic ammonia exposure on growth and food conversion efficiency in juvenile spotted wolffish. *Aquaculture* 228 215–224 (2003).
- Freitas, JMA, Higuchi, LH, Feiden, A, Maluf, MLF, Dallagnol, JM, Boscolo, WR. Salga seca e úmida de filés de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Ciências Agrárias*32(2): 613-620 (2011).
- Gomułka, P, Zarski, D, Kupren, K, Krejszeff, S, Targonska, K, Kucharczyk, D. Acute ammonia toxicity during early ontogeny of ide *Leuciscus idus* (Cyprinidae). *Aquacult Int* 22:225–233 (2014).
- Godoy, MP. Peixes do Brasil: subordem *Characoidei*: bacia do rio Mogi-Guaçu. Piracicaba: Franciscana, 1-4, 216p (1975).
- Goldenfarb PB, Bowyer FP, Hall E, Brosious E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am J Clin Path* 56:35–39 (1971).
- Haywood, GP. Ammonia Toxicity in Teleost Fishes: A Review. *Can Tech Rep Fish Aquat Sci* 1177, 35 p (1983).
- Hegazi, MM, Attia, ZI, Ashour, OA. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. *Aquatic Toxicol* 99:118–125 (2010).
- Hinton, DE, Laurén, DJ. Integrative histopathological effects of environmental stressors on fishes. *Am Fish Soc Symp* 8, 51–66 (1990).
- Inhamuns, AJ, Franco, MRB. Composition of Total, Neutral, and Phospholipids in Mapara (*Hypophthalmus* sp.) from the Brazilian Amazonian Area. *J Agric Food Chem* 49, 4859-4863 (2001).

- Jomori, RK, Carneiro, DJ, Malheiros, EB, Portella, MC. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture* 221(1-4): 277-287 (2003).
- Kristoffersen, S, Tobiassen, T, Steinsund, V, Olsen, RL. Slaughter stress, postmortem muscle pH and rigor development in farmed Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Int J Food Sci Tech* 41, 861–864 (2006).
- Lease, HM, Hansen, JA, Bergman, HL, Meyer, JS. Structural changes in gills of Lost River suckers exposed to elevated pH and ammonia concentrations. *Comp. Biochem Physiol C* 134, 491-500 (2003).
- Liebel, S, Tomotake, MEM, Oliveira Ribeiro, CA. Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality. *Ecotoxicol Environ Contam* 8(2): 09-15 (2013).
- Leitão, MFF, Rios, DPFA, Guimaraes, JGL, Baldini, VLS, Minardes Pinto, CSR. Alterações químicas e microbiológicas em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) armazenado sob refrigeração a 5°. *Cienc Tecnol Aliment* 17(2):160-166 (1997).
- Li, B, Fan, Q, Yang, K, Zhang, L, Guo, H, Wang, Q, Gao, Y, Zhu, S, Fan, W. Effects of chronic ammonia stress on foraging, growth, and haematological parameters of Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) juveniles. *Chin J Appl Environ Biol* 12-25 (2011).
- Li, M, Chen, LQ, Qin, JG, Li, EC, Yu, N, Du, ZY. Growth performance, antioxidant status and immune response in darkbarbel catfish *Pelteobagrus vachelli* fed different PUFA/vitamin E dietary levels and exposed to high or low ammonia. *Aquaculture* 406: 18-27 (2013).
- Li, M, Yu, N, Qin, JG, Li, E, Du, Z, Chen, L. Effects of ammonia stress, dietary linseed oil and *Edwardsiella ictaluri* challenge on juvenile darkbarbel catfish *Pelteobagrus vachelli*. *Fish Shellfish Immunol* 38: 158-165 (2014).
- Liew, HJ, Sinha, AK, Nawata, CM, Blust, R, Wood, CM, Boeck, GD. Differential responses in ammonia excretion, sodium fluxes and gill permeability explain different sensitivities to acute high environmental ammonia in three freshwater teleosts. *Aquatic Toxicol* 126: 63-76 (2013).
- Maftoonazad, N, Badii, F. Use of Edible Films and Coatings to Extend the Shelf Life of Food Products. *Recent Pat Food Nutr Agric* 1:162-170 (2009).

- Milne, I, Seager, J, Mallett, M, Sims, I. Effects of short-term pulsed ammonia exposure on fish. *Environ Toxicol Chem* 19 (12): 2929-2936 (2000).
- Miron, DS, Moraes, B, Becker, AG, Crestani, M, Spanevello, R, Loro, VL, Bernardo Baldisserotto, B. Ammonia and pH effects on some metabolic parameters and gill histology of silver catfish, *Rhamdia quelen* (Heptapteridae). *Aquaculture* 277: 192-196 (2008).
- Narra, MR, Rajender, K, Reddy, RR, V Rao, J, Begum, G. The role of vitamin C as antioxidant in protection of biochemical and haematological stress induced by chlorpyrifos in freshwater fish *Clarias batrachus*. *Chemosphere* 132, 172–178 (2015).
- Oakes, KD, Kraak, VD. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations. *Aquatic Toxicol* 63, 447-463 (2003).
- Oliveira LMFS, Leal, RS, Mesquita, TC, Pimenta, MESH, Zangeronimo, MG, Sousa, RV, Alvarenga, RR. Effect of ractopamine on the chemical and physical characteristics of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) steaks. *Arq Bras Med Vet Zootec* 66(1): 185-194 (2014).
- Pizato, S, Kraieski, J, Sarmiento, C, Prentice, C. Avaliação da qualidade tecnológica apresentada por tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) enlatada. *Semina: Ciências Agrárias* 33(2): 667-674 (2012).
- Poli, BM, Parisi, G, Scappini, F, Zampacavallo, G. 2005. Fish welfare and quality as affected by pre-slaughter and slaughter management. *Aquacult Int* 13: 29-49.
- Pottinger, TG. Effects of husbandry stress on flesh quality indicators in fish. In: Kestin, Steve; Warriss, Paul, (eds.) *Farmed Fish Quality* 145-161 (2001).
- Povh, JA, Ribeiro, RP, Lopera-Barrero, NM, Gomes, PC, Blanck, DV, Vargas, L, Jacometo, CB, Lopes, TS. Monitoramento da variabilidade genética do pacu, *Piaractus mesopotamicus*, do programa de aumento do estoque do rio Paranapanema. *Arq Bras Med Vet Zootec* 61 (5): 1191-1195 (2009).
- Queiroz, JF, Lourenço, JNP, Kitamura, PC, Scorvo Filho, JD, Cyrino, JEP, Castagnolli, N, Valenti, WC, Bernardino, G. Aquaculture in Brazil: research priorities and potential for further international collaboration. *World Aquacult Magazine* 36: 45-50 (2005).

- Rama, S, Manjabhat, SN. Protective effect of shrimp carotenoids against ammonia stress in common carp, *Cyprinus carpio*. *Ecotox Environ Safe* 107 207–213 (2014).
- Ramos Filho, MM, Ramos, MIL, Hiane, PA, Souza, EMT. Perfil lipídico de quatro espécies de peixes da região pantaneira de Mato Grosso do Sul. *Ciênc Tecnol Aliment* 28(2): 361-365 (2008).
- Randall, DJ, Tsui, TKN. Ammonia toxicity in fish. *Mar Poll Bull* 45: 17-23 (2002).
- Ribas, L, Flos, R, Reig, L, Mackenzie, S, Barton, BA, Tort, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: Stress responses and final product quality. *Aquaculture* 269: 250–258 (2007).
- Sampaio, FG, Boijink, CL, Oba, ET, Santos, LRB, Kalinin, AL, Rantin, FT. Antioxidant defenses and biochemical changes in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) in response to single and combined copper and hypoxia exposure. *Comparative Biochem and Physiol C* 147: 43–51 (2008).
- Saidi, SA, Azaza, MS, Abdelmouleh, A, Pelt, JV, Kralem, MM, El-Feki, A. The use of tuna industry waste in the practical diets of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.): effect on growth performance, nutrient digestibility and oxidative status. *Aquacult Res* 41: 1875-1886 (2010).
- Sigholt, T, Erikson, U, Rustad, T, Johansen, S, Nordtvedt, TS, Seland, A, Handling stress and storage temperature affect meat quality of farmed-raised Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J Food Sci* 62 (4): 898–905 (1997).
- Silva, FAM, Borges, FM, Ferreira, MA. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. *Química Nova* 22(1) (1999).
- Sinha, AK, Liew, HJ, Diricx, M, Blust, R, Boeck, G. The interactive effects of ammonia exposure, nutritional status and exercise on metabolic and physiological responses in gold fish (*Carassius auratus* L.). *Aquat Toxicol* 109 33– 46 (2012)a.
- Sinha 2012 Sinha, AK, Diricx, M, Chan, LP, Liew, HJ, Kumar, V, Blust, R, Boeck, G. Expression pattern of potential biomarker genes related to growth, ion regulation and stress in response to ammonia exposure, food deprivation and exercise in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicol* 122– 123 93– 105 (2012)b.

- Sinha, AK, AbdElgawad, H, Giblen, T, Zinta, G, Rop, M, Asard, H, Blust, R, Boeck, G. Anti-Oxidative defences are modulated differentially in three freshwater teleosts in response to ammonia-induced oxidative stress. *PLoS ONE* 9(4): e95319. doi:10.1371/journal.pone.0095319 (2014).
- Schram, Roques, Abbink, Spanings Vries, Bierman, Vis, Flik. The impact of elevated water ammonia concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture* 306, 108–115 (2010).
- Schram, Roques, Kuijk, Abbink, Heul, Vries, Bierman, Vis, Flik. 2014. The impact of elevated water ammonia and nitrate concentrations on physiology, growth and feed intake of pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture* 420–421, 95–104 (2014).
- Souza, VL, Urbinati, EC, Gonçalves, DC, Silva, PC. Composição corporal e índices biométricos do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. *Acta Sci* 24(2): 533-540 (2002).
- Souza-Bastos, LR, Bastos, LP, Freire, CA. Positive correlation between inhibition of branchial and renal carbonic anhydrase and ammonia produced by cultured silver catfish *Rhamdia quelen*. *N Am J Aquacult* 77:1 (2015).
- Stone, H, Sidel, JL. Sensory evaluation practices. Academic Press: London. 2004. 311 p.
- Sun, Y, Yin, Y, Zhang, J, Yu, H, Wang, X, Wu, J, Xue, Y. Hydroxyl radical generation and oxidative stress in *Carassius auratus* liver, exposed to pyrene. *Ecotox Environ Safe* 71: 446–453 (2008).
- Sung, YY, Liew, HJ, Bolong, AMA, Wahid, MEA, MacRae, TH. The induction of Hsp70 synthesis by non-lethal heat shock confers thermotolerance and resistance to lethal ammonia stress in the common carp, *Cyprinus carpio* (Linn). *Aquac Res* 45: 1706–1712 (2014).
- Suski, CD, Kieffer, JD, Killen, SS, Tufts, BL. Sub-lethal ammonia toxicity in largemouth bass. *Comparative Biochem Physiol* 146: 381–389 (2007).
- Tavares-Dias, M, Sandrim, EFS, Moraes, FR, Carneiro, PCF. Physiological Responses of “Tambaqui” *Colossoma macropomum* (Characidae) to acute stress. *Bol Inst Pesca* 27(1): 43-48 (2001).

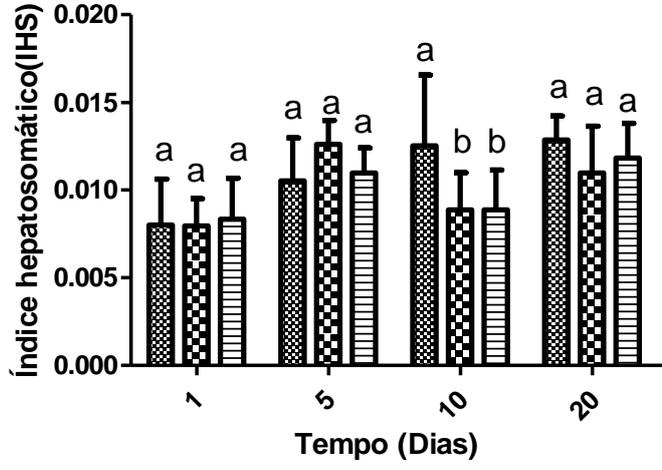
- Tavares-Dias, M, Schalch, SHC, Moraes, FR. Hematological characteristics of Brazilian teleosts. VII. Parameters of seven species collected in Guariba, São Paulo State, Brazil. *Bol Inst Pesca* 29(2): 109-115 (2003).
- Takahashi, LS, Abreu, JS, Biller, JD, Urbinati, EC. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. *Acta Sci Anim Sci* 28(4): 469-475 (2006).
- Takahashi, LS, Biller, JD, Urbinati, EC, Urbinati, EC. Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: effects on farmed pacu production. *J Anim Physiol An N* 95, 259–266 (2011).
- Tanamati, A, Stevanato, FB, Visentainer, JEL, Matsushita, M, Souza, NE, Visentainer, JV. Fatty acid composition in wild and cultivated pacu and pintado fish. *Eur J Lipid Sci Technol* 111, 183–187 (2009).
- UNESCO. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and Guides 12, Intergovernmental Oceanographic Commission. Paris, France (1983).
- Urbinati, EC, Goncalves, FD, Takahashi, LS. Pacu *Piaractus mesopotamicus*. In: Baldisseroto, B, Gomes, LC. (Org.). Espécies Nativas para piscicultura no Brasil. 2 edição revista e ampliada. Santa Maria: Editora UFSM, capítulo 8, p. 1-606 (2010).
- Veeck, APL, Garcia, LO, Baldisserotto, B, Zaniboni Filho, E, Emanuelli, T. Proximate composition and lipid stability of dourado (*Salminus brasiliensis*, Cuvier, 1817) filets exposed to different levels of ammonia and oxygen *in vivo*. *J Sci Food Agric* 93, 2590-2595 (2013).
- Wendelaar Bonga, S. E. The stress response in fish. *Physiol Rev* 77:591–625 (1997).
- Wicks, BJ, Joensen, R, Tang, Q, Randall, DJ. Swimming and ammonia toxicity in salmonids: the effect of sub lethal ammonia exposure on the swimming performance of coho salmon and the acute toxicity of ammonia in swimming and resting rainbow trout. *Aquatic Toxicol* 59, 55–69 (2002).
- Wilkie, MP, Wood, CM. The Adaptations of Fish to Extremely Alkaline Environments. *Comp Biochem Physiol* 113B, (4): 665-673 (1996).

Yang, W, Xiang, F, Sun, H, Chen, Y, Minter, E, Yang, Z. Changes in the selected hematological parameters and gill Na^+/K^+ ATPase activity of juvenile crucian carp *Carassius auratus* during elevated ammonia exposure and the post-exposure recovery. *Biochem Syst Ecol* 38 557–562 (2010).

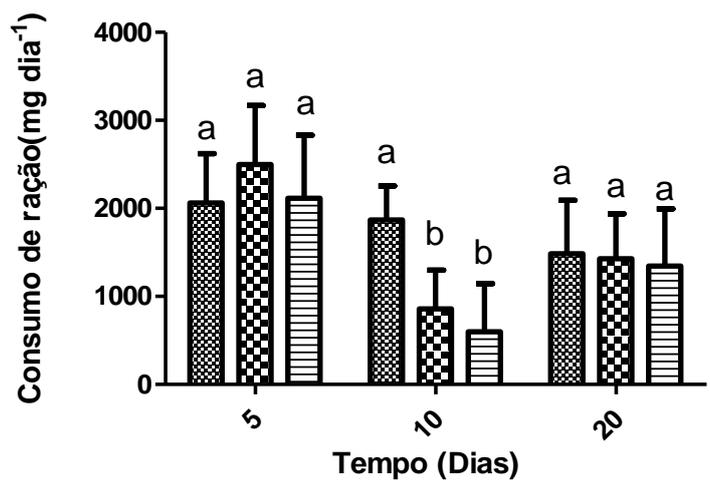
Zar, JH. Biostatistical analysis. Pearson Education (1999).

Figura 1. Índice hepatossomático (IHS) (A), consumo de ração (mg dia^{-1}) (B) e valores de TBARS ($\text{nmol MDA mg proteína}^{-1}$) (C) (média \pm DP) de juvenis de pacu expostos a diferentes concentrações de amônia não-ionizada (0,0; 0,5 e 1,0 $\text{mg NH}_3\cdot\text{L}^{-1}$) por um período de 10 dias, seguido pelo mesmo tempo de recuperação em água livre de NH_3 . Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) no mesmo tempo, entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis e Mann Witney.

A



B



C

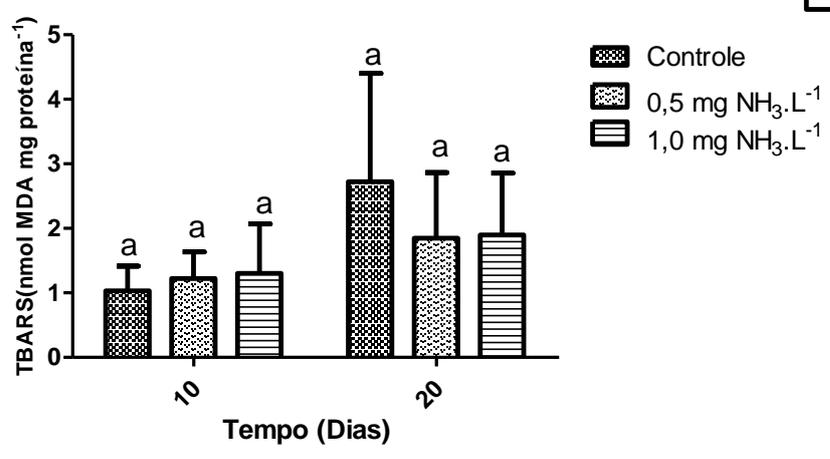


Tabela 1. Parâmetros sanguíneos (média \pm DP) de juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*) expostos a amônia não-ionizada e após o período de recuperação.

Parâmetros	Tratamentos	Tempo (dias)			
		1	5	10	20
Glicose (mg.dL ⁻¹)	C	76,44 \pm 6,48 ^c	73,55 \pm 18,64 ^b	76,11 \pm 6,23 ^b	65,44 \pm 18,95 ^a
	0,5	113,89 \pm 16,37 ^a	101,00 \pm 17,25 ^a	113,89 \pm 13,12 ^a	72,66 \pm 12,75 ^a
	1,0	96,11 \pm 12,43 ^b	93,44 \pm 11,53 ^a	59,11 \pm 29,71 ^b	76,22 \pm 11,93 ^a
Hematócrito (%)	C	16,44 \pm 3,00 ^a	19,77 \pm 3,99 ^b	18,66 \pm 4,64 ^a	24,22 \pm 2,27 ^a
	0,5	15,77 \pm 4,17 ^{ab}	14,33 \pm 1,65 ^c	21,11 \pm 7,57 ^a	25,57 \pm 2,63 ^a
	1,0	13,62 \pm 1,41 ^b	30,33 \pm 12,65 ^a	12,88 \pm 2,47 ^b	26,22 \pm 2,58 ^a
Lactato (mmol.L ⁻¹)	C	4,03 \pm 0,60 ^a	4,47 \pm 1,55 ^a	6,25 \pm 1,10 ^a	7,26 \pm 1,38 ^a
	0,5	2,79 \pm 1,20 ^b	4,60 \pm 2,13 ^a	3,95 \pm 1,63 ^b	7,36 \pm 2,88 ^a
	1,0	2,53 \pm 0,66 ^b	4,58 \pm 0,79 ^a	3,26 \pm 0,51 ^b	6,60 \pm 4,00 ^a

Concentrações de amônia não-ionizada (0,0 controle (C); 0,5 e 1,0 mg NH₃.L⁻¹ respectivamente). Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ($p < 0,05$) no mesmo tempo, entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis e Mann Witney.

Tabela 2. Composição proximal (média \pm DP) do músculo de pacu após exposição à níveis subletais de amônia não-ioniza e após o período de recuperação.

Composição proximal	Período					
	Exposição*			Recuperação [#]		
	Controle	0,5	1,0	Controle	0,5	1,0
Umidade (%)	78,2 \pm 0.4 ^a	78,6 \pm 0.1 ^a	78,3 \pm 0.1 ^a	79,0 \pm 0.1 ^a	79,1 \pm 0.2 ^a	78,7 \pm 0.3 ^a
Proteína (%)	16,3 \pm 1.6 ^a	15,1 \pm 3.3 ^a	17,6 \pm 1.5 ^a	16,2 \pm 1.6 ^a	13,9 \pm 4.5 ^a	18,0 \pm 0.1 ^a
Cinza (%)	1,20 \pm 0.03 ^a	1,14 \pm 0.04 ^a	1,30 \pm 0.01 ^a	1,30 \pm 0.05 ^a	1,40 \pm 0.01 ^a	1,30 \pm 0.01 ^a
Lipídio (%)	4,3 \pm 1,17 ^a	6,05 \pm 3,13 ^a	2,8 \pm 1,50 ^a	3,5 \pm 1,43 ^a	5,6 \pm 4,38 ^a	2,0 \pm 0,43 ^a

*Período de exposição a diferentes níveis de NH₃ durante 10 dias.

[#]Período de recuperação de 10 dias, sem a presença de NH₃.

Teste de Kruskal-Wallis e Mann Witney.

Tabela 3. Análise sensorial (média \pm DP) do músculo de pacu após exposição a níveis subletais de amônia não-ionizada e após o período de recuperação.

Análise sensorial	Período					
	Exposição*			Recuperação [#]		
	Controle	0,5	1,0	Controle	0,5	1,0
Cor	6,86 \pm 1,77 ^a	6,96 \pm 1,92 ^a	5,63 \pm 2,04 ^b	6,76 \pm 1,71 ^a	6,73 \pm 1,59 ^a	7,06 \pm 1,72 ^a
Odor	6,66 \pm 2,03 ^a	6,73 \pm 1,92 ^a	6,26 \pm 1,74 ^a	6,26 \pm 2,04 ^a	6,76 \pm 1,59 ^a	6,56 \pm 1,81 ^a
Textura	6,53 \pm 1,81 ^a	6,56 \pm 1,65 ^a	6,43 \pm 1,79 ^a	6,73 \pm 1,83 ^a	6,40 \pm 1,77 ^a	6,76 \pm 1,86 ^a
Aparência global	7,03 \pm 1,77 ^a	7,13 \pm 1,61 ^a	5,83 \pm 1,68 ^b	6,73 \pm 1,79 ^a	6,53 \pm 1,73 ^a	6,96 \pm 1,51 ^a

*Período de exposição a diferentes níveis de NH₃ durante 10 dias.

[#]Período de recuperação de 10 dias, sem a presença de NH₃. Controle: 0,0; 0,5 e 1,0 mg NH₃.L⁻¹ respectivamente.

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa (p<0,05) no mesmo tempo, entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis e Mann Witney.

Conclusões Gerais

A exposição à amônia não-ionizada, em níveis subletais, para juvenis de pacu altera os parâmetros sanguíneos.

A exposição à amônia não-ionizada durante dez dias não foi capaz de alterar a composição proximal, nem de induzir a peroxidação lipídica no músculo do pacu.

O período de recuperação se mostrou eficiente para reestabelecer os parâmetros hematológicos, da mesma forma que para os atributos avaliados na análise sensorial do músculo de juvenis de pacu.

A exposição à amônia não-ionizada afetou negativamente a análise sensorial do músculo de juvenis de pacu nos atributos de cor e aparência global.

ANEXOS

ANEXO A

ESCALA AFETIVA PARA AVALIAÇÃO DE ATRIBUTOS ESPECÍFICOS

Estamos avaliando a qualidade do filé de pacu exposto a diferentes níveis de amônia não ionizada seguida de um período de recuperação.

Sexo () Data:

Idade:

Por favor, olhe a amostra e dê uma nota para cada solicitação abaixo, seguindo a seguinte escala:

- 1 - desgostei muitíssimo
- 2 - desgostei muito
- 3 - desgostei regularmente
- 4 - desgostei ligeiramente
- 5 - indiferente
- 6 - gostei ligeiramente
- 7 - gostei regularmente
- 8 - gostei muito
- 9 - gostei muitíssimo

Tratamento	Cor	Textura	Odor	Aspecto global
1				
2				
3				
4				

Comentários:

Obrigado!