



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

CAMILA CRISTINA DA SILVA LOPES

**COBERTURA COMESTÍVEL ECOSSUSTENTÁVEL DE QUITOSANA E ÓLEO
DE PEIXE PARA CONSERVAÇÃO DE FILÉS DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

RECIFE
2024

CAMILA CRISTINA DA SILVA LOPES

**COBERTURA COMESTÍVEL ECOSSUSTENTÁVEL DE QUITOSANA E ÓLEO
DE PEIXE PARA CONSERVAÇÃO DE FILÉS DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Nutrição da Universidade Federal
de Pernambuco, como requisito
para obtenção do título de Mestre
em Nutrição.
Área de concentração: Ciência
dos alimentos.

Orientador: Marcos Antônio Barbosa de Lima

RECIFE

2024

CAMILA CRISTINA DA SILVA LOPES

COBERTURA COMESTÍVEL ECOSSUSTENTÁVEL DE QUITOSANA E ÓLEO
DE PEIXE PARA CONSERVAÇÃO DE FILÉS DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Nutrição da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito para
obtenção do título de Mestre em Nutrição.
Área de concentração: Ciência dos alimentos.

Aprovado em: ____ / ____ / ____.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 MARGARIDA ANGELICA DA SILVA VASCONCELOS
Data: 26/08/2024 21:03:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Margarida Angélica da Silva Vasconcelos (presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 TACIANA DE AMORIM SILVA
Data: 30/08/2024 18:34:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Taciana de Amorim Silva (titular)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Documento assinado digitalmente
 NATALIA FERRAO CASTELO BRANCO MELO
Data: 16/08/2024 14:14:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Natália Ferrão Castelo Branco Melo (titular)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Thayza Christina Montenegro Stamford (suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Rosileide Fontenele da Silva Andrade (suplente)
Universidade Católica de Pernambuco

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Lopes, Camila Cristina da Silva.
Cobertura comestível ecossustentável de quitosana e óleo de
peixe para conservação de filés de tilápia do Nilo
(Oreochromis niloticus) / Camila Cristina da Silva Lopes. -
Recife, 2024.
67f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-
graduação em Nutrição 2024.
Orientação: Marcos Antônio Barbosa de Lima.

1. Emulsão; 2. Conservação; 3. Pescados; 4. Revestimento
comestível; 5. Quitosana fúngica. I. Lima, Marcos Antônio
Barbosa de. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

Primeiramente agradeço a Deus pela vida, pela força concedida e por esta conquista.

À Universidade Federal de Pernambuco - UFPE pela oportunidade de realização da pós-graduação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição pela formação de excelência e pelo suporte oferecido ao longo desta jornada acadêmica.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco - FACEPE pela concessão da bolsa.

À Profa. Thayza Christina Montenegro Stamford pelo apoio na realização de alguns experimentos.

Ao meu orientador Prof. Marcos Antônio Barbosa de Lima, pelo apoio e disponibilidade em partilhar sua experiência no meu trabalho, mas principalmente, por toda compreensão.

A todo o grupo do Laboratório de Laboratório de Microbiologia Agrícola e Ambiental (LMAAA) e do Laboratório de Microbiologia Aplicada (LaMAp), por todo ensinamento.

Aos meus pais, Humberto e Ivone, por todo o ensinamento, compreensão e incentivo.

Ao meu irmão, Tiago, por sempre me apoiar, me confortar em momentos difíceis e me aconselhar.

As minhas tias Ceça e Dalva, não tenho palavras pra descrever a importância de cada uma!

Aos meus amigos Lizandra, Miya, Luiza e Arthur que sempre me apoiaram nessa jornada árdua. Agradeço pelo carinho, apoio e paciência. Por todo choro e sorriso compartilhados!

A todos que não citei, mas que sempre me apoiaram contribuindo para mais um importante passo na minha vida.

A todos, muito obrigada!

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”
Trecho de uma carta de Newton para Robert Hooke,
5 de Fevereiro de 1676

RESUMO

A tilápia do Nilo é a principal espécie da piscicultura de Pernambuco, e o filé o seu produto de maior valor comercial. O objetivo deste trabalho foi produzir uma cobertura comestível à base de quitosana-óleo de peixe para o prolongamento da vida útil de filés de tilápia do Nilo sob refrigeração. A emulsão de quitosana e óleo de peixe foi preparada e caracterizada pela análise de tamanho, índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta, bem como o teor de fenólicos totais, pH, atividade antimicrobiana e antioxidante. Em seguida, foi realizada avaliação do efeito de diferentes tratamentos (glicerol - controle; gel de quitosana - T1; emulsão - T2) nos aspectos físico-químicos como pH, umidade, atividade de água e oxidação lipídica, bem como na contagem de bactérias aeróbicas e psicotróficas totais dos filés de tilápia do Nilo. A emulsão apresentou um tamanho médio de partícula de $684,3 \pm 11,68\text{nm}$, PDI de $0,29 \pm 0,032$ e potencial zeta de $46,05 \pm 1,48\text{mV}$. O teor de fenólicos totais foi $65,10\text{mg}/100\text{g}$, caracterizando-a como tendo um alto conteúdo desses compostos. Além disso, seu pH foi registrado em 4,3, considerado adequado para a produção de nanoemulsões. Por outro lado, a emulsão apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positiva e negativa e levedura, com destaque para *Pseudomonas aeruginosa* cuja concentração inibitória mínima (CIM) foi $3,3\text{mg}/\text{mL}$. Adicionalmente, a quitosana e o óleo de peixe apresentaram atividade antioxidante, com maior atividade para o óleo de peixe. Os tratamentos dos filés de tilápia com a cobertura comestível desenvolvida reduziram efetivamente a contagem a níveis seguros para os microrganismos propostos, segundo as diretrizes da Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos. Além disso, a aplicação da emulsão diminuiu o pH (6,28), a atividade de água (0,97 a $24,6^\circ\text{C}$) e da umidade (80,4%) dos filés de tilápia. Portanto, a emulsão quitosana e óleo de peixe apresenta potencial de aplicação como uma cobertura comestível promissora na manutenção dos padrões de qualidade dos filés de tilápia.

Palavras-chave: Emulsão, Conservação, Pescados, Revestimento comestível, Quitosana fúngica.

ABSTRACT

Nile tilapia is the main species in Pernambuco's fish farming, with fillets being its most commercially valuable product. The aim of this study was to produce a chitosan-fish oil-based edible coating to extend the shelf life of Nile tilapia fillets under refrigeration. The chitosan and fish oil emulsion was prepared with a composition of 1.0% (w/v) chitosan, 1% Tween 80 (HBL), and 2.24% fish oil. Emulsion characterization included size analysis, polydispersity index (PDI), and zeta potential. Additionally, total phenolic content, pH, and antimicrobial activity of the chitosan and fish oil emulsion were determined. Subsequently, the effect of different treatments (1% glycerol - control; 1% chitosan solution - T1; chitosan emulsion 1% + fish oil 2.24% - T2) on the shelf life of tilapia fillets was evaluated through physicochemical analyses of pH, moisture, water activity, lipid oxidation using the TBARS technique, and microbiological analysis. The emulsion had an average particle size of $684.3 \pm 11.68\text{nm}$, a PDI of 0.29 ± 0.032 , and a zeta potential of $46.05 \pm 1.48\text{mV}$. The total phenolic content was $65.10\text{mg}/100\text{g}$, indicating a high content of these compounds. Moreover, its pH was recorded at 4.30, considered suitable for nanoemulsion production. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) showed more effective results for *Pseudomonas aeruginosa*, with a MIC of $3.3\text{mg}/\text{mL}$. The treatments of tilapia fillets with the developed edible coating effectively reduced the count of microorganisms to safe levels according to the guidelines of the International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Additionally, they demonstrated a decrease in pH, reaching a value of 6.28, as well as in water activity, reduced to 0.97 at 24.6°C . A slight decrease in moisture percentage was also observed, reaching 80.4%. Therefore, the chitosan and fish oil emulsion shows potential as a promising edible coating in maintaining the quality standards of tilapia fillets.

Keywords: Emulsion, preservation, fish, Edible coating, fungal chitosan.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Tilápia do Nilo	14
2.2 Óleo de peixe.....	16
2.3 Conservação do pescado por refrigeração	17
2.4 Coberturas comestíveis.....	19
2.4.1 Quitosana	20
2.4.2 Quitosana como cobertura comestível.....	23
3. OBJETIVOS	25
3.1 Geral.....	25
3.2 Específicos	25
4. Hipótese.....	26
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
5.1 Materiais	27
5.2 Preparação das soluções e aplicação nos filés de tilápia	27
5.3 Caracterização da emulsão.....	28
5.3.1 Tamanho e espalhamento dinâmico de luz (DLS).....	29
5.3.2 Potencial zeta (PZ).....	29
5.4 Atividade antimicrobiana da emulsão	29
5.5 Análise do potencial antioxidante e dosagem de compostos fenólicos	31
5.5.1 Dosagem de compostos fenólicos.....	31
5.5.2 ABTS.....	31
5.5.3 DPPH	32
5.6 Efeito das coberturas comestíveis sobre os parâmetros físico-químicos do filé de Tilápia revestidos.....	32
5.6.1 Análise físico-química.....	32
5.6.2 Oxidação lipídica - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).....	33
5.6.3 Análise microbiológica	33
5.7 Análise Estatística.....	34
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6.1 Caracterização da emulsão	35
6.2 Concentração inibitória mínima (CIM).....	37
6.3 Avaliação da atividade antioxidante.....	39
6.3.1 Determinação da capacidade antioxidante através da quantificação do sequestro de radicais DPPH	40
6.3.2 Determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical livre ABTS+	41
6.3.3 Teor de fenólicos totais.....	42

6.4	Efeito da cobertura comestível sobre os parâmetros físico-químicos dos filés de tilápia revestidos	43
6.4.1	Umidade.....	44
6.4.2	Atividade de água (aw)	45
6.4.3	pH	46
6.4.4	Oxidação lipídica - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	48
6.5	Efeito da cobertura comestível sobre os parâmetros microbiológicos dos filés de Tilápia.....	49
6.5.1	Contagem de bactérias aeróbias totais	50
6.5.2	Contagem de bactérias psicrotróficas	51
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
8.	REFERÊNCIAS.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	14
Figura 2 – Estrutura química da quitina (A) e quitosana (B).....	21
Figura 3 – Reação de desacetilação da quitina, originando a quitosana.....	22
Figura 4 – Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) embaladas em sacos ziplock mantidas refrigeradas (2° C).	28
Figura 5 – pH das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a - 2° C durante 14 dias.	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de caracterização e estabilidade da emulsão.....	35
Tabela 2 - Determinação da concentração inibitória mínima de gel de quitosana (GQ), e da emulsão EOQ (Emulsão de óleo+quitosana) (mg/mL), para inibição de microrganismos patogênicos.....	37
Tabela 3 - Determinação da atividade antioxidante das amostras do óleo de peixe, gel de Quitosana e da emulsão (Óleo+Quitosana).	42
Tabela 4 - Valores de umidade (%) das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a - 2° C	43
Tabela 5 - Valores de Atividade de água (aW) das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a - 2° C	45
Tabela 6 - Valores de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em mg de MDA/kg das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão de quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a - 2° C durante 14 dias	48
Tabela 7 - Contagem de bactérias aeróbicas totais em amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão de quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a - 2° C durante 14 dias	50
Tabela 8 - Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas em amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão de quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a - 2° C	51

1. INTRODUÇÃO

Em 2022, o Brasil foi classificado como o quarto maior produtor mundial de tilápia, contribuindo com 550.060 milhões de toneladas (63,93% da produção nacional de peixes de cultivo e aumento de 3% sobre as 534.005 toneladas de 2021) com um valor de \$7,61 bilhões e uma taxa média de crescimento anual de 8,89% entre 2017 e 2020 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA, 2023). Além disso, a tilápia responde por 88% das exportações brasileiras de pescado, atendendo sobretudo os Estados Unidos. Pernambuco, por sua vez, é o maior produtor de tilápia da região nordeste com 33% (20,522 toneladas em 2018) do total da produção. Em 2018, a tilápia respondeu por 99,6 % da produção de peixe em Pernambuco (PEDROZA FILHO et al., 2020; TACON, 2019; VIDAL e XIMENES, 2019).

A tilápia é bem aceita pelos consumidores, seja no mercado nacional e/ou internacional, por possuir sabor suave, textura firme, cor branca, odor agradável e ausência de espinhas em “y”, sendo de fácil filetagem e adequada para o processamento industrial, além de possuir um alto valor nutricional. No entanto, como todo pescado, a tilápia apresenta alta perecibilidade resultando em uma vida útil curta, uma vez que possuem características que facilitam o desenvolvimento microbiano tais como, pH próximo da neutralidade, elevada atividade de água e alto teor de nutrientes facilmente utilizáveis, bem como a presença de enzimas autolíticas (TACON, 2019).

Atualmente os produtos à base de peixe fresco são armazenados em gelo ou sob refrigeração durante a sua distribuição e comercialização apresentando vida útil bastante limitada: 2 a 7 dias. Globalmente, as perdas de peixes causadas pela deterioração representam cerca de 10% da produção total da pesca de captura e aquicultura (SOCACIU et al., 2018). Portanto, é crucial a pesquisa de métodos alternativos de preservação com o intuito de prolongar a vida de prateleira (prazo de validade) e comercialização de peixe fresco.

A embalagem é um importante elemento na cadeia de abastecimento de peixes como estratégia para redução das perdas. A embalagem a vácuo e a embalagem com atmosfera modificada são as mais utilizadas como um suplemento ao gelo ou refrigeração para inibir a deterioração microbiana e estender a vida útil de produtos de peixe fresco. Todavia, a tecnologia de embalagem com atmosfera modificada tem

algumas desvantagens como, custos com equipamentos, gases e materiais de embalagem, além de requerer treinamento especial para operadores (SOCACIU et al., 2018).

Recentemente, sistemas de coberturas e filmes ativos têm sido desenvolvidos para prolongar o tempo de armazenamento dos produtos de peixe fresco tendo como vantagens a biodegradabilidade, comestibilidade e a biocompatibilidade (SOCACIU et al., 2018). A quitosana é um polissacarídeo catiônico encontrado no exoesqueleto de crustáceos e na parede celular de fungos (SANTOS et al. 2020; SOUZA et. al. 2020).

Esse polímero apresenta diversas propriedades, como, biodegradabilidade, atoxidade, biocompatibilidade, ação antioxidantes e antimicrobiana, assim como a capacidade de formação de gel, sendo capaz de formar uma barreira, evitando a perda de umidade, a absorção de água pela matriz e a penetração do oxigênio, a perda de aromas, o transporte de solutos e o desenvolvimento de microrganismos, consequentemente, estendendo a vida útil do produto (MCGEE, 2014).

Neste sentido, os revestimentos de quitosana vêm ganhando espaço entre as novas tecnologias alimentícias (SANTOS et al. 2020; NAIR et al. 2020). Esses revestimentos quando adicionados ou combinados com outros compostos antioxidantes ou antimicrobianos naturais potencializam a sua funcionalidade, por meio da sua liberação lenta e gradual na superfície do produto (ZHANG, et al. 2022).

Por outro lado, a Tilápia do Nilo, classificada na categoria A de peixes magros devido ao seu teor de gordura abaixo de 5% (ALVES, 2018), apresenta uma composição nutricional equilibrada, com 19,3% de proteínas, 4,9% de lipídeos e 2,0% de cinzas. Sua carne é uma valiosa fonte de lipídios e proteínas de fácil digestão e alto valor biológico, destacando-se pela presença de aminoácidos essenciais, como a lisina. Além disso, é relevante mencionar sua riqueza em micronutrientes, incluindo vitaminas, minerais e ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega 3, embora em proporções inferiores se comparado aos peixes marinhos (CARLI, 2022). Além disso, os óleos de peixe são boas fontes de ácidos graxos poliinsaturados (ômega-3 e ômega-6) e estudos demonstraram a atividade antibacteriana de óleo de espécies de sardinhas (NAIR et al. 2020). Desta feita, estudos em busca de alternativas que visem agregar valor ao óleo da tilápia são necessários.

Sendo assim, o desenvolvimento de um revestimento comestível à base de quitosana fúngica associada ao óleo de peixe vai contribuir como uma nova

abordagem de baixo custo e sustentável para aumentar a vida de prateleira dos filés de tilápia, assim como para o aproveitamento dos resíduos gerados no processo de beneficiamento desta espécie, e conseqüentemente, à diminuição das perdas econômicas para os produtores e varejistas de pescado, além de tornar a cadeia de produção da tilápia mais sustentável.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tilápia do Nilo

A tilápia é um ciclídeo originário do Oriente Médio e da África, sendo um dos peixes de maior produtividade comercial à nível global, com 90% dessa produção pertencente à espécie *Oreochromis niloticus*, mais conhecida como Tilápia do Nilo (HELD, 2019). Na região nordeste do Brasil, a espécie foi introduzida pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) no início da década de 1970, de forma que acabou se difundindo pelo país (ALVES, 2018).

Figura 1: Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)



Fonte: Silva et al, 2015.

Destaca-se devido à sua durabilidade e crescimento rápido, a resistência à variações de temperatura e doenças e, à qualidade de água e presença de patógenos, se adaptam bem ao consumo de rações de diferentes tipos de ingredientes, além de poderem ser utilizadas em policultivos, pois toleram-se em altas densidades (CALDATO et al, 2019; SILVA DIAS et al, 2021). Tendo em vista a sua facilidade de adaptação, a criação de tilápia é realizada principalmente por cultivo intensivo em tanques-rede dentro de reservatórios (ALVES, 2018).

A tilapicultura no Brasil concentra-se na região sul, principalmente nos estados do Paraná e Santa Catarina (ALVES, 2018). No nordeste, a maior

produção até 2015 era do estado do Ceará, mas a escassez hídrica acabou fazendo com que os produtores migrassem para o Rio Parnaíba (Piauí) e o Rio São Francisco Bahia e Pernambuco (ALVES, 2018). Representando 98% da exportação da piscicultura brasileira, a tilápia continua sendo a espécie mais exportada, totalizando US\$ 23,2 milhões em 2022. O crescimento da espécie em relação a 2021 foi de 28% (Ministério da Economia, 2023).

A composição centesimal da Tilápia do Nilo apresenta 19,3% de proteínas, 4,9% de lipídeos e 2,0% de cinzas, sendo classificada na categoria A de peixes magros, os quais apresentam teor de gordura abaixo de 5% (ALVES, 2018). A carne de tilápia é uma importante fonte de lipídios e de proteínas de fácil digestão e alto valor biológico, pela presença de aminoácidos essenciais como a lisina, além de possuir ampla gama de micronutrientes como vitaminas, minerais e ácidos graxos poli-insaturados, como o ômega 3, em menor quantidade se comparado aos peixes marinhos (CARLI, 2022). Ademais, pela baixa concentração de carboidratos e gorduras saturadas, o consumo consciente dessa proteína pode auxiliar na perda de peso e controle de níveis de colesterol no sangue (CARLI, 2022).

A presença de microrganismos oportunistas nas superfícies dos peixes e em suas brânquias está relacionada ao estresse excessivo durante o período de alojamento. Nos últimos anos, observou-se um aumento significativo das doenças bacterianas na produção de tilápias (NETO & BUENO, 2019). A transmissão horizontal desses microrganismos ocorre de forma direta, através do contato com peixes e/ou alimentos contaminados, e indireta, por meio do contato com a água, lodo ou substrato dos sistemas de criação.

Além disso, a transmissão pode ocorrer por meio de equipamentos como redes, roupas e tanques de transporte, onde esses microrganismos podem permanecer por longos períodos. Até o momento, a transmissão vertical em peixes não foi confirmada (RIVAS, 2020). Considerando esses aspectos, é importante ressaltar que os fatores pré e pós beneficiamento estão diretamente relacionados à qualidade do pescado, tanto por fatores intrínsecos como extrínsecos a essa produção.

2.2 Óleo de peixe

De maneira geral, os peixes apresentam uma composição nutricional rica em diversos nutrientes essenciais, tais como proteínas, vitamina A, vitamina B2, vitamina B12, iodo, zinco, selênio, fósforo e ácidos graxos de cadeia longa, sejam eles mono ou poli-insaturados (SILVA, 2022). É importante ressaltar que determinadas espécies de peixes, como atum, sardinha, cavala e salmão, são especialmente conhecidas por seus altos teores de ácidos graxos essenciais, que desempenham um papel fundamental na nutrição humana. Esses ácidos graxos são reconhecidos por sua contribuição na reparação tecidual e cicatrização de feridas (GRANDINI et al., 2020).

Os ácidos graxos em sua grande maioria são ácidos poli-insaturados, que contemplam as famílias dos ácidos graxos conhecidos ômega -3 (ω -3) e ômega -6 (ω -6), estes são representados pelos ácidos graxos essenciais: α -linolênico (18:3, n-3, AAL) e linoleico (18:2, n-6, AL) (SILVA et al, 2022). O Ômega-3 é composto por uma mistura de ácidos graxos poli-insaturados (n-3 PUFAs), principalmente, ácido docosahexanoico (DHA) e ácido eicosapentanoico (EPA) (TUBIANA et al, 2020). Sob essa ótica, ácidos graxos do grupo Ômega-3 são encontrados em vegetais verdes, peixes oceânicos selvagens, sementes oleosas (chia, linho e perilla) e alimentos derivados de animais criados em pastagens verdes (MARIAMENATU & ABDU, 2021).

O corpo humano possui capacidade limitada de formar ácidos graxos essenciais, sobretudo os ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA) (22:6, n-3, DHA) a partir de alfa-linolênico (ALA), portanto os ácidos graxos poliinsaturados ômega 3 (AGPI n-3) devem ser obtidos da ingestão alimentar (CASSOL et al, 2020; GRANDINI et al, 2020). O consumo do peixe, seja in natura ou na forma de concentrados (cápsulas, emulsões de óleos marinhos, azeites), agregam ao organismos o EPA e DHA, estes são anexados a composição das membranas celulares do corpo, especialmente de células cardíacas e dos neurônios, desempenhando um papel fundamental no início do desenvolvimento do cérebro e no decorrer do desenvolvimento infantil (SILVA et al, 2022).

Uma alimentação balanceada com óleo de peixe contendo alto teor de ácidos graxos n-3, apresenta significantes propriedades anti inflamatórias através da inibição de eicosanóides pró-inflamatórios derivados dos ácidos graxos n-6, como o AA e a diminuição de citocinas pró-inflamatórias (CASSOL et al, 2020). Ademais, a ingestão

balanceada desses ácidos graxos está associada a redução de risco de doenças cardiovasculares (KUS-YAMACHITA et al, 2021).

2.3 Conservação do pescado por refrigeração

Os pescados são extremamente perecíveis quando comparados a outros produtos de origem animal, não apenas em relação às suas características intrínsecas, mas pela presença elevada de água em sua composição, pela rápida ação destrutiva de enzimas presentes nos tecidos, alta atividade metabólica da microbiota, pelo pH próximo a neutralidade, e também pelo baixo teor do tecido conjuntivo (MCGEE, 2014 ;TEIXEIRA, 2016).

A deterioração dos peixes inicia-se em um processo autolítico por enzimas endógenas, que produz o substrato para o crescimento bacteriano. Após este processo enzimático, pode haver o crescimento de microrganismos, que pode ocorrer em menos tempo, quando comparado às carnes de mamíferos, devido ao pH do pescado (>6.2) ser maior que o dos animais terrestres (CARLI, 2022). Com a morte do peixe, o oxigênio dos músculos esgota-se e, conseqüentemente, a glicólise anaeróbica começa a produzir ácido láctico.

Quando as fibras musculares esgotam sua energia (ATP), acontece o processo de *rigor mortis*, onde as articulações passam a oferecer maior resistência à flexão (MCGEE, 2014). Em seguida, após a glicólise inicia-se a proteólise, induzida por enzimas internas e ativadas pelo pH, a atividade proteolítica é responsável pelo amaciamento progressivo dos tecidos do peixe (CARLI, 2022). A velocidade em que ocorre a diminuição do pH depende das condições de captura, e depleção das reservas de glicogênio (PÁDUA, 2021). Dessa forma, os músculos relaxam e em seguida amolecem como o desdobramento da adenosina trifosfato (ATP) e formação de amônia e, em paralelo, conseqüentemente inicia-se o processo de senescência gerados por agentes microbiológicos (MCGEE, 2014).

A partir do início do processo de degradação, os peixes podem se tornar um substrato propício para o crescimento de microrganismos, resultando em alterações nas características físicas, químicas e organolépticas do alimento. Essas modificações incluem a presença de escamas opacas e facilmente desprendidas, olhos turvos com pupilas de cor branca leitosa, guelras de coloração pálida ou escura, carne que apresenta amolecimento (caracterizada por uma

tonalidade acinzentada, falta de brilho e elasticidade) e um odor desagradável de amônia, tornando-se impróprio para o consumo (TEIXEIRA, 2016).

A vida útil do pescado é influenciada tanto pelas reações enzimáticas quanto pelo número de espécies de microorganismos presentes. Esses fatores estão intimamente ligados à microbiota natural do pescado e ao modo como ele é manipulado desde o momento da captura até o armazenamento (MCGEE, 2014). Os métodos de captura utilizados que resultam em morte lenta dos peixes e juntamente com a presença de numerosos microrganismos na água e na microbiota natural (localizada principalmente nos intestinos, brânquias e muco superficial), também desempenham um papel significativo na aceleração do processo de decomposição, acarretando em diversos problemas para a conservação (TEIXEIRA, 2016). A liberação de muco pelas glândulas presentes sob a pele dos peixes ocorre como uma reação adaptativa do organismo ao ambiente adverso encontrado fora da água. A mucina, uma glicoproteína predominante na composição do muco, serve como um meio propício para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos (TEIXEIRA, 2016).

O processo de refrigeração é amplamente empregado na conservação de pescados, oferecendo uma maneira eficaz de retardar a ação dos microrganismos e prolongar a vida útil do produto. Considerando que os peixes estão naturalmente adaptados a baixas temperaturas devido ao seu habitat, a aplicação de gelo é comumente utilizada para atingir uma temperatura em torno de 0°C no pescado (MCGEE, 2014). Segundo a Resolução RDC nº 60/2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é definido como pescado refrigerado, o pescado devidamente acondicionado em gelo e mantido em temperatura entre - 0,5 a - 2° C. O Decreto Nº 30.691, DE 29 DE MARÇO DE 1952 também estabelece a temperatura entre - 0,5 a - 2° C para pescados refrigerados. (RIISPOA, 1952).

No entanto, devido à alta perecibilidade dos peixes, nem sempre é viável disponibilizar produtos refrigerados em todos os estabelecimentos varejistas. A vida útil desses produtos varia de 2 a 7 dias, dependendo das condições logísticas e de infraestrutura, limitando-se principalmente à distribuição local (ALVES, 2018). Nesse contexto, a indústria tem buscado alternativas tecnológicas para suprir essa demanda, como a associação do processo de refrigeração com a aplicação de atmosfera modificada e embalagem a vácuo.

Além disso, uma abordagem promissora na conservação de produtos

alimentícios, incluindo peixes, é o uso de coberturas comestíveis à base de biopolímeros. Por exemplo, a quitosana combinada com óleos de ação antimicrobiana tem sido estudada como uma opção para preservação desses produtos. Nesse contexto, alguns estudos têm se dedicado a avaliar a aplicação de coberturas comestíveis em pescados, visando prolongar sua vida útil e preservar suas características de qualidade.

Estudos realizados por Vieira (2017) e Damasceno (2016) investigaram a eficácia do uso de revestimentos de quitosana incorporados com óleos essenciais na qualidade de diferentes espécies de peixes. O estudo de Vieira (2017) avaliou filés de tambaqui e o estudo de Damasceno (2016) abordou filés de cavala (*Scomberomorus cavalla*). Em todos esses estudos, os resultados indicaram que a aplicação da cobertura à base de quitosana contribuiu para a prolongação da vida útil do pescado, fornecendo uma importante estratégia para a conservação desses produtos.

2.4 Coberturas comestíveis

A formulação de coberturas comestíveis têm crescido nos últimos anos na indústria de alimentos, visando principalmente o aumento do tempo de prateleira e preservação das características do produto (CHERMAN et al, 2022). Nessa perspectiva, ainda é frequente a resistência dos consumidores por produtos adicionados de revestimentos comestíveis, contudo, sob o aspecto socioambiental existe um crescente interesse na substituição dos plásticos sintéticos oriundos do petróleo por polímeros biodegradáveis (FRATARI et al, 2021).

Revestimento ou cobertura é definido como uma suspensão ou emulsão aplicada diretamente na superfície do alimento, tornando-se, posteriormente, um filme (FRATARI et al, 2021). A aplicação do revestimento cria uma barreira ao fluxo de vapor d'água e gases, funcionando como uma atmosfera alterada, reduzindo a taxa de respiração e, por conseguinte, alterando as concentrações de dióxido de carbono (CO₂) e oxigênio (O₂), modificando as condições internas da fruta revestida, prolongando o tempo de armazenamento e aprimorando a proteção contra microrganismos. (NÚÑEZ et al, 2021; VIEIRA; ASCHERI; SIGNINI, 2022). Ademais, essas coberturas podem efetivamente reduzir o crescimento microbiano em produtos alimentícios sólidos e semissólidos, diminuindo a taxa de difusão de agentes

antimicrobianos do material de revestimento para o produto (FRATARI et al, 2021). Assim, o biofilme constitui uma embalagem primária, pois está diretamente em contato com o alimento (COSTA et al, 2019).

O uso de fontes naturais renováveis tem se destacado frente aos aditivos químicos e recebido o suporte de políticas de preservação ambiental aliada à preocupação com a saúde (ALMEIDA, 2021). As coberturas comestíveis além de não gerarem resíduos sólidos, pois são compostos por polímeros naturais que são facilmente degradados, por serem biodegradáveis tendem a se tornarem a tecnologia mais viável a ser aplicada na conservação de alimentos nos próximos anos (COSTA et al, 2022).

Os revestimentos comestíveis podem ser formulados com base em vários materiais como proteínas, polissacarídeos e óleos essenciais (FRATARI et al, 2021). Sob essa ótica, as principais matérias primas utilizadas para revestimentos são os polissacarídeos, sendo em sua maioria: gomas, amido, pectina, celulose e quitosana (ALVES et al, 2021). A pectina é um exemplo de um biopolímero de polissacarídeo, em seu estudo Todisco et al (2019) realizaram uma cobertura de pectina e subprodutos do beneficiamento da goiaba para revestir pedaços de goiaba, obtendo boa adesão ao produto, manutenção da umidade e firmeza, aumentando assim sua vida útil.

Cherman et al (2022) produziram formulações de coberturas comestíveis à base de alginato e óleos essenciais (alecrim e orégano), onde esses revestimentos proporcionam maior resistência se comparado com a amostra sem essa adição. A pesquisa de Viegas (2016), realizou um estudo comparativo entre filmes de amido e quitosana, de forma que os revestimentos à base de amido são mais permeáveis em comparação aos que usaram quitosana.

Ademais, o grupo de revestimentos à base de gomas englobam também as algas, nas quais as mais comuns são os alginatos e goma carragena, que quando aplicados em frutas preservaram a firmeza, pH, conferindo menor permeabilidade ao vapor de água e mantendo características visuais como cor (YOUSUF, QADRI E SRIVASTAVA, 2018).

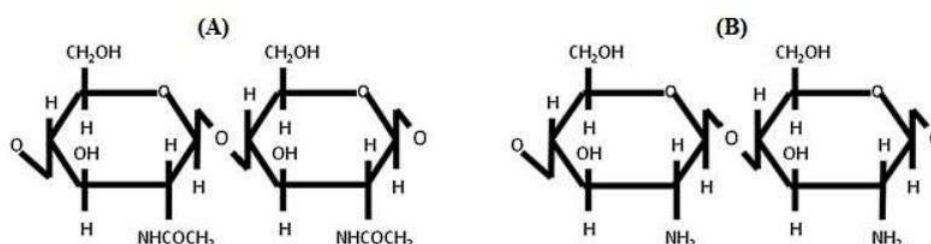
2.4.1 Quitosana

A quitosana é heteropolímero natural, amino catiônico composto de 2-acetamido-2-desoxi-Dglicopirranose (N-acetilglucosamina) unidas por ligações β (1 $\rightarrow$ 4) extraída do processo de desacetilação alcalina da quitina (LEAL et al, 2023).

Quando o procedimento de biotransformação, que corresponde ao nível de desacetilação, excede o limite de 50%, a quitina se dissolve em um ambiente líquido, sendo então denominada quitosana (MENDES; BRESOLIN; ASSIS, 2016).

Esse biopolímero é amplamente encontrado no exoesqueleto de animais marinhos, como anelídeos, moluscos, celenterados, lagostas, camarões, caranguejos e krill, além de artrópodes como aranhas, escorpiões, formigas e besouros, e em microrganismos como algas verdes e marrons, leveduras, parede celular de fungos e esporos (LIMA; BONILLA; LUCENA, 2022).

Figura 2: Estrutura química da quitina (A) e quitosana (B).



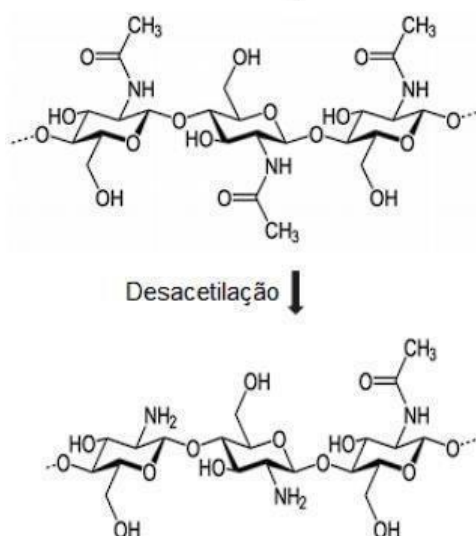
Fonte: Lima, Bonilla, Lucena (2022).

A quitosana (representada na Figura 2) é um polímero linear não ramificado composto de β -1,4-d-glucosamina (MALERBA & CERANA, 2018), obtido por meio do processo de desacetilação da quitina (Figura 3), um copolímero que contém N-acetil-d-glucosamina e d-glucosamina (ROLIM et al., 2018). A desacetilação é um processo utilizado para remover os grupos acetil da quitina, resultando na formação da quitosana pura (LIMA; BONILLA; LUCENA, 2022). De forma que a quitosana apresenta insolubilidade em soluções aquosas com pH acima de 7. No entanto, em meio ácido, ocorre a protonação dos resíduos amino livres, o que resulta em uma elevada solubilidade da molécula em um pH ácido (VIEIRA, 2017).

Existem duas maneiras de realizar esse processo: por meio de ação enzimática (usando quitinases) ou por hidrólise alcalina, sendo esta última a forma mais prevalente, como destacado por Rabello et al (2017). O grau de desacetilação é comumente determinado pela proporção entre a glucosamina e a N-acetilglucosamina, aumentando à medida que a quitina é transformada em

quitosana. Em outras palavras, quando a quantidade de N-acetilglucosamina supera a de glucosamina, o biopolímero é chamado de quitina, enquanto que na situação inversa é denominado quitosana (HAMED et al., 2016)

Figura 3. Reação de desacetilação da quitina, originando a quitosana.



Fonte: Adaptado de Vieira (2017).

A obtenção de quitosana a partir de crustáceos apresenta algumas desvantagens do ponto de vista industrial. Isso ocorre principalmente devido à limitação sazonal na oferta desses crustáceos e à geração de resíduos tóxicos concentrados durante a extração alcalina, resultando em grandes volumes de efluentes tóxicos. Além disso, a quitosana obtida dessa forma possui propriedades heterogêneas e variáveis, dificultando sua padronização (MACHADO et al., 2020). Diante dessas limitações, a quitosana de origem fúngica tem sido objeto de diversos estudos, pois evita a maioria das restrições alimentares e desvantagens associadas à produção de quitosana a partir de crustáceos (Wu et al., 2019).

Além disso, a produção de quitosana a partir de fontes fúngicas têm oferecido benefícios na minimização de resíduos industriais. Um estudo conduzido por Silva et al. (2022) propôs a utilização de dois resíduos agroindustriais, milhocina e manipueira, e aplicou um planejamento fatorial para avaliar as interações entre essas fontes de carbono e nitrogênio no aumento da produção de biomassa, quitina e quitosana pela espécie *Cunninghamella elegans*. Onde a milhocina é um subproduto da indústria de beneficiamento do milho, enquanto a manipueira é um

subproduto da prensagem da mandioca para a fabricação de farinha. (BEZERRA, 2018).

A versatilidade e potencial da quitosana despertam grande interesse nos âmbitos econômico e tecnológico. Sua natureza natural, baixo custo, renovabilidade, abundância e ausência de toxicidade a tornam um material extremamente atrativo (VIEIRA, 2017). A aplicação desse composto abrange diversos setores, como indústria alimentícia, biotecnologia, ciência dos materiais, tratamento de água, desenvolvimento de fármacos, produtos farmacêuticos, agricultura e proteção ambiental (VIEIRA, 2017).

2.4.2 Quitosana como cobertura comestível

A quitosana em filmes comestíveis é uma excelente barreira contra o vapor de água, o que a torna uma propriedade interessante para revestimentos comestíveis. Esses filmes são capazes de retardar a desidratação de produtos frescos, como carnes, frutas e legumes. Além disso, eles absorvem a umidade em produtos secos, como massas secas e barras de cereais. A barreira física também impede o contato com o oxigênio, permitindo um controle eficaz do amadurecimento das frutas e auxiliando na redução da oxigenação dos alimentos (VIEIRA, 2017).

Revestimentos comestíveis à base de quitosana têm sido observados em diversos alimentos. Estudos indicam a sua aplicação em filés de peixe (VIEIRA et al., 2019; BOARIN-ALCADE, 2016; VIEIRA, 2017), carne bovina (SILVA et al., 2020), frutas (LUVIELMO; LAMAS, 2012) e verduras (BUSO et al., 2014; ARAÚJO; SHIRAI, 2016; OLIVEIRA, 2014). Além disso, a quitosana também está presente na composição de alimentos como hambúrgueres (ANJOS et al., 2021), salsichas (GARCÍA et al., 2010) e barras de cereais (LIMA et al., 2012).

Em relação à aplicação de quitosana em peixes, o estudo conduzido por Held (2019) teve como objetivo avaliar os efeitos desse composto no congelamento de filés de tilápia do Nilo congelados. A pesquisa demonstrou que a incorporação do revestimento de quitosana resultou em um aumento significativo na umidade dos filés, proporcionando uma redução substancial na presença de bactérias nos mesmos. Vale ressaltar que esses benefícios foram alcançados sem que houvesse grandes alterações no pH ou na coloração dos filés durante o período de

congelamento de seis meses.

Ademais, o estudo de Santos (2014) avaliou a utilização de quitosana e óleos essenciais (citronela, copaíba e eucalipto) no revestimento de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Demonstrando assim que os filés que receberam o revestimento possuíam teor de umidade maior que não receberam. Em relação a concentração de compostos reativos ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi menor em filés revestidos, e melhores resultados foram observados com a adição de glicerol; Além disso, a contagem total de micro-organismos mesófilos e psicotróficos foi menor nos filés revestidos.

De forma complementar, um estudo realizado por Soares et al. (2017) mostrou que a aplicação de quitosana em filés de salmão submetidos ao processo de congelamento e posteriormente armazenados por seis meses não acarretou em impactos significativos nas características organolépticas dos filés. Na verdade, verificou-se que houve melhorias na cor e aparência dos filés, evidenciando assim o potencial positivo desse composto na preservação e qualidade dos produtos pesqueiros.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Produzir e avaliar cobertura comestível à base de quitosana fúngica e óleo de peixe para conservação dos padrões de qualidade e prolongamento de prateleira de filés de tilápia do Nilo sob refrigeração.

3.2 Específicos

- ▮ Preparar e caracterizar a cobertura comestível a base de quitosana e óleo de peixe;
- ▮ Avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante in vitro da cobertura a base de quitosana e óleo de peixe;
- ▮ Avaliar os padrões de qualidade dos filés de tilápia revestidos com as coberturas durante armazenamento sob refrigeração.

4. Hipótese

A cobertura comestível à base de quitosana e óleo de peixe prolonga o tempo de armazenamento de filés de tilápia do Nilo sob refrigeração mantendo os parâmetros de qualidade.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Materiais

Os filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) frescos foram comprados de um pesque-pague localizado no município do Cabo de Santo Agostinho-PE. O óleo de peixe foi adquirido de um estabelecimento comercial nacional. A quitosana fúngica extraída de *Aspergillus niger* foi adquirida da empresa chinesa CHIBIO, possuindo baixo peso molecular ($5,08 \times 10^3$ g/mol ($\pm 0,4$) e grau de desacetilação de 85% (± 2).

5.2 Preparação das soluções e aplicação nos filés de tilápia

Foram realizados 3 tratamentos, sendo o controle (glicerol 1%), solução de quitosana 10mg/ml (tratamento T1) e a emulsão de quitosana e óleo de peixe (tratamento T2) segundo metodologia de Damasceno (2016).

A solução de glicerol (controle) 1% foi submetida à agitação magnética a 500rpm por um período de 3 horas até alcançar a homogeneidade desejada. A preparação da solução de quitosana (T1) na concentração de 10m/mL envolveu a dissolução do pó da quitosana fúngica em ácido acético 1%. Essa solução de quitosana foi submetida a agitação por meio de um agitador magnético operando a 500 rotações por minuto (rpm) durante um período de 3 horas até alcançar a homogeneidade desejada.

A emulsão foi preparada utilizando a metodologia de complexação polieletrólítica conhecida como coacervação descrita por Rutz et al. (2017) e Gharanjig et al. (2020). Inicialmente, a quitosana 10mg/ml (m/v), o Tween 80 (1%) e o óleo de peixe 20mg/ml (m/v), foram misturados e emulsificados em um homogeneizador Ultra-Turrax (T25, IKA, Alemanha) a 9500rpm por 10 minutos. Em seguida, o sistema foi agitado magneticamente (500rpm) por 30 minutos. Após esse período, a emulsão foi armazenada sob refrigeração para análises posteriores.

Filés de tilápia de 50g foram selecionados para serem submetidos à aplicação dos diferentes revestimentos por imersão. Inicialmente, os peixes foram imersos em três soluções distintas: glicerol 1%, quitosana 10mg/ml e emulsão

(quitosana+ óleo de peixe), na concentração 10mg/ml e 20mg/ml, respectivamente, por um período de 1 minuto, guiando-se pela cobertura comestível desenvolvida por Damasceno (2016), visando a sinergia do potencial antioxidante da quitosana e do óleo de peixe.

Em seguida, os filés foram individualmente embalados em sacos plásticos do tipo ziplock, conforme esquematizado na figura 4, e mantidos refrigerados por 14 dias. Amostras foram coletadas em intervalos regulares de sete dias para realização de análises abrangentes, abordando aspectos físico-químicos, bioquímicos e microbiológicos.

Figura 4: Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) embaladas em sacos ziplock mantidas refrigeradas (2°C).



Fonte: Autor (2023)

5.3 Caracterização da emulsão

A análise da emulsão foi conduzida por meio da técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) e da medição do Potencial Zeta (SANTOS et al, 2021) utilizando o equipamento Zetasizer (Nano-ZS, Malvern, UK), no Laboratório de Biotecnologia Farmacêutica (BiotecFarm) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em colaboração com o professor Dr. Humberto Júnior.

5.3.1 Tamanho e espalhamento dinâmico de luz (DLS)

Para adquirir as dimensões e o Índice de Polidispersão (PDI) das nanoemulsões elaboradas, utilizou-se a técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). A avaliação de DLS foi conduzida na dispersão de nanoestruturas sem diluição prévia e executada em uma frequência de 633nm a uma temperatura de 25°C, com um ângulo de detecção de 90 graus, utilizando o Zetasizer (Nano-ZS, Malvern, Reino Unido). Essas condições experimentais foram decisivas para a determinação do tamanho e do PDI das partículas. A análise dos dados foi realizada por meio do software Zetasizer (Nano-ZS, Malvern, UK). O pH da emulsão seguiu os métodos descritos pela AOAC (2006).

5.3.2 Potencial zeta (PZ)

Com o propósito de avaliar as cargas superficiais presentes nas nanoemulsões, 1,0 mL de cada substância em teste foi introduzido em uma célula eletroforética, a qual foi posteriormente submetida à análise por Dinâmica de Espalhamento de Luz (DLS). Os ensaios para determinação do Potencial Zeta (PZ) foram conduzidos em triplicata utilizando o software Zetasizer (Nano-ZS, Malvern, UK), havendo a necessária modificação da configuração do equipamento de “size” para “zeta” com o intuito específico de realizar essa mensuração.

5.4 Atividade antimicrobiana da emulsão

A atividade antimicrobiana da emulsão foi realizada frente aos microrganismos patogênicos *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella* (ATCC 14028), *Candida albicans* (URM 5901). Os mesmos foram cedidos pela coleção de microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE, Departamento de Micologia da UFPE, e Laboratório de Laboratório de Microbiologia Aplicada (LaMAp), pertencente ao Departamento de

Ciências Médicas da UFPE, todos localizados na cidade de Recife/PE.

A análise aderiu à metodologia estabelecida por Gudiña e colaboradores (2010), com modificações. Os microrganismos foram cultivados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e Ágar Sabouraud, este último específico para as cepas de *Candida albicans*. As cepas bacterianas foram incubadas por 18 horas, enquanto as cepas de *Candida albicans* foram incubadas por 24 horas, ambas a 37°C. Após o período de incubação, 100µL de cada linhagem de microrganismos foram adicionadas a solução salina 0,9% estéril, até se obter a concentração dos pré-inóculos padronizados de acordo com a escala de McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL).

O efeito antimicrobiano foi avaliado pela técnica de microdiluição para determinar a concentração inibitória mínima (CIM), o corante resazurina foi usado como evidência de viabilidade celular. Da mesma forma, para determinar o índice de inibição da viabilidade celular foi realizada a leitura da Densidade Ótica (D.O.) a 550nm em um leitor de microplaca da marca Thermo Plate (modelo TP-Reader NM).

O Índice de inibição da viabilidade celular e a concentração inibitória mínima (CIM), foram determinados em microplacas com 96 poços de fundo chato, dentro de uma capela de fluxo laminar da marca Pachane (modelo Pa410) para manter um ambiente estéril e visa reduzir o risco de contaminação por agentes externos. Primeiramente, foram introduzidas nos poços as substâncias experimentais (SEs), cuja concentração variou do maior (60µL) ao menor volume (10µL), começando sempre da linha A até a linha G. Em seguida, adicionou-se o meio de cultivo Brain Heart Infusion (BHI), cujo volume em cada poço variou de 20µL a 70µL. Por fim, cada cavidade recebeu a concentração de 20µL do inóculo contendo os microrganismos patogênicos. Dessa forma, somando as três proporções inseridas em cada cavidade (substâncias teste, meio de cultivo e inóculo), obteve-se o volume final de 100µL em cada cavidade. Posteriormente, o sistema foi agitado suavemente e incubado por 24 horas a 37°C em uma estufa bacteriológica da marca Tecnal (modelo TE-392/1).

Depois do período de incubação, para indicar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), foram adicionados 30µL de resazurina tamponada, preparada em solução aquosa (0,01%), em todos os poços e incubados novamente a 37°C por 30 minutos. O aumento da população microbiana foi evidenciado pela alteração de cor

de azul (células mortas) para rosa (células vivas). A CIM foi identificada na menor concentração em que houve inibição do crescimento bacteriano. O exame foi realizado em duplicata para cada microrganismo patogênico empregado. Com base nisso, o índice de inibição do crescimento microbiano (IICM) foi calculado usando a seguinte equação:

$$\% \text{ IICM} = 1 - (\text{D.O. final} - \text{D.O. inicial}) \times 100$$

5.5 Análise do potencial antioxidante e dosagem de compostos fenólicos

5.5.1 Dosagem de compostos fenólicos

A análise dos compostos fenólicos foi realizada de acordo com Hua-Bin (2007) com pequenas modificações, respectivamente. 20 µL da amostra foi adicionada em uma placa de 96 poços junto com 100 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (10% v/v) e, em seguida, 80 µL de carbonato de sódio (75 g/L). Após 90 min de incubação no escuro e à temperatura ambiente, a absorbância a 765 nm foi lida. Os fenóis totais contidos nas amostras foram calculados usando curva-padrão do ácido gálico como referência e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g).

5.5.2 ABTS

O ensaio de eliminação de radicais ABTS foi realizado de acordo com Re et al. (1999) com modificações. Foi preparada uma solução do radical ABTS dissolvendo 7 mM do ABTS em 2,45 mM de persulfato de potássio (K₂S₂O₈). A mistura foi deixada em repouso durante 16 horas (tempo necessário para a formação do radical) no escuro e à temperatura ambiente antes da utilização. Esta solução previamente preparada foi diluída em etanol para se obter uma absorbância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. Para o método de ABTS, foram misturados 20 µL dos extratos líquidos (10%) com 1 mL da solução de ABTS e deixados em repouso durante 6 min. Em seguida, foi lida a absorbância a 734 nm. A eliminação dos radicais ABTS foi estimada em porcentagem após o cálculo da inibição dos radicais, feito pela seguinte fórmula: Inibição do ABTS (%) = $(A_c - A_e)/A_c \times 100$.

5.5.3 DPPH

O método utilizado foi baseado na metodologia de Blois (1958), utilizando o radical estável DPPH. 1 mg dos extratos foi diluído em 1 mL de metanol, dos quais foi realizada uma diluição seriada nas concentrações de 15,625 µg/mL - 1000 µg/mL. 40 µL destas concentrações foram adicionadas a 250 µL do reagente DPPH em uma placa de 96 poços. Após 30 min de incubação no escuro à temperatura ambiente, as absorbâncias foram lidas a 517 nm. Calculou-se a porcentagem de atividade de eliminação de radical DPPH pela seguinte fórmula:

$$\text{Eliminação DPPH (\%)} = (A_c - A_e)/A_c \times 100.$$

5.6 Efeito das coberturas comestíveis sobre os parâmetros físico-químicos do filé de Tilápia revestidos

5.6.1 Análise físico-química

No contexto da avaliação dos filés de tilápia, a metodologia adotada incluiu a determinação de diversos parâmetros físico-químicos conforme Ko et al. (2016). Para a análise do pH, uma amostra de 10g foi meticulosamente homogeneizada com 45ml de água destilada, e o pH do homogeneizado foi medido por meio de um pHmetro (TOA Electronics Ltd. HM-20S, Japão). A avaliação da atividade de água (a_w) foi conduzida a 25°C utilizando um Analisador de Atividade de Água CX-2 (Aqua-Lab). A determinação do teor de umidade envolveu a pesagem inicial de 10 gramas da amostra de filé, seguida por sua exposição a 105°C em uma estufa (TE-394/1, TECNAL, São Paulo, Brasil) por 12 horas.

Após a fase de secagem da amostra, foi essencial observar a estabilização do seu peso, indicativo da conclusão do processo. Este marco foi determinante para o cálculo do teor de umidade. A fórmula empregada envolveu a diferença entre o peso da amostra após a secagem e o seu peso inicial, dividida pelo peso inicial e multiplicada por 100 (Ko et al., 2016). Esta abordagem metodológica permitiu uma avaliação precisa da quantidade de umidade contida nas amostras.

Após a secagem, verificou-se se o peso da amostra alcançava estabilidade, permitindo o cálculo do teor de umidade por meio da fórmula:

(Peso após secagem - Peso inicial) / Peso inicial x 100.

5.6.2 Oxidação lipídica - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A avaliação da oxidação lipídica foi conduzida por meio da quantificação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), seguindo o procedimento delineado por Jayasingh & Cornforth (2004) com modificações incorporadas.

As porções de 1g de filé de tilápia correspondentes a cada tratamento foram preparadas para análise. Cada porção foi homogeneizada em 5ml de reagente TBA (0,375%). Esta mistura foi submetida a um aquecimento a 100°C, utilizando um banho de água, por um período de 10 minutos, resultando no desenvolvimento de uma coloração cor-de-rosa característica. Posteriormente, o resfriamento foi conduzido por meio de imersão em gelo. Em sequência, as amostras foram submetidas à centrifugação a 3380g por 25 minutos. A quantificação da absorbância foi realizada por meio de um espectrofotômetro, utilizando uma luz de referência com comprimento de onda de 532nm.

Para quantificar os níveis de TBARS nas amostras, empregou-se a equação $Y=0,0575x-0,0489$, cujo coeficiente de determinação (R^2) foi igual a 0,99. Esta equação foi derivada a partir de uma curva padrão estabelecida com base no 1,1,3,3-tetraetoxipropano. Os resultados foram expressos em miligramas de malonaldeído por quilograma de filé (mg de MDA eq.kg-1).

$$\text{TBA number (mg MDA/Kg fish meat sample)} = \frac{\text{sample } (A_{532})}{\times 2.77}$$

(Jayasingh & Cornforth, 2004).

5.6.3 Análise microbiológica

A contagem de bactérias foi determinada utilizando uma amostra de 10g misturada com 90ml de solução de NaCl a 0,85% e processada usando um stomacher. A partir dessa diluição, foram feitas outras diluições e aplicadas em meios específicos. A contagem total de bactérias aeróbias viáveis foi feita através

do método de placas, utilizando ágar de contagem (PCA, Merk, Darmstadt, Alemanha). As placas com as amostras foram mantidas a 37°C por 2 dias para contagem total e a 10°C por 7 dias para contagem de bactérias psicrófilas. Todos os resultados foram expressos em $\log_{10}$ UFC/g de unidades formadoras de colônias por grama e os procedimentos foram realizados duas vezes, conforme descrito por Ojagh et al. (2010).

5.7 Análise Estatística

As análises foram conduzidas em triplicata e os resultados foram expressos como a média dos ensaios. Os testes estatísticos utilizados incluíram medidas descritivas (média e desvio padrão) e inferenciais (teste de Tukey) para identificar diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias dos resultados obtidos. O software Sigma Stat. 3.5 e o software Zetasizer (Nano-ZS, Malvern, UK) foram utilizados para o tratamento estatístico dos dados

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Caracterização da emulsão

Na Tabela 1 estão descritas as propriedades referentes às dimensões das partículas, grau de polidispersão e carga zeta, sendo esses parâmetros cruciais para criar as emulsões a fim de segmentar suas aplicações nutricionais. A metodologia de dispersão dinâmica de luz (DLS) tem como objetivo mensurar o fenômeno de disseminação luminosa fundamentado na motilidade caótica das partículas, ocasionada pelo embate com as moléculas do solvente (movimento browniano). Sendo assim, apenas partículas suspensas em fluidos podem ser analisadas. As partículas de maior dimensão manifestam um deslocamento mais lento em comparação com as de menor tamanho, quando submetidas ao mesmo meio solvente e temperatura (MEDEIROS, 2023).

Tabela 1. Parâmetros de caracterização e estabilidade da emulsão.

Caracterização da emulsão	
Tamanho	684,3 nm $\pm$ 12,52
Índice de polidispersão	0,29 $\pm$ 0,032
Potencial Zeta	46,05 mV $\pm$ 1,48

Fonte: Autor (2023)

O tamanho médio das partículas pode ser afetado por diversos fatores, tais como a natureza e concentração dos monômeros utilizados, a presença de núcleos, a concentração de tensoativos, a razão entre o solvente orgânico e o solvente aquoso, bem como a concentração de óleo presente na solução orgânica (SOUTO, SEVERINO & SANTANA, 2012). Dessa forma para determinar o tamanho dessas partículas quando obtidas por emulsão, à natureza e concentração do polímero na fase orgânica, polaridades dos solventes, origem e proporção entre as fases internas/externas e a características e concentração dos surfactantes serão fatores essenciais (FREITAS, 2016).

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o diâmetro médio das partículas de emulsão de quitosana e óleo de peixe foi de 684,3nm. Estudos anteriores relatam valores semelhantes de diâmetro médio de partículas em emulsões contendo

quitosana e óleos essenciais. Toledo (2015) observou que as nanopartículas de quitosana contendo óleo essencial de laranja tinham um diâmetro médio de $801,9 \pm 43,2\text{nm}$, enquanto Silva (2018) encontrou um diâmetro médio de partícula de $770,50 \pm 142,69\text{nm}$ em nanoemulsões de óleo de canola, quitosana e retinol.

Em relação ao índice de polidispersão (PDI), uma interação é considerada sinérgica quando a soma dos efeitos da combinação é maior do que os efeitos individuais das substâncias; indiferente quando a soma dos efeitos da combinação permanece igual aos efeitos das substâncias individualmente; e antagônica quando a soma dos efeitos da combinação é menor do que os efeitos individuais (MARAGON, 2015). No entanto, esses efeitos estão diretamente relacionados à dosagem de cada substância, tanto individualmente quanto em conjunto, e ao seu mecanismo de ação.

Dessa forma, o resultado obtido foi de $0,29 \pm 0,032$, confirmando uma boa homogeneidade das nanoformulações (GRILLO et al., 2012). Além disso, Araújo, 2020) relacionam que emulsões que obtiveram o PDI abaixo de 0,30 obtiveram maior tempo de prateleira, chegando a 40 dias de armazenamento. Sendo importante ressaltar que o estudo de Pereira (2022) afirma que valores com PDI acima de 0,4, revelam uma ampla distribuição do tipo polidispersa.

Em um estudo realizado por Botelho et al. (2017), a adição de gelatina em emulsões preparadas com quitosana foi avaliada, e as emulsões contendo quitosana pura e com uma proporção de 75%:25% de quitosana/gelatina permaneceram estáveis por 30 dias, apresentando potencial Zeta positivo e PDI abaixo de 0,3. Da mesma forma, Silva (2018) obteve um valor de PDI de 0,31 ao analisar uma nanoemulsão de óleo de canola, quitosana e retinol para aplicação em revestimentos comestíveis em maçãs. Em comparação aos resultados desses estudos, pode-se afirmar que a emulsão de quitosana e óleo de peixe obtida neste trabalho apresenta uma boa estabilidade, com partículas homogêneas e distribuição monodispersa.

Em outra perspectiva, o potencial zeta (ζ) é um indicador importante de estabilidade das dispersões coloidais. Esse potencial está associado às cargas superficiais geradas pela dissociação de grupos funcionais presentes na superfície das partículas e no meio dispersante, ou pela adsorção de espécies iônicas no meio aquoso onde a fase oleosa está dispersa (PEREIRA, 2022). A literatura considera que emulsões com valores de potencial Zeta superiores a +30 mV ou inferiores a -30 mV são consideradas estáveis, enquanto emulsões com valores de potencial Zeta entre -30 e +30 mV são instáveis, sendo o valor de 0 mV o mais instável (KIM et al., 2005;

WANG et al., 2006; PEREIRA, 2022).

No entanto, é importante salientar que a estabilidade de uma emulsão não depende somente do potencial Zeta, uma vez que outros fatores, como as forças estéricas, podem influenciar na estabilidade desses sistemas. Conforme relatado por Barros et al. (2016), esses sistemas podem apresentar estabilidade, mesmo com valores de potencial Zeta próximos a zero. Portanto, é necessário considerar todos os fatores que podem influenciar a estabilidade de emulsões e dispersões coloidais, a fim de se obter uma avaliação mais precisa.

O valor do potencial zeta obtido na emulsão foi registrado como $46,05 \pm 1,48$ mV. Esta observação é congruente com um estudo prévio conduzido por Toledo (2015), que constatou valores de potencial zeta superiores a 30mV em nanoemulsões de quitosana com óleo de laranja, alcançando especificamente 47,1mV.

Portanto, os achados deste estudo reforçam a importância do controle preciso dos fatores que influenciam a formação das emulsões, destacando a relevância da concentração de componentes, polaridade dos solventes e interação entre os materiais para garantir a estabilidade, homogeneidade e potencial aplicação dessas nanoformulações em diversos campos, como revestimentos comestíveis e outras aplicações biotecnológicas.

6.2 Concentração inibitória mínima (CIM)

A técnica de concentração inibitória mínima (CIM), possibilita quantificar a concentração mais baixa de um agente antimicrobiano capaz de inibir completamente o crescimento de microrganismos. O resultado da CIM da emulsão para bactérias patogênicas veiculadas por alimentos encontra-se na tabela 2.

Tabela 2. Determinação da concentração inibitória mínima de gel de quitosana (GQ), e da emulsão EOQ (Emulsão de óleo+quitosana) (mg/mL), para inibição de microrganismos patogênicos.

Microorganismos	Concentração inibitória mínima das substâncias testes (mg/mL)	
	Gel de Quitosana	Emulsão (Quitosana+óleo)
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	6,7

<i>Escherichia coli</i>	4	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3,3
<i>Salmonella Typhimurium</i>	4	5
<i>Candida albicans</i>	4	5

Fonte: Autor (2023)

A massa molecular da quitosana tem um impacto direto no mecanismo de combate às bactérias. A ação antimicrobiana da quitosana é bastante documentada na literatura na ação contra fungos e bactérias, contudo, depende de vários fatores, entre eles, o tipo de quitosana, grau de desacetilação, massa molecular, pH do meio e microrganismo envolvido (HOSSEINNEJAD; JARAFI, 2016). Em relação às bactérias Gram positivas, quanto mais elevada a massa molecular, mais eficaz é a atividade antimicrobiana, enquanto para as bactérias Gram negativas, a ação antimicrobiana é mais eficiente para a quitosana com massa molecular mais baixa (BRIXNER et al, 2022).

Essa diferença é devido às características distintas da superfície bacteriana. As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana externa lipopolissacarídica em sua parede celular, enquanto as Gram-positivas apresentam ácidos teicóicos em sua superfície de peptideoglicana que permitem o transporte de moléculas carregadas positivamente através da parede celular (MELO et al., 2018). Devlieghere et al. (2004) e Li et al. (2010) enfatizam que a atividade antimicrobiana da quitosana e de seus derivados é maior e mais efetiva contra as bactérias Gram negativas.

A quitosana é reconhecida por sua capacidade de criar películas e sua eficácia contra bactérias e fungos (SANTOS, 2014). Seus efeitos inibitórios incluem a quelatação de nutrientes e metais essenciais, bem como a interferência nos componentes de esporos e na síntese de proteínas através da ligação com o DNA (DA SILVA SANTOS, 2017). Além disso, os revestimentos de quitosana funcionam como barreiras físicas contra o oxigênio (BEZERRA, 2018).

Foi observado que a emulsão apresentou uma ação antimicrobiana mais pronunciada contra bactérias Gram-negativas, especialmente em relação à *Pseudomonas aeruginosa*, com uma concentração inibitória mínima (CIM) de 3,3mg/mL. Esses resultados estão em concordância com os estudos de Araújo (2019)

e Melo (2016) utilizando emulsões de quitosana, as quais obtiveram uma CIM de 4 mg/mL para esse microrganismo. Além disso, verificou-se que a CIM para *Enterococcus faecalis*, uma bactéria Gram-positiva, foi maior.

A concentração necessária para inibir o crescimento do microrganismo *Escherichia coli* foi determinada como 5,0mg/mL, o que demonstra uma atividade antimicrobiana efetiva contra essa bactéria. Esse resultado é consistente com o estudo conduzido por Araújo em 2019, que obteve uma concentração igual para a inibição de *Escherichia coli*. A inibição do crescimento do microrganismo *Salmonella* Typhimurium exigiu uma concentração de 5,0 mg/mL da emulsão testada. Sendo resultados semelhantes com a pesquisa conduzida por Melo em 2016, que obteve uma concentração de 6,0mg/mL para a inibição de *Salmonella* Typhimurium.

Outro aspecto relevante é o potencial antimicrobiano inerente ao óleo de peixe, que se deve, em grande parte, à presença de ácidos graxos poli-insaturados, como EPA e DHA. Estudos indicam que esses ácidos graxos desempenham um papel crucial na desestabilização da membrana celular bacteriana, resultando em morte celular (INGUGLI et al., 2020). Esses compostos bioativos interferem na permeabilidade da membrana e inibem a síntese de componentes essenciais para a sobrevivência das bactérias (CLARE, LINDLEY & RATCLIFFE, 2024). A incorporação do óleo de peixe em uma emulsão com quitosana não só potencializa a atividade antimicrobiana, mas também pode proporcionar uma liberação controlada dos compostos ativos, aumentando a eficácia geral contra uma ampla gama de patógenos. Essa estratégia pode ser explorada em futuras aplicações, maximizando o uso sustentável de subprodutos do peixe.

6.3 Avaliação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante é uma propriedade crucial para a avaliação do potencial terapêutico e nutricional de substâncias e compostos sintéticos (MCGEE, 2014). Na tabela 3 estão apresentados os resultados da avaliação da atividade antioxidante de amostras de óleo de peixe, gel de Quitosana e emulsão (óleo + Quitosana), destacando sua capacidade de neutralizar os radicais livres DPPH e ABTS+ e os teores de fenólicos totais.

Tabela 3. Determinação da atividade antioxidante das amostras do óleo de peixe, gel de quitosana e emulsão (óleo + quitosana), avaliadas por meio de ensaios de DPPH, ABTS e determinação de fenólicos totais

	DPPH (%)	ABTS(%)	Fenóis*
Óleo	20,69±0,23 ^a	66,11±0,27 ^a	63,79±0,19 ^a
Emulsão	-	-	65,10±0,12 ^a
Quitosana	6,59±0,13 ^b	27,07±0,35 ^b	2,63±0,72 ^b

*: Teores de fenóis totais mgEAG/g extrato. Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey (p<0,05).

Na sequência desta seção, os métodos específicos de análise serão detalhados, abordando a determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical livre ABTS+ (Seção 6.3.1), da quantificação do sequestro de radicais DPPH (Seção 6.3.2) e da determinação dos teores de fenólicos totais (Seção 6.3.3). Cada método será discutido individualmente, elucidando os resultados obtidos e sua relevância para a compreensão do potencial antioxidante das amostras de óleo de peixe, gel de Quitosana e emulsão (óleo + Quitosana).=

6.3.1 Determinação da capacidade antioxidante através da quantificação do sequestro de radicais DPPH

Uma das abordagens para avaliar a atividade antioxidante é a utilização da técnica de captura de radicais DPPH+, que se destaca pela sua maior precisão em comparação com a determinação dos fenólicos totais em uma amostra. Isso se deve ao fato de que outros compostos redutores podem interferir com o reagente de Folin-Ciocalteu, resultando em uma estimativa exagerada da atividade antioxidante da amostra (SILVA, 2022).

Notavelmente, observa-se que a emulsão não demonstrou resultados relacionados à capacidade de neutralização do radical DPPH. Esta observação pode ser atribuída à possível separação dos componentes da emulsão durante o processo de análise. A incompatibilidade metodológica pode ter sido um fator contribuinte para essa separação. Portanto, a ausência de resultados relacionados ao DPPH na emulsão não necessariamente reflete a ausência de atividade antioxidante nos componentes individuais, mas sim a complexidade da matriz em que estão inseridos.

Por outro lado, o óleo de peixe demonstrou uma porcentagem de inibição maior em relação ao radical DPPH, com um valor de 20,69%. Este resultado sugere que o óleo de peixe possui compostos antioxidantes eficazes na neutralização de radicais

livres (SILVA, 2022). Sendo um resultado semelhante ao obtido por Gosh et al. (2020), que obteve 35,5% de inibição com óleo extraído da pele do peixe (*Labeo rohita*). Em contrapartida, o gel de Quitosana apresentou uma menor atividade antioxidante em comparação com o óleo de peixe, evidenciada por uma porcentagem de inibição de 6,59%. Essa diferença pode ser atribuída à composição química distinta e à diversidade de compostos antioxidantes presentes em cada amostra.

6.3.2 Determinação da capacidade antioxidante através da captura do radical livre ABTS⁺

O radical ABTS⁺ (2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico) pode ser gerado por meio de diversas reações, podendo ser de natureza química, eletroquímica ou ainda enzimática. Uma vez produzido, este radical exibe uma coloração verde-escura característica. Em seguida, na presença de antioxidantes doadores de oxigênio, ocorre sua redução, resultando na formação de compostos com coloração verde-clara e consequente diminuição na absorbância da solução (SILVA, 2022). Além disso, o radical ABTS⁺ tem a capacidade de interagir com moléculas de natureza tanto lipofílica quanto hidrofílica, possibilitando assim a avaliação da atividade antioxidante de compostos fenólicos, bem como de carotenóides e outros compostos lipofílicos (SINGLETON et al., 1999).

A avaliação da capacidade antioxidante por meio da captura do radical livre ABTS⁺ proporcionou informações cruciais sobre o potencial antioxidante das amostras investigadas. Os resultados, conforme ilustrados na Tabela 3, revelaram variações significativas entre as diferentes formulações. De forma que, o óleo de peixe destacou-se como a amostra com a maior capacidade antioxidante, apresentando uma porcentagem de inibição de 66,11% em relação ao radical ABTS⁺. Esse resultado robustece a presença de compostos antioxidantes eficazes no óleo de peixe, confirmando seu potencial para proteger contra o estresse oxidativo.

Por outro lado, a quitosana apresentou uma capacidade antioxidante inferior em comparação com o óleo de peixe, evidenciada por uma porcentagem de inibição de 27,07% em relação ao radical ABTS⁺. Esta diferença pode ser atribuída às características químicas distintas desses materiais, bem como à diversidade de compostos antioxidantes presentes em cada amostra.

É importante observar que, assim como na análise do radical DPPH, a emulsão não apresentou resultados para a capacidade antioxidante através da captura do

radical livre ABTS⁺. Essa observação pode estar relacionada à complexidade da matriz emulsificada e à possível interferência de componentes que afetam a reação de estabilização do radical ABTS⁺. Tal como mencionado anteriormente, a incompatibilidade metodológica pode ter contribuído para a ausência de resultados nesta análise específica.

6.3.3 Teor de fenólicos totais

Os compostos fenólicos têm assumido uma função de destaque como antioxidantes endógenos, desempenhando um papel crucial na preservação da estabilidade oxidativa dos alimentos. Reconhecidos por sua notável atividade antioxidante, estes compostos têm conquistado crescente reconhecimento nas últimas décadas como substâncias naturais com impacto benéfico para a saúde (Silva, 2022).

A determinação quantitativa desses compostos pode ser conduzida por meio de diversos métodos, dentre os quais se destaca a quantificação utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, amplamente difundido na literatura científica. No entanto, é importante ressaltar que apesar da popularidade desta metodologia, ela carece de alta seletividade, resultando na quantificação de compostos redutores que nem sempre são exclusivamente de origem fenólica (Souza et al., 2007).

Nesse contexto, conforme evidenciado na Tabela 3, observa-se que a emulsão formulada demonstrou um teor de 65,10mg/100g de amostra, caracterizando-a como detentora de um elevado conteúdo de fenólicos totais. Ao comparar com as demais amostras analisadas, destaca-se que o óleo de peixe apresentou uma quantidade considerável de compostos fenólicos, atingindo 63,79mg/100g, enquanto o gel de quitosana revelou um valor significativamente inferior, registrando apenas 2,63mg/100g. Dessa forma, o óleo emerge como o principal contribuinte para o elevado teor de fenólicos identificado nesta emulsão.

De acordo com Vasco, Ruales & Kamal-Eldin (2008), a categorização dos alimentos em três níveis, baseada na quantidade de fenólicos presentes, sendo elas: baixo (0,21 a 0,91mg EAG/g), intermediário (0,92 a 10,1mg EAG/g) e alto (superior a 10,1mg EAG/g). Neste contexto, a análise da emulsão desenvolvida revela um teor de 65,10mg/100g de amostra, posicionando-a no patamar de alto teor de fenólicos totais.

Em estudo conduzido por Bezerra (2018), que investigou filmes de quitosana emulsionados com extrato de hortelã-pimenta, os teores de fenólicos totais variaram

entre 0,88, 1,44, 2,19 e 4,14mg, respectivamente. Ademais, Mickolaiczik (2020), em pesquisa mais recente, avaliou uma cobertura bioativa de amido de mandioca com extrato de *Physalis peruviana*, alcançando um teor de 1,074mg de fenólicos totais. Em contrapartida, Heinzen (2021) observou teores mais elevados ao investigar a mescla de cera de carnaúba, quitosana e óleos essenciais para o revestimento de maçãs Fuji, com teores de fenólicos totais de 356,8 mg 100g⁻¹ para a emulsão de quitosana+citronela, 304,1mg 100g⁻¹ na composição de quitosana+cravo-da-índia e 280,4mg 100g⁻¹ na emulsão de quitosana+carnaúba.

Dessa forma, a emulsão de óleo de peixe e quitosana demonstra ser uma fonte considerável de compostos fenólicos, os quais possuem grande importância para a saúde humana. Além de agregar valor ao produto, tanto do ponto de vista do mercado quanto do valor nutricional relacionado ao seu potencial bioativo. A emulsão pode ser uma alternativa para o desenvolvimento de alimentos saudáveis, além de promover uma barreira contra fatores intrínsecos e extrínsecos que venham ocasionar a degradação do alimento.

Portanto, embora a emulsão desenvolvida não tenha apresentado atividade antioxidante nos métodos de DPPH e ABTS, é importante ressaltar que tanto o óleo quanto a emulsão exibiram um teor significativo de compostos fenólicos totais. O óleo de peixe, reconhecido como uma fonte rica de ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 (ASNAASHARI et al., 2014), desempenha um papel fundamental nesse contexto. Assim, é plausível afirmar que a cobertura comestível desenvolvida não apenas preserva o filé, mas também confere propriedades antioxidantes, atribuíveis principalmente à composição do óleo. No entanto, recomenda-se a realização de um teste de caracterização lipídica mais detalhado para confirmar essas propriedades.

6.4 Efeito da cobertura comestível sobre os parâmetros físico-químicos dos filés de tilápia revestidos

A qualidade e a segurança dos produtos alimentícios são influenciadas por uma série de fatores durante o armazenamento, e o monitoramento de parâmetros críticos desempenha um papel fundamental nesse processo. Neste contexto, a umidade, atividade de água, pH e Oxidação lipídica (TBARS) são variáveis essenciais a serem consideradas ao avaliar a estabilidade e a qualidade dos pescados durante o armazenamento. A seguir, esses parâmetros serão apresentados nos tópicos abaixo,

a fim de compreender as mudanças e variações que ocorrem nesses importantes indicadores.

6.4.1 Umidade

Os dados relativos à umidade dos filés de tilápia submetidos a diferentes tratamentos foram documentados na Tabela 4. Este método permite analisar a variação na quantidade de água presente nos filés ao longo de um período específico de observação, no caso, em um período de 14 dias.

Notou-se que as amostras controle demonstraram percentuais de umidade mais elevados ao final do período de armazenamento, alcançando $81,5\% \pm 0,19$. Em contrapartida, os filés de tilápia submetidos ao tratamento T2 apresentaram percentuais ligeiramente inferiores de perda de umidade, registrando $80,4\% \pm 0,49$, seguidos pelos filés revestidos com quitosana a 1% (T1), os quais exibiram $81,2\% \pm 0,25$ de umidade. Entre as amostras não foi possível identificar diferenças significativas ($< 0,05$) através do teste de Tukey.

Tabela 4. Valores de umidade (%) das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a 2°C.

Tempo (dias)	Umidade (%)		
	Controle	T1	T2
0	$78 \pm 0,51$	$78 \pm 0,54$	$78 \pm 0,32$
7	$79,8 \pm 0,24$	$78,8 \pm 0,28$	$78,5 \pm 0,25$
14	$81,5 \pm 0,19$	$81,2 \pm 0,25$	$80,4 \pm 0,49$

Fonte: Autor (2023)

Da Silva Santos (2017) investigou o teor de umidade em filés de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*), revelando um índice de umidade de 76,87%, similar aos dados obtidos neste estudo. Esses achados também se assemelham aos resultados de SALES e SALES (1990), que reportaram um teor de umidade de 75% para os filés

de tilápia. Além disso, os dados obtidos se aproximam dos valores encontrados por YANAR, CELIK e AKAMCA (2006) para a tilápia (*Oreochromis niloticus*), com um índice de umidade de 76,87%.

A aplicação do revestimento nos filés de tilápia com a emulsão quitosana em óleo de peixe mostrou-se eficaz em evitar a desidratação ou ressecamento da superfície desses filés. Isso pode ser atribuído à capacidade da quitosana em reter água de maneira eficiente, transformando-a em uma barreira protetora eficaz em filés congelados (VIEIRA, 2017). Um dos desafios significativos relacionados à refrigeração de filés de peixe é a desidratação ou ressecamento, especialmente devido à grande área de superfície exposta (VANHAECKE, VERBEKE & BRABANDER, 2010).

6.4.2 Atividade de água (aw)

A atividade de água (aw) desempenha um papel crucial na avaliação da estabilidade e qualidade de produtos alimentícios, sendo um indicador direto da disponibilidade de água no produto e de suas interações com outros componentes. No contexto dos filés de tilápia, a medição da atividade de água é essencial para compreender a estabilidade, conservação e vida útil desses produtos. Neste estudo, os índices de atividade de água foram cuidadosamente avaliados como indicativos significativos da qualidade e características físico-químicas desses filés. Os resultados dessas análises estão presentes na Tabela 5.

Tabela 5. Valores de Atividade de água (aW) das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a 2°C.

Atividade de água				
Tempo (dias)	0		14	
		°C		°C
Controle	0,97	24,8°C	0,95	26°C
T1	0,97	24,6°C	0,97	25°C
T2	0,97	23,5°C	0,97	24,6°C

Fonte: Autor (2023)

De acordo com Sales e Sales (1990), a atividade de água em filés de peixe fresco

é considerada ideal quando mantida em torno de $\geq 0,98$. Os resultados obtidos nesta pesquisa, especialmente durante o período inicial de armazenamento, corroboram com essa recomendação. No entanto, no período de 14 dias, observou-se uma significativa diminuição na atividade de água das amostras controle, alcançando um nível de 0,95aw. Essa redução pode indicar possíveis alterações na estabilidade e qualidade dos filés ao longo do tempo.

Contrariamente, as amostras tratadas com as formulações T1 e T2 mantiveram uma estabilidade consistente ao longo do período de prateleira, demonstrando uma manutenção dos níveis de atividade de água inalterados. Esses resultados sugerem que as formulações T1 e T2 podem contribuir para a preservação da atividade de água nos filés de tilápia, possivelmente melhorando sua estabilidade e conservação durante o armazenamento. De forma que a manutenção da atividade de água entre as amostras T1 e T2, está relacionada à propriedade da quitosana de criar uma barreira física mantendo a atividade de água no alimento (VIEIRA, 2017).

O pescado é altamente suscetível à deterioração devido a diversos fatores, incluindo a sua elevada atividade de água, composição química peculiar e teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis (ROSA et al, 2020). Além disso, seu pH próximo da neutralidade favorece o crescimento microbiano. Assim, controlar a atividade de água nos filés de tilápia é crucial para preservar suas características e garantir sua qualidade e segurança ao consumidor.

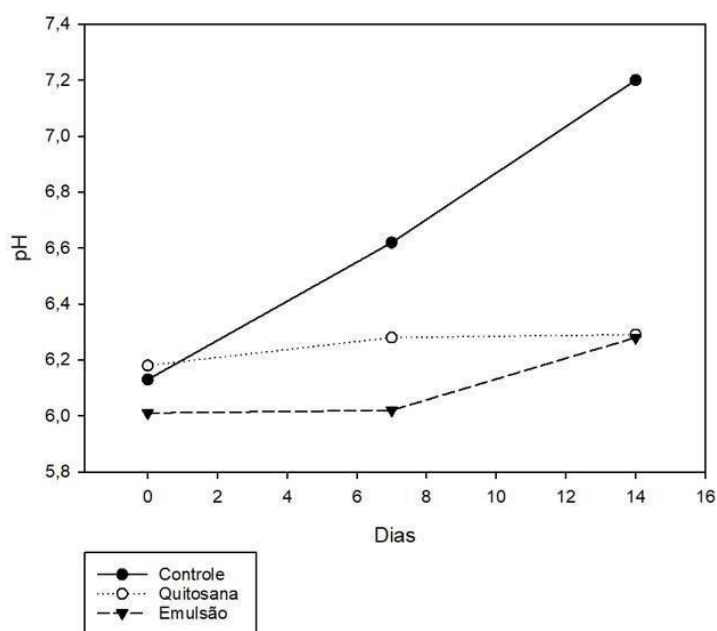
6.4.3 pH

A evolução dos níveis de pH ao longo do período de armazenamento das amostras de filés de tilápia são apresentados na figura 5. Inicialmente, os valores de pH das amostras controle e tratadas com quitosana e emulsão foram de 6,13, 6,18 e 6,01, respectivamente. Importante ressaltar que a aplicação dos revestimentos de glicerol, quitosana e emulsão não demonstrou ter efeitos estatisticamente significantes sobre os valores iniciais de pH ($p < 0,05$).

Conforme estabelecido pelas diretrizes contidas no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) no Brasil, a condição de deterioração do pescado é caracterizada quando os valores de pH alcançam ou ultrapassam o limite de 6,5. Sendo assim, pode-se observar que a amostra controle ultrapassou esses limites no 7º dia de armazenamento, enquanto que os tratamentos

T1 e T2 se mantiveram dentro das diretrizes durante os 14 dias, o que mostra a capacidade desses tratamentos em manter baixo o valor de pH das amostras analisadas.

Figura 5. pH das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a 2° C durante 14 dias.



Fonte: Autor (2023)

Damasceno (2016) constatou que o pH dos filés de cavala revestidos com solução de quitosana e óleos essenciais, armazenados a 4°C por 14 dias, foi de 6,13. Em contrapartida, a emulsão T2 de quitosana e óleo de peixe apresentou um valor ligeiramente mais baixo, registrando 6,01 no mesmo período. As amostras neste estudo, mantendo-se abaixo do pH 6,30 após 14 dias, destacam a eficácia das técnicas de revestimento. Isso é significativo, já que a deterioração do pescado é caracterizada quando o pH ultrapassa 6,5, segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) no Brasil.

Alak (2012) estudou filés de cavala revestidos com soluções de quitosana, armazenados a 4°C por 9 dias, observando um aumento no pH das amostras de 6,03 a 6,66 ao longo do tempo. Comparando esses resultados com o presente estudo, ressalta-se a capacidade específica das técnicas de revestimento utilizadas aqui em manter os valores de pH dentro de limites aceitáveis para a qualidade do produto durante um período de armazenamento prolongado.

6.4.4 Oxidação lipídica - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

O Índice de Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) é um parâmetro crítico para avaliar a formação de compostos oxidativos, particularmente de malondialdeído (MDA), que são indicativos de degradação lipídica em produtos alimentícios, como a carne de peixe (JAYASINGH & CORNFORTH, 2004). Os valores iniciais de TBARS para o controle, T1 e T2 foram medidos em 0,16mg MDA/kg, 0,21mg MDA/kg e 0,27 mg MDA/kg, respectivamente (Tabela 7), semelhantes aos resultados encontrados por Kilinc et al. (2009) ao analisarem o valor inicial de TBARS para filés frescos de truta arco-íris, registrado em 0,43mg MDA/kg.

Tabela 7. Valores de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) em mg de MDA/kg das amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão de quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a 2°C durante 14 dias.

Tempo (dias)	mg de MDA/kg		
	Controle	T1	T2
0	0,16 ± 0,03	0,19 ± 0,04	0,29 ± 0,12
7	0,21 ± 0,04	0,18 ± 0,01	0,99 ± 0,13
14	0,27 ± 0,05	0,42 ± 0,17	1,14 ± 0,35

Fonte: Autor (2023)

Durante o armazenamento refrigerado, observou-se um aumento gradual nos valores de TBARS para as amostras controle, atingindo 0,21mg MDA/kg após 1 semana e 0,27mg MDA/kg ao longo de 2 semanas de armazenamento. Em contraste, as amostras revestidas com quitosana demonstraram valores menores de TBARS em comparação com T2 (variando de 0,19 a 0,42mg MDA/kg) durante o armazenamento refrigerado ($P < 0,05$). A menor produção de TBARS pode ser atribuída aos efeitos antioxidantes da quitosana na superfície do peixe ou à sua eficiente barreira ao oxigênio, como destacado por JASOUR et al. (2015)

O desenvolvimento progressivo da oxidação lipídica foi observado ao longo do período de armazenamento, embora os valores de TBARS das amostras com revestimento de quitosana tenham sido mais baixos do que os das amostras controle e com emulsão durante o armazenamento refrigerado. Os valores mais elevados de TBARS observados nas amostras T2 estão diretamente ligados à composição do óleo de peixe utilizado na emulsão, resultando em um aumento do teor lipídico. Este fenômeno é semelhante ao estudo de Jingyun, Cherian & Yanyun (2010), onde os revestimentos de quitosana de crustáceos incorporados com óleo de peixe promoveram um aumento considerável no teor lipídico total das amostras de peixe, variando de 2,81% a 6,29% ($P < 0,05$), o que representou um aumento de aproximadamente três vezes em comparação com as amostras sem revestimento. Apesar dessas variações, os resultados obtidos neste estudo permanecem dentro dos limites estabelecidos para a avaliação dos parâmetros de qualidade.

Vale ressaltar que neste estudo utilizamos quitosana fúngica, o que reduz potenciais riscos de alergias para os consumidores. Essas descobertas indicam que a emulsão desenvolvida, apesar de possuir uma composição com menor concentração de seus componentes ativos, exibiu uma notável eficácia na inibição da oxidação lipídica, superando os resultados obtidos com concentrações mais elevadas de quitosana e óleo no estudo comparativo.

6.5 Efeito da cobertura comestível sobre os parâmetros microbiológicos dos filés de Tilápia

A atividade bacteriana desempenha um papel significativo na degradação dos peixes. Os principais fatores que levam à contaminação bacteriana em peixes e frutos do mar incluem a presença de microrganismos no material inicial, provenientes tanto do ambiente quanto do processo de produção, além das condições durante o armazenamento, as quais afetam o crescimento bacteriano, como temperatura, a_w , pH e interações entre microrganismos (DA SILVA SANTOS et al, 2017). Na natureza, peixes podem ser infectados por patógenos específicos, como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e outros microrganismos mesofílicos (Almeida Filho et al. 2002). A maior parte das bactérias encontradas na microbiota dos peixes são psicrófilas, como *Acinetobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. e *Vibrio* spp. (ICMSF, 1986). Segundo as diretrizes da Comissão Internacional de

Especificações Microbiológicas para Alimentos, o limite máximo aceitável para a presença de microorganismos aeróbicos em peixes é de 7,0log UFC/g (ICMSF, 1986).

6.5.1 Contagem de bactérias aeróbias totais

A contagem de bactérias aeróbias totais em filés de tilápias estocadas sob refrigeração é apresentada na tabela 8. Pode-se observar uma contagem inicial inferior no grupo T2 (3,6 log₁₀ UFC/g) em comparação aos grupos T1 (4,4 log₁₀ UFC/g) e controle (4,5 log₁₀ UFC/g).

Tabela 8: Contagem de bactérias aeróbicas totais em amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão de quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a 2°C durante 14 dias.

Tempo (dias)	log ₁₀ CFU /g		
	Controle	T1	T2
0	4,5	4,4	3,6
7	4,7	4,0	3,9
14	5,3	4,4	4,1

Fonte: Autor (2023)

As amostras do grupo T2 apresentaram uma contagem inicial de 3,6, enquanto o estudo de Held (2019), que explorou os efeitos da quitosana no congelamento de filés de tilápia congelados, registrou 4,42log₁₀ UFC/g no início do experimento. Essa diferença evidencia uma redução mais significativa de bactérias no grupo tratado com a emulsão de quitosana e óleo de peixe, comparado ao estudo anterior conduzido por Held.

Após 14 dias de armazenamento a 2°C, as amostras do grupo T2 demonstraram uma redução significativa de 4,1log₁₀ UFC/g nas contagens mesofílicas. Em contraste, um estudo anterior de (SOUZA et al., 2010 apud SANTOS, 2014) revelou que amostras de filés de salmão revestidos com quitosana atingiram contagens de 6,88log₁₀ UFC/g no 15º dia, indicando uma qualidade superior em relação às contagens observadas no grupo T2. Além disso, a pesquisa de Lee et al. (2019) examinou filés de tilápia revestidos com quitosana e ácido ascórbico, mantidos sob

refrigeração, alcançando contagens de $6,24 \log_{10}$ UFC/g em um período de 14 dias. Por outro lado, Gómez-Estaca et al. (2009) investigaram amostras de peixe revestidas com gelatina e quitosana, registrando resultados em torno de $6 \log_{10}$ UFC/g após 12 dias de armazenamento.

Os resultados evidenciam que os filés de tilápia do Nilo tratados com a emulsão do grupo T2 apresentaram uma redução notável nas contagens mesofílicas em comparação com estudos anteriores. Isso sugere um potencial para aprimorar a vida útil e a qualidade dos produtos de peixe em condições de refrigeração.

6.5.2 Contagem de bactérias psicotróficas

As bactérias psicotróficas representam microrganismos com capacidade de se reproduzir em temperaturas mais baixas. Sua avaliação é de suma importância, considerando que seu crescimento pode influenciar as propriedades físico-químicas e sensoriais do pescado, levando à redução da sua vida útil. Além disso, altas contagens dessas bactérias podem indicar condições inadequadas de higiene durante o processamento do peixe, o que é particularmente relevante (Martins, Vaz & Minozzo, 2002). Os resultados relativos à contagem de bactérias psicotróficas nos filés de tilápia revestidos com a emulsão estão ilustrados na tabela 9.

Tabela 9: Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias psicotróficas em amostras de filés de tilápia revestidos com glicerol (controle), quitosana (T1) e emulsão de quitosana e óleo de peixe (T2) sob armazenamento refrigerado a 2°C.

Tempo (dias)	Controle	T1	T2
log CFU g ¹			
0	4,5	4,2	4
7	4,8	3,7	3,7
14	5,2	3,8	3,6

Fonte: Autor (2023)

Houve variações nas contagens de bactérias entre os grupos ao longo do período de armazenamento. No grupo controle, as contagens foram maiores, enquanto o grupo tratado com quitosana (T1) mostrou uma redução consistente em comparação

com o controle. Contudo, o grupo tratado com a emulsão (T2) apresentou uma redução ainda mais expressiva, semelhante à observada no grupo T1. Os resultados do grupo T2 foram iguais aos de Chang et al. (2021) em relação à contagem inicial de bactérias psicotróficas, ambos registrando cerca de $4,0\text{Log}_{10}$ UFC/g durante o período de armazenamento.

Nos filés de peixe revestidos com a emulsão, a contagem de bactérias psicotróficas ao longo de 14 dias foi de $3,6\text{Log}_{10}$ UFC/g. Esses resultados apresentam semelhanças com o trabalho anterior conduzido por Ramezani, Zarei & Raminnejad (2015), que utilizou uma nanocobertura de quitosana em filés de carpas prateadas e registrou uma contagem comparável de $3,56\text{Log}_{10}$ UFC/g após 12 dias de refrigeração. Por outro lado, o estudo de Ojagh (2010) observou que a aplicação de quitosana enriquecida com óleo de canela em filés de trutas arco-íris, refrigeradas por 16 dias, resultou em uma contagem de $6,79\text{Log}_{10}$ UFC/g.

O estudo de Sarmiento (2006) investigou filés de tilápia conservados em atmosfera modificada sob refrigeração, revelando uma contagem de 10^7log_{10} CFU/g após 10 dias de armazenamento. Comparativamente, os filés de tilápia revestidos com a emulsão neste estudo demonstraram uma contagem reduzida de $3,6\text{log}_{10}$ CFU/g, destacando-se em relação ao método de atmosfera modificada.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa, é possível concluir que a emulsão de quitosana com óleo de peixe se mostrou uma promissora cobertura comestível para prolongar a vida útil dos filés de tilápia do Nilo sob refrigeração. A caracterização da emulsão revelou propriedades físico-químicas adequadas, incluindo tamanho de partícula, índice de polidispersão e potencial zeta, além de um alto teor de fenólicos totais, conferindo-lhe atividade antioxidante e antimicrobiana.

Os tratamentos dos filés com essa cobertura resultaram em redução significativa na contagem de bactérias aeróbicas e psicrotróficas, atendendo aos padrões de segurança alimentar estabelecidos. Além disso, observou-se uma melhora nas características físico-químicas dos filés, como pH, atividade de água e umidade. Portanto, a emulsão de quitosana com óleo de peixe mostra-se uma alternativa viável e eficaz para manter a qualidade dos filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado, contribuindo para a segurança e aceitação dos produtos pelos consumidores.

8. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J. C. Conservação pós-colheita de abobrinha revestida com cobertura comestível de fécula de mandioca. *Nutritime Revista Eletrônica*, on-line, Viçosa, v.18, n.3, p.8930-8934, maio/jun, 2021.
- ALAK, G.; HISAR, S. A.; HISAR, O.; KABAN, G.; KAYA, M. Microbiological and Chemical Properties of Bonito Fish (*Sarda sarda*) Fillets Packaged with Chitosan Film, Modified Atmosphere and Vacuum. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas*. v.16, p.73-80, 2010.
- ALVES, A. A. S.; COSTA, A. M. T.; SILVA, A. V. S, SIMÕES, C. V.; SOUZA, I. A.; COSTA, R. M. C. E.; STAMFORD, T. C. M. Revestimentos comestíveis à base de polissacarídeos em frutas: uma revisão narrativa. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Editora Científica Digital, Vol. 6, 2022.
- ALVES, N. S. Estudo do acondicionamento de tilápia (*Oreochromis niloticus*) em atmosfera modificada. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2018.
- AOAC - Association of Official Agricultural Chemists. *Official methods of analysis*. Washington, Ed.12, 1990.
- ARAÚJO, L. C. Cobertura comestível de quitosana-frutose: impacto na qualidade pós-colheita de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). Dissertação de Mestrado - Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.
- ARAÚJO, V. R.; SHIRAI, M. A. Aplicação de revestimento comestível de quitosana em brócolis minimamente processado. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 34, n. 2, p. 1-10, 2016.
- ANJOS, R. Q.; MOTA, T. A.; SANTANA, T. S.; COSTA, M. O.; MOURA, L. A. M.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Formulação e aceitação de hambúrguer de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sabor defumado, enriquecido com biomassa de banana verde e quitosana. *Ciência e tecnologia do pescado: uma análise pluralista*, vol. 2. Guarujá: Ciência Digital, p. 135-146, 2021.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. Anuário Brasileiro da Piscicultura PEIXE BR 2023. Anuário 2023. Disponível em: https://www.aen.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2023-03/anuariopeixebr2023.pdf. Acesso em: 31 de outubro de 2023.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 60, de 23 de

dezembro de 2019. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 dez. 2019. Seção 1, p. 133.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal - RIISPOA. (2001). <http://www.agricultura.gov.br/sda.2010> Acesso 25.09.23.

BRASIL. Decreto Nº 30.691, de 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 31 mar. 1952.

BOARIN-ALCADE, L., & GRACIANO-FONSECA, G.. Alkali process for chitin extraction and chitosan production from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) scales. Lat. Am. J. Aquat. Res., 44(4): 683-688, 2016.

BOTELHO, D.; SILVA, P.; ESQUERDO, V.; PINTO, L. Efeito da adição de gelatina em emulsões preparadas com quitosana para encapsular concentrados de ácidos graxos insaturados de óleo de pescado. Blucher Chemical Engineering Proceedings, 1(4), 1668-1673, 2017.

BUSO, E. K. R. P. M.; CLEMENTE, E.; ESTRADA, K. R. F. S.; ZÁRATE, N. A. H.; OLIVEIRA, J. S. B. Comportamento pós-colheita de mandioquinha-salsa revestida com quitosana. Revista Ciência Agronômica, v. 45, n. 4, p. 850-855, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000400024>

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.

CALDATO, K.; SILVA NAVES, F. K., & Zatta, L. Gelatina extraída de escamas da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) produzidas no município de Pato Branco: caracterizações e comparações com amostras comerciais. Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial, 13(1), 2019.

CARLI, R. C.. Biopreservação de filés resfriados de *Oreochromis niloticus* (tilápia-do-nilo) com compostos antimicrobianos de bactérias ácido-láticas. 2022.100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2022.

CASSOL, B. H.; PERUFFO, L. C. B.; ARIONI, S. T.; FERNANDEZ, R. A suplementação com óleo de peixe três vezes mais concentrado em epa (ácido eicosapentaenoico) modifica a função renal em ratos. Revista De Ciências Médicas E Biológicas, 19(3), 466–471, 2020.

CHERMAN, K. A.; SCAPIM, M. R.S, SILVA, J. F.; MADRONA, G. S.

Caracterização de cobertura comestível a base de alginato e óleos essenciais. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 2, p. e52911226145-e52911226145, 2022.

COSTA, F.; BRAGA, R. C. .; BASTOS, M. do S. R. .; SANTOS, D. N.; FROTA, M. M. . Edible coatings based on cassava starch (*manihot esculenta*) in vegetable products: a review. *Research, Society and Development*, [S. l.], v. 11, n. 4, p. e54511427428, 2022.

CLARE, J.; LINDLEY, M. R.; RATCLIFFE, E. The antimicrobial and antibiofilm abilities of fish oil derived polyunsaturated fatty acids and manuka honey. *Microorganisms*, v. 12, p. 778, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040778>. Acesso em: 9 ago. 2024.

COSTA, M. C. C.; AZEVEDO, C. R.; DE SOUSA, R. M. L.; DOS SANTOS, A. F.; BARRONQUEIRO, . T. S. Embalagens de alimentos à base de biofilmes comestíveis: uma revisão. *Revista Ceuma Perspectivas*, v. 30, n. 3, p. 88-100, 2019.

DAMASCENO, G. A. Efeito de revestimentos bioativos à base de quitosana sobre a vida útil e segurança da cavala (*Scomberomorus cavalla*) refrigerada. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, 2016.

DA SILVA, D. T.; MELO, E. C. C.; MACEDO, R. C. B. S.; CARVALHO, F. S. O.; COSTA, R. C. S.; SANTOS, B. S.; COSTA, B. J. P.; SOARES, K. M. P. Desenvolvimento de bactérias aeróbias mesófilas em filés de tilápia recobertos com cobertura à base de quitosana e fécula de mandioca. In: 1º Congresso e Segurança Qualidade dos Alimentos, 1(1), 2022.

DA SILVA SANTOS, F. M.; DA SILVA, A. I. M.; VIEIRA, C. B.; DE ARAÚJO, M. H.; DA SILVA, A. L. C.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G.; DE SOUZA BEZERRA, R. Use of chitosan coating in increasing the shelf life of liquid smoked Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillet. *Journal of Food Science and Technology*, 54(5), 1304–1311, 2017.

DELADINO, L.; ANBINDER, P.S.; NAVARRO, A. S.; MARTINO, M. N. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polym.* p. 126-136, 2007.

DEVLEIGH, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial

activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21, 703-714, 2004.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; VA, A. S.; SOUZA, B. W. S.; BISPO, A. S. R.; FERREIRA, M. A.,. Inativação de patógenos em carne bovina fresca revestida com monocamada comestível de quitosana. *Magistra*, v. 31, p. 460-464, 2020.

ESPINOSA-ANDREWS, H.; BÁEZ-GONZÁLEZ, J.G.; CRUZ-SOSA, F.; VERNON-CARTE, E.J. Gum arabic-chitosan complex coacervation. *Biomacromolecules*. 2007 Apr;8(4):1313-8, 2007.

FERREIRA, M. C.; CARVALHO, F. V.; SANTOS, C. A.; LIMA, N. S.; VIERA, T. A.; MOREIRA, T. M.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Enriquecimento de patê de peixe com ingredientes funcionais: uma revisão narrativa sobre biomassa de banana verde e quitosana: patê de peixe funcional. *Ciência e Tecnologia de Alimentos: O avanço da ciência no Brasil - Volume 3*, 3(1), 212-227, 2023.

FRATARI, S. C.; DE OLIVEIRA, A. P.; DE FARIA, R. A. P. G.; DALLA VILLA, R. Revestimentos comestíveis para conservação pós colheita de banana: uma revisão. *Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 4, p. 444-467, 2021.

FOODS (ICMSF) *Micro-organisms in foods* 2.

Sampling for microbiological analysis: principles and specific applications. University of Toronto Press, Toronto, 1986.

GARCÍA, M.; DÍAZ, R.; PUERTA, F.; BELDARRAÍN, T.; GONZÁLEZ, J.; GONZÁLEZ, I. Influence of chitosan addition on quality properties of vacuum-packaged pork sausages. *Food Science and Technology*, v. 30, n. 2, p. 560-564, 2010.

GUDIÑA, E. J.; ROCHA, V.; TEIXEIRA, J. A.; RODRIGUES, L. R. Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* A20. *Letters in applied microbiology*, 50 (4), 419-424, 2010.

GHARANJIG, H.; GHARANJIG, K.; HOSSEINNEZHAD, M.; JAFAR, S. M. Development and optimization of complex coacervates based on zedo gum, cress seed gum and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 31–40, 2020

GRANDINI, N. A.; FRANÇA, T. C. J.; SANTOS, S. H. D. A.; JÚNIOR, A. M.; NOGUEIRA, T. A.; ALMEIDA, K. C. L.; LATINI, J. T. P. A ação de suplementos de óleo de peixe no reparo tecidual de camundongos lesionados. *Brazilian*

Journal of Development, 6(5), 26130-26143, 2020.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. Food Hydrocolloids, Spain, 27, 889-896. 2010.

HOSSEINNEJAD, M.; JARAFI, S.M. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan. Int. J. of Biological Macrom., 85,467-475, 2016.

INGUGLIA, L.; CHIARAMONTE, M.; DI STEFANO, V.; SCHILLACI, D.; CAMMILLERI, G.; PANTANO, L.; MAURO, M.; VAZZANA, M.; FERRANTELLI, V.; NICOLOSI, R.; ARIZZA, V.. Salmo salar fish waste oil: Fatty acids composition and antibacterial activity. Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology, 19 jun. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100239>. Acesso em: 9 ago. 2024.

JAYASINGH P, CORNFORTH DP. Comparison of antioxidant effects of milk mineral, butylated hydroxytoluene and sodium tripolyphosphate in raw and cooked ground pork. Meat Sci. 2004 Jan;66(1):83-9.

HELD, A. Efeito da Quitosana no Glaciamento de Filés de Tilápia Congelados: Qualidade Microbiológica, Físico-Química e Sensorial. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Aquicultura) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, 2019.

JASOUR, M. S.; EHSANI, A.; MEHRYAN, L.; NAGHIBI, S. S. Chitosan coating incorporated with the *lactoperoxidase* system: an active edible coating for fish preservation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95(6), 2015. 1373–1378.

JEON, Y.J.; KAMIL, J.Y.; SHAHIDI, F. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. J Agric Food Chem. 2002 JINGYUN, D; GITA, C.; YANYUN, Z. Melhoria da qualidade em filetes de lingcod (*Ophiodon*

elongates) frescos e congelados pelo emprego de revestimentos de quitosana incorporados com óleo de peixe. , 119(2), 524–532, 2010.

KILINC, B.; CAKLI, S.; DINCER, T.; TOLASA, S. Microbiological, chemical, sensory, color, and textural changes of rainbow trout fillets treated with sodium acetate, sodium lactate, sodium citrate, and stored at 4 °C. J Aquat Food Prod Technol 18:3–17, 2009.

KIM, T.; LEE, K.; GONG, M.S.; JOO, S.W. Control of gold nanoparticle aggregates by manipulation of interparticle interaction. Langmuir, v. 21, n. 21, p. 9524-9528, 2005.

KO, W. C.; YANG, S.; Y., CHANG, C. K., & HSHIEH, C., W. Effects of adjustable parallel high voltage electrostatic field on the freshness of tilápia (*Oreochromis niloticus*) during refrigeration. LWT - Food Science and Technology, 66, 151-157, 2016.

KOHMANN, L. M. Atividade de água em alimentos. Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial – SENAI-RS, Departamento Regional, 2013.

KUS-YAMASHITA, M. M.; CANO, C. B.; Dias, N. A.; MANCINI-FILHO, J. Propriedades físicas na caracterização dos óleos de peixe. Revista Brasileira de Agrotecnologia, 11(2), 386-392, 2021.

LI, X. F.; FENG, X. Q.; YANG, S. A. mechanism of antibacterial activity of chitosan against Gram-negative bacteria. Food Sci, 13, 037, 2010.

LI, H. B.; CHENG, K. W.; WONG, C. C.; FAN, K. W.; CHEN, F.; JIANG, Y. Food Chemistry, 102 (3), 771–776, 2007.

LIMA, M. M.; NUNES, M. L.; AQUINO, L. C. L.; MUJICA, P. I. C.; CASTRO, A. A. Desenvolvimento e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de barras de cereais adicionadas de quitosana e ômega-3. Scientia Plena, v. 8, n. 3, p. 1-9, 2012.

LUVIELMO, M. M.; LAMAS, S. V. Revestimentos comestíveis em frutas. Estudos Tecnológicos em Engenharia, v. 8, n. 1, p. 8-15, 2012.

LEAL, K. D. V; SANTOS FILHO, F. J. D. M.; MACHADO, F.; SILVA, L. V.; NOGUEIRA, M. D. M.; TAVEIRA, R. C. M.; ARAÚJO, F. G. D. Produção de quitosana a partir de resíduos de crustáceos e aplicação na indústria de alimentos: uma revisão de literatura. OPEN SCIENCE RESEARCH XI, 11(1), 1314-1331, 2023.

LEE, J. S.; JAHURUL, M. H. A.; PUA, V. C.; SHAPAWI, R.; CHAN, P. T. (2019).

Effects of chitosan and ascorbic acid coating on the chilled tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) fillet. *Journal of Physics: Conference Series*, 1358, 012009, 2019.

MACHADO, T. S.; MELARA, F.; MELLO, J. R.; CRESTANI, L., ALESSANDRETTI, I.; DAMINI, G.; PICCIN, J. S. Avaliação de processo alcalino para obtenção de quitosana fúngica. *Acta Brasiliensis*, 4(3), 168-172, 2020.

MARANGON, C. A.. Atividade antimicrobiana e citotoxicidade de emulsões de quitosana/gelatina/óleo de copaíba. 2015. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015. Acesso em: 2023-04-03.

MARIAMENATU, A. H. & ABDU, E. M. Consumo excessivo de ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 (PUFAs) versus deficiência de PUFAs ômega-3 em dietas modernas: o fator perturbador para suas "funções metabólicas antagônicas equilibradas" no corpo humano. *Jornal de Lipídios*, 2021, 1-15, 2021.

MARTINS, C. V. B.; VAZ, S. K.; & MINOZZO, M. G. Aspectos sanitários de pescados comercializados em “pesque-pagues” de Toledo (PR). *Revista Higiene Alimentar*, 16, 51-56, 2002.

MALERBA, M.; CERANA, R. Recent Advances of Chitosan Applications in Plants. *Polymers (Basel)*. 2018.

MALLE, P. & POUMEYROL, M. A new chemical criterion for the quality control of fish—trimethylamine total volatile basic nitrogen (percent). *J Food Protect* 52(6):419-423, 1989.

MEDEIROS, J. A. Cobertura comestível bioativa de gel e cloridrato de quitosana: biotecnologia ecossustentável para controle de contaminação fúngica em uvas de mesa. 2023. Tese (Doutorado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

MENDES, L.; BRESOLIN, J. D.; ASSIS, O. B.; BRITTO, D. D. Avaliação in vitro da Ação da quitosana e de seu derivado quaternizado na inibição do crescimento do fungo *Penicillium expansum*. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*, v. 10(1), p. 116-128, 2016.

MELO, N. F. Bioatividade da associação de gel e nanopartículas de quitosana na conservação de uvas (*Vitis labrusca* L.). Dissertação de Mestrado - Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

Ministério da Economia. (2023). COMEXSTAT - Informativo Comércio exterior da piscicultura. Embrapa - Pesca e Aquicultura, Edição 12, 2023. Palmas/TO.

- MCGEE, Harold. Comida & Cozinha. 2. ed. São Paulo: WMF Martins Fontes, 2014. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1151200/1/InfComExPisci-12.pdf>. Acesso em: 19 novembro 2023.
- NAIR, M.S; TOMAR, M.; PUNIA, S.; KUKULA-KOCH, W.; KUMAR, M. Enhancing the functionality of chitosan- and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Int J Biol Macromol*. 2020
- NÚÑEZ, I. B.; ROJAS, L. Q.; OLIVEIRA, M. V.; DELGADO, O. T.; CEDRO, W. L.; RIVERA, Y. R.; CARBONERA, N. Efeito de coberturas comestíveis de amido enriquecidas com hidrolisados proteicos de camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) sobre a vida útil de maçãs. *Ciência e tecnologia de alimentos: Pesquisa e práticas contemporâneas*, v. 1, n. 1, p. 296-311, 2021.
- OJAGH, S.M; REZAEI, M; RAZAVI, S.H; HOSSEINI, S.M.H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout, *Food Chem*, 120 (1), 2010, 193-198.
- RABELLO, L. A; FELIPE, L. O.; JÚNIOR, E. N.; SANTOS, I. J. B. Quitosana: da Química Básica à Bioengenharia. *Química Nova na Escola*, 39(4), 518-526, 2017.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; HAMED, I.; OZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 40-50, 2016.
- RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26, 1231–1237, 1999.
- RIBEIRO, Penha Patrícia Cabral et al. Phenolic profiles of faveleira (*Cnidioscolus quercifolius* Pohl) seed and press cake extracts: potential for a new trend in functional food. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 23, 2020.
- RAMEZANI, Z.; ZAREI, M.; & RAMINNEJAD, N. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. *Food Control*, 51, 43–48, 2015.
- RIVAS, A. V. Vacina bivalente contra infecção por *Aeromonas sobria* e *Streptococcus agalactiae* em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) do Oeste do Paraná, Brasil. 57 p. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-Graduação em Biociências) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2020

- ROLIM, A. E. H.; CARVALHO, F. A.; COSTA, R. C. C.; ROSA, F. P. Arcabouços de quitosana - propriedades físico-químicas e biológicas para o reparo ósseo. *Revista Virtual de Química*, 10(1), 2018, 142-153.
- ROSA, K. R.; SILVA, A. A.; FERREIRA, R. X.; STELATTO, D. S.; CARDOSO, D. A.; SCABO10566-10585, 2020.
- RUTZ, J. K. et al. Microencapsulation of palm oil by complex coacervation for application in food systems. *Food Chemistry*, v. 220, p. 59–66, 2017.
- SANTOS, J.E.; SOARES, J.P.; DOCKAL, S.E. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol.13, n. 4, p. 242-249, 2003.
- SANTOS, V.P; MARQUES, N.S.S; MAIA, P.C.S.V; LIMA, M.A.B.; FRANCO, L.O; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Seafood Waste as Attractive Source of Chitin and Chitosan Production and Their Applications. *Int J Mol Sci*. 2020;21(12):4290, 2020.
- SIGNINI, R.; DESBRIÈRES, J.; CAMPANA FILHO, S.P. *Carbohydrate Polymers*, v. 43, 351-357, 2000.
- SILVA, Á. F. S.; SOUZA, A.D F.; PINHEIRO, I. O., & CAMPOS-TAKAKI, G. M. Produção fúngica de quitina e quitosana utilizando resíduos agroindustriais como fontes sustentáveis de carbono e nitrogênio. *Brazilian Journal of Development*, 8(1), 3562-3573, 2022.
- SILVA, A. G.; ALENCAR, M. E. P.; RODRIGUEZ, A. F. R.;FREITAS LACERDA, R. Efeitos da ingestão de óleo de peixe para a saúde da população. *Multidisciplinary Sciences Reports*, 2(2), 2022.
- SILVA, K. A.; ESQUERDO, V. M.; PINTO, L. A. A. Avaliação da estabilidade física de nanoemulsões de óleo de pescado com quitosana. Em 18º Congresso de Iniciação Científica, Rio Grande do Sul. Pelotas: 4º Semana Integrada, 2018.
- SILVA, G. F.; MACIEL, L. M.; DALMASS, M. V.; GONÇALVES, M. T. *Tilápia do nilo: criação e cultivo em viveiros no Estado do Paraná*, 2015. Disponível em: <<https://gia.org.br/portal/livro-tilapia-alunos/>>. Acesso em 05 Julho. 2023.
- SILVA DIAS, P.; NOVODWORSKI, J.; SILVA, B. J. L., & MEUFER, F. Policultivo de tilápia do Nilo, jundiá e curimba em tanque de PVC em estufa, *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, 4(2), 1572-1581, 2021.
- SILVEIRA JÚNIOR, A. B. Uso do filme comestível de quitosana extraída de camarão (*Litopenaeus Vannamei*) na extensão do tempo de prateleira da carne ovina refrigerada. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2018.

- SIMPLICE, M.; WOMENI, H.; NGAMGA, F.; TONFACK, D.; FABRICE, D.; JUSTIN, F.T.; KUIATE, J. Chemical composition and antibacterial activity of oils from *Chrysichthys nigrodigitatus* and *Hepsetus odoe*, two freshwater fishes from Yabassi, Cameroon. *Lipids in Health and Disease*. 17. 10.1186/s12944-018-0690-z, 2018.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology*, v. 299, p. 152-178, 1999.
- SOARES, N.; SILVA, P.; BARBOSA, C.; PINHEIRO, R.; VICENTE, A. A. Comparing the effects of glazing and chitosan-based coating applied on frozen salmon on its organoleptic and physicochemical characteristics over six-months storage. *Journal of Food Engineering*, n. 195, p. 79-86, 2017.
- SOUZA, A.F.; GALINDO, H.M.; LIMA, M.A.B.; RIBEAUX, D.R.; RODRÍGUEZ, D.M.; SILVA ANDRADE, R.F.; GUSMÃO, N.B.; CAMPOS-TAKAKI, G.M. Biotechnological Strategies for Chitosan Production by Mucoralean Strains and Dimorphism Using Renewable Substrates. *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 4286, 2020.
- SOUTO, E. B.; SEVERINO, P., & SANTANA, M. H. A. Preparação de nanopartículas poliméricas a partir de polímeros pré-formados: parte II. *Polímeros*, 22(1), 101–106, 2012.
- SOUZA, C. M.; SILVA, H. R.; VIERA-JR, G. M.; AYRES, M. C.; DA COSTA, C. L.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C.; BARROS, E. D.; ARAÚJO, P. B.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Total phenolics and antioxidant activity of five medicinal plants. *Química Nova*, v. 30, nº 2, p. 351-355, São Paulo, 2007.
- PEDROZA FILHO, M. X.; RIBEIRO, V. S.; ROCHA, H. S.; UMMUS, M. E.; VALE, T. M. Caracterização da cadeia produtiva da tilápia nos principais polos de produção do Brasil/autores, Palmas, TO. Embrapa Pesca e Aquicultura. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*, 26. Embrapa Pesca e Aquicultura, 2020.
- SOCACIU, M.-I.; SEMENIUC, C.A.; VODNAR, D.C. Edible Films and Coatings for Fresh Fish Packaging: Focus on Quality Changes and Shelf-life Extension Coatings, 2018, 8, 366.
- PEREIRA, T. F. Caracterização e atividade antimicrobiana de emulsões à base de óleo da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense*) para o desenvolvimento de um cicatrizante tópico. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2022.
- PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric Quantitation of

Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry*, v. 341, p. 337–341, 1999.

SALES, R. de O., SALES, A. M. Estudo da composição química e rendimento de dez espécies de água doce de interesse comercial nos açudes do nordeste brasileiro. *Ciências Agronômicas*. v. ", n. 21, p. 27-30, 1990.

SANTOS, V.; FERNANDES, R.; FERREIRA, C.; AOUADA, F.; AMÉRICO-PINHEIRO, J.; MOURA, M. Avaliação e caracterização de biofilme comestível de carboximetilcelulose contendo nanopartículas de quitosana e Cúrcuma longa. *Matéria* (Rio de Janeiro), v. 26, 2021.

SANTOS, F. M. Utilização de quitosana no revestimento de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e na preparação de filmes incorporados com óleos essenciais. 2014. Dissertação (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2014.

SARMIENTO, Amada Maria Landa. Características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de filés de tilápias (*Oreochromis niloticus*) conservados em atmosferas modificadas sob refrigeração. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, 2006.

TACON, A.G.J. Trends in Global Aquaculture and Aquafeed Production: 2000-2017, *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 2019 DOI: 10.1080/23308249.2019.1649634

TEIXEIRA, L. C.; GARCIA, P. P. Qualidade do pescado: captura, conservação e contaminação. *Acta de Ciências e Saúde*, v. 1, n. 2, p. 1-15, 2016.

TUBIANA, L. B.; VITORIANO, A. P. G.; SOUZA, F. J.; MARIANO, L. Composição lipídica de suplementos alimentares de Ômega-3 à base de óleo de peixe comercializados em Maringá-PR. *Anais Eletrônico* ISBN 978-65-5615-164-9. X Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica. III Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação em Desenvolvimento Tecnológico e Inovação, 2020.

TOLEDO, A. M. N. Encapsulação do óleo essencial de laranja em nanopartículas de quitosana: desenvolvimento e avaliação da citotoxicidade in vitro do produto final. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal de Rio Branco. Rio Grande, 2015.

VANHAECKE, L.; VERBEKE, W., & Brabander, H. F. (2010). Glazing of frozen fish; analytical and economic challenges. *Analytica Chimica Acta*, 672, 40-44, 2010.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits of Ecuador. *Food Chemistry - FOOD CHEM.* 111. 816-823. 10.1016, 2008.

VIÉGAS, L. P. Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2016.

VIEIRA, B. B. Efeito do revestimento de quitosana associado ao óleo essencial de cravo na conservação de filés de tambaqui. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, 2017.

VIEIRA, B. B.; MAFRA, J. F.; BISPO, A. S. R.; FERREIRA, M. A.; SILVA, F. L.; RODRIGUES, A. V. N.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Combination of chitosan coating and clove essential oil reduces lipid oxidation and microbial growth in frozen stored tambaqui (*Colossoma macropomum*) fillets. *Food Science and Technology*, v. 116, p. 1-7, 2019.

VIEIRA, C.; ASCHERI, D.; SIGNINI, R. Revestimento em frutas com quitosana pura e misturada a outros materiais - Uma revisão sistemática. *Revista Processos Químicos*, 16(31), 29-43, 2022.

VIDAL, M.F & XIMENES, L.F. Produção de pescados na área de atuação do BNB. *Caderno Setorial ETENE*. Ano 4, no 91, 2019.

VILLA-RODRÍGUEZ, J.; MOLINA-CORRAL, F.; AYALA-ZAVALA, F.; OLIVAS, G.; GÓNZAVEZ-AGUILAR, G. E of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of 'Hass' avocado. *Food Res. Int.*, 44, 1231-1237, 2011.

VUILLEMIN, E. M.; FLORENTIN, M.; MUNIGLIA, L.; LINDER, M.; JANIEWSKI, J. Gum Arabic and chitosan self-assembly: Thermodynamic and mechanism aspects. *Food Hydrocolloids*, v. 96, p. 463-474, 2019.

WANG, J.J.; SUNG, K.C.; HU, O.Y.P.; YEH, C.H.; FANG, J.Y. Submicron lipid emulsion as a drug delivery system for nalbuphine and its produgs. *Journal of Controlled Release*, v. 115, n. 2, p. 140-149, 2006.

WOISKY R.G. & SALATINO, A. Analysis os propolis: some parameters ond prodecure for chemical fuality control. *J. Apic. Res.* 37(2):99-105, 1998.

WU, J.; NIU, Y.; JIAO, Y., & CHEN, Q. Fungal chitosan from *Agaricus bisporus* (Lange) Sing. Chaidam increased the stability and antioxidant activity of liposomes

modified with biosurfactants and loading betulinic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 291-299, 2019.

YANAR, Y.; CELIK, M.; AKAMCA, E. Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 4 °C. *Food Chemistry* v. 97, n. 2 p. 244-247, 2006.

YOUSUF, B.; QADRI, O. S.; SRIVASTAVA, A. K. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *LWT, Food Science and Technology*, v. 89, p. 198- 209, 2018.

ZHANG, W.; JIANG, H.; RHIM, J.; CAO, J.; JIANG, W. Effective strategies of sustained release and retention enhancement of essential oils in active food packaging films/coatings. *Food Chemistry*, v. 367, n. June 2021, p. 130671, 2022.