

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**EFEITO DA QUITOSANA NO GLACIAMENTO DE FILÉS DE
TILÁPIA CONGELADOS: QUALIDADE MICROBIOLÓGICA,
FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL**

AMANDA HELD

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2019

**EFEITO DA QUITOSANA NO GLACIAMENTO DE FILÉS DE TILÁPIA
CONGELADOS: QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-
QUÍMICA E SENSORIAL**

AMANDA HELD

Orientadora: Prof^a Dra. Elenice Souza dos Reis Goes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal da Grande Dourados, como
parte das exigências para conclusão do curso de
Engenharia de Aquicultura.

DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

H474e Held, Amanda

EFEITO DA QUITOSANA NO GLACIAMENTO DE FILÉS DE TILÁPIA CONGELADOS:
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E SENSORIAL [recurso eletrônico] /
Amanda Held. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Elenice Souza dos Reis Goes.

TCC (Graduação em Engenharia de Aquicultura)-Universidade Federal da Grande Dourados,
2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. congelamento. 2. *Oreochromis niloticus*. 3. vida de prateleira. I. Goes, Elenice Souza Dos Reis. II. Título.

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

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

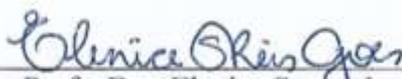
**EFEITO DA QUITOSANA NO GLACIAMENTO DE FILÉS DE TILÁPIA
CONGELADOS: QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E
SENSORIAL**

Por

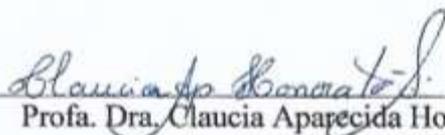
Amanda Held

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos exigidos para
obtenção do título de ENGENHEIRO DE AQUICULTURA

Aprovado em: 27 de novembro de 2019.



Profa. Dra. Elenice Souza dos Reis Goes
Orientadora – UFGD/FCA



Profa. Dra. Cláucia Aparecida Honorato da Silva
Membro da Banca – UFGD/FCA



Profa. Dra. Cleonice Cristina Hilbig
Membro da Banca – UFGD/FCA

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à minha família, por todo o apoio e paciência durante esses meses de trabalho. Minha mãe, minha irmã, vó, tio e todos que sempre estiveram comigo, nos momentos mais difíceis.

Também gostaria de agradecer a todos que me auxiliaram durante essa jornada, especialmente a Natieli Inácio, Gabriela Cristina, Igor Oliveira, Nathalia Azola, Renata Alves da Chagas e Renata Pires de Araújo, esse trabalho só pode ser concluído graças a vocês. As técnicas dos laboratórios que sempre foram extremamente gentis, pacientes e dispostas a ajudar.

Um agradecimento especial para a Prof^a Kelly Mari Pires de Oliveira, ao Prof^o Fernando, a Prof. Claucia Aparecida Honorato e principalmente à Prof^a Elenice, graças a senhora eu tive total liberdade para agir e me descobrir pesquisadora, sabendo que você sempre estaria lá para me orientar e dar segurança para continuar. Tenho certeza que seus futuros orientados terão tanto prazer de trabalhar com a sra. como eu tive.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	viii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Espécie estudada: Tilápia do Nilo	3
2.2 Deterioração do pescado.....	3
2.3 Conservação do pescado pelo congelamento	4
2.4 Glaciamento.....	6
2.5 Quitosana	7
2.6 Análises de qualidade do pescado	8
2.6.1 <i>pH</i>	8
2.6.2 <i>Cor</i>	9
2.6.3 <i>Análises microbiológicas</i>	10
2.6.4 <i>Oxidação lipídica</i>	11
2.6.5 <i>Análise sensorial</i>	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Delineamento experimental.....	14
3.2 Obtenção dos filés	14
3.3 Preparo das soluções de glaciamento	14
3.4 Aplicação das soluções de glaciamento nos filés	15
3.5 Incorporação do glaciamento.....	16
3.6 <i>pH</i>	16
3.7 <i>Cor</i>	17
3.8 Análise microbiológica.....	18
3.9 Composição Centesimal	18
3.10 Oxidação lipídica.....	18
3.11 Perfil sensorial	19
3.12 Análise estatística	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Análise da solução de revestimento.....	21
4.2 Incorporação do revestimento	22
4.3 <i>pH</i>	23
4.4 <i>Cor</i>	24
4.5 Oxidação lipídica.....	26
4.6 Análise microbiológica.....	27
4.7 Composição centesimal	28
4.8 Perfil sensorial	29
5 CONCLUSÃO.....	31
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Intensidade de coloração das soluções de revestimento.	15
FIGURA 2. Processo de aplicação do revestimento a) Imersão do filé na solução de revestimento; b) escorrendo os excessos de solução; c) filés glaciados. Fonte: autor.	16
FIGURA 3. Análise de pH com potenciômetro digital. a) análise pH no filé descongelado, b) análise nas soluções de revestimento. Fonte: autor.	17
FIGURA 4. Análise de cor com colorímetro. a) análise de cor no filé descongelado; b) análise de cor nas soluções de revestimento. Fonte: autor.	17
FIGURA 5. Processo de análise de TBARS a) Resultado da extração lipídica do filé; b) amostra filtrada e c) amostra pronta para leitura do espectrofotômetro. Fonte: autor.	19
FIGURA 6. Filés contendo quitosana pós cozimento. Fonte: autor.	19
FIGURA 7. Organização dos materiais disponibilizados para cada provador. Fonte: autor....	20
FIGURA 8. Incorporação do revestimento em de filés de tilápia glaciados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento. Barras verticais indicam o erro padrão da média.	22

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Valores de pH e coloração de soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.	21
TABELA 2. Valores de pH de filés de tilápia congelados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.	23
TABELA 3. Coloração de filés de tilápia congelados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.	25
TABELA 4. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (mg de malonaldeído/kg de amostra) em filés de tilápia congelados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.	26
TABELA 5. Crescimento de bactérias heterotróficas (log UFC/g) em filés de tilápia congelados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.	27
TABELA 6. Composição centesimal após 150 dias de estocagem sob congelamento, de filés de tilápia congelados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana.	28
TABELA 7. Atributos sensoriais após 120 dias de estocagem sob congelamento, de filés de tilápia congelados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana.	29

HELD, Amanda. **Efeito da quitosana no congelamento de filés de tilápia congelados: qualidade microbiológica, físico-química e sensorial.** 2019. 49 p. Monografia (Graduação em Engenharia de Aquicultura) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

RESUMO

Objetivando avaliar os efeitos da quitosana na solução de congelamento de filés de tilápia sobre atributos microbiológicos, físico-químicos e sensoriais, filés frescos de tilápia foram congelados e posteriormente conduziu-se um experimento com três concentrações de quitosana (0,75, 1,50 e 2,25%) e um tratamento controle (congelamento com água), totalizando quatro tratamentos, com 52 filés por tratamento. Durante armazenamento sob congelamento (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias), foram realizadas análises de pH, cor e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Analisou-se o percentual de incorporação do revestimento, composição centesimal e sensorial. Na incorporação do revestimento, observou-se aumento linear, conforme aumento dos níveis de quitosana. O pH foi significativo somente após 30 dias, apresentando aumento linear conforme aumento das concentrações de quitosana. Para a coloração dos filés, após 30 dias, somente a intensidade de vermelho apresentou diminuição linear conforme aumento da quitosana, e após 90 dias de estocagem, a luminosidade dos filés diminuiu linearmente. Nos tempos 90 e 120 dias, foi observado um aumento linear da intensidade de amarelo dos filés. Não foi observado efeito significativo da quitosana sobre a formação de TBARS. Com o aumento da inclusão de quitosana, houve uma diminuição linear das bactérias heterotróficas nos filés, independentemente do tempo de armazenagem. O teor de umidade aumentou linearmente, enquanto a proteína diminuiu linearmente, conforme acréscimo dos níveis de quitosana. Extrato etéreo e cinzas não foram diferentes entre os filés. Na análise sensorial, não houve efeito de regressão para os atributos avaliados, porém a aceitabilidade geral dos filés do tratamento controle foi superior às demais. Conclui-se que os congelamentos contendo altas concentrações de quitosana são eficazes para aumentar a incorporação do revestimento, aumentar a umidade dos filés e diminuir a presença de bactérias nos filés, sem afetar grandemente o pH nem a coloração durante o congelamento por seis meses.

Palavras-chave: congelamento; *Oreochromis niloticus*; vida de prateleira.

ABSTRACT

In order to evaluate the effects of chitosan on tilapia fillet glacial solution on microbiological, physicochemical and sensory attributes, fresh tilapia fillets were frozen and subsequently conducted an experiment with three chitosan concentrations (0.75, 1.50). and 2.25%) and a control treatment (water glaciation), totaling four treatments, with 52 fillets per treatment. During freezing storage (0, 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days), analyzes of pH, color and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were performed. The percentage of coating incorporation, centesimal and sensory composition was analyzed. In the incorporation of the coating, a linear increase was observed, as the chitosan levels increased. The pH was significant only after 30 days, showing linear increase as the chitosan concentrations increased. For the coloration of the fillets, after 30 days, only the intensity of red decreased linearly as the chitosan increased, and after 90 days of storage, the luminosity of the fillets decreased linearly. At 90 and 120 days, a linear increase in the yellow intensity of the fillets was observed. No significant effect of chitosan on TBARS formation was observed. As the inclusion of chitosan increased, there was a linear decrease in heterotrophic bacteria in the fillets, regardless of storage time. Moisture content increased linearly while protein decreased linearly as chitosan levels increased. Ether extract and ashes were not different between fillets. In the sensorial analysis, there was no regression effect for the evaluated attributes, but the overall acceptability of the control treatment fillets was superior to the others. It was concluded that glaciers containing high concentrations of chitosan are effective to increase coating incorporation, increase fillet moisture and decrease the presence of bacteria in fillets, without greatly affecting pH or color during freezing for six months.

Keywords: freezing; *Oreochromis niloticus*; shelf Life.

1 INTRODUÇÃO

O pescado é um alimento altamente perecível, devido a sua composição biológica e química (RAMEZANI et al., 2015). O elevado teor proteico, pH próximo à neutralidade, alta atividade da água e a presença de enzimas proteolíticas são fatores que intensificam o processo de degradação (LIU et al., 2010). A deterioração se inicia rapidamente após a morte do animal (GHALY et al., 2010), em função de uma combinação complexa de propriedades físicas, químicas, bioquímicas e processos microbiológicos (NETAM et al., 2018), resultando em oxidação lipídica, degradação das proteínas e perda de outros nutrientes valiosos (ADDIS, 2015). Além disso, a produção de compostos indesejáveis como trimetilamina e bases nitrogenadas voláteis de baixo peso molecular afetam diretamente a qualidade e o prazo de validade do pescado (OCAÑO-HIGUERA et al., 2011). Em vista disso, é fundamental a utilização de técnicas de conservação.

Uma das técnicas mais utilizadas em pescados é o abaixamento da temperatura, através da refrigeração e congelamento (NETAM et al., 2018). O congelamento possibilita a inibição da atividade enzimática e retarda o crescimento de microrganismos (SOARES et al., 2016). Os métodos que utilizam baixas temperaturas são mais indicados para o armazenamento de alimentos por períodos relativamente longos, motivo pelo qual são os mais presentes na indústria de alimentos (ZHU et al., 2019).

Porém, é comum que durante o período de armazenamento o contato direto com temperaturas muito frias e ocasionais flutuações de temperatura causem perda de umidade por sublimação e secagem na superfície da carne, ocasionando um efeito chamado “queima por congelamento” (SOARES et al., 2016). Além disso, o congelamento e armazenamento congelado também influenciam na textura, cor, sabor e valor nutricional da carne (LEYGONIE et al., 2012). Como forma de evitar e reduzir esses efeitos nos produtos congelados, pode ser empregado, após o congelamento, um método denominado glaciamento.

O glaciamento caracteriza-se por ser um revestimento de gelo que recobre a superfície do produto já congelado, sendo realizado por imersão ou pulverização com solução de revestimento (GONÇALVES, 2011). Esta técnica minimiza a perda de qualidade resultante das baixas temperaturas de armazenamento, transporte incorreto, taxa de congelamento e descongelamento e flutuações de temperatura (SOARES et al., 2016). Este é um dos processos mais utilizados nas indústrias de beneficiamento do pescado, por ser o menos dispendioso (SOARES et al., 2017).

Geralmente, a solução de revestimento do glaciamento consiste em água, podendo ser adicionados aditivos com função espessante e antioxidante, como os fosfatos (GONÇALVES, 2011; NETAM et al., 2018). Contudo, tem-se aumentado o interesse em conservantes naturais, fornecendo a oportunidade para a “rotulagem verde” e, conseqüentemente, atraindo consumidores interessados neste tipo de produtos (ZHOU et al., 2010). Segundo Ramezani et al. (2015), conservantes naturais que prolonguem o prazo de validade e que possuam atividade antioxidante e antibacteriana são os mais desejáveis.

A quitosana, derivada da quitina, é um biomaterial versátil por suas características de antioxidante, bioatividade, não toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa alergenicidade, além de possuir alta área de superfície, porosidade, resistência à tração e condutividade (CHEUNG et al., 2015), além de possuir uma forte atividade antimicrobiana (SOARES et al., 2016). Diversos estudos utilizando quitosana na solução de revestimento do pescado já foram realizados e confirmaram sua eficiência no prolongamento da qualidade dos filés durante o armazenamento (FAN et al., 2009; OJAGH et al., 2010; OLIVEIRA, 2013; SOARES et al., 2016; SHI et al., 2019). Entretanto, não foram encontrados estudos avaliando a eficácia da quitosana no glaciamento de filés de tilápia do Nilo, sendo hipotetizado, portanto, que este aditivo pode proporcionar uma melhora na qualidade dos filés durante o período de congelamento, através da proteção microbiológica e antioxidante, com possíveis efeitos benéficos na diminuição da desidratação dos filés e na coloração dos mesmos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da quitosana na solução de glaciamento de filés de tilápia do Nilo congelados durante o período de 6 meses, sobre atributos microbiológicos, físico-químicos e sensoriais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Espécie estudada: Tilápia do Nilo

O consumo de pescado impacta positivamente na saúde dos consumidores, por ser uma fonte de energia, proteínas e nutrientes importantes, como ácidos graxos poli-insaturados ω -3 de cadeia longa (SOARES et al., 2016), além de fornecer vitaminas e minerais às dietas humanas em diversos países (SARMAST et al., 2019). Os atributos sensoriais como sabor, textura e conveniência também têm demonstrado serem fatores adicionais para o consumo de pescado (TAHERGORABI et al., 2015). Dentre as espécies de peixes produzidas mundialmente, as tilápias vêm ganhando cada vez mais espaço no mercado, com destaque para o gênero *Oreochromis*.

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* (WANG & LU, 2015). A tilápia caracteriza-se pela capacidade de converter ração em proteína de alta qualidade (WANG & LU, 2015), e ausência de espinhos intramusculares em forma de Y, além de apresentar características organolépticas desejáveis, como sabor e cor (HILSDORF, 2018). Por ser um peixe de carne branca, possui baixo teor de lipídios no músculo, em torno de 1%, sendo considerado um peixe magro (OGAWA & MAIA, 1999).

A tilápia do Nilo (*O. niloticus*) ocupa a posição de quarto lugar entre as espécies mais produzidas pela aquicultura mundial (FAO, 2018). No Brasil, a produção de tilápias alcançou 400.280 toneladas em 2018, representando 55,4% da produção total de peixes de cultivo (PEIXE BR, 2019). Deste total, o Mato Grosso do Sul foi responsável pela produção de 25.850 toneladas de tilápias (PEIXE BR, 2019).

Com o aumento da produção aquícola, a extensão da vida de prateleira dos produtos gerados é essencial para preservar as características nutritivas e organolépticas durante o transporte e armazenamento (GHALY et al., 2010).

2.2 Deterioração do pescado

O pescado é um alimento altamente perecível, devido a sua composição biológica e

química (RAMEZANI et al., 2015). O elevado teor proteico, pH próximo à neutralidade, alta atividade da água e a presença de enzimas proteolíticas são fatores que intensificam o processo de degradação (LIU et al., 2010).

A deterioração se inicia rapidamente após a morte do animal (GHALY et al., 2010), em função de uma combinação complexa de propriedades físicas, químicas, bioquímicas e processos microbiológicos (NETAM et al., 2018), resultando em oxidação lipídica, degradação das proteínas e perda de outros nutrientes valiosos (ADDIS, 2015). Além disso, durante o processo de deterioração, vários componentes são decompostos liberando substâncias que causam uma série de mudanças indesejáveis no sabor, cor e textura da carne (GHALY et al., 2010).

Estas alterações consistem em processos químicos, físico-químicos e bioquímicos, deterioração bacteriana, degradação de proteínas e decomposição de ATP, que aceleram a perda de frescor, destroem a estrutura muscular e degradam a qualidade do peixe (CHENG et al., 2014). Em vista disso, é fundamental a utilização de técnicas de conservação.

2.3 Conservação do pescado pelo congelamento

O processo de preservação pelo congelamento não é exclusivo da atualidade. Na idade da pedra nossos antepassados primitivos estocavam a caça em meio ao gelo para consumo posterior (ORDOÑEZ, 2005), assim como os habitantes de clima ártico e esquimós usavam da mesma técnica (LAWRIE, 2005).

O congelamento se caracteriza por ser o resultado da mudança de estado, do líquido para o sólido, ou seja, uma técnica de conservação que trabalha com a remoção do calor (GONÇALVES, 2011). A exposição dos produtos à baixas temperaturas, provoca a redução das atividades químicas, enzimáticas e microbiológicas, o que resulta em um prolongamento na vida de prateleira do pescado e processados (NETAM et al., 2018; SOARES et al., 2016).

Além de reduzir as atividades deteriorantes, o congelamento mantém as características organolépticas e nutritivas da carne semelhantes àquelas antes do congelamento, contanto que os alimentos sejam processados, congelados, armazenados e manipulados de forma adequada (ORDOÑEZ, 2005). Contudo, mesmo que não expressivamente, os parâmetros da textura, cor, sabor, atividade microbiana e valor nutricional ainda são afetados de forma indireta pelo congelamento, armazenamento congelado e posterior descongelamento (LEYGONIE et al., 2012).

Os alimentos são basicamente compostos por água, proteína, gordura, carboidratos, cinzas (CARSON et al., 2016), cloreto de sódio e minerais (SMAN, 2008). Desta mistura, dependendo da espécie de pescado, a fração da água pode corresponder entre 60% a 90%, onde a maior parte será convertida em gelo durante o processo de congelamento (GONÇALVES, 2011).

A água é uma molécula dipolar e, como tal, é atraída por espécies carregadas, como as proteínas, sendo que parte da água nas células musculares está intimamente ligada às proteínas (HUFF-LONERGAN & LONERGAN, 2005). Assim a água é encontrada dentro das miofibrilas, entre as miofibrilas e sarcolema, entre as células musculares e entre grupos de células musculares (HUFF-LONERGAN & LONERGAN, 2005).

Analisando de forma macroscópica quando o alimento atinge graus abaixo do ponto de congelamento, a água retida no músculo pode se apresentar na forma líquida, sólida (gelo) ou água “ligada” (que hidrata os biopolímeros) (SMAN, 2008). Durante a fase sólida e líquida, a temperatura é a condição mais crítica em função da condutividade térmica, dependente dos principais componentes alimentares (CARSON et al., 2016). O congelamento inicia-se com a redução da temperatura até o ponto de congelamento da água; passa para um período de estabilidade térmica onde metade da porção da água se solidifica, a temperatura cai rapidamente e a água resultante é finalmente solidificada (GONÇALVES, 2011).

Do ponto de vista microscópico, durante a formação da fase sólida (também chamada de cristalização) ocorrem duas fases distintas: 1) nucleação, que é o ponto de partida da solidificação, e 2) formação dos cristais (LI et al., 2018). A nucleação inicia-se a partir de um núcleo chamado cristal mãe (SPOTO & MIGUEL, 2006). Esse pequeno cristal de gelo formado pela associação de moléculas de água, caracteriza-se por ser ordenado, estável e estar em equilíbrio com a fase líquida; ele forma-se sobre partículas estranhas suspensas, sólidos insolúveis, superfície de películas ou paredes (ORDOÑEZ, 2005). Na fase de formação de cristais, moléculas adjacentes de água contidas no meio vão se sobrepondo de forma organizada uma sobre as outras, fazendo com que os cristais aumentem de tamanho (SPOTO & MIGUEL, 2006).

A velocidade de congelamento é dependente do volume total de carne, propriedades térmicas (calor, condutividade térmica), temperatura de refrigeração do ambiente e método de aplicação (LAWRIE, 2005; ZHU et al., 2019), sendo sempre mais lenta no centro e mais rápida sob a superfície da carne, devido ao contato do meio refrigerado (GONÇALVES, 2011).

Segundo (LI, et al., 2019) o processo de formação de cristais de gelo afeta negativamente a qualidade da carne. Os cristais grandes danificam a estrutura celular

(BRONFENBRENER & ABURABEEA, 2015) destruindo a ultraestrutura muscular causando a despolimerização da parede celular, a ruptura da membrana celular, a alteração da pressão osmótica etc. (LI et al., 2018). Esse comportamento influencia principalmente a fração de água da carne (LEYGONIE et al., 2012). Os parâmetros influenciados pela umidade, como pH, sensibilidade, capacidade de retenção de água, etc., são todos alterados durante o congelamento. (LI et al., 2019)

Os métodos que utilizam baixas temperaturas são mais indicados para o armazenamento de alimentos por períodos relativamente longos, motivo pelo qual são os mais presentes na indústria de alimentos (ZHU et al., 2019). Porém, é comum que durante o período de armazenamento o contato direto com temperaturas muito frias e ocasionais flutuações de temperatura causem perda de umidade por sublimação e secagem na superfície da carne, ocasionando um efeito chamado “queima por congelamento” (SOARES et al., 2016).

Além disso, o congelamento e armazenamento congelado também influenciam na textura, cor, sabor e valor nutricional da carne (LEYGONIE et al., 2012), sendo necessárias análises para o controle da intensidade de deterioração da carne. Como forma de evitar e reduzir esses efeitos nos produtos congelados, pode ser empregado, após o congelamento, um método denominado glaciamento.

2.4 Glaciamento

O glaciamento caracteriza-se por ser um revestimento de gelo que recobre a superfície do produto já congelado (GONÇALVES, 2011). O processo consiste em criar um revestimento de água na superfície do produto congelado, pulverizando ou mergulhando o produto em água, reduzindo a taxa de oxidação ao excluir o ar da superfície do produto (SOARES et al., 2013). Além disso, minimiza a perda de qualidade resultante das baixas temperaturas de armazenamento, transporte incorreto, taxa de congelamento e descongelamento e flutuações de temperatura (SOARES et al., 2016).

A técnica é realizada com a carne congelada (abaixo de -18°C) sendo imergida na água (de 1 a 3°C), contendo ou não aditivos, durante 5 a 10 segundos (OGAWA & MAIA, 1999). Este é um dos processos mais utilizados nas indústrias de beneficiamento do pescado, por ser o menos dispendioso (SOARES et al., 2017).

Geralmente, a solução de revestimento do glaciamento consiste em água, podendo ser adicionados aditivos com função espessante e antioxidante, como os fosfatos (GONÇALVES,

2011; NETAM et al., 2018). Contudo, tem-se aumentado o interesse em conservantes naturais, fornecendo a oportunidade para a “rotulagem verde” e, conseqüentemente, atraindo consumidores interessados neste tipo de produtos (ZHOU et al., 2010). Segundo Ramezani et al. (2015), conservantes naturais que prolonguem o prazo de validade e que possuam atividade antioxidante e antibacteriana são os mais desejáveis.

2.5 Quitosana

A quitosana, polímero derivado da quitina, é uma alternativa em estudo com aditivos para o revestimento do pescado. A quitina é um dos polímeros mais abundantes na natureza, podendo ser encontrada no exoesqueleto de insetos, crustáceos e paredes celulares de fungos (CHEUNG et al., 2015). Quando a quitina é desacetilada, torna-se solúvel em meio aquoso ácido, passando a ser denominada quitosana (RINAUDO, 2006) tornando-se altamente viscosa quando diluída, o que causa grandes restrições na aplicação da quitosana (ZOU et al., 2016). A quitosana possui uma grande diversidade de estrutura química, resultante das variações do peso molecular (baixo, médio ou alto peso molecular), e pelo grau de desacetilação que vai da quitina (quitosana acetilada) à quitosana (quitina parcialmente desacetilada) (VERLEE et al., 2017).

A quitosana é um biomaterial versátil por suas características de bioatividade, não toxicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa alergenicidade, além de possuir alta área de superfície, porosidade, resistência à tração e condutividade (CHEUNG et al., 2015). A quitosana possui um amplo espectro de inibição não apenas para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, mas também contra fungos (VERLEE et al., 2017), podendo ser bacteriostática ou bactericida dependendo do pH e do grau de desacetilação (LI et al., 2016).

Todas essas características tornam a quitosana uma forte candidata como aditivo aos revestimentos alimentícios (SOARES et al., 2017). Soares et al. (2013) demonstraram que a adição de quitosana à solução de congelamento em filés de salmão (*Salmo salar*) armazenados durante 14 semanas foi eficiente contra a desidratação e perda de cobertura. O armazenamento congelado durante 6 meses de filés de salmão glaciados com adição de quitosana resultou em um impacto menor na coloração dos filés e proporcionou uma proteção contra a contaminação microbiológica durante o período de armazenamento e o descongelamento (SOARES et al., 2015). Além disso, as características organolépticas dos filés de salmão glaciados com quitosana e armazenados por 6 meses não foram afetadas, inclusive apresentaram benefícios na cor e aparência dos filés (SOARES et al., 2017).

Diversos outros estudos utilizando quitosana na solução de revestimento do pescado foram realizados e confirmaram sua eficiência no prolongamento da qualidade dos filés durante o armazenamento (FAN et al., 2009; OJAGH et al., 2010; OLIVEIRA, 2013; SOARES et al., 2016; SHI et al., 2019).

2.6 Análises de qualidade do pescado

Devido à alta perecibilidade do pescado, os cuidados necessários durante o processamento e armazenamento destes produtos devem ser maiores. Durante a deterioração, diversas atividades e reações resultam na variação dos principais componentes do músculo, como proteínas, água, lipídios, etc. (HERRERO, 2008). Portanto, é fundamental a compreensão dos mecanismos de alterações, métodos de análises e os fatores que afetam a qualidade dos produtos durante a estocagem.

2.6.1 pH

O pH é a mensuração da quantidade de íons de hidrogênio (H^+) presentes em uma solução (LEYGONIE et al., 2012). É um dos parâmetros de análise da carne mais importantes, pois pode ocasionar alterações significativas na qualidade muscular durante o processamento (PAREDI et al., 2012), influenciando na oxidação da mioglobina, lipídios e proteínas (LEYGONIE et al. 2011), além de afetar o crescimento e mortalidade de microrganismos e possuir a capacidade de acelerar ou retardar os processos de degradação da carne (ANDRÉS-BELLO et al., 2013).

Geralmente, peixes vivos apresentam o pH logo acima de 7, porém, este valor decresce acentuadamente após o abate, passando para entre 6 e 6,8 na maioria das espécies (KHALAFALLA et al., 2015). Segundo a Instrução Normativa nº 21, de 31 de maio de 2017, do Ministro da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o pH da porção muscular em peixes congelados deve ser no máximo de 7, excluídas as espécies das famílias Gadidae e Merluccidae, cujo o valor deve ser no máximo de 7,20 (BRASIL, 2017).

Observando os grandes impactos causados pelo pH na carne, a determinação analítica deste parâmetro tem por objetivo produzir alimentos seguros de alta qualidade e com valor agregado (ANDRÉS-BELLO et al., 2013).

2.6.2 Cor

A cor é um dos principais pontos de julgamento do consumidor e um importante parâmetro qualidade da carne (PURSLOW et al., 2020), uma vez que é um dos critérios que os consumidores podem avaliar antes da compra (MEYNIER & LAMBALLERIE, 2016). A cor e sua estabilidade determinam a intenção de compra e a comercialização de carne fresca, sendo um fator decisivo na competitividade econômica das indústrias (NEETHLING et al., 2017).

A determinação da coloração é dada por propriedades químicas e físicas (KONO, KON & SAGARA, 2017). Pode ser afetada de forma irreversível (GUYON et al., 2016) por inúmeros fatores exógenos e endógenos, geralmente inter-relacionado de natureza específica, espécie e tipo de músculo (NEETHLING et al., 2017).

A mioglobina é uma proteína sarcoplasmática solúvel em água que dá cor à carne, servindo também como reservatório e transportador de oxigênio para as mitocôndrias (RAMANATHAN & MANCINI, 2018). Contudo, a mioglobina pode causar alterações na coloração da carne, dependendo do seu estado bioquímico e, especialmente, seu grau de oxidação ou redução (PURSLOW et al., 2020), sendo estas variáveis afetadas por fatores como: estresse *ante mortem*, pH e temperatura de armazenamento (NEETHLING et al., 2017). Em peixes de músculo branco há uma quantidade reduzida de mioglobina, o que resulta em uma degradação do tecido muscular mais rápida do que no músculo vermelho (JEREMIAH, 2019).

Por ser um parâmetro que afeta, não somente a qualidade, mas também a aceitação do produto pelo consumidor (OCAÑO-HIGUERA et al., 2011), a avaliação da cor é fundamental para um produto final de qualidade e condizente com o gosto do cliente.

A cor é uma característica especificada pela distribuição geométrica e espacial de três elementos: fonte de luz, refletividade da amostra e sensibilidade visual do observador (MENDOZA et al., 2006). Por serem atributos subjetivos que existem apenas nos olhos e no cérebro do observador é necessário a utilização de métodos de análise padronizados (GIROLAMI et al., 2012). A avaliação instrumental para a mensuração da cor gera uma padronização maior da medição da cor, além de ser menos dispendiosa e mais rápida (GARCÍA-ESTEBAN et al., 2013). Um dos métodos mais frequentemente utilizado é CIE L*, a*, b* (GIROLAMI et al., 2012). O modelo foi desenvolvido pela Commission International de l'éclairage (CIE) em 1976, onde a cor consiste em um componente acromática de luminosidade (L*) (PURSLOW et al., 2020) e dois componentes cromáticos: um de verde para vermelho (a*) e outro de azul para amarelo (b*) (YAM & PAPADAKIS, 2004).

2.6.3 Análises microbiológicas

A carne de é um dos produtos mais perecíveis (KAMRUZZAMAN & YOSHIO, 2015) e propenso ao desenvolvimento de patógenos dentre todos os alimentos (GUYON et al., 2016), podendo ocorrer deterioração microbiana durante o abate, processamento e armazenamento (SOHAIB et al., 2016). Sua alta atividade da água torna a carne um ambiente ideal para a proliferação e desenvolvimento de diferentes microrganismos deteriorantes (AMIT et al., 2017), em especial os patógenos de origem alimentar comuns (ZHOU et al., 2010). Além disso, os peixes possuem um tecido conjuntivo frouxo que separa a carne em pequenos blocos musculares, o que facilita a invasão de bactérias (WU et al., 2019).

A contaminação inicial do pescado é dependente de vários fatores, como espécie, hábito alimentar, embalagem, área de captura, temperatura de abate, armazenamento, embalagem e composição dos nutrientes disponíveis (ZOTTA et al., 2019). O crescimento de microrganismos resulta mudanças permanentes na carne (SOHAIB et al., 2016), tais como decomposição química, geração de metabólitos, alterações sensoriais, descoloração, desenvolvimento de odores, produção de lodo e alterações no paladar (SUN, 2015).

Em peixes existem diversos organismos especiais de deterioração que sobrevivem em diferentes temperaturas de armazenamento, embalagens e composições inerentes aos nutrientes disponíveis (WU et al., 2019).

Segundo Ogawa e Maia (1999), *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* dos Grupos I e II, *Pseudomonas* dos Grupos III e IV e *Vibrios* constituem a microbiota do peixe congelado. O limite de contagem de bactérias aeróbicas mesófilas presentes em peixes é de 7 log UFC/g (HERNÁNDEZ et al., 2009). Assim, se o número de bactérias ultrapassar o valor limiar, as bactérias se tornarão patogênicas (ELLIS & GOODACRE, 2001), sendo fundamental a utilização de métodos de análises microbianas para garantir que a carne cumpra com os padrões e diretrizes obrigatórios (HERRERO, 2008).

A maioria das bactérias cresce otimamente em pH próximo a neutralidade, embora também possam crescer sem muita dificuldade no intervalo de 5,0 a 8,0; porém abaixo de 5 seu crescimento é claramente inibido e é raro se multiplicarem em pH 4,5 (ORDOÑEZ, 2005). Referente à temperatura, a maioria é sensível a baixas temperaturas, provavelmente devido aos danos causados na membrana das células e a desnaturação do DNA que ocorrem durante o congelamento e posterior descongelamento (PAVLOV, 2007). Contudo, algumas bactérias psicotróficas prevalecem sob condições de armazenamento congelado, como *Pseudomonas*

spp. e *Shewanella* spp (ZOTTA et al., 2019). A principal preocupação nesses casos é que o patógeno poderia sobreviver e começar a crescer no produto descongelado (PAVLOV, 2007).

Existem vários meios para retardar ou controlar a incidência de deterioração causada por esses microrganismos patogênicos em sistemas à base de carnes, mas todos esses processos envolvem ingredientes artificiais que podem ter um efeito deletério na saúde do consumidor (SOHAIB et al., 2016).

2.6.4 Oxidação lipídica

A carne é um produto rico em lipídios, e dependendo do tipo de músculo, pode apresentar diferentes quantidades e proporções (GUYON et al., 2016). Em peixes, a quantidade de lipídios no músculo depende do tipo de carne que apresentam, peixes de carne vermelha apresentam alto conteúdo lipídico, já peixes de carne branca possuem baixo teor de lipídios (OGAWA e MAIA, 1999). Segundo Ribeiro e Seravalli (2007), os óleos e gorduras constituem um dos principais componentes de todas as células vivas, exercendo as funções de suprir a necessidade de calorías e ácidos graxos essenciais e transportar vitaminas lipossolúveis para o interior das células. Além disso, os lipídios apresentam grande importância comercial, pois influenciam no sabor e aroma das carnes, contribuem para a maciez, suculência (AMARAL et al., 2018) e na nutrição (MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2017).

Os peixes caracterizam-se por apresentarem grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (ARAÚJO, 2015), na proporção de aproximadamente 80% (OSMANKILINCCEKER et al., 2009), embora o teor de óleo ou gordura vária conforme a disponibilidade de alimento, tipo, idade e estação do ano (ARAÚJO, 2015). Diferente dos mamíferos, onde é incomum a presença de mais de duas ligações duplas por molécula de ácido graxo, os peixes apresentam vários ácidos graxos com cinco ou seis ligações duplas, incluindo até 40% dos ácidos graxos de cadeia longa, sendo altamente insaturados (CESSI & PERISI, 2016) tornando-o mais sensível à oxidação (NETAM *et al.*, 2018).

A oxidação lipídica é uma grande preocupação para a indústria de alimentos, uma vez que contribui para a deterioração da carne (CESSI e PERISI, 2016; AMARAL et al., 2018; MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2017) afetando parâmetros sensoriais como produção de odor e sabor desagradável e alterações na coloração (GUYON et al., 2016), redução da vida de prateleira, redução de valores nutricionais e possível produção de compostos nocivos à saúde (CESSI e PERISI, 2016; MUHLISIN et al., 2016). A oxidação inicia-se imediatamente após o abate, perdurando durante o armazenamento e processamento, ocorrendo na presença de

oxigênio e sendo induzida por luz, calor, fotosensibilizadores, metais e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2017).

Um dos principais processos do mecanismo de oxidação em carnes é a auto-oxidação, ocorrendo em três fases simultâneas: iniciação, propagação e terminação (MUHLISIN et al., 2016). As duas primeiras fases levam a formação de radicais, sendo rapidamente transformados em compostos não radicais, formando produtos primários da oxidação lipídica, como dienos conjugados e hidroperóxidos (GUYON et al., 2016). Estes compostos decompõem-se ainda mais formando produtos de oxidação secundária, como pentanal, hexanal e malonaldeído (MARIUTTI e BRAGAGNOLO, 2017).

Segundo Mariutti e Bragagnolo (2017), os compostos primários (alto peso molecular) alteram a cor e viscosidade do produto enquanto os produtos da oxidação secundários (de baixo peso molecular) são responsáveis pelo sabor rançoso. Os produtos da oxidação lipídica podem ser mensurados através da avaliação dos compostos formados como as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), sendo o mais utilizado para produtos cárneos (GUYON et al., 2016).

Existem vários fatores intrínsecos no músculo que tem a finalidade de impedir a oxidação lipídica, contudo, eles geralmente são perdidos após a transformação do músculo em carne, durante o processamento, manuseio e armazenamento (AMARAL et al., 2018). Segundo Leygonie et al. (2012) reações químicas também podem ocorrer durante o armazenamento congelado, iniciando a peroxidação na carne. Uma forma de reduzir a oxidação é a utilização de antioxidantes (DEVATKAL e NAVEENA, 2010; AMARA et al., 2018) preservando assim, a fração lipídica da carne (CESSI e PERISI, 2016).

2.6.5 Análise sensorial

Um dos requisitos fundamentais para consumidores é a qualidade do produto, e tem-se observado um crescente interesse em métodos de avaliação com o objetivo de garantir níveis aceitáveis de qualidade (JIA et al., 2018). Um dos aspectos mais importantes para a avaliação da qualidade em peixes é o frescor, que está diretamente ligado à aparência, textura e sabor (CHENG et al., 2014).

A avaliação sensorial é a ciência que evoca, mede, analisa e interpreta reações às características dos alimentos percebidas pelos sentidos (HERRERO, 2008).

Nas últimas décadas, a avaliação do consumidor tem sido extensivamente utilizada para determinar a aceitabilidade e a qualidade dos produtos, sendo utilizados testes para a determinação dos gostos dos clientes (TORRICO et al., 2018).

Diversos procedimentos são utilizados para a determinação do frescor, envolvendo a visão (aparência), tato (firmeza e textura) e o olfato (odor) (ALIMELLI et al., 2007). O teste de aceitabilidade é um dos mais empregados, pois através da classificação hedônica fornece informações sobre a magnitude da aceitabilidade do produto (TORRICO et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com três concentrações de quitosana (0,75, 1,50 e 2,25%) e um tratamento controle (filés congelados somente com água), em um total de quatro tratamentos, com 52 filés por tratamento.

Em cada tempo de armazenamento sob congelamento (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias), foram retirados três filés por tratamento para análises de pH, cor e oxidação lipídica, e um filé para caracterização microbiológica. Após 120 dias de armazenamento, foi realizada a análise sensorial (10 filés por tratamento), e após 150 dias de estocagem, foi realizada a análise de composição centesimal (14 filés por tratamento).

3.2 Obtenção dos filés

Foram utilizadas 104 tilápias do Nilo, provenientes do cultivo em viveiros escavados na cidade de Dourados-MS, com peso médio de 700 g. Após a despesca, as tilápias foram insensibilizadas por secção da medula espinhal e acondicionadas em caixas de isopor com gelo, sendo então transportadas até o Laboratório de Carnes da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

Os peixes foram submetidos à descamação, evisceração, retirada do couro e filetagem manual. Os filés foram lavados em água clorada e submetidos ao congelamento individual (-18°C) durante 20 horas, sendo então realizado o processo de glaciamento com diferentes concentrações de quitosana.

3.3 Preparo das soluções de glaciamento

A quitosana foi obtida a partir da empresa Polymar, com grau de desacetilação de 85%. As diferentes concentrações de quitosana (0,75, 1,50 e 2,25%) foram preparadas em solução de ácido acético a 1%, sendo submetidas a agitação constante em placa de aquecimento a 45°C, até completa dissolução (FIGURA 1). Após o resfriamento, as soluções foram armazenadas no refrigerador a (5±2°C), até o momento do glaciamento. Antes de iniciar o glaciamento, as

soluções foram resfriadas até a temperatura de 1°C e mantidas nesta temperatura através da utilização de gelo em volta do frasco



FIGURA 1. Soluções de glaciamento com diferentes concentrações de quitosana.

3.4 Aplicação das soluções de glaciamento nos filés

Após o congelamento, os filés foram pesados individualmente e submetidos ao processo de glaciamento, que consistiu na imersão dos filés congelados nas diferentes soluções de glaciamento entre 1 e 3°C por 10 segundos. O processo de glaciamento foi realizado individualmente para cada filé (FIGURA 2).

Para os filés do tratamento controle, o glaciamento foi feito somente em água, sendo realizada a imersão dos filés por duas vezes na água entre 1 e 3°C, por 10 segundos.

Todos os filés foram levados ao freezer por 5 minutos e posteriormente pesados novamente para verificação da incorporação do glaciamento.

Os filés de cada tratamento foram embalados individualmente em sacos plásticos identificados e armazenados sob congelamento em freezer (-18°C). Para realização das análises, as amostras foram descongeladas sob refrigeração ($5\pm 2^\circ\text{C}$) por cerca de 16 horas.

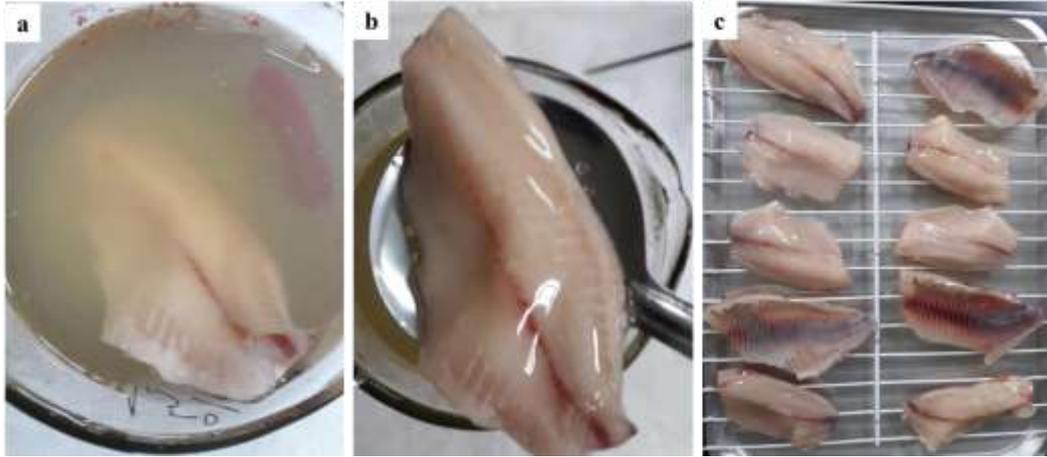


FIGURA 2. Processo de aplicação do revestimento a) Imersão do filé na solução de revestimento; b) escorrendo os excessos de solução; c) filés congelados.

3.5 Incorporação do glaciamento

Após o glaciamento, a porcentagem de incorporação do glaciamento foi determinada pela seguinte equação:

$$\text{Incorporação do revestimento (\%)} = \frac{P_{gi} - P_f}{P_f} \times 100$$

Onde: P_f = peso do filé antes do glaciamento

P_{gi} = peso do filé após o glaciamento inicial

3.6 pH

O pH foi mensurado em triplicata por filé, em três filés por tratamento e por tempo de armazenagem (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias), utilizando um potenciômetro digital portátil (Texto modelo 205), com eletrodo de inserção para carnes (FIGURA 3). Também foi realizada a análise do pH das soluções, em triplicata.

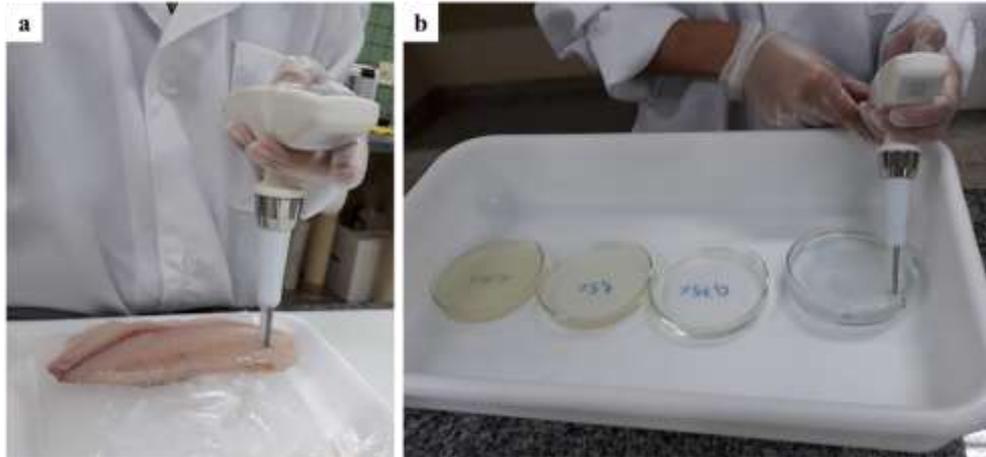


FIGURA 3. Análise de pH com potenciômetro digital. a) análise pH no filé descongelado, b) análise do pH nas soluções de revestimento.

3.7 Cor

A coloração dos filés foi realizada na face ventral do filé (FIGURA 4), tomando seis pontos diferentes de leitura por amostra, em três filés por tratamento e por tempo de armazenagem (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias). Os valores de luminosidade (L^*) foram avaliados utilizando um colorímetro (Minolta® modelo CR-10), sob ângulo de 90° , a temperatura ambiente, em que L^* definiu a luminosidade ($L^*=0$ preto e $L^*=100$ branco), croma a^* (componente vermelho-verde) e croma b^* (componente amarelo-azul).

A coloração das soluções de glaciamento também foi realizada, em triplicata por solução.

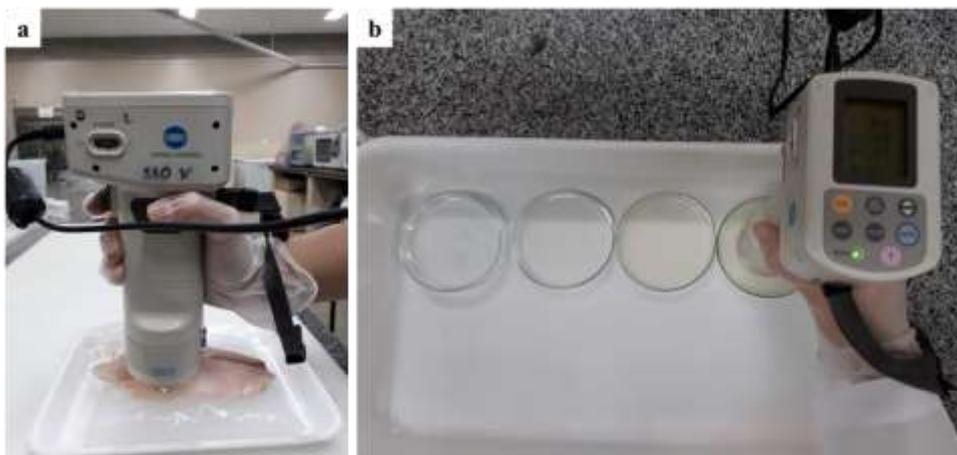


FIGURA 4. Análise de cor. a) análise de cor no filé descongelado; b) análise de cor nas soluções de revestimento.

3.8 Análise microbiológica

Foi avaliada a presença de bactérias heterotróficas nos filés de tilápia. Para tanto, em por tempo de armazenagem (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias), um filé por tratamento foi analisado em triplicata. Cada amostra foi homogeneizada por 90 segundos em um Stomacher (Lab-Blender 400, PBI, Milão, Itália) e as diluições foram preparadas em solução salina estéril. Após, as diluições foram plaqueadas em placas contendo ágar para contagem (PCA), incubados por 24 h a 37°C (SERIO et al., 2018). Após este tempo os microrganismos foram contados.

3.9 Composição Centesimal

As análises foram realizadas em duplicata, em 14 filés por tratamento, após 120 dias de armazenamento dos filés. Os teores de umidade, cinzas e lipídeos foram determinados conforme metodologia da AOAC (2005). Os teores de proteína bruta foram determinados pelo método semi-micro Kjeldahl, descrito por Silva e Queiroz (2002).

3.10 Oxidação lipídica

A oxidação lipídica foi avaliada em cada tempo de armazenagem (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias), em três filés por tratamento, em triplicata. A oxidação lipídica foi avaliada através da determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), através de metodologia proposta por Wrolstad et al. (2005) (FIGURA 5). Para tanto, uma amostra de 5 g foi misturada com 10 ml de ácido tricloroacético a 10% (p / v) e homogeneizada em um processador. Após filtração, foi adicionado 2 mL do filtrado a 2 mL de ácido tiobarbitúrico aquoso 0,02 M num tubo de ensaio. Os tubos de ensaio foram incubados a 100°C durante 15 min; em seguida, a absorbância foi medida à 532 nm em espectrofotômetro. O valor de TBARS foi calculado a partir da curva padrão e expresso em mg de malondialdeído / kg de peixe.

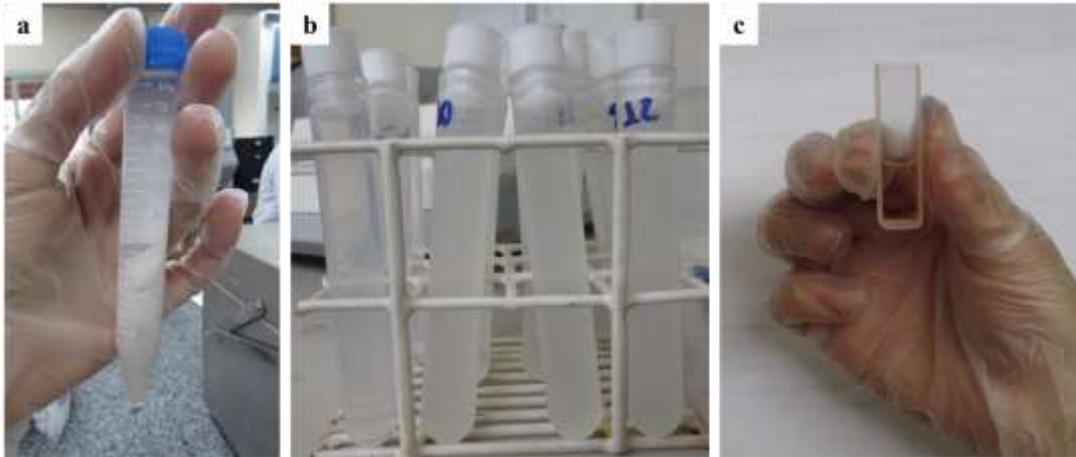


FIGURA 5. Processo de análise de TBARS a) Resultado da extração lipídica do filé; b) amostra filtrada e c) amostra pronta para leitura do espectrofotômetro.

3.11 Perfil sensorial

A análise do perfil sensorial dos filés foi realizada após 120 dias de armazenamento dos filés, com 100 provadores não treinados, sendo que as amostras foram oferecidas aos julgadores sob luz branca.

Para as avaliações sensoriais dos filés, os mesmos foram inicialmente descongelados sob refrigeração ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$) por cerca de 16 horas. Os filés isentos de aparas da filetagem foram cortados em cubos (± 3 g), acondicionados em papel alumínio e levados ao forno à temperatura de 180°C , por dez minutos (FIGURA 6). Foi oferecido um cubo de filé de cada tratamento por provador, utilizando material descartável, isento de odor estranho.



FIGURA 6. Filés controle e contendo quitosana após o forneamento.

Juntamente com a ficha de análise sensorial, foram oferecidos um copo contendo água e duas bolachas água e sal (FIGURA 7), e os julgadores foram orientados a comer um pedaço de bolacha e tomar água entre as amostras.



FIGURA 7. Organização dos materiais disponibilizados para cada provador.

Foram realizadas dez sessões, cada uma com dez consumidores diferentes. Cada consumidor avaliou quatro amostras codificadas com um código aleatório de três dígitos por sessão, correspondente aos diferentes tratamentos. As amostras foram servidas em um delineamento randomizado para evitar efeitos de ordem e transposição (MACFIE et al., 1989). Os consumidores foram solicitados a provar e avaliar cada amostra sobre a aceitabilidade de quatro atributos (cor, textura, suculência e aceitabilidade geral) usando uma escala de 9 pontos, variando de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei extremamente). Não foi incluído a escala média, tal como descrito por Font i Furnols et al. (2008).

3.12 Análise estatística

Os resultados relativos às análises dos filés glaciados com as diferentes soluções de quitosana, em cada tempo de armazenamento (0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias), foram submetidos à análise de regressão a 5% de significância, pelo procedimento Simple Regression do software STATISTICA 7.1® (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Para comparação dos tratamentos contendo quitosana com o controle, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) e em caso de diferenças ($P < 0,05$) foi aplicado o Teste de Dunnet.

Os dados foram reportados como média \pm erro padrão da média.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise das soluções de glaciamento

Na caracterização das soluções de glaciamento (TABELA 1), pode-se observar um aumento linear nos valores de pH e intensidade de amarelo (croma b*), conforme acréscimo da concentração de quitosana nas soluções. Por outro lado, a luminosidade e a intensidade de vermelho (croma a*) diminuiriam linearmente conforme o aumento da inclusão de quitosana nas soluções. Para os parâmetros pH, croma a* e b*, todas as soluções contendo quitosana apresentaram médias diferentes do controle.

TABELA 1. Valores de pH e coloração de soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.

Parâmetros	Controle	Concentração de quitosana na solução de glaciamento (%)			Valor de P
		0,75	1,50	2,25	
pH	6,61±0,04	4,39±0,02*	4,73±0,00*	5,02±0,02*	<0,0001 ^A
L*	83,42±1,45	85,77±0,10	84,49±0,07	81,07±0,38	<0,0001 ^B
a*	-2,03±0,03	-1,86±0,02*	-2,29±0,03*	-2,58±0,03*	<0,0001 ^C
b*	0,05±0,09	1,84±0,15*	5,25±0,34*	9,23±0,53*	<0,0001 ^D

Dados expressos em média ± erro padrão. Médias diferem ($P < 0,05$) do tratamento controle pelo teste de Dunnett. ^ARegressão linear entre as diferentes concentrações de quitosana $y = 0,3167x + 4,0778$, $R^2 = 0,9982$. ^BEquação da reta: $y = -2,35x + 88,473$, $R^2 = 0,9354$. ^CEquação da reta: $y = -0,36x - 1,5233$, $R^2 = 0,9876$. ^DEquação da reta: $y = 3,6933x - 1,9489$, $R^2 = 0,998$.

O pH mais baixo das soluções contendo quitosana provavelmente foi resultado do ácido ascórbico a 1% utilizado para a diluição, visto que a quitosana somente é solúvel em meio aquoso ácido (RINAUDO, 2006). Com o aumento da concentração de quitosana, o pH foi elevando-se, indicando um equilíbrio entre o ácido e quantidade de quitosana, conseqüentemente aumentando o pH. Conforme Hamdine et al. (2005), dependendo das concentrações e tipo de ácido utilizado na diluição, a quitosana pode afetar diretamente o pH da solução.

Em relação a coloração a quitosana quando diluída pode apresentar coloração da solução de amarelada a límpida. Após a diluição total, as soluções com maiores concentrações de quitosana apresentaram maior intensidade de amarelo. Esse efeito pode ter sido resultado do grau de desacetilação da quitosana utilizada, que foi de 85%. Segundo Verlee et al. (2017), alterações no peso molecular e no grau de desacetilação resultam em alterações na estrutura química e física, gerando uma grande variedade de amostras de quitosana disponíveis no mercado. A utilização de produtos degradados da quitosana, como os oligossacarídeos, que

possuem cadeias menores e conseqüentemente apresentam melhor solubilidade e menor viscosidade em condições fisiológicas, pode ser uma alternativa para o uso da quitosana em soluções de revestimento (ZOU et al., 2016).

4.2 Incorporação do revestimento

Para a incorporação do revestimento (% de glaciamento) nos filés (FIGURA 8), observou-se um aumento linear de 9,79 a 23,92%, conforme aumento dos níveis de inclusão da quitosana na solução.

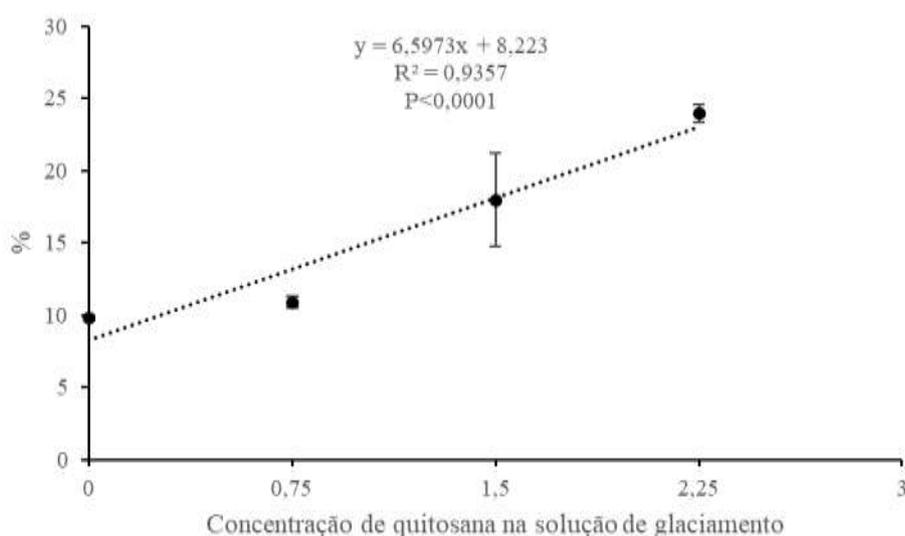


FIGURA 8. Incorporação do revestimento em de filés de tilápia glaciados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento. Barras verticais indicam o erro padrão da média.

Esse comportamento provavelmente foi causado devido à alta viscosidade que as soluções com maior concentração de quitosana apresentaram, visto que com o aumento dos níveis de quitosana, as soluções se tornaram mais viscosas. Os materiais intermediários entre líquido e sólido são compostas por proteínas, polissacarídeos ou uma combinação dos dois, e resultam da complexa interação entre solventes e a rede molecular (OAKENFULL et al., 1997). Segundo Sathivel et al. (2007), soluções de quitosana apresentam um característico comportamento macromolecular, onde as moléculas de polímeros entrelaçam-se mutuamente. Este emaranhado de moléculas é o responsável por conferir o caráter viscoelástico da solução (OAKENFULL et al., 1997). Além disso, comprimentos mais longos das cadeias da quitosana resultam em impacto na solubilidade e maior viscosidade em condições fisiológicas (ZOU et al., 2016), conseqüentemente, dificultando o processo de aplicação do revestimento e de

escoamento dos excessos. O aumento da viscosidade é diretamente proporcional à concentração de quitosana, e garante uma adesão superior entre filé e solução, pois possui maior resistência ao movimento, gerando um aumentando na espessura final do revestimento (SOARES et al., 2016).

Porém, a legislação brasileira estabelece que o limite máximo para a quantidade de glaciamento é de 12%, com ou sem aditivos, sobre a superfície do peixe (BRASIL, 2017). Assim, apenas a concentração de 0,75%, apresentando uma incorporação de 10,89%, e o controle estariam aptas legalmente para comercialização, sendo necessário estudo de novas metodologias de aplicação do revestimento ou alterações no processo de diluição para tentar viabilizar os demais tratamentos.

4.3 pH

Na análise do pH dos filés conforme o tempo de armazenamento (TABELA 2), pode-se observar um aumento linear do pH dos filés, conforme aumento das concentrações de quitosana, somente após 30 dias de estocagem. Ao comparar os tratamentos contendo quitosana com o controle, somente nos tempos 30 e 60 dias as médias de pH dos filés contendo quitosana foram diferentes ($P < 0,05$) do controle. Nos demais tempos de armazenamento, não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) para o pH dos filés.

TABELA 2. Valores de pH de filés de tilápia glaciados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.

Tempo (dias)	Concentração de quitosana na solução de glaciamento (%)				Valor de P
	Controle	0,75	1,50	2,25	
0	6,39±0,15	6,35±0,05	6,22±0,03	6,31±0,12	0,7520
30	6,12±0,02	5,80±0,06*	5,92±0,01*	6,00±0,02	0,0064 ^A
60	6,13±0,07	5,86±0,02*	5,95±0,03*	5,89±0,02*	0,5103
90	6,20±0,01	6,13±0,15	5,97±0,07	5,99±0,05	0,3537
150	6,18±0,11	6,09±0,05	6,12±0,05	6,04±0,03	0,4070
180	6,08±0,07	6,13±0,06	6,16±0,21	6,10±0,04	0,8643

Dados expressos em média ± erro padrão. *Médias diferem ($P < 0,05$) do tratamento controle pelo teste de Dunnet.

^ARegressão linear entre as diferentes concentrações de quitosana. $y = 0,0967x + 5,7148$, $R^2 = 0,9844$

A redução do pH após os 30 dias pode ter relação direta com a solução de revestimento. Esse efeito talvez esteja relacionado à migração do revestimento, que possui pH ácido, para o músculo do peixe (SOARES et al., 2013). Isso explica o fato de apenas as soluções com concentração de 0,75 e 1,50% de quitosana terem sido mais baixas, indicando que os filés incorporaram as características das soluções. Contudo, após 60 dias, foi observado uma redução

expressiva do efeito da quitosana sobre o pH, e isso possivelmente foi devido à quitosana ter alcançado seu grau máximo de interação com o filé, resultando em uma estabilidade entre solução e filé.

Nos meses seguintes, o pH dos filés glaciados com quitosana foi aumentando gradativamente, igualando-se às médias dos filés do tratamento controle, um efeito comum resultante da ação do congelamento e descongelamento (SATHIVEL et al., 2007).

A legislação brasileira estabelece um limite máximo de 7,00 para o pH da porção muscular do pescado congelado estar apta para o consumo humano (BRASIL, 2017). Todas as amostras apresentaram resultados inferiores a este valor.

4.4 Cor

Para a coloração instrumental dos filés (TABELA 3), verificou-se que, após 30 dias de estocagem, somente a intensidade de vermelho (a^*) apresentou diminuição linear conforme aumento da quitosana nas soluções. A coloração dos filés parece ter uma relação direta com a solução de revestimento, assim como demonstrou o pH. A diminuição da intensidade de vermelho após 30 dias pode ter sido causada devido ao início da interação do revestimento com o filé, para posteriormente aderir a tonalidade mais amarelada característica dos tratamentos contendo quitosana.

No tempo 90 dias de armazenamento, foi observado um aumento linear da intensidade de amarelo (b^*) dos filés, conforme o acréscimo da concentração de quitosana nas soluções de glaciamento. Este comportamento da croma b^* também foi observado no tempo de 120 dias, confirmando a teoria de que as os filés tendem a incorporar as características de cor da solução de revestimento.

Após 90 dias de estocagem, a luminosidade (L^*) dos filés diminuiu linearmente, conforme o aumento das concentrações de quitosana, mesmo comportamento observado nas soluções. Este fato também pode estar relacionado com a espessura do revestimento, que se torna menos translúcido devido a modificação do índice de refração da camada superficial (CARDOSO et al., 2016).

Ao comparar as médias dos tratamentos contendo quitosana com o controle, verificou-se que para luminosidade todas as médias foram iguais ($P>0,05$). Para a croma a^* , as médias no tempo 90 dias foram diferentes ($P<0,05$) do controle, assim como a média da concentração 2,25% no tempo 30 dias também foi diferente. Para a croma b^* , somente as médias da concentração 2,25% nos tempos 90 e 120 dias foram superiores ($P<0,05$) às médias do

tratamento controle. Essa diferença provavelmente ocorreu devido a cor característica da quitosana ficar mais acentuada em função da alta concentração, resultando na redução de intensidade de vermelho e aumento de amarelo.

TABELA 3. Coloração de filés de tilápia glaciados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.

Tempo (dias)	Controle	Concentração de quitosana na solução de glaciamento (%)			Valor de P
		0,75	1,50	2,25	
Luminosidade (L*)					
0	39,39±0,52	40,05±0,56	39,19±0,65	39,89±0,63	0,8592
30	47,20±0,19	51,34±0,82	50,48±1,40	49,81±0,84	0,3077
60	49,56±0,56	49,17±0,68	49,36±0,88	49,37±0,43	0,8294
90	46,20±0,52	47,10±0,70	47,43±0,89	46,14±0,85	0,4228
120	45,97±0,38	49,82±1,81	48,39±0,61	46,13±0,63	0,0469 ^A
150	46,55±1,10	47,01±0,42	46,50±0,44	46,69±0,03	0,5339
180	46,93±1,02	49,09±0,81	50,60±0,22	48,54±0,98	0,6689
Intensidade de vermelho (a*)					
0	-0,29±0,13	-0,21±0,04	-0,60±0,12	-0,50±0,17	0,1719
30	-0,06±0,22	-0,60±0,33	-1,05±0,27	-1,62±0,16*	0,0206 ^B
60	-0,70±0,06	-0,98±0,30	-1,09±0,17	-0,63±0,31	0,3810
90	-0,75±0,29	-1,58±0,19*	-1,76±0,14*	-1,55±0,12*	0,8947
120	-1,33±0,12	-1,64±0,22	-1,66±0,13	-1,14±0,16	0,0927
150	-1,12±0,15	-1,53±0,07	-1,32±0,28	-1,37±0,25	0,5930
180	-0,77±0,18	-1,30±0,25	-1,46±0,33	-1,21±0,30	0,8358
Intensidade de amarelo (b*)					
0	-1,44±0,16	-0,98±0,31	-1,92±0,03	-1,21±0,19	0,6200
30	-0,51±0,23	-0,26±0,36	-0,78±0,26	-0,85±0,30	0,2023
60	-2,66±0,56	-3,00±0,37	-3,18±0,70	-1,29±0,72	0,1082
90	-1,10±0,49	-0,88±0,09	-0,15±0,35	0,27±0,13*	0,0061 ^C
120	-0,79±0,13	-0,51±0,16	-0,66±0,01	0,94±0,19*	0,0114 ^D
150	-0,34±0,17	-0,54±0,58	-0,52±0,92	0,73±0,66	0,2445
180	-1,00±0,18	-0,49±0,68	-0,23±0,87	1,03±1,02	0,2319

Dados expressos em média ± erro padrão. *Médias diferem (P<0,05) do tratamento controle pelo teste de Dunnett. ^ARegressão linear entre as diferentes concentrações de quitosana. $y = -2,4626x + 51,81$ $R^2 = 0,9834$. ^BEquação da reta $y = -0,6778x - 0,07$ $R^2 = 0,9954$. ^CEquação da reta $y = 0,7715x - 1,4104$ $R^2 = 0,9772$; ^DEquação da reta $y = 0,9652x - 1,5276$ $R^2 = 0,6728$.

Embora o presente trabalho tenha apresentado variação na coloração, no trabalho de Soares et al. (2015) realizado com filés de salmão, o glaciamento com quitosana não acarretou diferenças significativas na cor, apresentando inclusive maior estabilidade na coloração. Porém, no estudo foi utilizada quitosana com grau de desacetilação de 91%, resultando, provavelmente, em uma solução mais límpida que exerceu menos efeito sobre os filés.

4.5 Oxidação lipídica

Para a oxidação lipídica dos filés (TABELA 4), não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) dos níveis de quitosana sobre a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nos diferentes tempos de armazenamento. Os filés glaciados com quitosana também não apresentaram médias de TBARS diferentes do tratamento controle ($P>0,05$).

TABELA 4. Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (mg de malonaldeído/kg de amostra) em filés de tilápia glaciados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.

Tempo (dias)	Controle	Concentração de quitosana na solução de glaciamento (%)			Valor de P
		0,75	1,50	2,25	
0	16,02±0,27	14,73±0,46	13,40±0,87	13,46±0,47	0,2125
30	13,71±0,27	13,41±0,59	15,01±0,07	14,25±0,48	0,2717
60	9,99±0,38	12,03±0,80	11,10±0,45	11,57±1,70	0,6678
90	11,09±0,16	15,56±1,74	13,34±1,04	12,83±0,42	0,1826
120	12,78±0,82	17,01±0,99	14,73±0,55	17,18±1,12	0,9123
150	10,71±0,05	14,64±0,06	14,27±1,17	13,38±1,32	0,3752

Dados expressos em média ± erro padrão.

Estes resultados indicam que o revestimento com quitosana não causou um impacto significativo na oxidação lipídica dos filés de tilápia. Tal fato não era esperado, uma vez que a quitosana é conhecida por suas características antioxidantes (CHEUNG et al., 2015).

Possivelmente, a ausência de diferença na oxidação lipídica dos filés glaciados com quitosana se deve ao fato da tilápia ser um peixe magro, com teor de lipídios em torno de 1% (OGAWA e MAIA, 1999). Assim, a oxidação lipídica pode não desempenhar um papel importante na deterioração do pescado em função da baixa porcentagem de lipídeos. Em estudos com peixes gordos, cuja análise de oxidação lipídica foi realizada pelo método TBARS, foi observado efeito antioxidante da quitosana: gelatina aplicada em truta arco-íris (NOWZARI et al., 2013); filme comestível aplicado em salmão (SATHIVEL et al., 2007) e revestimento em salmão (HAMMOND e SKONBERG, 2012). Este efeito provavelmente foi causado devido a sua propriedade de barreira ao oxigênio que retarda a oxidação dos lipídios (CARDOSO et al., 2016).

Porém, um estudo realizado por Soares et al. (2013) com amostras de salmão glaciado com quitosana e armazenado sob congelamento durante seis meses, submetidas a análise de determinação do valor de ácido tiobarbitúrico (TBA), não apresentaram diferenças significativas para a oxidação lipídica por este método entre as amostras. Entretanto, este estudo

não pode ser um comparativo, uma vez que testes de TBA apenas levam em consideração a quantidade de malonaldeído e não a extensão geral da oxidação lipídica, como no TBARS (CARDOSO et al., 2016).

4.6 Análise microbiológica

Na caracterização do crescimento de bactérias heterotróficas conforme passar do tempo de estocagem (TABELA 5), pode-se observar que nos tempos 30, 60, 90 e 120 dias, não houve crescimento de bactérias nos filés dos tratamentos contendo 1,5 e 2,25% de quitosana na solução de congelamento. Entretanto, após 150 e 180 dias, observou-se o retorno do crescimento de bactérias heterotróficas nos filés destas concentrações. De forma geral, com o aumento da inclusão de quitosana nas soluções, houve uma diminuição linear das bactérias heterotróficas nos filés, independentemente do tempo de armazenagem.

TABELA 5. Crescimento de bactérias heterotróficas (log UFC/g) em filés de tilápia congelados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana, armazenados sob congelamento.

Tempo (dias)	Controle	Concentração de quitosana na solução de congelamento (%)		
		0,75	1,50	2,25
0	4,47	4,42	4,42	4,42
30	3,72	2,52	0	0
60	3	2,3	0	0
90	3	2,82	0	0
120	3,36	3,22	0	0
150	3,98	3,82	3	2,82
180	4,02	3,9	3,22	2,82

Esta diminuição das bactérias heterotróficas nos filés contendo concentrações maiores de quitosana possivelmente foi em função da característica de inibição bacteriana que a quitosana apresenta (FAN et al., 2009), sendo que diversos outros estudos relataram a eficiência da quitosana como antimicrobiano em pescado congelado (SOARES et al., 2017; SOARES et al., 2015; NOWZARI et al., 2013; FAN et al., 2009). Além disso, quando a quitosana é um componente da solução de revestimento, ela fica mais disponível para atuar, enquanto que em parte de uma estrutura sólida, como um filme comestível, fica mais retida (NOWZARI et al., 2013) facilitando a atuação da ação antibacteriana.

A quitosana possui um amplo espectro de inibição não apenas para bactérias gram-positivas e gram-negativas, mas também contra fungos (VERLEE et al., 2017), podendo ser bacteriostática ou bactericida dependendo do pH e do grau de desacetilação (LI et al., 2016). No presente estudo, a quitosana apresentou atividade bacteriostática, uma vez que em 150 e

180 dias houve aumento da quantidade de bactérias heterotróficas nos filés glaciados com 1,50 e 2,25% de quitosana. Isto pode ser devido ao grau de desacetilação da quitosana utilizada no presente estudo (85%), baixo em comparação com outras quitosanas que podem ter acima de 91% de desacetilação (SOARES et al., 2013; SOARES et al., 2015).

4.7 Composição centesimal

Na composição centesimal dos filés (Tabela 6), observou-se que o teor de umidade aumentou linearmente, enquanto o teor de proteína bruta diminuiu linearmente, conforme acréscimo dos níveis de inclusão de quitosana na solução de congelamento dos filés. O extrato etéreo e as cinzas não foram diferentes entre os filés das soluções contendo quitosana. Ao comparar-se as médias do tratamento controle com as demais, verificou-se que a concentração 1,50% de quitosana apresentou médias de umidade, proteína e cinzas diferentes ($P < 0,05$) do controle. Por outro lado, na concentração de 2,25%, os teores de umidade, proteína e extrato etéreo foram diferentes ($P < 0,05$) das médias dos filés do tratamento controle.

TABELA 6. Composição centesimal após 150 dias de estocagem sob congelamento, de filés de tilápia glaciados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana.

Parâmetros	Controle	Concentração de quitosana na solução de congelamento (%)			Valor de P
		0,75	1,50	2,25	
Umidade	78,32±0,18	79,28±0,37	80,23±0,40*	80,69±0,29*	0,0221 ^A
Proteína	21,08±0,27	20,09±0,37	19,22±0,33*	18,60±0,36*	0,0184 ^B
Extrato etéreo	1,80±0,20	1,29±0,17	1,37±0,13	1,17±0,14*	0,6047
Cinzas	1,09±0,02	1,06±0,03	1,00±0,02*	1,08±0,02	0,0628

Dados expressos em média ± erro padrão. *Médias diferem ($P < 0,05$) do tratamento controle pelo teste de Dunnett.

^ARegressão linear entre as diferentes concentrações de quitosana. $y = 0,7041x + 78,661$ $R^2 = 0,9615$ ^BEquação da reta $y = -0,7435x + 20,789$ $R^2 = 0,9907$

O aumento da umidade pode ter sido causado pelo alto grau de incorporação dos revestimentos, onde os filés com maiores níveis de quitosana no congelamento também apresentaram maior porcentagem de revestimento. Durante o armazenamento, a umidade do revestimento é perdida no lugar da umidade do filé, servindo como barreira protetora para a perda de água. As baixas temperaturas durante o congelamento causam perda de umidade por sublimação e secagem na superfície da carne (SOARES et al., 2016), sendo, portanto, o congelamento uma forma de impedir a sublimação da água contida nos estoques intracelulares dos filés. Esse efeito sacrificante, retarda a perda da umidade do filé até que se esgote a camada de revestimento pela evaporação (SATHIVEL et al., 2007).

Existe uma relação inversamente proporcional entre a umidade e o teor de lipídios e de proteína, este último de forma mais banda (OGAWA & MAIA, 1999). Esta relação foi verificada no presente estudo para os teores de umidade e proteína, onde conforme o aumento do teor de umidade, houve uma diminuição proporcional nos teores de proteína. Assim, embora os parâmetros de proteína e lipídios tenham apresentado diferença significativa, o efeito possivelmente não foi causado diretamente pela quitosana em si, e sim devido às alterações no teor de umidade em função da maior incorporação do revestimento.

4.8 Perfil sensorial

Na análise sensorial (TABELA 7) dos filés glaciados com diferentes concentrações de quitosana, não houve efeito de regressão ($P > 0,05$) para os atributos avaliados. Entretanto, ao comparar as médias do tratamento controle com as demais, foram observadas diferenças ($P < 0,05$). No sabor, somente a média do tratamento contendo 0,75% de quitosana foi diferente do controle. Para a textura, as médias dos tratamentos contendo 0,75 e 2,25% de quitosana foram inferiores à média do controle. E, para a aceitabilidade geral dos filés, verificou-se que a média obtida para os filés do tratamento controle foi superior às demais.

TABELA 7. Atributos sensoriais após 120 dias de estocagem sob congelamento, de filés de tilápia glaciados com soluções contendo diferentes concentrações de quitosana.

Atributos	Concentração de quitosana na solução de glaciamento (%)				Valor de P
	Controle	0,75	1,50	2,25	
Odor	6,24±0,18	6,09±0,19	6,23±0,19	6,20±0,19	0,6736
Cor	7,10±0,16	6,91±0,16	6,50±0,18	6,86±0,16	0,8261
Sabor	7,27±0,16	6,46±0,18*	6,85±0,18	6,72±0,20	0,3259
Textura	7,52±0,12	6,91±0,17*	6,98±0,17	6,79±0,19*	0,6250
Aceitabilidade geral	7,38±0,12	6,52±0,17*	6,78±0,17*	6,75±0,18*	0,3444

Escala hedônica entre 1 (desgostei extremamente) e 9 (gostei extremamente). Dados expressos em média ± erro padrão. *Médias diferem ($P < 0,05$) do tratamento controle pelo teste de Dunnet.

Após o cozimento dos filés para a análise sensorial, foi observado que as soluções de revestimento formaram um gel sobre os filés, mais presentes nos tratamentos 1,50 e 2,25% (FIGURA 6). Essa viscosidade, resultante da alta concentração de revestimento incorporado durante o processo de glaciamento, pode ter sido a responsável pela baixa aceitabilidade geral das amostras glaciadas com quitosana, em relação ao controle.

Embora os tratamentos com quitosana não tenham sido bem recebidos neste trabalho, trabalho realizado por Soares et al. (2017) com filés de salmão glaciados com quitosana e congelados durante 6 meses mostrou que a quitosana não influenciou negativamente os

atributos sensoriais das amostras congeladas, descongeladas e cozidas, gerando, inclusive, uma melhora na preservação de cor, odor, textura e aparência geral.

Considerando somente os atributos de sabor e textura, a concentração de 1,50% de quitosana foi a que apresentou resultados mais satisfatórios, em função das médias terem sido similares às médias dos filés do tratamento controle.

Portanto, novas pesquisas são necessárias para averiguar os efeitos do peso molecular e da desacetilação da quitosana sobre as soluções de revestimento, uma vez que ela pode influenciar na coloração e sensorial, características decisivas para a comercialização do pescado, e na incorporação do revestimento, que possui fator restritivo pela legislação.

Assim, a quitosana pode se tornar, futuramente, um revestimento mais viável e seguro para filés de tilápias armazenados durante longos períodos.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que o glaciamento contendo altas concentrações de quitosana (1,50 e 2,25%) são eficazes para aumentar a incorporação do revestimento, aumentar a umidade dos filés e diminuir a presença de bactérias nos filés, sem afetar grandemente o pH e a coloração dos filés durante o armazenamento congelado por seis meses. Com base nos resultados sensoriais, indica-se a utilização de 1,50% de quitosana, para melhoria da qualidade de filés de tilápia durante o congelamento.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDIS, M. Major Causes Of Meat Spoilage and Preservation Techniques: a review. **Food Science and Quality Management**, v. 41, p. 2224-6088, 2015.

ALIMELLI, A.; PENNAZZA, G.; SANTONICO, M.; PAOLESSE, R.; FILIPPINI, D.; D'AMICO, A.; LUNDSTRÖM, I.; NATALE, C. D. Fish freshness detection by a computer screen photoassisted based gas sensor array. **Analytica Chimica Acta**, v. 582, p. 320-328, 2007.

AMARAL, A. B.; SILVA, M. V. D.; LANNES, S. C. D. S. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors – a review. **Food Science and Technology**, v. 38, p. 1-15, 2018.

AMIT, S. K.; UDDIN, M. M.; RAHMAN, R.; ISLAM, S. M. R.; KHAN, M. S. A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. **Agriculture & Food Security**, v. 6, p. 51-51, 2017.

ANDRÉS-BELLO, A.; BARRETO-PALACIOS, V.; GARCÍA-SEGOVIA, P.; MIR-BEL, J.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Effect of pH on Color and Texture of Food Products. **Food Engineering Reviews**, v. 5, p. 158 –170, 2013.

AOAC Associations Of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists. 18. ed. 2005.

ARAÚJO, J. M. A. Oxidação de lipídios em alimentos & Oxidação de lipídios durante o processamento. In: ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 6. ed. Viçosa: UFV, 2015. p. 9-108.

BENJAKUL, S.; VISESSANGUAN, W.; THONGKAEW, C.; MUNEHIKO, T. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage. **Food Research International**, v. 36, p. 787-795, 2006.

BRASIL, Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Dispõe da identidade e as características de qualidade que deve apresentar o peixe congelado. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2017.

BRONFENBRENER, L.; ABURABEEA, M. Kinetic approach to modeling the freezing porous media: Application to the food freezing. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 87, p. 110-123, 2015.

CARDOSO, G. P.; DUTRA, M. P.; FONTES, P. R.; RAMOSA, A. L. S.; GOMIDE, L. A. M.; RAMOS, E. M. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. **Meat Science**, v. 114, p. 85-94, 2016.

CARSON, J. K.; WANG, J.; NORTH, M. F.; CLELAND, D. J. Effective thermal conductivity prediction of foods using composition and temperature data. **Journal of Food Engineering**, v. 175, p. 65-73, 2016.

CESSI, G.; PERISI, G. From farm to fork: lipid oxidation in fish products. A review. **Italian Journal of Animal Science**, v. 15, p. 124-136 , 2016.

CHENG, J.; SUN, D.; HAN, Z.; ZENG, X. Texture and Structure Measurements and Analyses for Evaluation of Fish and Fillet Freshness Quality: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 52-61, 2014.

CHEUNG, R. C. F; Ng, T. B.; WONG, J. H.; CHAN, W. Y. Chitosan: An Update on Potential Biomedical and Pharmaceutical Applications. **Marine drugs**, v. 13, n. 8, p. 5156-5186, 2015.

DEVATKAL, S. K.; NAVEENA, B. M. Effect of salt, kinnow and pomegranate fruit by-product powders on color and oxidative stability of raw ground goat meat during refrigerated storage. **Meat Science**, v. 85, p. 306-311, 2010.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 2ª. ed. Curitiba: Editora Champagnat., 2007.

ELLIS, D. I.; GOODACRE, R. Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: current status and future trends. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, p. 414-424, 2001.

FAN, W.; SUN, J.; CHEN, Y.; QIU, J.; ZHANG, Y.; CHI, Y. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage. **Food Chemistry**, n. 115, p. 66-70, 2009.

FAO. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma, 2012. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/016/i2727s/i2727s.pdf>. Acesso em: 01 set. 2019.

FONT, F. M.; GISPERT, M.; GUERRERO, L; VELARDE, A.; TIBAU, J.; SOLER, J. Consumers' sensory acceptability of pork from immunocastrated male pigs. **Meat Science**. v. 80, p. 1013–1018, 2008.

GARCÍA-ESTEBAN, M.; GARCÍA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; GIMENO, O.; ASTIASARÁN, I. Optimization of instrumental color analysis in dry-cured ham. **Meat Science**, v. 63, p. 287-292, 2013.

GHALY, A. E.; DAVE, D.; BUDGE, S.; BROOK, M. S. Fish Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: Review. **American Journal of Applied Sciences**, v. 7, p. 859-877, 2010.

GIROLAMI, A.; NAPOLITANO, F.; FARAONE, D.; BRAGHIERI, A. Measurement of meat color using a computer vision system. **Meat Science**, v. 93, p. 111-118, 2012.

GONÇALVES, A. A. Resfriamento e congelamento. In: GONÇAVES, A. A. **Tecnologia do pescado: Ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Atheneu, v. 1, 2011. p. 108-132.

GUYON, C.; MEYNIER, A.; LAMBALLERIE, M. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p. 131-143, 2016.

HAMDINE, M.; HEUZEY, M.-C.; BÉGIN, A. Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 37, p. 134-142, 2005.

HAMMOND, M. D.; SKONBERG, D. I. Antioxidant Properties of Chitosan Coatings on Frozen Atlantic Salmon Fillet Portions. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 21, p. 351-361, 2012.

HERNÁNDEZ, M. D.; LÓPEZ, M. B.; FERRANDINI, A. E.; GARCÍA, B.; GARRIDO, M. D. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in aquacultured meagre (*Argyrosomus regius*) fillets during ice storage. **Food Chemistry**, v. 144, p. 237-245, 2009.

HERRERO, A. M. Raman spectroscopy a promising technique for quality assessment of meat and fish: A review. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1642-1651, 2008.

HILSDORF, A. W. S. Genética e Cultura da Tilápia Vermelha - Uma Revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, n. 1, p. 73-84, 2018.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. **Meat Science**, v. 71, p. 194-204, 2005.

JEREMIAH, L. E. **Freezing Effects on Food Quality**. New York: Routledge, 2019.

JIA, W.; LIANG, G.; WANG, Y.; WANG, J. Electronic Noses as a Powerful Tool for Assessing Meat Quality: a Mini Review. **Food Analytical Methods**, v. 11, p. 2916–2924, 2018.

KAMRUZZAMAN, M.; YOSHIO, M.; SEIICHI, O. Non-invasive analytical technology for the detection of contamination, adulteration, and authenticity of meat, poultry, and fish: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 853, p. 19-29, 2015.

KHALAFALLA, F. A.; AL, F. H. M.; HASSAN, A.-R. H. A. Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 1, p. 33-40, 2015.

KONO, S.; KON, M.; SAGARA, T. A. Y. Effects of relationships among freezing rate, ice crystal size and color on surface color of frozen salmon fillet. **Journal of Food Engineering**, v. 214, p. 158-165, 2017.

LAWRIE, R. A. **Ciência da carne**. 6. ed. São Paulo: ARTMED, 2005. 383 p.

LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Oxidative stability of previously frozen ostrich *Muscularis iliofibularis* packaged under different modified atmospheric conditions. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, p. 1171-1178, 2011.

LEYGONIE, C.; BRITZ, T. J.; HOFFMAN, L. C. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. **Meat Science**, v. 91, p. 93-98, 2012.

LI, D.; ZHU, Z.; SUN, D.-W. Effects of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 46-55, 2018.

LI, G.; LI, Z.; LI, X.; WANG, Y.; ZHU, J.; ZHANG, D. Postmortem ageing influences the thawed meat quality of frozen lamb loins. **Food Chemistry**, v. 275, p. 105-112, 2019.

LI, J.; WUA, Y.; ZHAO, L. Antibacterial activity and mechanism of chitosan with ultra high molecular weight. **Carbohydrate Polymers**, v. 148, p. 200-205, 2016.

LIU, H.; DU, Y.; WANG, X.; SUN, L. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 95, p. 147-155, 2004.

LIU, S.; FAN, W.; ZHONG, S.; MA, C.; LI, P.; ZHOU, K.; ZHAO, H.; ZHU, M. Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 692-701, 2010.

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

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. **Food Research International**, v. 94, p. 90-100, 2017.

MENDOZA, F.; DEJMEK, P.; AGUILERA, J. M. Calibrated color measurements of agricultural foods using image analysis. **Postharvest Biology and Technology**, v. 41, p. 285-295, 2006.

MEYNIER, C. G. A.; LAMBALLERIE, M. D. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 50, p. 131-143, 2016.

MUHLISIN, M.; UTAMA, D. T.; LEE, J. H.; CHOI, J. H.; LEE, S. K. Effects of Gaseous Ozone Exposure on Bacterial Counts and Oxidative Properties in Chicken and Duck Breast Meat. **Korean J Food Sci Anim Resour**, v. 36, p. 405–411, 2016.

NEETHLING, N. E.; SUMAN, S. P.; SIGGE, G. O.; HOFFMAN, L. C.; HUNT, M. C. Exogenous and Endogenous Factors Influencing Color of Fresh Meat from Ungulates. **Meat and Muscle Biology**. v. 1, p. 253-275, 2017.

NETAM, S.; SHARMA, S.; MANGANG, W. R.; DHANESHWORI, H. Antioxidant effect of fruit peel extracts on fish. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, p. 1211-1216, 2018.

NOWZARI, F.; SHÁBANPOUR, B.; OJAGH, S. M. Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, v. 141, p. 1667-1672, 2013.

OAKENFULL, D.; PEARCE, J. O. H. N.; BURLEY, R. W. Protein gelation. In: CRC Press OAKENFULL, D.; PEARCE, J. O. H. N.; BURLEY, R. W. **Food Proteins and Their Applications**. New York: Marcel Dekker, 1997. p. 111- 142.

OCAÑO-HIGUERA, V. M.; Maeda-Martínez, A. N.; Marquez-Ríos, E.; Canizales-Rodríguez, D. F. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. **Food Chemistry**, v. 125, p. 49-54, 2011.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca**. São Paulo: livraria Varela LTDA, v. 1, 1999. 430 p.

OJAGH, S. M.; REZAEI, M.; HADIRAZAVI, S.; HASHEM, H.; SEYED, M. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, n. 120, p. 193-198, 2010.

OLIVEIRA, M. S. G. D. Edible coatings on frozen fish: Effect of applying a chitosan-based coating on the quality of frozen salmon. [S.l.]: [s.n.], 2013.

ORDOÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos: componente do alimentos e processos**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed S.A., v. 1, 2005.

OSMANKILINCCEKER; DOGAN, İ. S.; KUCUKONER, E. Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 868-873, 2009.

PAREDI, G.; RABONI, S.; BENDIXEN, E.; ALMEIDA, A. M.; MOZZARELLI, A. Muscle to meat” molecular events and technological transformations: The proteomics insight. **Journal of Proteomics**, v. 75, p. 4275-4289, 2012.

PAVLOV, A. Changes in the meat from aquaculture species during storage at low temperature and attempts for differentiation between thawed-frozen and fresh chilled meat. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 2, p. 67-75, 2007.

PEIXE BR. Associação Brasileira de Piscicultura. Anuário Peixe BR da Piscicultura 2019. São Paulo: PEIXE BR, 2019.

PURSLOW, P. P.; WARNER, R. D.; CLARKE, F. M.; HUGHES, J. M. Variations in meat colour due to factors other than myoglobin chemistry; a synthesis of recent findings (invited review). **Meat Science**, v. 159, p. 107941, 2020.

RAMANATHAN, R.; MANCINI, R. A. Role of Mitochondria in Beef Color: A Review. **Meat and Muscle Biology**, v. 2, p. 309-320, 2018.

RAMEZANI, Z.; ZAREI, M.; RAMINNEJAD, N. Comparing the effectiveness of chitosan and nanochitosan coatings on the quality of refrigerated silver carp fillets. **Food Control**, n. 51, p. 43-48, 2015.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. Lipídios. In: RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Blucher, 2007. p. 111-144.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, n. 31, p. 603-632, 2006.

SARMAST, E.; FALLAH, A. A.; DEHKORDI, S. H.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Impact of glazing based on chitosan-gelatin incorporated with Persian lime (*Citrus latifolia*) peel essential oil on quality of rainbow trout fillets stored at superchilled condition. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 316-323, 2019.

SATHIVEL, S.; LIU, Q.; HUANG, J.; PRINYAWIWATKUL, W. The influence of chitosan glazing on the quality of skinless pink salmon (*Oncorhynchus gorboscha*) fillets during frozen storage. **Journal of Food Engineering**, v. 83, p. 366-373, 2007.

SERIO, A.; CHAVES-LÓPEZ, C.; SACCHETTI, G.; ROSSI, C.; PAPARELLA, A. Chitosan Coating Inhibits the Growth of *Listeria monocytogenes* and Extends the Shelf Life of Vacuum-Packed Pork Loins at 4 °C. **Foods**, v. 7, n. 10, p.155, 2018.

SHI, J.; LEI, Y.; HONG, H. S.; ZHU, XUNPEI Y. B.; LUO, Y. Effect of glazing and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on preservation of mud shrimp (*Solenocera melantho*) during frozen storage. **Food Chemistry**, v. 604-612, n. 272, 2019.

SILVA D.J.; QUEIROZ, A.C. Análise de Alimentos: Métodos Químicos e Biológicos. 3ª.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 2002.

SMAN, R. G. M. V. D. Prediction of enthalpy and thermal conductivity of frozen meat and fish products from composition data. **Journal of Food Engineering**, v. 84, p. 400-412, 2008.

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.

SOARES, N. M. F.; OLIVEIRA, M. S. G.; VICENTE, A. A. Effects of glazing and chitosan-based coating application on frozen salmon preservation during six-month storage in industrial freezing chambers. **LWT - Food Science and Technology**, n. 61, p. 524-531, 2015.

SOARES, N. M.; FERNANDES, T. A.; VICENTE, A. A. Effect of variables on the thickness of an edible coating applied on frozen fish – Establishment of the concept of safe dipping time. **Journal of Food Engineering**, n. 171, p. 111-118, 2016.

SOARES, N. M.; MENDES, T. S.; VICENTE, A. A. Effect of chitosan-based solutions applied as edible coatings and water glazing on frozen salmon preservation – A pilot-scale study. **Journal of Food Engineering**, n. 119, p. 316-323, 2013.

SOHAIB, M.; ANJUM, F. M.; ARSHAD, M. S.; RAHMAN, U. Postharvest intervention technologies for safety enhancement of meat and meat based products; a critical review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, p. 19–30, 2016.

SPOTO, M. H. F.; MIGUEL, A. C. A. Processamento mínimo e congelamento. In: OETTERER, M.; REGINATO-D"ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciências e tecnologia de alimentos**. 1. ed. Barueri: Manoele Ltda., 2006. p. 485-510.

SUN, J. H. C. D.-W. Rapid and non-invasive detection of fish microbial spoilage by visible and near infrared hyperspectral imaging and multivariate analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 1060-1068, 2015.

TAHERGORABI, R.; MATAK, K. E.; JACZYNSKI, J. Fish protein isolate: Development of functional foods with nutraceutical ingredients. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 746-756, 2015.

TORRICO, D. D.; HUTCHINGS, S. C.; HA, M.; BITTNER, E. P.; WARNER, S. FUENTES R. D.; DUNSHEA, F. R. Novel techniques to understand consumer responses towards food products: A review with a focus on meat. **Meat Science**, v. 144, p. 30-42, 2018.

VERLEE, A.; MINCKE, S.; STEVENS, C. V. Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 268-283, 2017.

WANG, M.; LU, M. Tilapia polyculture: a global review. **Aquaculture Research**, v. 47, p. 2363-2374, 2015.

WROLSTAD, R. E.; ACREE, T. E.; DECKER, E. A.; PENNER, M. H.; REID, D. S.; SCHWARTZ, S. J.; SHOEMAKER, C. F.; SMITH, D. M.; SPORNS, P. **Handbook of food analytical chemistry: Water, proteins, enzymes, lipids, and carbohydrates**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, v. 1, 2005.

WU, L.; PU, H.; DA-WENSUN. Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: A review of recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 83, p. 259-273, 2019.

YAM, K. L.; PAPADAKIS, S. E. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. **Journal of Food Engineering**, v. 61, p. 137-142, 2004.

ZHOU, G. H.; XU, X. L.; LIU, Y. Preservation technologies for fresh meat – A review. **Meat Science**, v. 86, p. 19-128, 2010.

ZHU, Z.; ZHOU, Q.; SUN, D.-W. Measuring and controlling ice crystallization in frozen foods: A review of recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 90, p. 13-25, 2019.

ZOTTA, T.; PARENTE, E.; IANNIELLO, R. G.; FILIPPIS, F. D.; RICCIARDI, A. Dynamics of bacterial communities and interaction networks in thawed fish fillets during chilled storage in air. **International Journal of Food Microbiology**, 2019, v. 293, p. 102-113.

ZOU, P.; YANG, X.; WANG, J.; LI, Y.; YU, H.; YANXIN, Z.; GUANGYANG, L. Advances in characterisation and biological activities of chitosan and chitosan oligosaccharides. **Food Chemistry**, v. 190, p. 1174-1181, 201