UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Virian Coradini Brutti

Suplementação dietética de ácido docosahexaenoico (DHA), *via* ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, para tilápia-do-nilo mantida em temperatura subótima fria: qualidade e vida de prateleira do filé

Florianópolis
2023

Virian Coradini Brutti

Suplementação dietética de ácido docosahexaenoico (DHA), via ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, para tilápia-do-nilo mantida em temperatura subótima fria: qualidade e vida de prateleira do filé

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Mestra em Aquicultura.

Orientadora: Prof.(a) Dra. Débora Machado Fracalossi
Coorientadora: Prof.(a) Dra. Renata Dias de Mello Castanho Amboni

Florianópolis
2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Brutti, Virian Coradini
Suplementação dietética de ácido docosahexaenoico (DHA), via ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, para tilápia-do-nilo mantida em temperatura subótima fria: qualidade e vida de prateleira do filé / Virian Coradini Brutti ; orientador, Débora Machado Fracalossi, coorientador, Renata Dias de Mello Castanho Amboni, 2023.
78 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. DHA. 3. qualidade do filé. 4. tempo de vida de prateleira. I. Fracalossi, Débora Machado . II. Amboni, Renata Dias de Mello Castanho . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

Virian Coradini Brutti

Suplementação dietética de ácido docosahexaenoico (DHA), *via* ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, para tilápia-do-nilo mantida em temperatura subótima fria: qualidade e vida de prateleira do filé

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 28 de setembro de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profª. Débora Machado Fracalossi, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profª. Juliana Antunes Galvão, Dra.
Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

Prof. Felipe Nascimento Vieira, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestra em aquicultura pelo Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Documento assinado digitalmente
Claudio Manoel Rodrigues de Melo
Data: 22/12/2023 08:58:08-0300
CPF: ***.708.806-**
Verifique as assinaturas em https://v.ufsc.br

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Documento assinado digitalmente
Debora Machado Fracalossi
Data: 21/12/2023 13:25:45-0300
CPF: ***.348.610-**
Verifique as assinaturas em https://v.ufsc.br

Prof.ª Débora Machado Fracalossi, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 2023.

AGRADECIMENTOS

Sou imensamente agradecida aos meus amados pais, Gilvana Coradini e Onécimo Brutti, ao meu irmão, Rovian Brutti a minha sobrinha e afilhada, Ana Clara Brutti, ao meu *noninho* seu Vitalino Coradini e aos meus avós, *in memoriam,* Romilde Coradini, Ângelo Brutti e Vilma Brutti. Suas vidas importam, me protegem, encorajam e me tornam uma mulher mais forte. Obrigada pela educação, diálogos e ensinamentos, consagrando-me às conquistas morais e conduzindo-me sempre à senda do bem. Agradeço o apoio, incentivo, confiança, esforços e conselhos, reafirmando sempre o quanto a subida é íngreme, mas os resultados compensadores. Pelos seus exemplos de vida, me fazem perder o medo de arriscar e sempre tentar. Como é grande o meu amor por vocês!

Agradeço a minha orientadora Prof.ª Débora M. Fracalossi, uma mulher incentivadora para mim. Agradeço por me atender sempre com muito carisma e atenção, sendo exemplo para lapidar meu caráter e profissionalismo. Obrigada pela oportunidade e todas as contribuições para a minha pesquisa.

Agradeço especialmente e imensamente à Renata O. Nobrega, por me acolher e sempre estar pronta para me ajudar, sem medir esforços, no presente estudo como em tudo. Obrigada por me escutar e compreender nos momentos de desabafos e dificuldades. Tantos ensinamentos, conversas, conhecimentos compartilhados, paciência e atenção, os quais foram essenciais para a conclusão do mestrado. Obrigada pela presteza, dedicação, disponibilidade, agilidade e competência, que muito contribuíram com o meu desenvolvimento. Você é exemplo a ser seguido. A ti, minha gratidão.

Agradeço especialmente e imensamente à iluminada amiga Katharinne I. M. de Carvalho, que me acompanhou e auxiliou na validação das metodologias para as análises físico-químicas. Companheira além do laboratório, agradeço por todos os momentos convividos, com quem somei alegrias, desabafei tormentos e dificuldades. Kathi sempre me ofereceu palavras lindas e sábias de incentivos, paciência, ensinamentos, contribuições, me fazendo despertar sabedoria, questionamentos, senso crítico, me ensinando a ser mais forte e me abraçando. Obrigada por estimular o raciocínio, a solidariedade, a justiça e por fornecer espaço à iniciativa própria e autonomia. Gratidão por fazer parte na minha história, tive imenso prazer em te conhecer nessa vida. Levarei sua lembrança por toda a minha vida. Te admiro por inteira.

Agradeço especialmente à Vitória D. de Oliveira pela amizade, parceria, convivência, paciência, pelos auxílios nos preparativos para a execução do projeto e experimento. Agradeço aos socorros nesta jornada nas vezes que me senti com dificuldades e confusa.

Agradeço especialmente à Maria F. O. da Silva pelo acolhimento, amizade, colaboração e disposição em compartilhar conhecimentos.

Agradeço ao Érlon A. G. Rocha, por toda a dedicação, colaboração, paciência na produção das rações e filetagem dos peixes.

Agradeço ao Rafael de S. Romaneli, por todas as contribuições com o planejamento do experimento e análises estatísticas.

Aos amigos e companheiros do LABNUTRI: Luís F. Mussoi, João H. da Silva, Isabella Duarte, Bruna Ascoli, Jorge F. Banze, Rosana O. Batista. Obrigada pela dedicação, ajudas na execução das atividades, sem vocês este trabalho não seriam o mesmo.

Aos colegas e amigos do LAPAD, Vinícius Buratto, Luciano Weiss, Prof. Robson A. Rodrigues, Renata Guereschi, Ronaldo Silva, Maurício Machado, *in memoriam* Alessandro Cesar, José O. Júnior, Winnicius Sá, Mônica Alves, Edson Nascimento e Felipe Ouriques, pelo convívio, contribuições e por sempre estarem dispostos e presentes para ajudar.

À professora Drª. Renata Amboni pela co-orientação.

À equipe do Laboratório de Frutas e Hortaliças (UFSC) que abriu as portas, auxiliando no uso dos equipamentos e desenvolvimento de metodologias. Agradeço também a contribuição das professoras Renata Amboni e Carlise Freire, além da aluna Nathália Lima, pela colaboração com as análises físico-químicas e de textura.

Agradecimentos à professora Marília Miotto e sua equipe do Laboratório de Microbiologia dos Alimentos (UFSC), pela parceria, disponibilidade, compreensão, contribuições e colaboração para as análises microbiológicas.

A toda minha equipe, de vinte e três membros, a participação de todos foi de extrema importância para a conclusão da minha pesquisa, obrigada por dedicarem seu tempo e pelas avaliações.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, com os quais tive a oportunidade e honra de estudar e aprender.

Ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da UFSC e às pessoas com quem convivi ao longo desses dois anos.

À empresa Alltech® pelo financiamento deste estudo.

Agradeço à CAPES pela bolsa de estudos para a realização do mestrado.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para minha formação durante estes dois anos de estudo.

A todos, meu reconhecimento e apreço.

Muito obrigado!

Você está exatamente onde precisa estar e está sendo preparado para a próxima etapa de sua jornada. Portanto, antes de avançar, transforme seu conhecimento em sabedoria e agradeça por ser rodeado de pessoas boas e competentes ao longo do caminho, transmitindo seus conhecimentos e sabedorias.

Você pode, você é dedicado e capaz!

RESUMO

O consumo regular de peixe traz vários benefícios para a saúde humana, dentre eles, fornecer ácidos graxos poli-insaturados da série n-3 (PUFA n-3). A tilápia-do-nilo é a espécie mais importante na aquicultura brasileira; entretanto, por ser uma espécie tropical de águas continentais, normalmente não é fonte de PUFA n-3. Este estudo avaliou se a suplementação dietética do aditivo ALLPRO, rico em ácido graxo docosaexaenoico (22:6n-3, DHA, com 126g kg^{-1} peso seco), por 30 dias a 22°C, é suficiente para promover o acúmulo de DHA no filé, sem afetar a qualidade e vida de prateleira de tilápia, em tamanho de abate. Foram formuladas duas dietas isoenergéticas para atender às exigências nutricionais da tilápia-do-nilo: a primeira sem qualquer fonte de PUFA n-3, a segunda, suplementada com 1,7% ALLPRO. Grupos de 52 tilápias com peso médio de 415,51 ± 1,55g foram estocados em tanques de 1.000L, conectados a um sistema de recirculação de água, alimentadas de forma restrita (1 a 3% do peso vivo), duas vezes ao dia, durante 30 dias. O delineamento experimental adotado foi casualizado, distribuindo-se os dois tratamentos dietéticos (ALLPRO e CONTROLE) em cinco repetições cada. Foram realizadas amostragens nos períodos 0, 10, 20 e 30 dias de alimentação, para avaliar o perfil de ácidos graxos no filé dos peixes. Ao final do experimento, ocorreu a insensibilização dos peixes por hipotermia, seguido por filetagem, embalagem a vácuo e armazenamento dos filés em temperatura de 4°C para avaliação da qualidade da carne e tempo de vida de prateleira. Os filés foram amostrados durante o período de 0, 4, 8, 12 e 16 dias de armazenamento e realizadas as análises: microbiológicas, físico-químicas, cor, textura e sensoriais. A suplementação dietética com o aditivo ALLPRO por 30 dias, influenciou positivamente o perfil de ácidos graxos da série n-3 no filé, resultando em concentração de 100 mg DHA 128,14 g^{-1} peso úmido, cumprindo as recomendações da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) para prevenção de risco cardiovascular para adultos (> 100 mg dia^{-1}). As amostras de filés armazenadas e refrigeradas a 4°C por 16 dias, atenderam à legislação brasileira em termos microbiológicos. As análises físico-químicas mostram que o frescor dos filés se manteve por aproximadamente 4 dias. Os parâmetros de coloração dos filés foram influenciados pelo tempo de armazenamento na musculatura branca dorsal, ventral e vermelha central. Na musculatura vermelha central, os filés de peixes alimentados com dieta ALLPRO apresentaram maior intensidade da coloração amarela, aos 16 dias de armazenamento diferindo daqueles que receberam dieta CONTROLE. Os atributos de textura (dureza, mastigabilidade e resiliência) foram menores no filé dos peixes alimentados com a dieta ALLPRO. Para análise sensorial, os parâmetros cor, odor e textura foram afetados pelo tempo de armazenamento, sendo recomendado armazenar os filés até 4 dias a 4°C. Conclui-se que suplementação dietética com aditivo ALLPRO por 30 dias, aumenta a concentração de DHA no filé de tilápia-do-nilo, mantidas a temperatura 22ºC, a níveis satisfatórios para o consumo humano, sem afetar a qualidade e o tempo de vida de prateleira dos filés.

Palavras-chave: Aquicultura, DHA, qualidade do filé, tempo de vida de prateleira.

ABSTRACT

The regular consumption of fish brings several benefits to human health, among them, supplying polyunsaturated fatty acids of the n-3 series (PUFA n-3). Nile tilapia is the most important species in Brazilian aquaculture; however, as it is a tropical species from inland waters, it is normally not a source of PUFA n-3. This study evaluated whether dietary supplementation of the additive ALLPRO, rich in docosahexaenoic fatty acid (22:6n-3, DHA with 126 g kg^{-1} dry weight), for 30 days at 22°C, is sufficient to promote DHA accumulation in the fillet, without affecting the quality and shelf life of tilapia at slaughter size. Two isoenergetic diets were formulated to meet the nutritional requirements of Nile tilapia: the first, without any source of PUFA n-3, the second, supplemented 1.7% ALLPRO. Groups of 52 tilapias with an average weight of 415.51 ± 1.55g were stocked into 1,000L tanks, connected to a water recirculation system, fed at 1 to 3% body weight, twice a day for 30 days. The experimental design was completely randomized, and each dietary treatment (ALLPRO and CONTROL) was distributed into five experimental units. Samplings were carried out at 0, 10, 20, and 30 days of feeding to evaluate the profile of fatty acids in fish fillets. Ao final do experimento, ocorreu a insensibilização dos peixes por hipotermia, followed by filleting, vacuum packaging and storage of the fillets at 4°C to evaluate the meat quality and shelf life. The fillets were sampled at 0, 4, 8, 12, and 16 days of storage, and the following analyzes were carried out: microbiological, physical-chemical, color, texture, and sensory. Dietary supplementation with the additive ALLPRO for 30 days positively influenced the n-3 fatty acid profile in the fillet, resulting in concentration of 100 mg DHA 128.14 g^{-1} wet weight, meeting the recommendations of the European Authority for Food Safety (EFSA) for prevention of cardiovascular risk for adults (> 100 mg day^{-1}). Fillet samples stored and refrigerated at 4°C for 16 days complied with Brazilian legislation in microbiological terms. The physical-chemical analyzes showed that the freshness of the fillets was maintained for approximately 4 days. Fillet color parameters were influenced by storage time in dorsal, ventral white, and central red musculature. In the central red muscle, fillets from fish fed the ALLPRO diet showed a greater intensity of yellow coloration after 16 days of storage, differing from those that received CONTROL diet. Texture attributes (hardness, chewiness, and resilience) were lower in fish fillets fed ALLPRO diet. For sensory analysis, the color, odor, and texture parameters were affected by the storage time, and the recommendation is to store the fillets for up to 4 days at 4°C. We concluded that feeding a diet supplemented with ALLPRO for 30 days increases the DHA concentration in the Nile tilapia fillet, maintained at a temperature of 22ºC, at satisfactory levels for human consumption, without affecting the fillet quality or shelf life.

Keywords: Aquaculture, DHA, fillet quality, shelf life.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma das condições de manipulação: CONTROLE higiênico-sanitário, embalagem e armazenamento pós-despesa.....35
Figura 2 – Face medial do filé de tilápia: a) regiões onde foram realizadas as análises de cor; b: distinção entre as três regiões dos filés. O perfil de textura foi analisado na região 1.....41
Figura 3 – Retenção de DHA e relação n-3:n-6 no filé (média ± erro padrão), em adultos de tilápia-do-nilo, quando alimentados com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 10, 20 e 30 dias, a 22ºC. ....**Erro! Indicador não definido.**
Figura 4. Regressão linear da retenção de DHA no filé, em adultos de tilápia-do-nilo, quando alimentados com a dieta ALLPRO por 10, 20 e 30 dias, a 22ºC.....47
Figura 5 – Análises de cor na musculatura branca dorsal (média ± erro padrão) em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.....53
Figura 6 – Análises de cor na musculatura branca ventral (média ± erro padrão) em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.....54
Figura 7 – Análises de cor na musculatura vermelha central (média ± erro padrão) em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.....56
Figura 8 – Análise sensorial em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.....60

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição do aditivo Allpro, rico em ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3)..31
Tabela 2 – Formulação e composição das dietas experimentais (% da matéria seca).. .....**Erro! Indicador não definido.**
Tabela 3 – Curva de calibração para análise de TBARS..... .....**Erro! Indicador não definido.**
Tabela 4 – Retenção de ácidos graxos nos filés, em adultos de tilápia-do-nilo, quando alimentados com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 10, 20 e 30 dias, a 22ºC.....44
Tabela 5 – Análises físico-químicas em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.....50
Tabela 6 – Análises de textura em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.....58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC..... *Association of Official Analytical Chemists*

ARA..... ácido araquidônico (20:4n-6)

B-NVT.....bases nitrogenadas voláteis totais

CEUA..... Comissão de Ética no Uso de Animais

CONEP..... Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

DHA..... ácido docosaexaenoico (22:6n-3)

EFSA..... *European Food Safety Authority*

EPA..... ácido eicosapentaenoico (20:5n-3)

FAO..... *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

GIFT..... Genetic Improved Farmed Tilapia

IBGE..... Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

L..... litro

LC-PUFA.... ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa (*long chain polyunsaturated fatty acids*)

LOA..... ácido graxo linoleico (18:2n-6)

MDA.....malondialdeído

MUFA..... ácido graxo monoinsaturado (monounsaturated fatty acid)

n-3..... série n-3 (Ω3)

n-6..... série n-6 (Ω3)

NRC..... *National Research Council*

PUFA..... ácido graxo poli-insaturado (*polyunsaturated fatty acid*)

SFA..... ácido graxo saturado (*saturated fatty acid*)

TBARS.....substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCLE..... termo de consentimento livre e esclarecido

α-LNA..... ácido alfa-linolênico (18:3n-3)

LISTA DE SÍMBOLOS

α.....letra grega alfa

Δ..... letra grega delta

β..... letra grega beta

°C..... graus Celsius

±..... mais ou menos

%..... percentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL 15
1.1 PRODUÇÃO DE TILÁPIA EM TEMPERATURAS SUBÓTIMAS E RESPECTIVA EXIGÊNCIA EM ÁCIDOS GRAXOS 15
1.2 QUALIDADE NUTRICIONAL DO FILÉ DE TILÁPIA E SAÚDE HUMANA 17
1.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E VIDA DE PRATELEIRA DO FILÉ 19
1.3.1 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS 20
1.3.2 ASPECTOS FISÍCO-QUÍMICOS 21
1.3.2.1 Cor e Textura *22*
1.3.4 CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS 23
2 OBJETIVOS 25
Objetivo geral 25
Objetivos específicos 25
3 ARTIGO CIENTÍFICO 26
3.1 INTRODUÇÃO 27
3.2 MATERIAL E MÉTODOS 29
3.2.1 Dietas experimentais 29
3.2.2 Peixes, aclimatação e procedimento experimental 32
3.2.3 Coleta amostral 33
3.2.4 Composição lipídica e perfil de ácidos graxos dos filés no início e após 10, 20 e 30 dias de suplementação dietética 35
3.2.5 Análises de vida de prateleira 36
3.2.5.1 Análises microbiológicas *36*
3.2.5.2 Análises físico-químicas *37*
3.2.5.2.1 Cor *39*
3.2.5.2.2 Textura *40*
3.2.5.3 Análises sensoriais *40*
3.2.6 Análises estatísticas *41*
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO 41
3.3.1 Composição lipídica e perfil de ácidos graxos dos filés após 10, 20 e 30 dias de suplementação dietética 41
3.3.2 Análises microbiológicas 46
3.3.3 Análises físico-químicas 48

3.3.1 Cor.....51
3.3.2 Textura.....56
3.3.4 Análises sensoriais 58
4 REFERÊNCIAS.....61
5 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL.....68
APÊNDICE A – TESTE DE ACEITABILIDADE DE DIFERENTES ATRIBUTOS SENSORIAIS.....75
ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....76

1 INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é um dos segmentos da produção animal que se encontra em ascensão mundialmente. A demanda por pescado cresce cada vez mais, devido ao seu alto valor nutritivo e aumento da população humana. Em 2020, a aquicultura mundial atingiu um recorde de 214 milhões de toneladas, incluindo 178 milhões de toneladas de animais aquáticos e 36 milhões toneladas de algas (FAO, 2022). A aquicultura tem superado a pesca extrativista no suprimento de pescado para o consumo humano. Além disso, o consumo de pescado está associado a benefícios à saúde humana, por apresentar conteúdo proteico com elevado valor biológico e por ser uma das poucas fontes de ácidos graxos de cadeia longa da série n-3 (LC-PUFA n-3) (Nascimento; Scalabrini, 2020; Rabaioli *et al*., 2022; Soares *et al*., 2016).

A tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, é uma das espécies mais produzidas mundialmente. No ano de 2020, foram produzidos 4,4 milhões de toneladas de tilápia-do-nilo, superou a produção de carpa-comum, *Cyprinus carpio*, sendo a terceira espécie de peixe mais produzida mundialmente (FAO, 2022). Segundo a Associação Peixe-BR (PEIXE-BR, 2023) a produção total de peixes da piscicultura brasileira foi de 860.355 t em 2022, sendo que esse número representa um aumento de 2,3% em relação à produção em 2021. A tilápia é a espécie mais produzida no país, com 550.060 t despescadas em 2022, representando 63,93 % do total da despesca nacional (PEIXE-BR, 2023). Esse crescente aumento da produção global de tilápia é devido a características favoráveis, tais como: crescimento rápido, fácil reprodução e larvicultura, adaptação a altas densidades, existência de linhagens melhoradas, além de facilidade na comercialização (Ng e Romano, 2013). A expansão em sua produção resultou em aumento constante nas taxas de consumo per capita nos últimos anos (FAO, 2022).

1.1 PRODUÇÃO DE TILÁPIA EM TEMPERATURAS SUBÓTIMAS E RESPECTIVA EXIGÊNCIA EM ÁCIDOS GRAXOS

A tilápia-do-nilo é uma espécie de clima tropical, com faixa de temperatura ótima para crescimento entre 26°C a 30°C, sendo 28°C, a ideal para crescimento máximo (Azaza *et al*., 2008; Ma *et al*., 2015). No entanto, sua produção é realizada na maior parte das regiões subtropicais do globo, em áreas que enfrentam grande variação de temperatura durante o ano (Nobrega *et al*., 2020). Este cenário ocorre na China, que é o maior produtor de tilápia, bem como em outros grandes países produtores como Egito e Brasil (Nobrega *et al*., 2020). No Brasil, esta situação também acontece, já que os estados com maior produção são os das regiões

Sul e Sudeste, com o Paraná na liderança (187,800 t), seguido por São Paulo (77.300 t), Minas Gerais (51.700 t) e Santa Catarina (42.500 t) (PEIXE-BR, 2023).

Em peixes, as flutuações térmicas causam estresse fisiológico, afetam negativamente o crescimento e desafiam sua imunidade. Com temperaturas abaixo do conforto térmico, há redução na taxa metabólica, o que prejudica o metabolismo geral dos peixes. Há diminuição no consumo de ração, eficiência alimentar e até sobrevivência (Sokolova, Lanning, 2008; Nobrega *et al*., 2020). Entretanto, os peixes desenvolveram mecanismos adaptativos para manter a homeostase fisiológica em temperatura abaixo da zona de conforto (Weber; Bosworth, 2005). Entre eles, o aumento no grau de insaturação dos ácidos graxos que compõem os fosfolipídios das membranas celulares, é um dos principais (Turchini *et al*., 2009). Isso porque, quanto maior o número de duplas ligações de um ácido graxo, menor será o seu ponto de fusão, mantendo assim a fluidez, permeabilidade e funcionalidade das membranas celulares, mesmo em baixas temperaturas (Turchini; Keong; Tocher, 2010).

Uma alternativa para manter a produtividade da tilápia sob condições de temperatura subótima é prover nutrição adequada à espécie (Charokarisa *et al*., 2005). A maioria das exigências nutricionais da tilápia já são conhecidas (Furuya, 2010; Furuya *et al*., 2012, NRC, 2011); entretanto, ainda existem lacunas a serem respondidas quando os peixes são produzidos em condições de baixas temperaturas. Estudos mostram que a composição química do peixe está sujeita a variações sazonais e que alterações na sua composição em ácidos graxos são influenciadas pela espécie *per se*, bem como pelo sexo e estágio de desenvolvimento, mas também por uma série de fatores externos tais como dieta e temperatura (estação do ano e localização geográfica) (Rodrigues *et al*., 2017; De Souza *et al*., 2020).

Pesquisas realizadas nos últimos anos pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI-UFSC), em condições de temperatura subótima, demonstram que a tilápia-do-nilo apresenta melhor desempenho zootécnico, incluindo eficiência alimentar, quando alimentada com dietas contendo fontes de LC-PUFA n-3 (Corrêa *et al*., 2017, 2018; Nobrega *et al*., 2017, 2019). Além disso, o acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa (LC-PUFA) nos tecidos, tais como docosaexaenoico (DHA, 22:6n-3), eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA) e docosapentaenoico (22:5n-3, DPA), é favorecido nestas condições de temperatura e dieta, atingindo níveis de PUFA n-3/n-6 recomendados para o consumo humano de 0,25 (Simopoulos, 2010). Acúmulo corporal de MUFA, total de PUFA, PUFA n-3 e n-6, EPA e DHA também foram demonstrados em temperaturas mais baixas e com suplementação dietéticas de fontes lipídicas ricas em PUFAS, em estudo recente com tilápia (Ullah *et al*., 2022). Portanto, há forte evidência na literatura sobre a exigência em ácidos graxos

LC-PUFA quando a tilápia é submetida a condições de temperatura subótima. Entretanto, os subprodutos de origem animal que apresentam em sua composição alta concentração de PUFAs, incluindo os pescados, são mais susceptíveis à degradação físico-química e a alterações que podem afetar sua aceitabilidade, tais como a oxidação lipídica, gerando uma preocupação para a indústria alimentícia (Apgar; Hultin, 1982; Contini *et al*., 2014; Pacheco-Aguilar e*t al*., 2000). Portanto, estudos são necessários para avaliar como o valor nutricional e qualidade do filé de tilápia-do-nilo são afetados, quando a espécie é criada em condições de suplementação dietética de fontes de LC-PUFA n-3, em temperaturas subótimas.

1.2 QUALIDADE NUTRICIONAL DO FILÉ DE TILÁPIA E SAÚDE HUMANA

O filé de tilápia-do-nilo rende aproximadamente 33% de carne e sua comercialização é realizada quando os espécimes atingem um peso de 350 a 1.000 g, dependendo dos fins da sua utilização (Albuquerque *et al*., 2004). É reconhecido por apresentar carne de cor branca, com baixo teor de gordura, além de ausência espinhos intramusculares, textura firme, consistência fibrosa e suculenta, com sabor apreciável e grande aceitação no mercado (Fitzsimmons *et al*., 2011; Monteiro *et al*., 2013). Entretanto, por ser uma espécie tropical e de águas continentais, a tilápia apresenta baixos teores de ácidos graxos da série n-3, tais como o alfa-linolênico (α-LNA, 18:3n-3) EPA e DHA, os quais são benéficos à saúde humana (Justi *et al*., 2003).

Tradicionalmente, as fontes de LC-PUFA n-3 mais utilizadas são produtos extraídos de peixes, como farinha e óleo de peixe. Porém, nos últimos 20 anos a oferta global de farinha e óleo de peixe, ricos em LC-PUFA n-3, permaneceu constante, enquanto a demanda por esses produtos aumentou. O acesso limitado aos subprodutos pesqueiros e o alto custo dos ingredientes marinhos, combinados com as crescentes demandas por sustentabilidade, levaram a uma considerável mudança na composição da dieta dos peixes de criação (FAO, 2020). Microrganismos heterotróficos marinhos, produzidos em massa por biotecnologia, tais como *Aurantiochytrium* sp. e *Schizochytrium* sp., podem ser considerados como possíveis substitutos do óleo de peixe, por serem ricos em DHA.

Recentemente, Jorje e colaboradores (2022) relataram aumento na composição total de PUFA n-3/n-6 e DHA, sem alteração na qualidade do filé, em tilápia-do-nilo na fase adulta, quando alimentada com dieta suplementada com 3,0% de farinha de *Schizochytrium* sp. por um período de 49 dias, em temperatura ótima. Nobrega e colaboradores (2019) também haviam relatado anteriormente aumento de DHA em juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com farinha de *Aurantiochytrium* sp., em temperatura subótima. Entretanto, ainda não há informações sobre

a influência da suplementação dietética com DHA, via aditivo alimentar a base de *Schizochytrium* sp., em temperatura subótima, sobre parâmetros de qualidade do filé de tilápia, tais como suas características físico-químicas, aceitação sensorial e vida de prateleira, a fim de verificar possíveis mudanças em seu padrão de qualidade.

O aditivo ADVANTAGE ALLPRO, comercializado pela ALLTECH® do Brasil, é uma importante fonte de DHA, contendo 126 g de DHA kg^{-1} de produto, proveniente da farinha de *Schizochytrium* sp. Sua suplementação dietética foi testada recentemente em juvenis de tilápia-do-nilo, em experimento a campo, em Rio Negrinho, SC, durante os meses de abril a dezembro (Lehmkuhl, 2023). Salienta-se que temperaturas subótimas de crescimento para a tilápia foram registradas na grande maioria do período experimental. A suplementação de ALLPRO melhorou significativamente o desempenho dos peixes, sendo que o conteúdo corporal de DHA aumentou 660%. Condições subótimas de temperatura são frequentes na criação de tilápia no sul do Brasil - importante polo produtor da espécie – mas são favoráveis ao acúmulo de DHA, nutriente importante para a nutrição humana (Justi *et al*., 2003).

O DHA e EPA apresentam importantes funções no organismo do corpo humano, possuindo vários efeitos benéficos sobre a resposta imune e inflamatória (Andrade; Carmo, 2006), mantendo a integridade de todas as células vivas e produzindo prostaglandinas, que regulam processos corporais tais como a inflamação e coagulação sanguínea. O DHA é um ácido graxo estrutural do sistema nervoso e retina, que apresenta importante função desde o desenvolvimento fetal até a saúde do idoso. Estes LC-PUFAs não podem ser sintetizados pelo corpo humano e, portanto, devem ser ingeridos através da alimentação (Bali'c *et al*., 2020). As recomendações para a ingestão de um consumo humano diário de DHA variam globalmente (*Global Organization for EPA and DHA Omega-3*, 2014), mas a grande maioria das diretrizes alimentares sugere um consumo semanal de no mínimo duas porções de peixe, as quais devem conter ácidos graxos altamente insaturados da série n-3 (Comissão Europeia, 2020). A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos *(European Food Safety Authority,* EFSA) recomenda que o consumo de EPA+DHA, para adultos, seja de 250 a 500 mg (EFSA, 2017).

Por fim, salienta-se a suplementação dietética de DHA em temperaturas subótimas, além de melhorar o desempenho da tilápia, pode favorecer o acúmulo de um nutriente que normalmente é reduzido em pescado de águas continentais e quentes, tal como a tilápia: o DHA. Entretanto, a inclusão de DHA na dieta pode alterar a qualidade da carne dos peixes e o próprio crescimento, uma vez que o excesso desse nutriente leva à oxidação e à inibição de processos inflamatórios necessários ao desenvolvimento do animal (Li *et al*., 2009; Nobrega *et al*., 2022).

1.3 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE E VIDA DE PRATELEIRA DO FILÉ

Os produtos alimentícios são suscetíveis a diversos fatores que promovem alterações na qualidade do produto final durante o tempo, no armazenamento. Designa-se tempo de conservação útil aquele no qual a qualidade é mantida para aceitabilidade ao consumo humano. Determinar o tempo correto de conservação útil de um alimento é importante para o seu sucesso comercial (Stringer e Dennis, 2000). O maior problema para comercialização do pescado é o tempo de vida de prateleira.

A condição de armazenamento, o tempo e a temperatura são fatores essenciais para a qualidade nutricional do pescado. Existem diferentes formas de comercialização do pescado proveniente de tilápia, sendo as mais comuns: inteira sob armazenamento congelado ou refrigerado e em filés congelados ou frescos, esses de preferência no mercado global (Boscolo e Feiden, 2007; Sussel, 2013). A indicação dos estágios de em dias de vida de pratelira dos filés armazenados refrigerados, proporciona resultados confiáveis para a medição da sua qualidade (Sykes *et al*., 2009).

Uma vez que a temperatura em armazenamento refrigerado é um fator importante para o processo de qualidade do filé, o pescado deverá ser mantido refrigerado ou imediatamente congelado após a captura. A refrigeração (entre -1ºC e 8ºC) é uma importante ferramenta para reduzir o calor do produto, desacelerando as reações físico-químicas, atividades enzimáticas, intensificando sua vida de prateleira por dias ou semanas (Fellows, 2006; Freitas; Figueiredo, 2000). Também são estudadas tecnologias de embalagem que são capazes de assegurar ou estender o tempo de vida de prateleira (Sacharow; Griffin, 1980). Em armazenamento refrigerado, a embalagem a vácuo garante que os produtos do pescado permaneçam dentro das condições ideais de consumo humano durante tempo de 8 a 15 dias (Jeyasekaran *et al*., 2004). Mais especificamente, a redução na temperatura de armazenamento e embalagem a vácuo dos filés podem reduzir a oxidação lipídica, diminuir a perda de água, o crescimento de microrganismos e retardar a deterioração físico-química (Sacharow; Griffin, 1980).

A seguir serão descritos em detalhe os parâmetros escolhidos para avaliar a qualidade do filé de tilápia-do-nilo, após abate e armazenamento, incluindo indicadores microbiológicos, físico-químicos, e aspectos sensoriais.

1.3.1 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

Os procedimentos adotados desde a captura até a mesa do consumidor determinam a qualidade microbiológica do pescado. As condições higiênicos-sanitárias, qualidade da matéria prima, a correta higienização dos manipuladores, local de processamento, os métodos de refrigeração, a embalagem, as condições do armazenamento e o transporte, são questões de higiene e segurança que devem manter a extensão da vida de pratelira do alimento, manter a qualidade sensorial, microbiológica e garantir a melhor conservação do produto (Bartolomeu *et al*., 2011).

Para melhor conservação e qualidade do pescado, evitando o desenvolvimento de microrganismos, recomenda-se mantê-lo em baixas temperaturas. Psicrófilos e psicrotróficos conseguem se multiplicar, lentamente em temperatura de zero grau. E, também, tem habilidade de se multiplicar em temperatura de refrigeração. Juntamente com mesófilos aeróbios totais, são bons indicadores de qualidade e processo e utilizados para estimar a vida de prateleira (Costa, 2019; Zacharov; Halpern, 2007). O grupo das bactérias mesófilas é constituído por bactérias da família Enterobacteriaceae, incluindo gêneros como *Streptococcus*, entre outros. Em destaque estão as enterobactérias (*Salmonella e Escherechia coli*), principais causadoras de infecções urinárias, intestinais e morte celular das hemácias, pois são capazes de produzir ácido lático (Ferrari *et al*., 2017). As bactérias mesófilas constituem a maior parte da microbiota considerável nos alimentos e sua contagem é indicadora da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos (Silva *et al*., 2007).

Os psicotróficos Estafilococos coagulase positiva, *Escherichia coli* e *Salmonella* estão entre as espécies bacterianas que compõem a microflora dos peixes (Guerrero-Legarreta, 2009). Para peixes armazenados em condições não ideais, as bactérias gram-negativas fermentativas entram em ação e são responsáveis por causar deterioração do pescado (Ferreira Canas *et al*., 2010; Hubbs (1991). Para avaliar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e fornecer informações quanto ao seu tempo de vida útil de conservação, é realizada a Contagem Padrão em Placa (CPP) dessas bactérias. Quando a contagem é elevada, os alimentos não são indicados ao consumo, indicando que ocorreu contaminação durante o processamento do alimento ou realizado de forma incorreta (Ordoñez *et al*., 2005).

A *International Commissionon on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986) preconiza como padrão microbiológico a contagem do grupo dos microrganismos mesófilos máxima de 10^7 unidades formadoras de colônia (UFC) g^{-1}. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabeleceu, através da Instrução Normativa IN Nº

161, DE 1º de julho de 2022, com os padrões microbiológicos para pescado refrigerado *in natura*. Estes são a ausência de *Salmonella* sp. em 25 g de amostra, contagem de Estafilococos coagulase positiva menor que $1x10^3$ g^{-1} e, de *Escherichia coli,* menor que $1x10^2$ g^{-1}.

1.3.2 ASPECTOS FISÍCO-QUÍMICOS

A qualidade físico-química e, consequentemente, higiênico-sanitária de produtos cárneos, vai depender das medidas adotadas desde a captura do animal até o momento do consumo (Conceição; Gonçalves, 2009). A qualidade do pescado depende de fatores exógenos (manejo de abate, manipulação e conservação) e endógenos, que incluem principalmente as características físico-químicas do filé (Oetterer, 1998). Tais fatores podem promover a deterioração e determinam atividade enzimática no tecido e ação de microrganismos (Fogaça; Sant'ana, 2009).

Os parâmetros de deterioração em peixes, influenciados pelas oxidações lipídicas e crescimento microbiano, englobam o ciclo de redução das bases nitrogenadas e outras aminas biogênicas em formas mais simples, deteriorando assim a qualidade de conservação do produto final (Sallam *et al*., 2007). Vários métodos físico-químicos são propostos para quantificar os compostos resultantes da deterioração, em pescado. São eles: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), bases nitrogenados voláteis totais (BNV-T), trimetilamina (TMA), pH, decomposição de ATP e produção de peróxidos. Tais medidas são utilizadas para avaliar a qualidade e vida de prateleira do pescado, atuando como principais responsáveis pelo odor e sabor, além de indicar a deterioração bacteriana, determinando a qualidade do frescor (Prabhakar *et al*., 2019, 2020; Peleg, 2016). O valor de TMA leva em consideração todos os subprodutos formados durante o armazenamento e as mudanças que ocorrem no músculo do peixe durante esse processo. O Regulamento de Inspeção Industrial dos Produtos com Origem Animal (RIISPOA) determina a caracterização do pescado fresco e aceitável para consumo humano, quando possui valores do nitrogênio de BNV-T menores que 30 mg de N 100 g^{-1} de tecido muscular (BRASIL, 2017).

Já a composição em ácidos graxos livres, indica a atividade hidrolítica, representada pela ação das enzimas lipolíticas. Durante a hidrólise, os triacilgliceróis presentes no pescado, estão expostos à oxidação lipídica. A oxidação lipídica ocorre também no músculo do peixe devido à ação da hemoglobina (Hb), após ser oxidada. A presença de ácidos graxos insaturados acelera esse processo de oxidação dos lipídios através da Hb desoxigenada, reduzindo os valores de pH (Ghaly *et al*., 2010). Logo, no *post-mortem* há redução no valor do pH no músculo

do peixe (Huss, 1995). Tal redução de pH provoca a desnaturação parcial das proteínas no músculo, devido à mudança da carga das mesmas, o que interfere na capacidade de retenção de água, resultando em efeito negativo sobre a textura do músculo (Huss, 1995).

1.3.2.1 Cor e Textura

As alterações microbiológicas que ocorrem durante a degradação, além das condições de criação dos peixes e de armazenamento dos filés, podem provocar alterações da cor (Hallier *et al.*, 2007, Erikson; Misimi, 2008). De maneira geral, cada espécie de pescado apresenta uma coloração característica no tecido muscular. Essas cores diversas estão diretamente relacionadas à presença de pigmentos naturais como carotenoides, hemoglobina, mioglobina, melanina, entre outros. Esses pigmentos se apresentam instáveis e participam de reações. Logo, pode ocorrer uma alteração na cor característica que pode indicar possíveis alterações físico-químicas decorrentes de processamento e/ou armazenamento (Maia, Ogawa, 1999; Ribeiro, Seravalli, 2007). Por exemplo, os carotenoides, que são lipossolúveis, são responsáveis por cores amareladas a avermelhadas nos peixes. Já a melanina é responsável pela coloração escura nos peixes. Esses pigmentos básicos podem se combinar entre si e com outros nutrientes como as proteínas, resultando em cores escuras nos peixes que vão do azul a tons de verde (Ribeiro; Seravalli, 2007). Muitos são os fatores que influenciam na cor, como o pH do músculo, participação da metamioglobina redutase, oxidação lipídica, reações de consumo de oxigênio, exposição à luz e à temperatura, além do tempo de armazenamento. A oxidação lipídica nos estágios iniciais, produz acúmulo de hidroperóxido, produto primário da oxidação entre os músculos brancos e escuros do peixe (Sohn *et al.*, 2005). Além disso, outros fatores podem influenciar a cor da carne: os intrínsecos ao animal (espécie, sexo, tipo de músculo, idade) bem como os extrínsecos (alimentação, agentes estressores no abate) e *post mortem* (temperatura, pH e região anatômica) (Zeola, 2002).

Ao avaliar a aparência do pescado, é importante ter em conta a sua coloração específica, entre outros atributos específicos. Segundo Francis e Clydesdale (1975), a cor pode ser avaliada: 1) por meio da visualização por um indivíduo, ou seja, percepção sensorial; 2) por meio da detecção da luz após interação com um objeto, o observador analisa a cor em "vermelho", "verde", "amarelo" e 3) por procedimento instrumental (colorímetro), sendo o mais utilizado aquele que adota a escala de cor CIE L*a*b*. Este procedimento fornece informações exatas para observação, com unidades matemáticas adequadas para expressão da cor e do padrão observador, produzindo resultados correlacionáveis com a análise sensorial. A escala de

cor apresentada pelo método é de 0 a 100. O valor de L*, referente à luminosidade, mais próximo a 100 representa a uma perfeita reflexão, já o 0 é o valor mínimo, correspondendo ao preto. Os eixos a* e b* não possuem valores numéricos limitantes específicos. O eixo a* varia do vermelho (+a*) ao verde (-a*) e o eixo b* varia do amarelo (+b*) ao azul (-b*) (Jiménez, Gutiérrez, 2001).

A textura do pescado pode ser monitorada sensorialmente. Há também diferentes técnicas para avaliar a textura do filé, as quais baseiam-se em princípios reológicos como a compressão, punção e força de corte. Com o auxílio de aparelho conhecido como texturômetro, é possível realizar diferentes tipos de análise, sendo que os mais utilizados em peixes são o de compressão e punção. O teste de compressão envolve duas compressões, resultando uma análise do perfil da textura a partir do gráfico força-tempo de cada compressão para ilustrar o nível de recuperação de cada amostra (Sigurgisladottir *et al.*, 1999). Já o teste de punção, por meio de gráficos de curvas do tipo força-tempo, possibilita a medida de várias propriedades da textura como a energia da curva obtida, a força que provoca a ruptura e o declive (Barroso *et al.*, 1998). Essas análises são conhecidas como análise do perfil de textura (TPA), onde diferentes atributos de medição produzem uma variedade de resultados, que diferem em relação a sua qualidade, sensibilidade e correlação com a avaliação sensorial, que é de grande relevância pela aceitação dos consumidores (Bourne, 1978; Veland; Torrissen, 1999).

1.3.4 CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS

Na análise sensorial utiliza-se a visão, olfato, odor, tato etc. para avaliar o frescor dos peixes (Bernardo *et al.*, 2020). Os sentidos presentes nos seres humanos, especialmente nos especializados e treinados a consumir filé de tilápia podem avaliar muito bem todas essas características sensoriais. Para cada descrição qualitativa é realizada uma conversão em pontuação numérica, trazendo as informações sobre a qualidade sensorial do filé (Dalgaard, 2000).

Ao determinar a qualidade dos filés de peixes, o frescor é um dos aspectos mais importantes (Grassi *et al.*, 2022). Do ponto de vista do consumidor, o odor é o aspecto mais importante, diretamente proporcional à frescura do pescado e, portanto, a propriedade mais exigida. Existe uma relação entre o odor e textura e a frescura do pescado. Com o passar dos dias após o abate do pescado, os produtos voláteis que resultam no odor desagradável e na alteração da textura durante a mastigação, levam a uma menor preferência por parte da maioria das pessoas. O tecido muscular pode conter bactérias aeróbias facultativas que produzem

amônia, sendo está uma das principais razões para a alteração no odor do pescado (Gorga; Rosinvalli, 1988; Sikorski, 1990). Portanto, o filé deve apresentar um odor suave. Se for mantido em gelo desde o abate, armazenado embalado e refrigerado ou congelado, conservará seu odor por aproximadamente uma semana.

A firmeza do filé do pescado é um importante índice de frescor, que está relacionada a uma ampla gama de fatores, tais como genética, condições de crescimento e método de abate. Após o abate, o filé apresenta músculo firme; entretanto, poderá tornar-se "mole" devido à degradação autolítica natural, mesmo sendo conservado refrigerado ou congelado (Özogul, 2010; Coppes-Preticorena, 2011). O amolecimento indica a deterioração e depreciação das propriedades do filé. Existem duas abordagens principais para medir a textura do pescado: métodos instrumentais e avaliação sensorial (Periago *et al*., 2005; Ashton; Michie; Johnston, 2010).

Alterações na composição lipídica da dieta dos peixes podem modificar sua composição em ácidos graxos, causando modificações na qualidade sensorial, características físico-químicas e/ou nutricionais do filé. A estagnação da captura de recursos pesqueiros e o aumento do consumo de pescado pela população diminuíram a oferta e, consequentemente o custo da farinha e óleo de peixes, tornando proibitivo seu uso em dietas para tilápia-do-nilo, Portanto, fontes alternativas sustentáveis de LC-PUFA n-3, tais como as encontradas em aditivos sustentáveis para suplementação em rações aquícolas, estão sendo estudadas atualmente apara melhorar o valor nutricional do pescado para consumo humano bem como para promover o bem estar dos peixes. Já foi demonstrado que a suplementação com o aditivo ALLPRO, fonte de DHA, promove o crescimento e eficiência alimentar de juvenis de tilápia-do-nilo, em condições de temperaturas subótimas (Lehmkuhl, 2023). Já o foco desta dissertação foi avaliar se tal suplementação, também em condições de temperatura subótima, mas por um curto período de suplementação, afetará os parâmetros de qualidade do filé de tilápia-do-nilo, incluindo aceitação sensorial e vida de prateleira de armazenamento do filé refrigerado.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar se a suplementação dietética de DHA, via aditivo ALLPRO - por um curto período de tempo e em temperatura subótima - promove seu acúmulo no filé de tilápia-do-nilo, sem que ocorram alterações negativas no seu padrão de qualidade.

Objetivos específicos

- Determinar o tempo ideal de suplementação dietética com ALLPRO (10, 20 ou 30 dias) a 22°C para promover a incorporação de DHA no filé de tilápia para o consumo humano.

- Determinar o tempo de vida de prateleira de filés resfriados de tilápia - quando alimentada com dieta suplementada com ALLPRO, por 30 dias a 22°C - em relação a parâmetros microbiológicos, físicos, químicos e sensoriais.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

* Este artigo será submetido ao periódico Aquaculture.

A suplementação dietética de DHA para tilápia-do-nilo por apenas trinta dias, quando mantida em temperatura subótima, promove seu acúmulo no filé, sem afetar negativamente a qualidade e vida de prateleira

Virian Coradini Brutti[1], Renata Oselame Nobrega[1], Katharinne Ingrid Moraes de Carvalho[1], Vitória Daitx de Oliveira[1], Maria Fernanda Oliveira da Silva[1], Marília Miotto [2], Natália Duarte Lima [2], Renata Dias de Mello Castanho Amboni [2], Débora Machado Fracalossi [1]*

[1] Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil.

[2] Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil.

*autor correspondente.

RESUMO

O consumo regular de peixe traz vários benefícios para a saúde humana, dentre eles, fornecer ácidos graxos poli-insaturados da série n-3 (PUFA n-3). A tilápia-do-nilo é a espécie mais importante na aquicultura brasileira; entretanto, por ser uma espécie tropical de águas continentais, normalmente não é fonte de PUFA n-3. Este estudo avaliou se a suplementação dietética do aditivo ALLPRO, rico em ácido graxo docosaexaenoico (22:6n-3, DHA, com 126g kg^{-1} peso seco), por 30 dias a 22°C, é suficiente para promover o acúmulo de DHA no filé, sem afetar a qualidade e vida de prateleira de tilápia, em tamanho de abate. Foram formuladas duas dietas isoenergéticas para atender às exigências nutricionais da tilápia-do-nilo: a primeira sem qualquer fonte de PUFA n-3, a segunda, suplementada com 1,7% ALLPRO. Grupos de 52 tilápias com peso médio de 415,51 ± 1,55g foram estocados em tanques de 1.000L, conectados a um sistema de recirculação de água, alimentadas de forma restrita (1 a 3% do peso vivo), duas vezes ao dia, durante 30 dias. O delineamento experimental adotado foi casualizado, distribuindo-se os dois tratamentos dietéticos (ALLPRO e CONTROLE) em cinco repetições cada. Foram realizadas amostragens nos períodos 0, 10, 20 e 30 dias de alimentação, para avaliar o perfil de ácidos graxos no filé dos peixes. Ao final do experimento, ocorreu a insensibilização dos peixes por hipotermia, seguido por filetagem, embalagem a vácuo e armazenamento dos filés em temperatura de 4°C para avaliação da qualidade da carne e tempo de vida de prateleira. Os filés foram amostrados durante o período de 0, 4, 8, 12 e 16 dias de armazenamento e realizadas as análises: microbiológicas, físico-químicas, cor, textura e sensoriais. A suplementação dietética com o aditivo ALLPRO por 30 dias, influenciou positivamente o perfil de ácidos graxos da série n-3 no filé, resultando em concentração de 100 mg DHA 128,14 g^{-1} peso úmido, cumprindo as recomendações da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) para prevenção de risco cardiovascular para adultos (> 100

mg dia^{-1}). As amostras de filés armazenadas e refrigeradas a 4°C por 16 dias, atenderam à legislação brasileira em termos microbiológicos. As análises físico-químicas mostram que o frescor dos filés se manteve por aproximadamente 4 dias. Os parâmetros de coloração dos filés foram influenciados pelo tempo de armazenamento na musculatura branca dorsal, ventral e vermelha central. Na musculatura vermelha central, os filés de peixes alimentados com dieta ALLPRO apresentaram maior intensidade da coloração amarela, aos 16 dias de armazenamento diferindo daqueles que receberam dieta CONTROLE. Os atributos de textura (dureza, mastigabilidade e resiliência) foram menores no filé dos peixes alimentados com a dieta ALLPRO. Para análise sensorial, os parâmetros cor, odor e textura foram afetados pelo tempo de armazenamento, sendo recomendado armazenar os filés até 4 dias a 4°C. Conclui-se que suplementação dietética com aditivo ALLPRO por 30 dias, aumenta a concentração de DHA no filé de tilápia-do-nilo, mantidas a temperatura 22ºC, a níveis satisfatórios para o consumo humano, sem afetar a qualidade e o tempo de vida de prateleira dos filés.

3.1 INTRODUÇÃO

O filé de pescado destaca-se por ser constituído por vários grupos de proteínas e aminoácidos de alto valor biológico (Oetterer; Regitano-d'Arce; Spoto, 2006). O pescado marinho, por sua vez, representa uma importante fonte de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (Moretto *et al*., 2002), tais como o ácido alfa-linolênico (α-LNA, 18:30 n-3), EPA e DHA, que pertencem à série n-3. Estes ácidos graxos essenciais desempenham um papel importante no metabolismo e, consequentemente, na saúde humana (Duarte *et al*., 2021). Há variações nas recomendações para a ingestão diária destes ácidos graxos (Global Organization for EPA and DHA Omega-3, 2014), mas a grande maioria das diretrizes alimentares sugere um consumo semanal de, no mínimo, duas porções de peixes ricos em ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa da série n-3 (LC-PUFA n-3), para a população em geral (Comissão Europeia, 2020). A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) recomenda que o consumo diário de ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3), juntamente com o de ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3), seja de 250 a 500 mg (EFSA, 2017).

A tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, é a terceira espécie de peixe mais produzida pela aquicultura mundial (FAO, 2022) e a mais importante na aquicultura brasileira, promissora como importante fonte de nutrientes para a alimentação humana. Embora naturalmente não seja considerada uma fonte de ácidos graxos essenciais da série n-3, benéficos à saúde humana (Vila Nova; Godoy; Aldrigue, 2005; Souza *et al*., 2005), seu filé pode se tornar uma fonte destes ácidos graxos em condições especiais de nutrição e temperatura de criação.

A faixa ideal de temperatura para a produção de tilápia-do-nilo é de 26 a 30°C (Azaza *et al*., 2008; Ma *et al*., 2015). Entretanto, apesar de ser uma espécie tropical, sua produção abrange áreas com clima subtropical, caracterizadas por variações de temperatura consideráveis

durante o ano (Nobrega *et al*., 2020). Assim, é necessário estudar dietas que promovam o crescimento em tais condições. Estudos relatam melhora no crescimento a 22°C quando a tilápia-do-nilo é suplementada com fontes dietéticas de LC-PUFA n-3 (Correa *et al*., 2017, 2018; Nobrega *et al*., 2019). Além de melhorar o crescimento, também há maior acúmulo corporal de LC-PUFA n-3 - desde que estejam presentes na dieta - já que este é um mecanismo adaptativo para melhorar o funcionamento das membranas em organismos ectotérmicos, como os peixes. Desta forma, a tilápia, quando criada em temperaturas subótimas, poderia se tornar uma fonte de LC-PUFA n-3 para a dieta humana, o que aumentaria o seu valor de mercado. Entretanto, o acúmulo de LC-PUFA n-3 no filé, via ração, pode alterar a qualidade da carne da tilápia, devido à alta susceptibilidade destes à oxidação (Li *et al*., 2009). Portanto, é necessário avaliar a influência da sua suplementação na dieta sobre parâmetros de qualidade e vida de prateleira no filé de tilápia, bem como de sua aceitação sensorial, a fim de verificar possíveis mudanças em seu padrão de qualidade.

As principais fontes de DHA em dietas aquícolas são a farinha e o óleo de peixe marinho, geralmente oriundos da pesca extrativa, ambos com alto preço e demanda de mercado. Desta forma, estudos buscam a substituição destes insumos por fontes sustentáveis (Turchini *et al*., 2009). Algumas espécies de microrganismos heterotróficos marinhos se apresentam como alternativa interessante, pois são produtores primários de LC-PUFA n-3 (Sprague *et al*., 2015). Por exemplo, a farinha produzida com a biomassa de *Auranthiochytrium sp*. se mostrou adequada como fonte de DHA para o tilápia-do-nilo tanto a 28°C (Fernandes *et al*., 2018), como a 22°C (Nobrega *et al*., 2019), quando fornecida por 57 e 87 dias, respectivamente. Recentemente, foi relatado que a suplementação dietética com 3,0% de farinha de *Schizochytrium sp.* por um período de 49 dias a 28°C resultou em aumento na concentração de DHA e no total de ácidos graxos no filé de tilápia-do-nilo, sem alterar a cor, textura e pH do produto (Jorje *et al*., 2022). Entretanto, ainda não é conhecido qual o tempo mínimo necessário de suplementação dietética, em condições de temperatura subótima, para atingir os níveis recomendados de DHA no filé de tilápia para consumo humano.

O aditivo ADVANTAGE ALLPRO (Alltech® do Brasil) é uma fonte de DHA proveniente de *Schizochytrium sp.* e pode ser utilizado em dietas para peixes. Um entrave à utilização de aditivos nas dietas é o seu alto custo (Watters *et al*., 2013) e uma possível solução para este problema seria a suplementação por um tempo curto, suficiente para promover deposição adequada de DHA no filé. Portanto, o presente estudo foi planejado para avaliar se o aditivo ALLPRO afetará os parâmetros de qualidade do filé de tilápia-do-nilo e sua vida de

prateleira, quando suplementado na ração por um curto período, mas em temperatura subótima de 22°C.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Dietas experimentais

ALLPRO (Alltech Agroindustrial do Brasil Ltda) é um aditivo alimentar, fonte de DHA (126 g kg^{-1} do peso seco) e nucleotídeos (5 g kg^{-1} do peso seco) (Tabela 1), para uso em alimentação animal. Duas dietas isonitrogenadas e isoenergéticas denominadas CONTROLE e ALLPRO, com 32% de proteína bruta, foram formuladas para atender às exigências nutricionais da tilápia-do-nilo (NRC, 2011) (Tabela 2). A dieta CONTROLE, foi formulada com ingredientes desprovidos de PUFA n-3 e a dieta ALLPRO foi suplementada com 1,7% do aditivo alimentar. Este nível de suplementação foi adotado com base em estudo anterior realizados por Nobrega *et al.* (2019), onde a concentração de 0,20 g DHA 100 g^{-1} do peso seco da dieta melhorou significativamente o crescimento de juvenis de tilápia-do nilo, a 22°C. As dietas foram distribuídas aleatoriamente nas unidades experimentais, resultando em dois tratamentos dietéticos com cinco repetições, em delineamento inteiramente casualizado.

O óleo de milho foi utilizado na formulação da dieta CONTROLE para manter uma proporção semelhante do total de PUFAs e extrato etéreo entre as dietas. Para manter a composição dos demais nutrientes similar em ambas as dietas, o aditivo ALLPRO foi substituído pelo óleo de milho. Foram mantidas semelhantes as proporções do ácido graxo alfa-linolênico (α-LNA), dos ácidos graxos saturados (SFA), dos ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) e dos PUFA entre as dietas. A relação n-3:n-6 variou um pouco entre as dietas devido às características dos ingredientes (Tabela 2).

Tabela 1. Composição do aditivo Allpro, rico em ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3).

Composição	**% da matéria seca**
Energia bruta, kcal kg^{-1}	3680
Matéria seca	99,84
Proteína bruta	6,78
Extrato etéreo	28,63
Matéria mineral	39,39
Ácido palmítico (16:0)	33,67
Ácido docosahexaenoico, DHA (22:6 n-3)	12,6
Nucleotídeos	0,5

Tabela 2. Formulação e composição das dietas experimentais.

Ingredientes [a], *g 100 g $^{-1}$ matéria seca*	**CONTROLE**	**ALLPRO**
Farinha de vísceras de aves	23,1	23,1
Farelo de soja	32,84	32,84
Milho	41,7	40,5
Óleo de milho	0,50	0,00
BHT	0,10	0,10
ALLPRO [b]	0,00	1,70
Fosfato bicálcico	0,60	0,60
DL-Metionina	0,26	0,26
L-Treonina	0,20	0,20
Cloreto de colina	0,10	0,10
Mistura vitamínica e mineral [c]	0,60	0,60
Composição, g 100 g $^{-1}$ matéria seca		
Matéria seca	91,93	90,73
Proteína	35,44	35,22
Extrato etéreo	6,57	6,79
Energia (kcal kg^{-1})	4.599	4.648
Cinzas	9,32	10,01
PAL (C16:0) [d]	1,06	1,09
OLA (C18:1 n-9)	1,73	1,52
LOA (C18:2 n-6)	1,72	1,48
α-LNA (C18:3 n-3)	0,02	0,02
C22:4 n-6	ND	0,07
DPA (C22:5 n-3)	ND	0,01
DHA (C22:6 n-3)	**ND**	**0,22**
∑SFA [e]	1,12	1,15
∑MUFA	2,06	1,84
∑PUFA	1,75	1,80
∑PUFA n6	1,73	1,56
∑PUFA n3	0,02	0,25
n3/n6	0,01	0,16

[a] Farelo de soja, farelo de trigo e milho adquiridos na Cravil (Rio do Sul, Santa Catarina, Brasil). A farinha de vísceras de aves, 60% proteína bruta, produzida por Ossotuba Ltda. (Tubarão, Santa Catarina, Brasil). Óleo de milho adquirido da distribuidora Suavit, sendo produzido por Cocamar Cooperativa Agroindustrial (Brasil).

[b] ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, produzido por Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda (Maringá, PR).

[c] Premix vitamínico-mineral linha Aqua (ROVIMIX 2030), composição por kg de produto: vit. (vitamina) A 1.000.000 UI, vit. D_3 500.000 UI, vit. E 20.000 UI, vit. K_3 500 mg, vit. B_1 500 mg, vit. B_2 1.750 mg, vit. B_6 1.125 mg, vit. B_{12} 3.750 mg, niacina 5.000 mg, pantotenato de cálcio 5.000 mg, ácido fólico 250 mg, biotina 50 mg, ferro 13,75 g, cobre 2.000 mg, manganês 3.750 mg, zinco 25 g, cobalto 25 mg, iodo 100 mg, selênio 75 mg.

[d] Ácidos graxos: PAL = ácido palmitoleico, OLA = ácido oleico, LOA = ácido linoleico, α-LNA = ácido alfa-linolênico, DHA = ácido docosaexaenoico. Ácidos graxos detectados e totalizados, mas não incluídos na tabela: C8:0, C14:0, C15:0, C16:0, C16:1 n-7, C17:0, C17:1 n-7, C:18:0, C18:1 n-7, C20:0, C20:1 n-9, C20:2 n-6, C22:0; C22:1 n-9, C20:5 n-3, C24:1 n-9, C22:4 n-6.

[e] Grupos de ácidos graxos: SFA = ácidos graxos saturados, MUFA = ácidos graxos monoinsaturados, PUFA = ácidos graxos poli-insaturados, LC-PUFA = PUFA de cadeia longa (com 20 e 22 carbonos).

Antes da preparação das dietas, todos os ingredientes foram analisados para determinar sua composição proximal, perfil de ácidos graxos e conteúdo energético. Os perfis de ácidos graxos das dietas experimentais foram determinados no início e no final do experimento para garantir que não houvesse perdas devido à oxidação dos ácidos graxos, durante o período experimental.

Para confecção das dietas experimentais, os ingredientes foram moídos em moinho de martelo com peneira de 0,6 mm. Em seguida, foram pesados em balança semi-analítica, misturados e homogeneizados, conforme as respectivas formulações. Após este processo, a umidade foi ajustada para 25%, para que a mistura fosse processada em extrusora de parafuso simples Modelo MX40 (Inbramaq, Ribeirão Preto, SP, Brasil). Após a extrusão, as rações foram secas em estufa de ventilação forçada, por aproximadamente 3 h, até atingir umidade de 8 a 10%. Péletes de 5 mm foram obtidos no final do processo.

Depois de secas, as dietas foram embaladas e armazenadas em recipientes hermeticamente fechados, protegidos da luz e mantidos em ambiente refrigerado a -20°C para evitar a oxidação dos ácidos graxos.

3.2.2 Peixes, aclimatação e procedimento experimental

Foram utilizados 530 adultos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) da linhagem GIFT, invertidos sexualmente para macho, adquiridos de uma piscicultura comercial Aquacultura Nilótica (Timbó, Santa Catarina, Brasil). O manejo dos peixes seguiu o protocolo n° 9772210922, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA, UFSC). Para a realização dos testes sensoriais nos filés, o projeto seguiu o parecer n° 5.669.833, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS).

Os peixes foram aclimatados às condições experimentais por cinco meses (6,00 a 415,51 g), sendo alimentados com dietas similares à dieta CONTROLE (Tabela 2), sem a adição do aditivo ALLPRO, para garantir que não receberiam fontes dietéticas de ácidos graxos da série n-3, passíveis de acumulação no filé. A concentração proteica da dieta de aclimatação foi ajustada de 40% para 36% e 34%, conforme o crescimento dos peixes. Neste período, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (09:00 h e 16:00 h) de forma restrita (3 a 10% do peso vivo). Foram realizadas biometrias parciais durante o período de aclimatação para o ajuste da taxa de arraçoamento.

Foram distribuídos aleatoriamente grupos de 52 peixes, com peso médio de 415,51 g ± 1,55, em 10 tanques-rede circulares de 1000 L, conectados a um sistema de recirculação fechado de água doce, com controle de temperatura a 28°C, aeração, filtragem mecânica e biológica. A temperatura da água foi então progressivamente reduzida de 28°C a 22°C, com redução de 1°C por dia.

Durante o ensaio alimentar de 30 dias, o arraçoamento dos peixes foi realizado duas vezes ao dia (09:00 h e 16:00 h) de forma restrita (1,9% do peso vivo), com as dietas experimentais CONTROLE e ALLPRO (Tabela 2). Diariamente, o consumo alimentar foi monitorado e registrado. O fotoperíodo foi ajustado para 12 h e a temperatura e o oxigênio dissolvido, foram monitorados diariamente, resultando nas médias 21,68 ± 0,76°C e 7,81 ± 0,53 mg L^{-1}, respectivamente. As demais variáveis indicadoras da qualidade da água foram monitoradas semanalmente, resultando nas seguintes médias: saturação de oxigênio 92,27 ± 1,82, pH 7,12 ± 0,61, alcalinidade 47,51 ± 11,31 mg L^{-1}, salinidade 1,29 ± 0,34 g L^{-1} de NaCl (sal refinado sem iodo), amônia total 0,30 ± 0,29 mg L^{-1}, nitrito 0,04 ± 0,02 mg L^{-1} e nitrato 2,38 ± 0,78 mg L^{-1}. Tais variáveis de qualidade de água, com exceção da temperatura, permaneceram na faixa indicada para a criação de tilápia-do-nilo (El-Sayed, 2020) e não diferiram significativamente entre as unidades experimentais.

3.2.3 Coleta amostral

No início e final do período experimental, que durou 30 dias, os peixes foram pesados individualmente (precisão de 0,01 g). Antes da pesagem, os peixes foram submetidos a jejum de 24 h e anestesiados com 200 mg L^{-1} Eugenol®.

Para a análise proximal corporal, três grupos de três peixes foram amostrados no início do experimento e três peixes, por unidade experimental (tanque de 1000 L), foram amostrados no final do experimento. Tais amostras de peixes foram moídas, homogeneizadas e armazenadas a -20°C até análise.

Para as análises de perfil de ácidos graxos, no início do ensaio alimentar, foram amostrados dois peixes por unidade experimental, para a obtenção de quatro filés. Após 10, 20 e 30 dias de fornecimento das dietas, foram também realizadas tais amostragens. Antes de todas as amostragens, os peixes foram mantidos em jejum por 24 h, eutanasiados por overdose (200 mg L^{-1}) do anestésico Eugenol®, seguido de secção da coluna vertebral. Os filés foram liofilizados, homogeneizados e armazenados a -20°C até as análises.

Após a finalização do período experimental, os peixes destinados à avaliação da vida de prateleira (517,14 ± 7,78; peso médio e desvio padrão), foram insensibilizados por hipotermia, em água com gelo, na proporção 1:1 (água:gelo; ± 1 ºC). Em cada exemplar de peixe foi realizada a sangria através de corte nas brânquias, sendo o exemplar eviscerado e filetado manualmente. A filetagem foi executada com o auxílio de uma faca, sendo realizada por três colaboradores treinados, seguindo um cronograma a fim de maximizar as condições higiênicas do produto final (Figura 1). As amostras de filés de tilápia foram embaladas a vácuo em sacos de polietileno, identificadas e em seguida armazenadas refrigeradas a 4ºC para a realização das análises de vida de prateleira – incluindo análises físicas, químicas, microbiológicas e de aceitabilidade sensorial – nos dias 0, 4, 8, 12 e 16 após o abate.

Figura 1. Fluxograma das condições de manipulação do pescado após o abate: controle higiênico-sanitário, embalagem e armazenamento pós-despesa.

Para as análises microbiológicas, incluindo as contagens totais de coliformes e mesófilos, foram utilizadas amostras de um filé por unidade experimental, em triplicata, para cada tempo avaliado (0, 4, 8, 12 e 16 dias). Já para as análises de Estafilococos coagulase positiva, *Salmonella* sp. e de contagem e coliformes totais, foram utilizadas amostras de um filé

por unidade experimental, em triplicata para o tempo inicial e final de armazenamento (0 e 16 dias).

Para as análises físico-químicas foram utilizadas amostras de um filé por unidade experimental, em triplicata, para cada tempo de vida de prateleira avaliado (0, 4, 8, 12 e 16 dias). Já para as análises de cor, textura e para as para as análises sensoriais, foram utilizadas amostras de oito filés por unidade experimental, em quintuplicata.

3.2.4 Composição lipídica e perfil de ácidos graxos dos filés no início e após 10, 20 e 30 dias de suplementação dietética

As amostras de ingredientes, rações e filés foram moídas e homogeneizadas antes das análises. A análise da composição centesimal seguiu as normas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1999) e foram avaliados: umidade (secagem em estufa a 105°C até peso constante, método 950.01); extrato etéreo (Soxhlet, método 920.39C); cinzas (incineração em mufla a 550°C, método 942.05) e proteína bruta foi determinada pelo equipamento Leco FP-528 LC usando o método Dumas (método 990.03). As análises de perfil de ácidos graxos foram realizadas por cromatografia gasosa. Brevemente, as amostras de lipídios foram extraídas a frio e quantificadas pelo método de Bligh & Dryer (1959). Os ácidos graxos foram esterificados usando o método de O'Fallon et al. (2007) e separados por um cromatógrafo gasoso (Agilent 7890B, Santa Clara, Califórnia, EUA) com um detector FID, usando uma coluna capilar CP7487 (CP-Sil 88 para FAME - 60 m, 0,25 mm, 0,20 μm, 7-in. cage). As condições cromatográficas foram: temperatura do detector 300°C; temperatura do injetor 240°C; temperatura inicial da coluna 120°C por 10 min, programada para aumentar a uma taxa de 3°C min^{-1} até 186°C, mantida por 5 min e depois aumentada novamente a 3°C min^{-1}, até a temperatura final de 231°C. O hélio foi o gás portador, com um fluxo de coluna de 2,5 mL min^{-1} e a injeção foi realizada no modo *split* (1:40). Os ácidos graxos foram identificados com base no tempo de retenção de dois padrões, MIX 37 (37 Component FAME Mix e PUFA nº3) e óleo menhaden (SUPELCO, Bellefont, Pensilvânia, EUA). As concentrações de ácidos graxos nas amostras foram calculadas de acordo com Joseph e Ackman (1992), utilizando como padrão interno 23:0 (ácido tricosanoico, Sigma, Saint Louis, Missouri, EUA).

3.2.5 Análises de vida de prateleira

3.2.5.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas de contagem de *Escherichia coli*, Estafilococos coagulase positiva, *Salmonella* spp. foram realizadas em atendimento a IN Nº 161, de 1º de julho de 2022 (BRASIL, 2022) que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos no Brasil. Em conjunto, a contagem total de mesófilos e de psicotróficos foram realizadas para acompanhar a vida de prateleira do produto. Para as análises de *E. coli*, Estafilococos coagulase positiva e *Sallmonella*, foram realizadas no dia inicial (dia 0) e final (dia 16) dos filés armazenados refrigerados a 4ºC. A contagem de mesófilos e psicrotróficos foram realizadas nos dias 0, 4, 8, 12 e 16.

Em cada um dos intervalos de tempo determinados, uma amostra de filé, sendo uma de cada tratamento CONTROLE e ALLPRO foram coletadas. Assepticamente, as amostras de filés foram abertas com auxílio de pinça e bisturi estéril e 25 g de cada amostra foi transferido para saco estéril para realização das diluições e condução das análises.

A enumeração de *E. coli* foi realizada de acordo com o método ISO 16649-3:2015 (ISO, 2015). A partir dos 25 g de amostra, foram realizadas diluições decimais seriadas e inoculadas em placas com ágar tryptone bile glucuronide (TBX) e incubou-se em uma temperatura de 44 ± 1°C por 22 ± 2horas. Após incubação, realizou-se a leitura das placas, o crescimento de colônias com tom de azul claro ou azul-esverdeado é considerado positivo para *E. coli* β-glucuronidase positiva.

A enumeração de Estafilococos coagulase positiva, foi realizada de acordo com o método ISO: 6888-1:2019. A análise foi realizada partindo das diluições 10-1, 10-2 e 10-3, com o auxílio de uma pipeta esterilizada, transferiu-se 0,1 mL de cada diluição para placas de Petri contendo Ágar Baird-Parker (BP) e depois espalhou-se o inóculo por toda a superfície do Ágar BP utilizando-se a técnica de semeadura em superfície ou Spread plate. As placas foram incubadas, invertidas, em estufa a 35ºC por 48 horas. Após incubação, as colônias típicas (negras, brilhantes, com anel opaco, rodeado por um halo claro transparente, destacando-se sobre a opacidade do meio) foram contadas para cálculo do número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama do alimento. A confirmação de coagulase foi realizada através do uso de plasma de coelho liofilizado.

Para detecção de *Salmonella* spp, seguiu-se o método VIDAS 48h AOAC Official Method 2011.03. 21th Edition, 2019. O sistema automatizado MINI - VIDAS *Salmonella* (SLM) Biomeriéux® é um ensaio imunoenzimático que permite a detecção de antígenos de

Salmonella pelo método *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELFA). O resultado foi expresso como ausência ou presença de *Salmonella spp*. em 25 g de amostra.

A contagem de mesófilos aeróbios foi realizada de acordo com a ISO 4833-1:2015 (ISO, 2015). Diluições decimais seriadas foram inoculadas, através da técnica pour plate em placas de petry estéreis com posterior adição de aproximadamente 15 mL de ágar PCA, previamente fundido e resfriado. As placas foram incubadas a 30 ± 1°C por 48 ± 2 horas e os resultados foram expressos em UFC/g.

Para a contagem de bactérias aeróbias psicotróficas a norma ISO 17410:2019 (ISO, 2019). Diluições decimais seriadas foram inoculadas, através de semeadura em superfície, em ágar padrão para contagem (PCA). As placas foram incubadas a 7 ± 1°C durante 10 dias. Os resultados foram expressos em UFC g^{-1}.

3.2.5.2 Análises físico-químicas

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para a determinação dos valores de ácido tiobarbitúrico foi utilizado o método para análise de pescado proposto por Vyncke (1970). Foram pesados 10 g de filé triturado em tubos do tipo FALCON identificados em duplicata. Em cada tubo foi adicionado 50 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5% e homogeneizado por 5 min. As amostras foram filtradas com papel filtro quantitativo em balão volumétrico de 50 mL. Após a filtragem, os balões tiveram os volumes completados com TCA a 7,5%.

Foi transferido 5 ml do filtrado para tubos de ensaio com tampa de rosca e adicionados 5 ml de ácido tiobarbitúrico (TBA) a 0,02 M. Após agitação mecânica, os tubos foram colocados em banho-maria por 10 minutos a uma temperatura de 95ºC. Um tubo controle foi realizado com a adição de 5 ml de TCA e 5 ml de TBA, sendo utilizado como branco na leitura das absorbâncias.

Após o tempo de incubação as amostras foram resfriadas em banho de gelo e as absorbâncias lidas no espectrofotômetro com comprimento de onda de 532 nm.

Para os cálculos, utilizou-se uma curva de calibração preparada com 1,1',3,3' tetraetoxipropano (TEP) em diferentes concentrações, para o malondialdeído (MDA). Uma solução mãe foi preparada diluindo uma alíquota de 0,1 mL de TEP em 100 mL de água destilada. Para formar os pontos da curva, foi preparada uma solução 2, diluindo 0,1 mL da solução mãe em 100 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5%. Conforme a Tabela 2, os

pontos da curva de calibração foram realizados com a mistura de diferentes quantidades da solução 2 (TEP), (TCA) e (TBA) em tubos de ensaio com tampa de rosca e submetidos ao mesmo processo de incubação das amostras. Os valores de TBARS foram expressos em miligramas de MDA por kg de amostra.

Tabela 3. Curva de calibração para análise de TBARS.

Concentração de TEP [1] mg L^{-1}	**Solução 2** mL	**TCA** [2] **7,5%** mL	**TBA** [3] **0,02 M** mL
0,018	0,0	5,0	5,0
0,080	0,4	4,0	5,0
0,128	0,8	3,0	5,0
0,181	1,2	2,0	5,0
0,228	1,6	1,0	5,0
0,242	1,8	0,5	5,0

[1] Tetraetoxipropano.
[2] Ácido tricloroacético.
[3] Ácido tiobarbitúrico.

Bases nitrogenadas voláteis totais (B-NVT)

Para a determinação de Bases Nitrogenadas Voláteis Totais, seguiu-se a metodologia proposta pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 1981). A análise de B-NVT, foi realizada por destilação/acidificação, em que 10 g do pescado foi levado ao tubo de destilação com o auxílio de 20 ml de água destilada, adicionando-se 2 g de óxido de magnésio (MgO) e procedendo a destilação por arraste de vapor por 30 minutos em temperatura média, recolhendo o destilado em erlenmeyer contendo 25 mL de solução de ácido bórico 4% (H_3BO_3 + indicador). Em seguida, foram tituladas as aminas voláteis com a adição de ácido clorídrico 0,01 mol L^{-1} sendo conduzida até o ponto de viragem de cor verde escuro para rosa. O teste foi realizado em triplicata, além do teste branco.

A equação 1 foi utilizada para obter a quantidade de B-NVT em mg 100 g^{-1} de pescado.

$$\text{NBVT}\left(\frac{\text{mg}}{100\ \text{g}}\right) = \frac{(\text{V} - \text{B})\ x\ f\ x\ 140}{\text{m}}$$

Onde:

V = volume de solução de HCl 0,1 mol L^{-1} gasto na titulação (mL)

B = volume do branco (mL)
f = fator de correção da solução de HCl 0,1 M (ou 0,01 M)
m = massa de amostra (g)

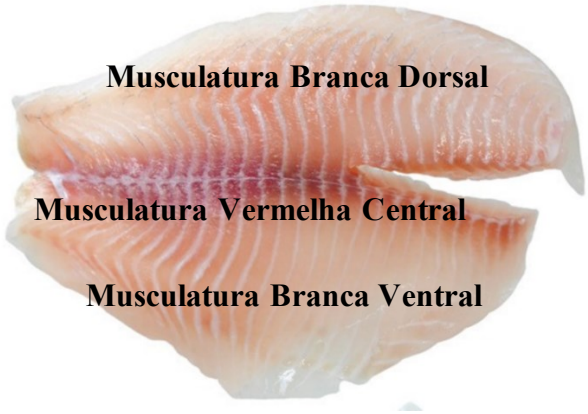
pH

As análises do pH, seguiram a metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz, 1985. Para medir o pH das amostras dos filés foi utilizado um becker de vidro de 250 mL, contendo 10 g de cada amostra, devidamente homogeneizada com 100 mL de água destilada. Foi utilizada a solução tampão 4,1 e 7,1 para calibrar o aparelho antes do uso. O eletrodo foi lavado com água destilada antes das leituras e a cada troca de amostras, sendo seco com papel absorvente macio. Após a homogeneização, os valores foram medidos com o auxílio de um peagâmetro digital (Modelo Instrutherm 03423 e sonda Instrutherm 03663). O valor mensurado foi registrado após a estabilização da leitura do equipamento.

3.2.5.2.1 Cor

Os parâmetros de cor L*, a* e b*, dos filés de peixes amostrados foram determinadas através do colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-400, Minolta, Osaka, Japão), ajustado para operar com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, previamente calibrado com a placa de referência branca (X = 81,12, Y = 85,99 e Z = 91,03). As leituras foram realizadas, obtendo-se os valores dos parâmetros L*, a* e b*. O parâmetro L* varia de 0 a 100, indicando a luminosidade, ou seja, uma variação de cor do preto ao branco, já o parâmetro a* mostra a intensidade do vermelho, variando do verde (-a*) ao vermelho (+a*), enquanto o b* mostra a intensidade do amarelo e pode variar do azul (-b*) ao amarelo (+b*) (O'Sullivan; Kerry, 2013). O equipamento foi colocado em três locais distintos em cada filé, na musculatura vermelha central e na musculatura branca dorsal e ventral, conforme recomendado por Casas *et al*. (2006) (Figura 2).

Figura 2. Face medial do filé de tilápia: a) regiões onde foram realizadas as análises de cor; b: distinção entre as três regiões dos filés. O perfil de textura foi analisado na região 1.



Fonte: Adapado de Casas *et al*. (2006).

3.2.5.2.2 Textura

A análise de textura (TPA, do inglês *Texture Profile Analysis*) foi realizada foi realizada de acordo com metodologia proposta por Wang *et al.* (2022), com modificações. As amostras foram cortadas no tamanho 10 mm × 10 mm × 10 mm para análise. Foi utilizado um texturômetro TA.XT *plus* (Stable Micro Systems Ltd, *texture exponent for Windows software*, Surrey, Reino Unido), carregado com célula de 25 kg e um *probe* cilíndrico de 36 mm de diâmetro. A distância entre o probe e a plataforma de medida foi de 30 mm, e as análises foram realizadas com velocidade pré-teste, teste e pós-teste de 2 mm s^{-1}, 1 mm s^{-1}, 2 mm s^{-1}, respectivamente. Foram realizados dois ciclos consecutivos com 40 % com intervalo de 5 s entre cada ciclo, e força de contato de 10,0 g. Foram determinados os parâmetros: dureza (*g*), elasticidade (*cm*), coesividade, resiliência (*cm*) e mastigabilidade (*g cm*$^{-1}$).

3.2.5.3 Análises sensoriais

Participaram da pesquisa 23 voluntários, potenciais consumidores de tilápia da comunidade do departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, de ambos os sexos, envolvendo alunos, professores e servidores. Todos que concordaram em participar da pesquisa, assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), modelo em (ANEXO A), onde constava a proposta e objetivos da pesquisa. Os procedimentos metodológicos realizados e a pesquisa foram previamente submetidos à aprovação, parecer n°

5.669.833, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

A análise sensorial dos filés foi realizada por uma equipe de vinte e três membros avaliadores que tinham o hábito de consumir filé de tilápia. As amostras de filés foram apresentadas em recipientes plásticos, juntamente garfo e faca foram distribuídos para cada membro avaliador. Foram avaliados por cada membro a cor (1 = extremamente descolorido, 5 = sem descoloração), o odor (1 = alto odor/inaceitável, 5 = extremamente desejável), a textura (1 = muito macio, 5 = compactado) e a aparência geral (1 = extremamente indesejável, 5 = extremamente desejável) para cada amostra codificada dos filés *in natura* e com a amostra padrão, identificada nas amostras. Foi utilizada uma escala hedônica de 5 pontos, de acordo com as especificações para cada parâmetro de qualidade, expressando a diferença observada entre as amostras dos grupos dos tratamentos dietéticos e o padrão, a qual foi desenvolvida por Ojagh *et al.* (2010) e adaptada para a tilápia por Alsaggaf; Moussa; Tayel (2017). A partir dos valores obtidos, foi calculado a média e desvio padrão de cada atributo, que posteriormente resultou em um escore geral para definir a aceitabilidade ou não dos filés. O limite de aceitabilidade por atributo foi fixado em 4 (APÊNDICE A).

3.2.6 Análises estatísticas

Todos os dados foram inicialmente analisados quanto à normalidade e homoscedasticidade. Os dados obtidos no filé (extrato etéreo, perfil de ácidos graxos e vida de prateleira) foram submetidos à ANOVA bifatorial, considerando-se como primeiro fator o tempo (0, 4, 8, 12 e 16 dias) e, como segundo fator, as dietas (CONTROLE e ALLPRO). O teste de Tukey foi realizado somente quando diferenças significativas foram detectadas. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software InfoStat v2012, o nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Composição lipídica e perfil de ácidos graxos dos filés após 10, 20 e 30 dias de suplementação dietética

Pesquisas recentes relatam que dietas contendo DHA podem contribuir para o aumento da produtividade e promover melhora na saúde da tilápia-do-nilo, quando mantida em

temperaturas subótimas (Corrêa *et al*., 2018; Abdel-Ghany *et al*., 2019; Nobrega *et al*., 2019; El Asely *et al*., 2020). Entretanto, a inclusão de DHA em dietas comerciais destinadas a peixes com menor valor comercial, como a tilápia-do-nilo, representa um grande desafio, por conta do seu alto custo. O aditivo ALLPRO representa uma fonte alternativa deste nutriente. No presente estudo, a suplementação dietética de DHA, via ALLPRO, aumentou linearmente (Figura 3 e 4) o conteúdo deste ácido graxo no filé de tilápia-do-nilo, bem como o conteúdo de todos os PUFAs n-3 (Tabela 3), quando avaliado após 10, 20 e 30 dias de alimentação. Vários estudos relatam que a composição de ácidos graxos dietéticos influencia diretamente o perfil de ácidos graxos no filé de tilápia-do-nilo, independente da temperatura da água e fase de desenvolvimento (Justi *et al*., 2005; Corrêa *et al*., 2017 e 2018; Ng *et al*., 2013; Nobrega *et al*., 2017 e 2019; Fernandes *et al*., 2018; Brignol *et al*., 2018; Mufatto *et al*., 2019; Jorge *et al*., 2022). Com efeito, no presente estudo, os ácidos graxos α-LNA, DPA e DHA, bem como ∑ PUFA n-3 (e a relação n-3:n-6), se acumularam em maior concentração no filé dos peixes alimentados com a dieta ALLPRO por 30 dias, apresentando interação entre a suplementação dietética e o período de alimentação.

Após 30 dias de alimentação, as tilápias alimentadas com a dieta ALLPRO apresentaram uma concentração de 78,04 mg de DHA 100 g^{-1} filé (Tabela 4). A ingestão diária de DHA+EPA recomendada pela *European Food Safety Authority* (EFSA) para reduzir o risco de doenças cardiovasculares em adultos é de 250 a 500 mg dia^{-1}; já a recomendação de ingestão diária, somente de DHA, é de 100 mg dia^{-1} (EFSA, 2017). Portanto, o consumo de aproximadamente 128,14 g de filé de tilápia, quando alimentada com a dieta ALLPRO por apenas 30 dias a 22°C, supre tal recomendação para humanos. Salienta-se a importância do uso desse aditivo alimentar para a tilápia-do-nilo, durante um período curto e quando mantida a baixas temperaturas, já que tal prática poderia ser implementada no início do outono, no final do ciclo de engorda da tilápia, quando a temperatura da água reduz naturalmente, em regiões subtropicais. O acúmulo de DHA aumentaria o valor agregado do filé e poderia compensar o custo com a suplementação.

Tabela 4. Retenção de ácidos graxos nos filés, em adultos de tilápia-do-nilo, quando alimentados com as dietas CONTROLE e ALLPRO aos 10, 20 e 30 dias, a 22ºC. [1, 2, 3]

Dieta	Tempo Dias	Extrato etéreo	LOA 18:2 n-6	α-LNA 18:3 n-3	ARA 20:4 n-6	C22:4 n-6	DPA 22:5 n-3	∑SFA	∑MUFA	∑PUFA	∑PUFA n-6	∑PUFA n-3	DHA 22:6 n-3 mg 100 g^{-1} matéria úmida
Ácidos graxos, g 100^{-1} matéria seca													
Interação													
CONTROLE	10	1,78 ± 0,50	0,75 ± 0,10	0,11 ± 0,03^{B}	0,17 ± 0,03	0,22 ± 0,05	0,01 ± 0,00	2,40 ± 0,63	2,59 ± 0,79	1,39 ± 0,24	1,18 ± 0,19	0,17 ± 0,03^{C}	13,66 ± 1,94 ^{D}
	20	2,05 ± 0,28	0,82 ± 0,05	0,13 ± 0,01^{AB}	0,19 ± 0,05	0,26 ± 0,07	0,01 ± 0,00	2,67 ± 0,12	2,93 ± 0,12	1,54 ± 0,20	1,30 ± 0,17	0,19 ± 0,02^{BC}	13,58 ± 1,15 ^{D}
	30	2,19 ± 0,33	0,77 ± 0,04	0,12 ± 0,01^{AB}	0,16 ± 0,03	0,22 ± 0,04	0,01 ± 0,00	2,47 ± 0,36	3,15 ± 0,34	1,37 ± 0,13	1,16 ± 0,11	0,17 ± 0,02^{C}	12,67 ± 0,57 ^{D}
ALLPRO	10	1,80 ± 0,23	0,79 ± 0,12	0,14 ± 0,01^{AB}	0,18 ± 0,02	0,23 ± 0,01	0,01 ± 0,00	2,56 ± 0,38	2,73 ± 0,47	1,54 ± 0,14	1,24 ± 0,13	0,25 ± 0,01^{B}	26,63 ± 0,69 ^{C}
	20	1,67 ± 0,27	0,70 ± 0,18	0,11 ± 0,01^{B}	0,16 ± 0,01	0,20 ± 0,04	0,01 ± 0,00	2,52 ± 0,51	2,66 ± 0,36	1,37 ± 0,15	1,08 ± 0,14	0,25 ± 0,01^{B}	40,74 ± 2,26 ^{B}
	30	1,78 ± 0,22	0,75 ± 0,07	0,16 ± 0,02^{A}	0,16 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,02 ± 0,00	2,52 ± 0,18	3,22 ± 0,43	1,53 ± 0,06	1,14 ± 0,04	0,36 ± 0,02^{A}	78,04 ± 4,03 ^{A}
Dieta													
CONTROLE		2,01 ± 0,37	0,78 ± 0,03	0,12 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,01 ± 0,00	2,51 ± 0,26	2,89 ± 0,34	1,43 ± 0,06	1,21 ± 0,04	0,18 ± 0,01	13,60 ± 1,26
ALLPRO		1,75 ± 0,22	0,75 ± 0,06	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,21 ± 0,02	0,02 ± 0,00*	2,53 ± 0,17	2,87 ± 0,06	1,48 ± 0,05	1,15 ± 0,06	0,29 ± 0,01	48,47 ± 23,12
Two-way ANOVA (valor de p)													
Dieta		0,117	0,540	0,035	0,615	0,306	0,006	0,934	0,929	0,548	0,394	<0,001	<0,001
Tempo		0,586	0,971	0,089	0,488	0,799	0,058	0,860	0,168	0,991	0,721	0,003	<0,001
Interação		0,459	0,416	0,019	0,434	0,360	0,367	0,789	0,718	0,172	0,226	0,001	<0,001

[1] Os resultados estão expressos como a média de três repetições (n = 2 filés por repetição) ± desvio padrão.
[2] Composição inicial do filé (g 100^{-1} matéria seca): LOA = 0,60 ± 0,02; α-LNA = 0,07 ± 0,01; C22:4 n-6 = 0,21 ± 0,01; DPA = 0,01 ± 0,00; DHA = 0,05 ± 0,00; SFA = 1,72 ± 0,06; MUFA = 1,93 ± 0,07; PUFA = 1,20 ± 0,03; PUFA n-6 = 1,03 ± 0,02; PUFA n-3 = 0,14 ± 0,01; n-3/n-6 = 0,14 ± 0,01.
[3] Ácidos graxos: LOA = ácido linoleico, α-LNA = ácido alfa-linolênico, ARA = ácido araquidônico, DPA = ácido docosapentaenoico, DHA = ácido docosaexaenoico. Ácidos graxos detectados e totalizados, mas não incluídos na tabela: C14:0, C14:1 n-5, C15:0, C16:0, C16:1 n-7, C17:0, C17:1 n-7, C:18:0, C18:1 n-9, C18:1 n-7, C16:3 n-4, C18:2 n-4, C20:0, C20:1 n-9, C18:4 n-3, C20:1 n-11, C20:2 n-6, C22:0, C24:1 n-9, C22:4 n-6.
* Quando há diferença significativa entre as dietas.
^{ABCD} Quando há diferença significativa na interação entre dieta e tempo de suplementação.

A tilápia, assim como outros peixes de águas continentais, não são considerados fontes de LC-PUFA n-3. Entretanto, o presente estudo mostra a capacidade da tilápia adulta de reter suficiente DHA em apenas 30 dias, sem que que a concentração dos PUFAs n-6, SFA e MUFA no filé sejam afetados. Resultados diferentes foram relatados para juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com fonte de DHA dietético durante 87 dias (Nobrega *et al*., 2019) ou 245 dias (Lehmkuhl, 2023), em temperatura subótima, ou ainda durante 57 dias, mas em temperatura ótima de crescimento (Brignol *et al*., 2018). Nestes estudos, o acúmulo de DHA no filé foi superior ao encontrado no presente estudo, mas o período experimental também. De acordo com os autores, nestes estudos houve redução na bioconversão de PUFAs n-6 em LC-PUFAs n-6, a qual se deveu provavelmente à redução da atividade enzimática das dessaturases e elongases, devido à presença de DHA em excesso, que é o produto final dessas enzimas. Entretanto, no presente estudo - com tilápias adultas e com a suplementação dietética de DHA por um período curto - os níveis de concentração dos PUFAs n-6 no filé não foram afetados.

O DHA foi o ácido graxo que apresentou maior acúmulo no filé em peixes alimentados com a dieta ALLPRO, sendo registrado um aumento linear deste nutriente (Figura 3 e 4). O período de 30 dias de suplementação com o aditivo ALLPRO aumentou a deposição de DHA em 220% no filé dos peixes adultos. Portanto, a biomassa de microrganismos heterotróficos ricos em DHA, tal como *Schizochytrium* sp. e *Auranthiochytrium* sp., representa um excelente aditivo alimentar para incrementar o valor nutricional do filé de tilápia (Brignol *et al*., 2018; Nobrega *et al*., 2019; Lehmkuhl, 2023), sem aumentar os danos oxidativos celulares nos peixes, como já relatado por Nobrega e colaboradores (2022).

A relação n-3:n-6 no filé também foi influenciada significativamente pelos tratamentos dietéticos (Figura 3). Após 30 dias de alimentação com dieta ALLPRO, registrou-se a maior relação n-3:n-6 no filé, equivalendo a aproximadamente 121% de aumento se comparada àquela apresentada nos filés dos peixes alimentados com a dieta CONTROLE, que continha apenas fontes de PUFA n-6. A relação de PUFA n-3:n-6 recomendada para o consumo humano é de 0,25 a 1,00 (Simopoulos, 2002; Simopoulos, 2010; Patterson *et al*., 2012), sendo essencial para prevenção de doenças crônicas e manutenção do funcionamento normal do organismo humano (Simopoulos, 2002; Simopoulos, 2010). No presente estudo, a relação PUFA n-3:n-6 de 0,31 foi alcançada no filé de tilápia-do-nilo, quando mantida a 22°C e alimentada por 30 dias com a dieta ALLPRO, estando dentro da faixa ideal recomendada para consumo humano.

O pescado é uma importante fonte LC-PUFA n-3, como o EPA e o DHA, essenciais para a saúde humana (Global Organization for EPA and DHA omega-3, 2014), sendo o

consumo mínimo semanal representado por duas porções de peixe, que devem conter tais ácidos graxos (Comissão Europeia, 2020). Com o presente estudo, constatou-se que a suplementação dietética do aditivo ALLPRO para a tilápia-do-nilo, quando produzida em temperaturas subótimas, alcança esse objetivo, em apenas 30 dias. Ainda, estudo recente a campo, realizado por Lehmkuhl (2023) durante o outono, inverno e primavera no Planalto Norte Catarinense, também registrou um melhor desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-do-nilo, além do acúmulo de DHA, quando o aditivo ALLPRO é suplementado na dieta. Tal melhora no desempenho já havia sido relatada por Nobrega e colaboradores (2019), mas em condições de laboratório, com temperatura subótima constante de 22°C.

Figura 3. Retenção de DHA e relação n-3:n-6 no filé (média ± erro padrão), em adultos de tilápia-do-nilo, quando alimentados com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 10, 20 e 30 dias, a 22ºC.

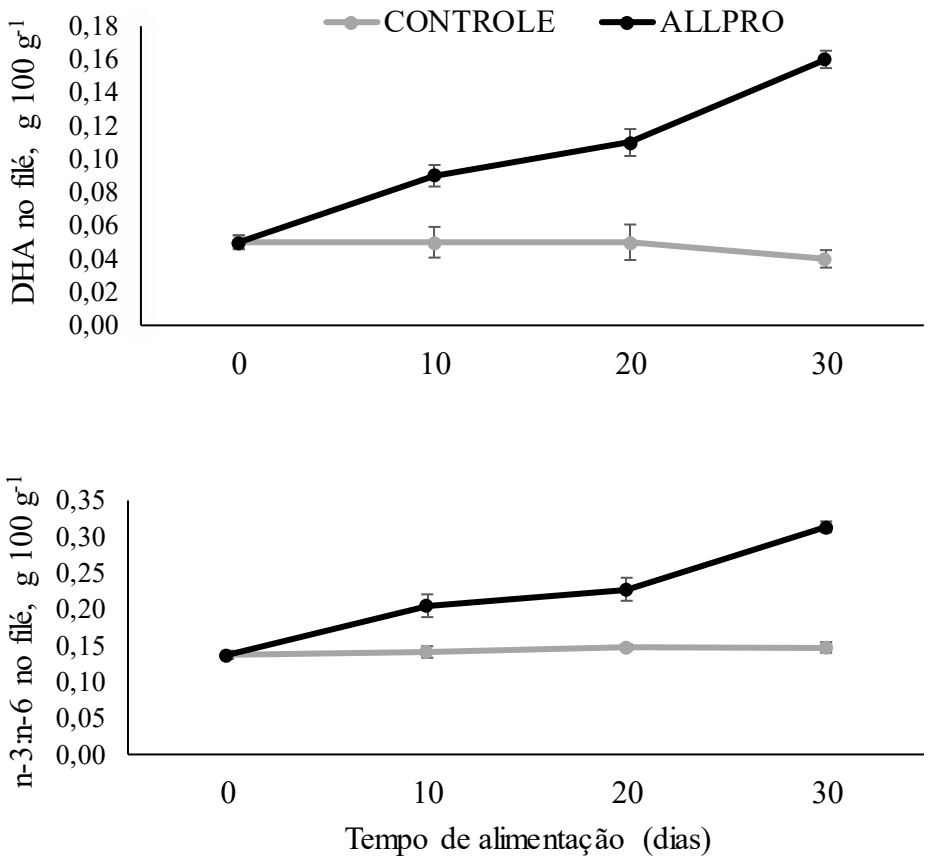
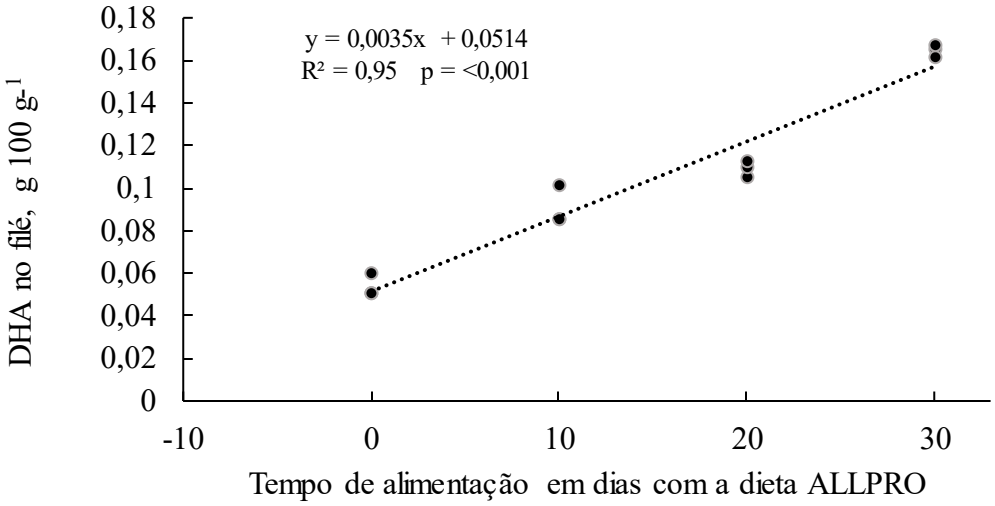


Figura 4. Regressão linear da retenção de DHA no filé, em adultos de tilápia-do-nilo, quando alimentados com a dieta ALLPRO por 10, 20 e 30 dias, a 22ºC.



3.3.2 Análises microbiológicas

O pescado apresenta condições intrínsecas que promovem a multiplicação de microrganismos, o que pode reduzir a vida de prateleira do filé, causando risco à saúde pública (Oliveira *et al*., 2008). Valores do pH próximo a neutralidade, teor lipídico e perfil de PUFAs facilmente oxidáveis são fatores determinantes para o crescimento de microrganismos na carne do pescado (Oliveira *et al*., 2008).

A presença de *Salmonella*, Estafilococos coagulase positiva e *E. coli* pode indicar tanto contaminação de origem fecal humana ou animal pelas condições ambientais de criação (Ghasemi *et al*., 2010; Costa *et al.,* 2020). A análise desses grupos de bactérias é relevante, estando diretamente relacionada às condições higiênico-sanitárias do processamento. Os filés de tilápia-do-nilo apresentaram contagem inferior a 1,0 x 10^3 para Estafilococos coagulase positiva, inferior a 1,0 x 10^2 para *Escherichia coli* e ausência de *Salmonella* sp., até 16 dias de armazenamento refrigerado para ambos os tratamentos dietéticos. Os resultados das análises microbiológicas realizadas conforme a resolução RDC Nº 161, de 01 de julho de 2022, da Agência de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2022), mostraram que os filés dos grupos de ambos os tratamentos dietéticos refrigerados a 4ºC por um período de 16 dias, estavam dentro dos limites exigidos pela legislação brasileira, estando aptos para o processamento e/ou consumo humano. Portanto, os procedimentos de boas práticas de fabricação foram corretamente seguidos (Figura 1), mantendo todas as condições higiênico-sanitárias. Deste modo, todos os

filés armazenados refrigerados a 4ºC durante 16 dias estavam seguros para o consumo, corroborando o estudo realizado para a espécie por Altemio *et al*. (2022).

Contagens de grupos de microrganismos psicrotróficos e mesófilos estão relacionadas a contaminação durante a manipulação do pescado, os quais são indicadores relacionados ao frescor (Soares *et al*., 2011). Manter os alimentos armazenados refrigerados a baixas temperaturas pode diminuir o desenvolvimento de microrganismos, entretanto as bactérias psicrotróficas podem continuar crescendo, visto que esse grupo pode se desenvolver sob refrigeração, influenciando a qualidade do pescado (Mol *et al*., 2007). As variações das contagens dos microrganismos mesófilos, expressas em unidades formadoras de colônias (UFC) g^{-1}, para o grupo do tratamento dietético CONTROLE foram: $<1 \times 10^3$ a $6,8 \times 10^6$ UFC g^{-1} e as variações das contagens para o grupo do tratamento dietético ALLPRO foram: $<1 \times 10^3$ a $4,1 \times 10^5$ UFC g^{-1}. Já as variações das contagens dos microrganismos psicotróficos para os grupos do tratamento dietético CONTROLE e ALLPRO foram: $<1 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^6$ UFC g^{-1} e $<1 \times 10^2$ a $3,5 \times 10^5$ UFC g^{-1}, respectivamente. A contagem dos microrganismos mesófilos e psicotróficos não diferiu significativamente entre os filés da tilápia-do-nilo alimentados com as dietas CONTROLE e ALLPRO nem ao decorrer do tempo de armazenamento refrigerado a 4ºC por um período de 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Resultados semelhantes aos aqui encontrados foram relatados por Fonseca *et al*. (2013), onde não foram encontradas diferenças na contagem dos microrganismos mesófilos e psicrotróficos nos filés de tilápia-do-nilo, armazenados a 1,0°C durante 14 dias de armazenamento.

Embora a legislação brasileira (BRASIL, 2022) não estabeleça um padrão limite para contagem total de bactérias aeróbicas mesófilas e pisicotróficas, as contagens destes grupos de microrganismos são indicativas da presença de patógenos e podem significar qualidade sanitária deficiente do alimento em questão. Um parâmetro utilizado por pesquisadores para contagem desses grupos é o da *International Comission on Microbiologycal Specifications for Foods* (ICMSF), que estabelece o limite de 10^7 UFC g^{-1} (ICMSF, 1986). Segundo Franco e Landgraf (2008), contagens de bactérias mesófilas na carne crua entre 10^3 e 10^6 UFC g^{-1} indicam um produto de qualidade. No presente estudo constatou-se que as bactérias mesófilas, aos 12 dias de armazenamento, estiveram dentro do limite recomendado de 10^6 UFC g^{-1} e, até o dia 16, se mantiveram para os grupos dos tratamentos dietéticos.

3.3.3 Análises físico-químicas

Os parâmetros importantes nas análises para o frescor do peixe são determinar os valores de pH, Bases nitrogenadas voláteis totais (B-NVT) e Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), no armazenamento *post-mortem*, monitoramento de oxidação lipídica (Hassoun e Karoui, 2017). A Tabela 5, apresenta os resultados como monitoramento do frescor referentes as análises físico-químicas nos filés armazenados por 16 dias.

pH

O pH da carne de peixes frescos é um parâmetro que fornece informações sobre o estado de conservação do pescado. O processo de deterioração altera o pH devido à decomposição de aminoácidos, ações bacterianas, propagação e hidrólise de lipídios (Dang *et al*., 2018; Wang *et al*., 2019). Porém, o valor de Ph deve ser considerado em conjunto com outros parâmetros para determinar o frescor do pescado (Andrés-Bello *et al*., 2013).

Os valores pH dos filés não foram afetados pelos tratamentos dietéticos nem pelo tempo de armazenamento sob refrigeração a 4ºC por 16 dias de vida de prateleira (Tabela 5), indicando um estado ótimo de frescor em todos os tempos de armazenamento, independente da dieta prévia dos peixes (Tabela 5). Os valores de pH se mantiveram dentro do limite tolerado pela legislação brasileira, que estabelece o valor máximo de 7,00, na porção muscular, como fresco para o pescado (BRASIL, 2019).

Filés de tilápia-do-nilo, armazenados refrigerados, por 15 dias resultaram em valor médio de pH a 6,6 no estudo de Fonseca *et al*., 2013. Valores semelhantes para filés de tilápia também foram relatados por Cipriano e colaboradores (2013), após 6 dias de armazenamento sob refrigeração. Quando foi testado um maior tempo (20 dias) de armazenamento de filés de tilápia a 5°C, os valores de pH se mantiveram a 6,58 até cinco dias de armazenamento, aumentando para 6,93 no final do tempo armazenamento, permanecendo dentro do limite da legislação (Montoya-Camacho *et al*., 2021). Valores semelhantes foram encontrados no presente estudo, os quais atenderam à legislação vigente. Entretanto, em estudo recente (Altemio *et al*., 2022), valores de pH em torno de 5,34 foram relatados para filés da tilápia-do-nilo, quando refrigerados a 4ºC por um período de 20 dias.

Tabela 5. Análises físico-químicas em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.[1]

Dieta	Tempo	pH	B-NVT [2] mg N 100 g^{-1}	TBARS [3] mg MDA kg^{-1}
Interação				
CONTROLE	0	6,50 ± 0,09	29,16 ± 0,01	0,015 ± 0,01 ^{C}
	4	6,40 ± 0,05	28,46 ± 0,01	0,016 ± 0,01 ^{C}
	8	6,46 ± 0,09	32,18 ± 0,66	0,016 ± 0,00 ^{C}
	12	6,35 ± 0,17	37,08 ± 1,65	0,014 ± 0,00 ^{C}
	16	6,37 ± 0,03	33,12 ± 1,33	0,032 ± 0,01^{A}
ALLPRO	0	6,37 ± 0,04	26,12 ± 0,66	0,014 ± 0,00 ^{C}
	4	6,46 ± 0,08	27,05 ± 0,65	0,021 ± 0,00 ^{BC}
	8	6,43 ± 0,03	31,48 ± 0,99	0,022 ± 0,01 ^{BC}
	12	6,43 ± 0,05	31,25 ± 0,66	0,017 ± 0,00 ^{BC}
	16	6,34 ± 0,09	30,32 ± 0,66	0,025 ± 0,01^{B}
Dieta				
CONTROLE		6,42 ± 0,06	32,00 ± 3,45*	0,02 ± 0,01
ALLPRO		6,41 ± 0,05	29,25 ± 2,49	0,02 ± 0,00
Tempo				
	0	6,43 ± 0,09	27,64 ± 2,15^{b}	0,015 ± 0,00
	4	6,43 ± 0,05	27,75 ± 0,99^{b}	0,019 ± 0,00
	8	6,44 ± 0,02	31,83 ± 0,49^{a}	0,019 ± 0,00
	12	6,39 ± 0,05	34,17 ± 4,12^{a}	0,016 ± 0,00
	16	6,36 ± 0,02	31,72 ± 1,98^{a}	0,029 ± 0,01
Two-way ANOVA (valor de p)				
Dieta		0,7553	0,0006	0,2672
Tempo		0,3455	< 0,0001	< 0,0001
Interação		0,1945	0,1860	0,0105

[1] Valores expressos como média ± desvio padrão.
[2] BNV-T = bases nitrogenadas voláteis totais.
[3] TBARS = substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico; MDA = malonaldeído.
* Quando há diferença significativa entre as dietas.
[ab] Quando há diferença significativa entre o tempo de vida de prateleira.
[ABC] Quando a interação entre dieta e tempo de armazenamento dos filés é significativa.

Bases nitrogenadas voláteis totais (B-NVT)

A dieta recebida pelos peixes e o tempo de vida de prateleira dos filés afetaram significativamente as bases voláteis no filé, sendo que os filés dos peixes alimentados com a dieta ALLPRO apresentaram menor concentração de BNV-T. Conforme o regulamento do

RIISPOA e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), em relação às características físico-química do pescado fresco, resfriado ou congelado, os valores de B-NVT, devem ser inferiores a 30 mg N 100 g^{-1} (BRASIL, 2017).

Em relação ao tempo de armazenamento, o frescor do pescado resfriado a 4°C se manteve por aproximadamente quatro dias (27,75 ± 0,99 mg N 100 g^{-1}), alcançando o limite da legislação no oitavo dia (31,83 ± 0,49 mg N 100 g^{-1}) (Tabela 5). O teor de B-NVT aumentou devido ao crescimento de microrganismos deteriorantes, capazes de gerar compostos voláteis característicos da deterioração. Também foi relatado que o aumento no teor de B-NVT pode estar relacionado à espécie, a temperatura, a composição dos ingredientes da dieta e em geral, às condições de manuseio e armazenamento pós-abate (Durán *et al*., 2008; Ocaño-Higuera *et al*., 2009; Liu *et al*., 2010).

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Na legislação brasileira, não há um valor de TBARS estabelecido como seguro para consumo humano. Os valores de referência recomendados na literatura são variáveis; porém, de maneira geral, o valor de TBARS limite estabelecido para músculo de peixe fresco vai até 0,6 mg kg^{-1} (Fang *et al*., 2018). Os valores de TBARS obtidos no presente estudo estão abaixo desse valor deste limite.

Houve interação entre a dieta recebida e o tempo de armazenamento dos filés, sendo que os valores foram maiores nos filés refrigerados por 16 dias a 4ºC para os peixes alimentados com a dieta CONTROLE (Tabela 5). Os valores iniciais de TBARS foram similares entre os tratamentos dietéticos. Entretanto, com o aumento do tempo de armazenamento, os valores de TBARs continuaram a aumentar em peixes alimentados com os ambos os tratamentos dietéticos.

A taxa de oxidação lipídica depende de vários fatores, tais como o teor de gordura. Os baixos valores de TBARS para ambos os grupos dietéticos talvez possa ser explicado pela presença do antioxidante o BHT (butil-hidroxi-tolueno) na composição das dietas experimentais. Em relação ao tempo de armazenamento, nossos achados corroboram com o estudo de Fonseca e colaboradores (2013), indicando que não houve oxidação lipídica nos filés de tilápia durante 15 dias de armazenamento sob refrigeração.

3.3.1 Cor

O primeiro aspecto físico observado pelos consumidores de pescado é a coloração do filé, importante na aceitabilidade de um produto (Skjervold *et al*., 2001). No caso de peixes brancos, como a tilápia, a presença de pigmentos é indesejável (Girão et al., 2012). A cor dos filés, quando avaliada na musculatura branca dorsal (Figura 5) e musculatura branca ventral (Figura 6), apresentou diferenças significativas ao longo do tempo de armazenamento para os parâmetros luminosidade, intensidade do vermelho e intensidade do amarelo.

Na musculatura branca dorsal, a luminosidade obteve um valor máximo de 55,50 ± 3,07 no dia 0, com mínimo de 46,93 ± 2,70 no dia 16 e com tendência a cor mais escura com o decorrer do tempo (Figura 5). A intensidade de vermelho variou de 1,02 ± 0,78 no dia 0 até -0,70 ± 0,53 no dia 16, valores que se situam na transição entre o vermelho e o verde. Já a intensidade de amarelo variou de 0,37 ± 1,51 no dia 0 até -2,35 ± 0,74 no dia 16, portanto com tendência de cor mais escura com o decorrer do tempo. A cor da musculatura branca ventral também apresentou diferença significativa em relação à luminosidade, intensidade do vermelho e intensidade do amarelo, sendo que os valores diminuíram ao longo do tempo (Figura 6). A luminosidade apesentou um valor máximo de 55,95 ± 8,90 no dia 0 e mínimo de 44,93 ± 1,50 no dia 16, com tendência de cor mais escura ao decorrer do tempo (Figura 6). A intensidade de vermelho variou de 1,73 ± 0,74 no dia 0 até -0,98 ± 0,26 no dia 16, valores estes na transição entre o vermelho ao verde. Já a intensidade do amarelo variou de 1,32 ± 2,16 no dia 0 até -2,95 ± 0,56 no dia 16, portanto com tendência de cor mais escura com o decorrer do tempo.

Tanto para a musculatura branca dorsal como para a musculatura branca ventral houve um escurecimento do filé com o avanço da refrigeração, ao longo de tempo. A deterioração promoveu o escurecimento progressivo do produto. Resultados semelhantes para os parâmetros de cor L*, a* e b* foram relatados por Altemio e colaboradores (2022) ao avaliar a cor da musculatura branca nos filés da tilápia armazenados a 4ºC durante 20 dias, bem como por Fonseca e colaboradores (2013) ao avaliar a cor de filés de tilápia-do-nilo, armazenados a 1°C durantes 15 dias.

Figura 5. Análises de cor na musculatura branca dorsal (média ± erro padrão) em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.

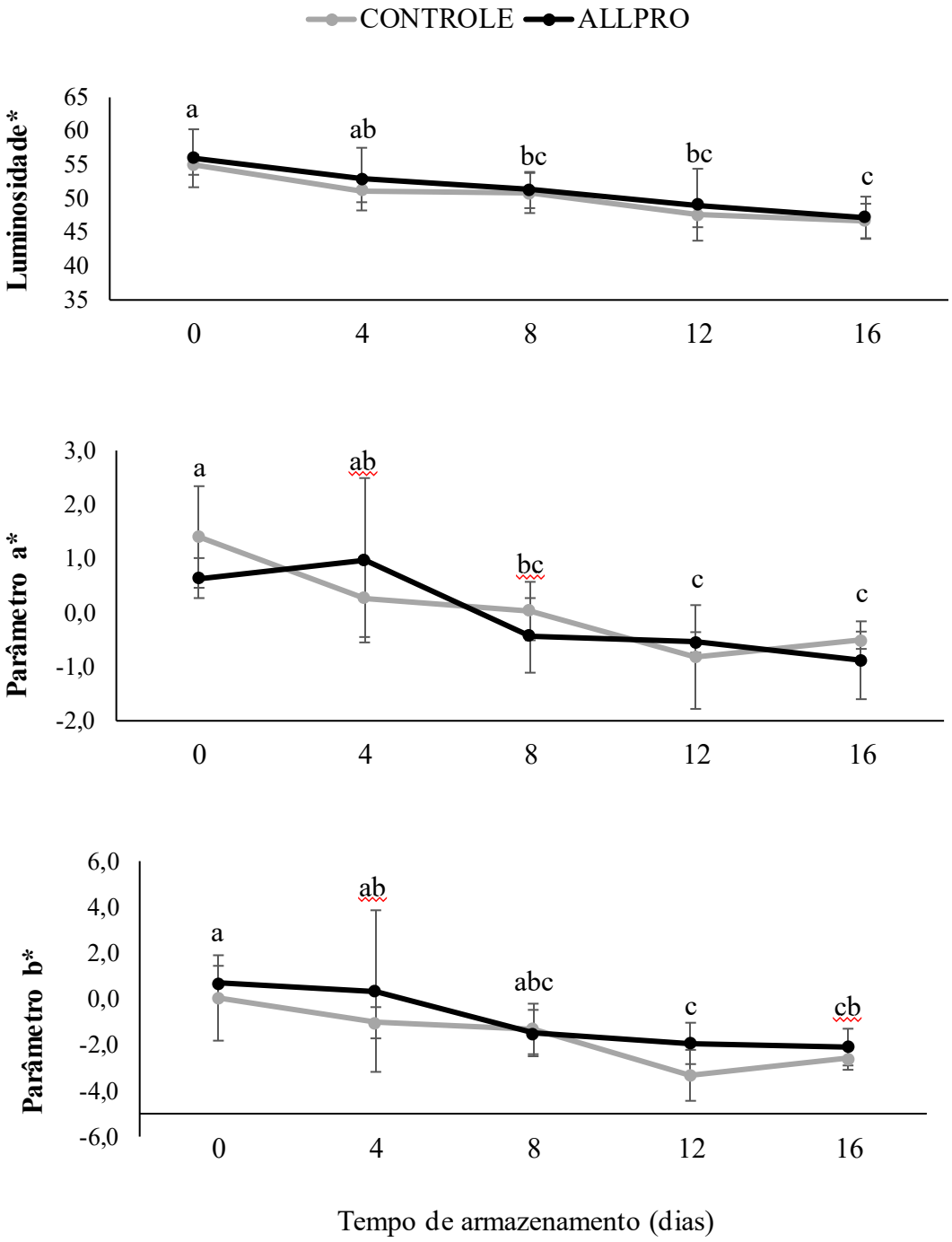
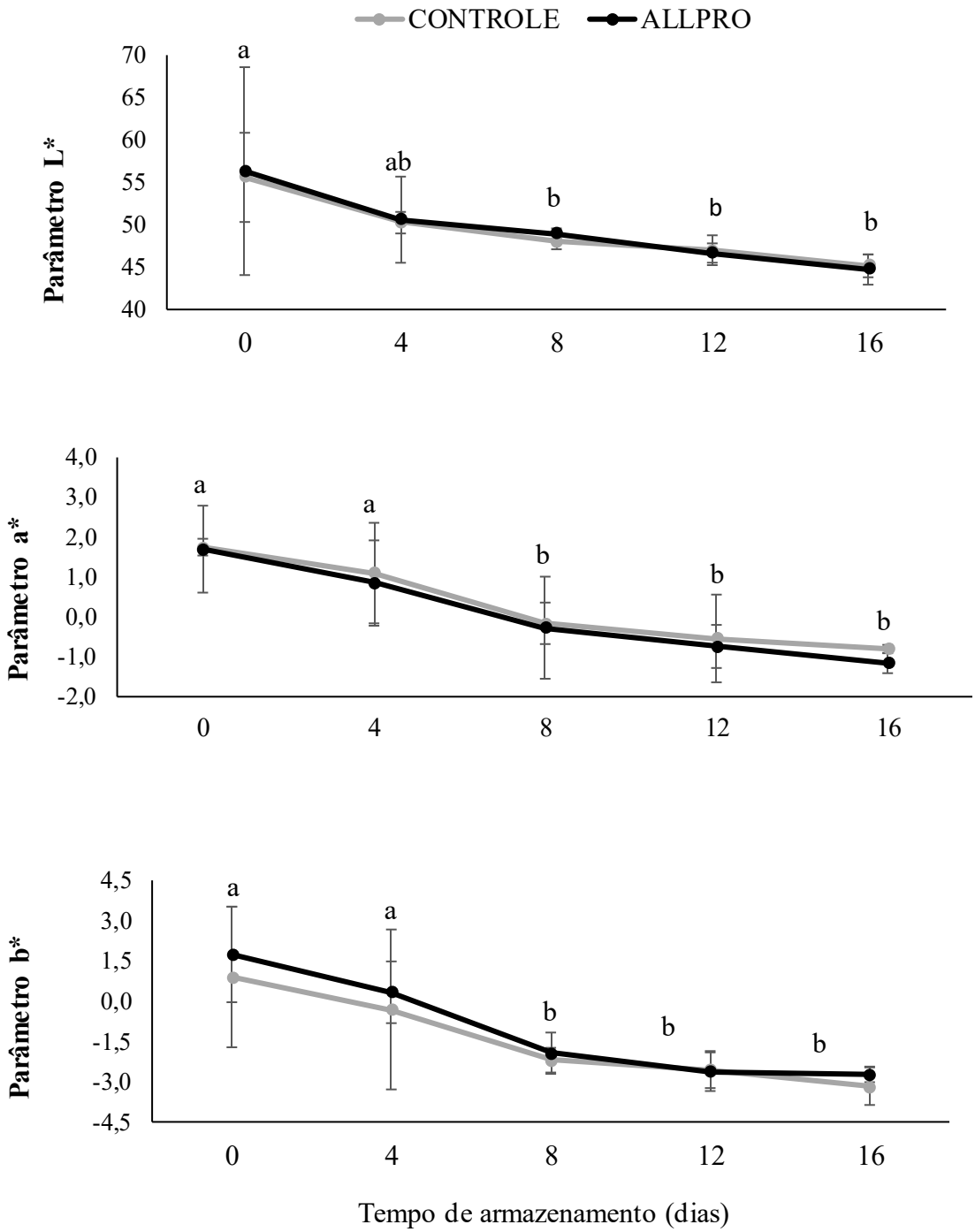


Figura 6. Análises de cor na musculatura branca ventral (média ± erro padrão) em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.



A análise colorimétrica na musculatura vermelha central revelou que a intensidade do vermelho apresentou diferença significativa ao longo do tempo de armazenamento (Figura 7). Os valores variaram de 8,58 ± 2,31 no dia 0 até 11,64 ± 2,80 no dia 16, com aumento da

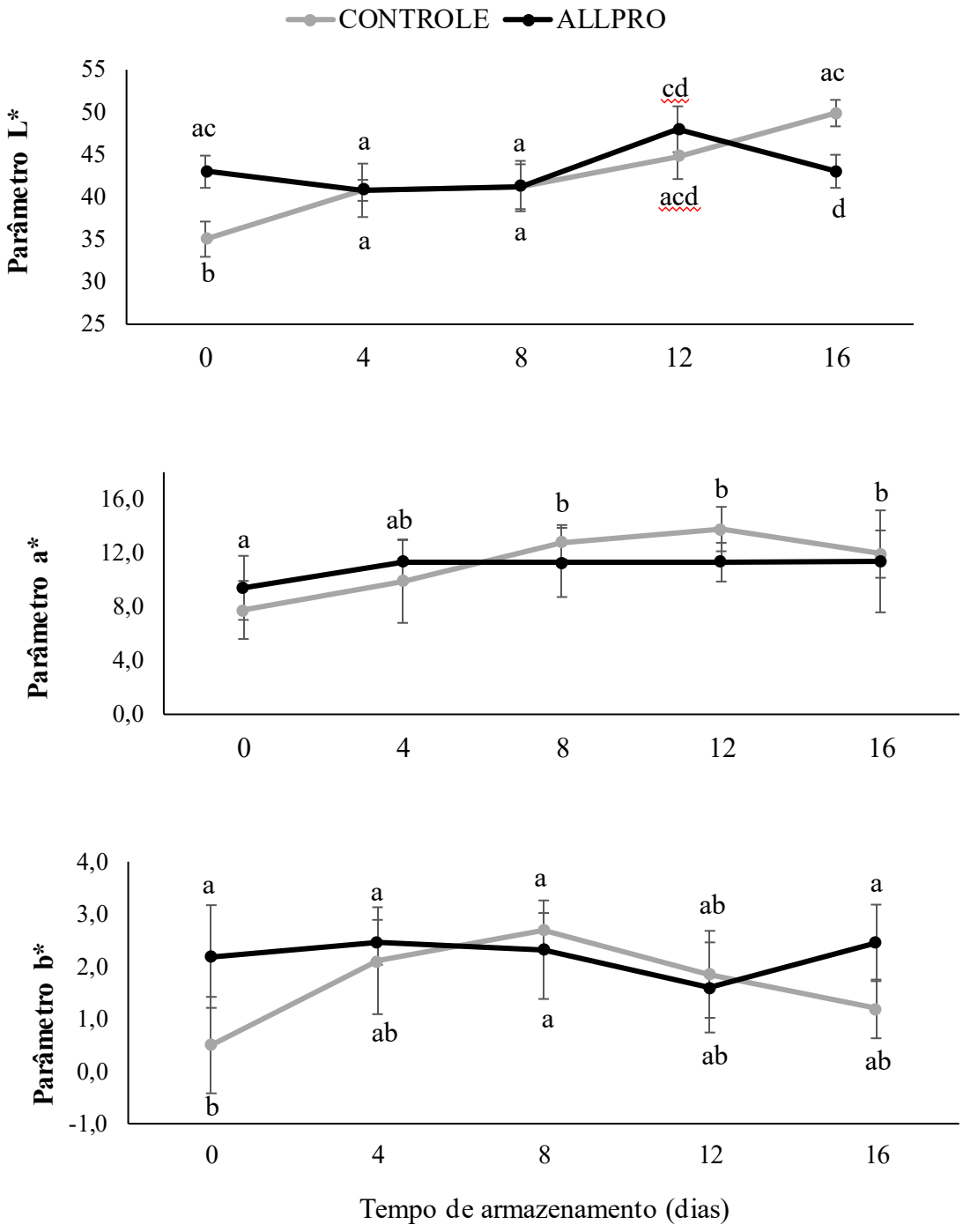
intensidade do vermelho (maior valor de a*), ao longo do tempo de armazenamento. Altemio e colaboradores (2022) também relataram resultados semelhantes para os parâmetros de cor na musculatura vermelha em filés de tilápia, durante 16 dias de armazenamento a 4°C.

Houve interação significativa entre dieta e tempo de armazenamento dos filés, para os parâmetros colorimétricos luminosidade e intensidade do amarelo. Ao longo do tempo de armazenamento dos filés, a luminosidade e a intensidade do amarelo foram aumentando os valores (Figura 7). A luminosidade apresentou um valor mínimo de 35,03 ± 2,08 no dia 0 e máximo de 49,89 ± 1,56 no dia 16 nos filés dos peixes alimentados com a dieta CONTROLE. Já os peixes alimentados com a dieta ALLPRO apresentaram um valor mínimo de 42,98 ± 1,90 no dia 0 até o máximo de 43,03 ± 1,95 no dia 16, com tendência de cor mais clara ao decorrer do tempo.

A intensidade do amarelo apresentou um valor mínimo de 0,50 ± 0,92 no dia 0 até o máximo de 1,19 ± 0,56 no dia 16 nos filés dos peixes alimentados com a dieta CONTROLE. Já nos peixes alimentados com a dieta ALLPRO, os filés apresentaram um valor mínimo de 2,19 ± 0,98 no dia 0 até o máximo de 2,45 ± 0,73 no dia 16. A farinha de *Schizochytrium* sp. contém pigmentos carotenóides responsáveis pela sua tonalidade amarelo dourado (Gupta *et al*., 2012; Marchan *et al*., 2018), o que pode promover alterações na coloração do filé. Realmente, os peixes alimentados durante 30 dias com a dieta ALLPRO, aditivo que apresenta em sua composição a farinha de *Schizochytrium* sp., apresentaram elevação na intensidade do amarelo, na musculatura vermelha central. Achados semelhantes foram relatados em filés de tilápias alimentadas durante 30 dias com farinha de *Schizochytrium* sp. (Jorge *et al*., 2022).

A suplementação de 1,7 % do aditivo ALLPRO por 30 dias para a tilápia-do-nilo, não influenciou na mudança de cor na musculatura branca dorsal e ventral e para os parâmetros luminosidade, intensidade do vermelho e intensidade do amarelo.

Figura 7. Análises de cor na musculatura vermelha central (média ± erro padrão) em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.



3.3.2 Textura

A textura do filé dos peixes é um importante aspecto físico de qualidade para a palatabilidade e sabor da carne (Vital *et al*, 2018). Na literatura é relatado que, durante o tempo de armazenamento, o pescado apresenta uma perda de textura, devido às ações das reações de degradação autolítica, que causam modificações nas características estruturais e funcionais, além da deterioração microbiológica (Sato *et al*., 1991; Huss, 1998; Del-barre *et al*., 2006).

No presente trabalho, o atributo coesividade não foi afetado pela dieta ou tempo de armazenamento do filé, porém o atributo elasticidade foi afetado pelo tempo de armazenamento. Já os atributos dureza, mastigabilidade e resilência diminuíram significativamente com o tempo de armazenamento (Tabela 6). Resultados semelhantes foram relatados anteriormente para filés de tilápia (Montoya-Camacho *et al*., 2021; Liu *et al.*, 2010). Com o tempo de armazenamento ocorre o aumento da degradação das estruturas musculares, que provavelmente alterou significativamente a textura dos filés.

Os atributos dureza, mastigabilidade e resilência foram significativamente menores nos filés dos peixes alimentados com a dieta ALLPRO, em comparação aqueles alimentados com a dieta CONTROLE (Tabela 6). Entretanto, os filés das tilápias suplementadas com óleo de linhaça, fonte de α-LNA, melhorou a maciez e a mastigabilidade da carne (Huang *et al*., 2022). Já para a carpa-capim, *Ctenopharyngodon idella*, foi relatado maior mastigabilidade da carne e menor dureza nos filés, quando os peixes foram alimentados com dieta a base de óleo de linhaça em comparação com dieta a base de óleo de peixe (Yang *et al*., 2020). Salienta-se que os valores de dureza, mastigabilidade e resiliência, quando avaliados pelo texturômetro, foram afetados pela dieta; porém, na avaliação sensorial detalhada a seguir (item 3.3.6), tal efeito não foi detectado.

Tabela 6. Análises de textura em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.[1]

Dieta	Tempo	Dureza, *g*	Elasticidade, *cm*	Coesividade	Resiliência, *cm*
	0	1135,13 ± 208,38	0,62 ± 0,00	0,38 ± 0,04	0,19 ± 0,02
	4	696,17 ± 83,33	0,62 ± 0,01	0,37 ± 0,03	0,16 ± 0,02
CONTROLE	8	603,41 ± 153,30	0,59 ± 0,01	0,35 ± 0,03	0,14 ± 0,01
	12	562,00 ± 61,71	0,60 ± 0,02	0,37 ± 0,02	0,16 ± 0,01
	16	570,37 ± 79,05	0,56 ± 0,04	0,37 ± 0,05	0,15 ± 0,02
	0	904,22 ± 196,19	0,60 ± 0,03	0,35 ± 0,03	0,17 ± 0,02
ALLPRO	4	612,00 ± 302,71	0,58 ± 0,01	0,36 ± 0,05	0,15 ± 0,02
	8	541, 01 ± 31,43	0,58 ± 0,04	0,34 ± 0,03	0,13 ± 0,01
	12	487,36 ± 73,00	0,58 ± 0,02	0,34 ± 0,02	0,14 ± 0,00
	16	442,22 ± 44,13	0,57 ± 0,04	0,38 ± 0,03	0,15 ± 0,01
CONTROLE		713,42 ± 164,84 *	0,60 ± 0,04	0,37 ± 0,04	0,16 ± 0,02 *
ALLPRO		597,36 ± 214,05	0,58 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,15 ± 0,02
	0	1019,67 ± 29,49 [a]	0,61 ± 0,06 [a]	0,37 ± 0,02	0,18 ± 0,00 [a]
	4	654,09 ± 49,60 [b]	0,60 ± 0,03 [a]	0,37 ± 0,05	0,16 ± 0,01 [ab]
	8	572,21 ± 44,12 [b]	0,58 ± 0,00 [ab]	0,34 ± 0,04	0,14 ± 0,01 [b]
	12	524,68 ± 52,78 [b]	0,59 ± 0,01 [ab]	0,36 ± 0,02	0,15 ± 0,01 [b]
	16	506,30 ± 90,62 [b]	0,56 ± 0,01 [b]	0,37 ± 0,01	0,15 ± 0,00 [b]
Dieta		0,003	0,095	0,120	0,041
Tempo		<0,001	0,002	0,289	0,002
Interação		0,591	0,345	0,709	0,637

[1] Os resultados são expressos como a média ± desvio padrão de cinco repetições (n = 1 filé por repetição).
* Quando há diferença significativa entre as dietas.
[ab] Quando há diferença significativa entre o tempo de vida de prateleira.

3.3.4 Análises sensoriais

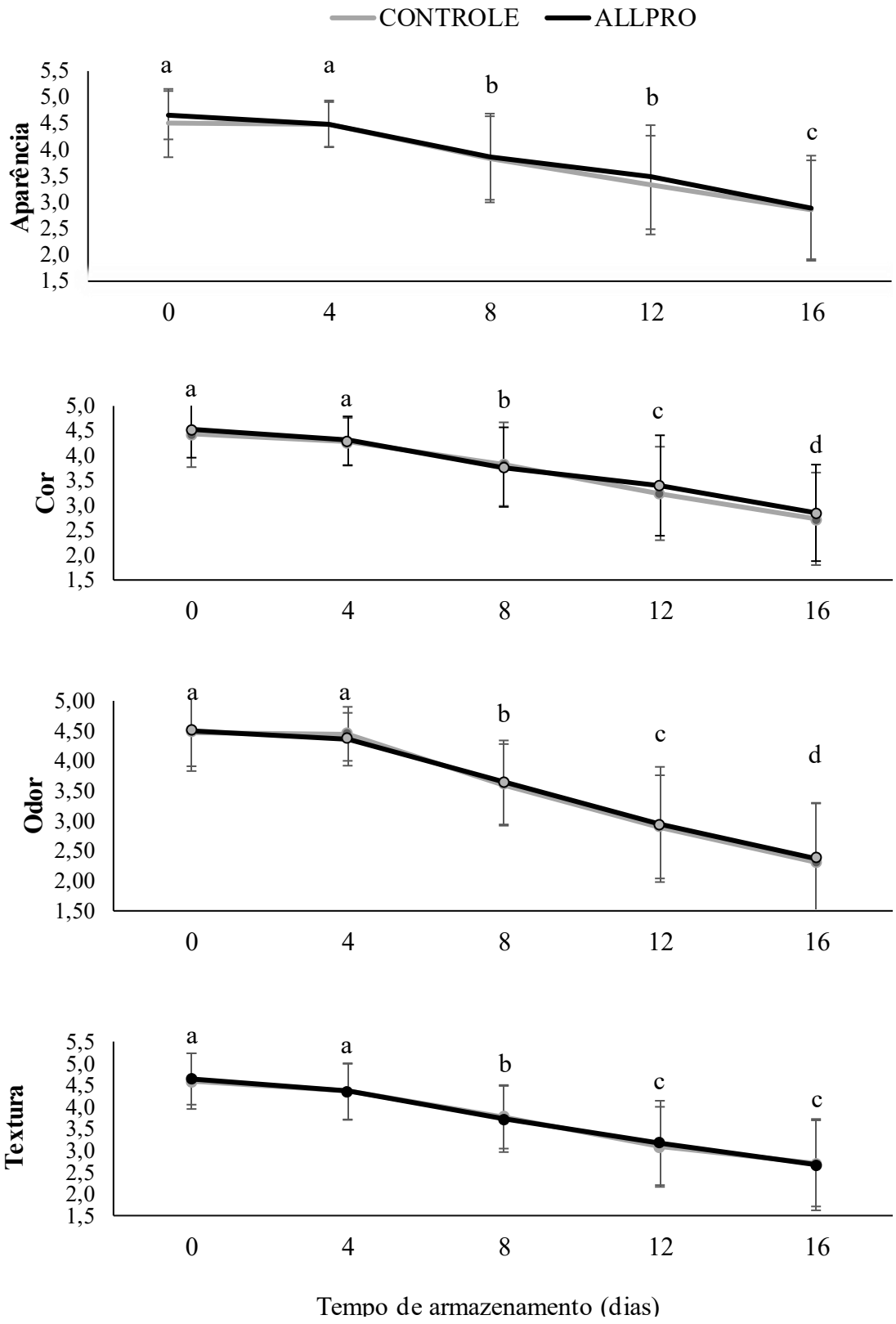
A qualidade sensorial do produto final é tão importante quanto o seu valor nutricional porque pode influenciar a decisão de compra do consumidor (Ramalho Ribeiro et al., 2015). As pontuações dos atributos sensoriais de aparência, cor odor e textura e as pontuações dos testes de aceitação para intenção de consumo humano, indicadas pels avaliadores de filés de tilápia-do- nilo armazenados a 4°C por 0, 4, 8, 12 e 16 dias estão sumarizadas na Figura 8.

Os filés refrigerados a 4ºC e armazenados até quatro dias, obtiveram escore de aceitação superior aos demais tempos ($p < 0,05$), sendo aceitos com nota superior a 4,00 (gostei ligeiramente) em todos os atributos avaliados (Figura 8). Os atributos aparência, cor, textura e odor dos filés diferiram significativamente com decorrer do tempo de armazenamento.

Rodrigues e colaboradores (2016) realizaram estudo para avaliar a qualidade sensorial de filés de tilápia-do-nilo armazenados em gelo, por um período de 22 dias. Os autores relataram que, a partir do 15º dia, os peixes apresentaram perda de qualidade sensorial. Já Altemio e colaboradores (2022) relatam aparecimento de odor desagradável e muco na superfície dos filés de tilápia, após 11 dias de armazenamento, quando armazenados a 0 e 4,5°C. O presente estudo, portanto, difere destes últimos estudos citados, já que os filés sob refrigeração obtiveram grau superior de aceitação somente até 4 dias de armazenamento.

Li *et al.* (2009), ao avaliarem a qualidade do filé de catfish (*Ictalurus punctatus*) suplementados com dietas contendo 0 a 2,0% de farinha de *Schizochytrium* sp., rica em DHA, não detectaram diferenças nos parâmetros sensoriais, incluindo sabor. Embora, nas análises sensoriais do presente estudo não tenha sido avaliado o sabor, o teor de 1,7% do aditivo ALLPRO, em relação as avaliações dos atributos de cor, aparência, odor e textura, foram similares aos valores descritos na literatura, do ponto de vista sensorial (Li *et al.*, 2009; Ribeiro *et al.*, 2013).

Figura 8. Análise sensorial em filés refrigerados a 4ºC por 0, 4, 8, 12 e 16 dias. Filés provenientes de adultos de tilápia-do-nilo, após alimentação com as dietas CONTROLE e ALLPRO por 30 dias, a 22ºC.[1]



Os quatro atributos sensoriais avaliados, bem como a aceitação geral do filé, foram influenciados pelo tempo de armazenamento. É importante salientar que os atributos de qualidade abrangem parâmetros, como por exemplo: a aparência geral do filé, a cor, o odor e textura. No primeiro e quarto dia de análise (T0 e T4) dos filés, a média dos painelistas avaliadores foram superiores a 4, indicando qualidade e frescor para consumo humano, os mesmos resultados foram encontrados para as análises físico-químicas, onde nossos resultados para Bases Nitrogenadas Volteis Totais e cor indicam frescor e intenção a consumo humano dos filés dos até quatro dia de armazenamento refrigerados.

Os resultados das análises sensoriais promoveram mais confiabilidade nos resultados obtidos pelas análises microbiológicas, físico-químicas e cor o que permite concluir que as amostras de filés peixes alimentados com a dieta CONTROLE ou ALLPRO forneceram produtos aceitáveis em até 4 dias de armazenamento sob refrigeração.

4 CONCLUSÃO

A suplementação dietética de 1,7% do aditivo ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, fonte de DHA, para adultos de tilápia-do-nilo, quando fornecida por um período de 30 dias, em temperatura subótima, contribuiu para o enriquecimento nutricional dos filés. Houve acúmulo de DHA, em concentrações satisfatórias para atender às recomendações para saúde humana. A suplementação do aditivo ALLPRO é uma opção para a manutenção dos parâmetros, microbiológicos, físico-químicos e de aceitação sensorial dos filés da tilápia-do-nilo, uma vez que não foram identificadas mudanças negativas em sua qualidade e o tempo de vida de prateleira de prateleira, sendo estes aceitos até quatro dias de armazenamento sob refrigeração.

4 REFERÊNCIAS

ABDEL-GAWAD, F. K. et al. Detection of *Staphylococcus aureus* from fish and water samples collected from Lake Qarun. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 6, n. 8, p. 366-372, 2015.

ABNT NBR ISO 16649-3:2015. Associação Brasileira de Normas Tecnicas. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of β-glucuronidasepositive Escherichia coli – Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide. **Internacional Organization for Standardization (ISO),** 2015.

ABNT NBR ISO 17410:2019. Associação Brasileira de Normas Tecnicas. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. **In: Internacional Organization for Standardization (ISO),** 2019.

ABNT NBR ISO 4833-1:2015. Associação Brasileira de Normas Tecnicas. Microbiologia da cadeia produtiva de alimentos - Método horizontal para a enumeração de microrganismos. Parte 1: Contagem de colônias a 30°C pela técnica de pour plate. **In: Internacional Organization for Standardization (ISO),** 2015.

ABNT NBR ISO 6888-1:2019. Associação Brasileira de Normas Tecnicas. Estafilococos coagulase positiva - Determinação quantitativa pela técnica de contagem em superfície. In: **Internacional Organization for Standardization (ISO),** 2019.

ALSAGGAF, M. S.; MOUSSA, S. H.; TAYEL, A. A. Application of fungal chitosan incorporated with pomegranate peel extract as edible coating for microbiological, chemical and sensorial quality enhancement of Nile tilapia fillets. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 499–505, 2017.

ALTEMIO, A. D. C. et al. Avaliação química, física e microbiológica de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochomis niloticus*), mantidos sob refrigeração. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 5, p. e7411527582-e7411527582, 2022.

ANDRÉS-BELLO, A.; BARRETO-PALACIOS, V.; GARCÍA-SEGOVIA, P.; MIR-BEL, J. E.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Effect of pH on color and texture of food products. **Food Engineering Reviews**, New York, v. 5, n. 3, p. 158-170, 2013.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (17th ed.)., Gaithersburg. 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS - A.O.A.C. **VIDAS® Salmonella 48h Official Method,** 2011.03. (2th ed.)., 2019.

AZAZA, M. S.; DHRAÏEF, M. N.; KRAÏEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology**, v. 33, n. 2, p. 98–105, 2008.

BLIGH, E. G. and DYER W. J. Um método rápido de extração e purificação de lipídios totais. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BRASIL. RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto Nº 9,013 de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial de União**, Brasília – DF, edição 62, seção 1, 3p. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa – IN nº 161, de 01 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União** nº 126, de 06 de julho de 2022, seção 1, p. 235, 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 001/81, de 7 de outubro de 1981. Métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II. Métodos físico-químicos. Brasília: **Diário Oficial da União**, 13/10/1981.

BRIGNOL, F. D., FERNANDES, V. A. G., NOBREGA, R. O., FILLER, K., PETTIGREW, J., FRACALOSSI, D. M. *Aurantiochytrium* sp. meal as DHA source in Nile tilapia diet, part II: body fatty acid retention and muscle fatty acid profile. **Aquaculture Research**, v. 50, p. 707–716, 2018.

CASAS, C.; MARTINEZ, O.; GUILEN, M. D.; PIN, C.; SALMERON, J. Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods. **Food Control,** v. 17. p. 511–515, 2006.

COMISSÃO EUROPEIA. Diretrizes Dietéticas Baseadas em Alimentos na Europa. **Resumo das recomendações do FBDG para peixes para a UE, Islândia, Noruega, Suíça e Reino Unido**, 2020.

CORRÊA, C. F., NOBREGA, R. O., MATTIONI, B, FRACALOSSI, D. M. Dietary lipid sources affect the performance of Nile tilapia at optimal and cold, suboptimal temperatures. **Aquaculture Nutrition**, p. 1–11, 2017.

CORRÊA, C. F. et al. Misturas de óleos vegetais como substitutos do óleo de peixe para tilápia do Nilo em temperatura ótima e fria abaixo do ideal. **Aquicultura**, v. 497, pág. 82-90, 2018.

COSTA, J. C. C. P. et al. Estudo da qualidade microbiológica, prevalência de agentes patogénicos de origem alimentar e vida útil dos produtos de dourada (*Sparus aurata*) e robalo (*Dicentrarchus labrax*) provenientes da aquicultura em ecossistemas estuarinos da Andaluzia (Espanha). **Microbiologia alimentar**, v. 90, p. 103498, 2020.

CYPRIAN, O. et al. Shelf life of air and modified atmosphere-packaged fresh tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets stored under chilled and superchilled conditions. **Food Science & Nutrition**, v. 1, n. 2, p. 130-140, 2013.

DANG, H. T. T. et al. Influence of processing additives, packaging and storage conditions on the physicochemical stability of frozen Tra catfish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets. **Journal of Food Engineering**, v.238, p.148-155, 2018.

DELBARRE-LADRAT, C. et al. Trends in *postmortem* aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 5, p. 409-421, 2006.

DI RIENZO, J.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M. Y ROBLEDO, C. Argentina: Grupo InfoStat, FCA, U.N.C., Argentina. **Software InfoStat versión, 2012**.

DUARTE, F. O. S. et al. Melhor perfil de ácidos graxos em filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) suplementados com óleo de peixe. **Aquicultura**, v. 534, p. 736241, 2021.

DURAN, A. et al. Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in pre, in-or post-rigor periods. **Fisheries Science**, v. 74, p. 1146-1156, 2008.

EFSA. Overview on Dietary Reference Values for the EU population as derived by the EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). **Summary of Dietary Reference Values**, version 4, September 2017.

EL ASELY, A. M., REDA, R. M., SALAH, A. S., MAHMOUD, M. A., DAWOOD, M. A. O. Overall performances of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) associated with using vegetable oil sources under suboptimal temperature. **Aquaculture Nutrition**, p. 1154–1163, 2020.

EL-SAYED, A. -F. M. **Inovações tecnológicas**. In: El-Sayed A.-FM (ed.) Cultura da tilápia (2ª ed.), Elsevier Academic Press, Londres, Reino Unido, 2020.

FANG, Z. et al. Efeito do revestimento de ácido gálico/quitosana na qualidade da carne suína fresca em embalagens com atmosfera modificada. **Química dos Alimentos**, v. 260, p. 90-96, 2018.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO, 2022. https://doi.org/10.4060/cc0461en.

FERNANDES V. A. G, BRIGNOL F.D, FILLER K, PETTIGREW J, FRACALOSSI D. M. *Aurantiochytrium* sp. meal as DHA source in Nile tilapia diet, part I: Growth performance and body composition. **Aquac Res**, 50:390–399, 2018.

FERNANDES, V. A. G. et al. *Aurantiochytrium* sp. farinha como fonte de DHA na dieta de tilápia do Nilo, parte I: Desempenho de crescimento e composição corporal. **Pesquisa em Aquicultura**, v. 50, n. 2, pág. 390-399, 2019.

FONSECA, G.G. et al. Influence of treatments in the quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. **Food Science & Nutrition**, v. 1, n. 3, p. 246-253, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, p. 182, 2008.

GHASEMI, M. S. A.; AZADNIA, P.; RAHNAMA, M. H. Bacterial counts in two species (*Scomberomorus juttatus* and *Otolithes ruber*) of fresh South-Harvested fish, while loading in Kazeroon. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, p. 671-673, 2010.

GIRÃO, P. M., SILVA, E. M. P., MELO, M. P. Dietary lycopene supplementation on Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles submitted to confinement: effects on cortisol level and antioxidant response. **Aquaculture Research**, 43, 789–798, 2012.

Global Organization for EPA and DHA Omega-3. Global Recommendations for EPA and DHA Intake. **Rev**. 19, november 2014.

GUPTA, A., BARROW, C. J., PURI, M. Biotecnologia ômega-3: Traustoquitridos como uma nova fonte de óleos ômega-3. **Avanços da biotecnologia**, 30.6:1733-1745, 2012.

HASSOUN, Abdo; KAROUI, Romdhane. Avaliação da qualidade de peixes e outros frutos do mar por métodos instrumentais tradicionais e não destrutivos: Vantagens e limitações. **Revisões Críticas em Ciência de Alimentos e Nutrição**, v. 57, n. 9, pág. 1976-1998, 2017.

HUANG, Y. et al. Dietas ricas em lipídios e carboidratos afetam o crescimento muscular da dourada (*Megalobrama amblycephala*) através de diferentes vias de sinalização. **Aquicultura**, v. 548, p. 737495, 2022.

HUSS, H. H. Fresh fish: **Quality and quality changes**. Rome: Training manual. United Nations, FAO/DANIDA, 1998.

ICMSF. International Commision on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analyis: Principles and specific applicantions. **Blackwell Scientific Publications**, 2 ed., 1986.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**, v. 1: 3, ed., p. 27, 1985.

JORGE, T. B. F. et al. Effects of dietary supplementation time with *Schizochytrium* microalgae meal on growth, meat quality and fatty acid composition of Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 2, p. 528-543, 2022.

JOSEPH, J. D., and ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, v 75, n. 3, p. 488– 506, 1992.

JUSTI, K. C. et al. Efeito da temperatura da água sobre desempenho e perfil de ácidos graxos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 27, n. 4, p. 529-534, 2005.

LEHMKUHL, V. M. Enfrentando o frio com a tilápia: suplementação com aditivo alimentar para melhorar o desempenho zootécnico de tilápia-do-nilo, criada a campo, sob baixas temperaturas. Dissertação (Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal) - Instituto Federal Catarinense, p. 57, 2023.

LI, M., H.; ROBINSON, E., H.; TUCKER, C., S.; MANNING, B., B.; KHOO, L. Effects of dried algae *Schizochytrium* sp., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 292, p. 232-236, 2009.

LI, M. H.; ROBINSON, E. H.; TUCKER, C.S.; MANNING, B. B.; KHOO, L. Effects of dried algae *Schizochytrium sp*., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, 292: 232–236, 2009.

LIU, S. et al. Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at 0ºC based on sensory, microbiological, biochemical and physical attributes. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 5, p. 692, 2010.

MA, X. Y. et al. Changes in the physiological parameters, fatty acid metabolism, and SCD activity and expression in juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared at three different temperatures. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, n. 4, p. 937–950, 2015**.**

MARCHAN, L. F., CHANG, K. J. L., NICHOLS, P. D., MITCHELL, W. J., POLGLASE, J. L., GUTIERREZA, T. Taxonomia, ecologia e aplicações biotecnológicas de traustoquitrídeos: uma revisão. **Avanços da biotecnologia**, 36.1:26-46, 2018.

MOL, S.; ERKAN, N.; ÜÇOK, D.; TOSUN, S.Y. Effect of psychrophilic bacteria to estimate fish quality. **Journal of Muscle Foods**, v. 18, p. 120-128, 2007.

MONTOYA-CAMACHO, N. et al. Evaluation of biochemical, chemical, physical and microbiological quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle during 0 and 5°C storage. **Biotecnia**, v. 23, n. 2, p. 127-133, 2021.

MORETTO, E.; FELT, R.; GONZAGA, L. V.; KUSKASKI, E. M. **Introdução à ciência de alimentos**. 2 ed. Florianópolis, UFSC, p. 255, 2002.

MUFATTO, L. M., NOBREGA, R. O., MENOYO, D., FRACALOSSI, D. M. Dietary ratios of n-3/n-6 fatty acids do not affect growth of Nile tilapia at optimal temperatures (28°C) nor at temperatures that simulate the onset of winter (22°C). **Aquaculture Nutition,** 25, 646– 661, 2019.

NG, W. -K.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, p. 220–254, 2013.

NOBREGA, R. O. et al. Dietary supplementation of *Aurantiochytrium sp*. meal, a docosahexaenoic-acid source, promotes growth of Nile tilapia at a suboptimal low temperature. **Aquaculture**, v. 507, p. 500–509, 30 maio 2019.

NOBREGA, R. O., CORRÊA, C. F., MATTIONI, B., FRACALOSSI, D. M. Dietary α-linolenic for juvenile Nile tilapia at cold suboptimal temperature. **Aquaculture,** 471, 66–71, 2017.

NOBREGA, R. O.; BANZE, J. F.; BATISTA, R. O.; FRACALOSSI, D. M. Improving winter production of Nile tilapia: What can be done? **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100-453, 2020.

NOBREGA, R. O. et al. Oxidative damage in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, is mainly induced by water temperature variation rather than Aurantiochytrium sp. meal dietary supplementation. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 85-99, 2022.

O´FALLON, J. V., BUSBOOM, J. R., NELSON, M. L., GASKINS, C. T. A. Direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils and feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 1511-1521, 2007.

OCAÑO-HIGUERA, V.M. et al. Alterações post-mortem no músculo do peixe cazon armazenado no gelo. **Química dos Alimentos**, v. 116, n. 4, pág. 933-938, 2009.

OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE M. A. B.; SPOTO M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Barueri: Manole, pág. 99, 2006.

OJAGH S. M., REZAEI M., RAZAVI S. H., HOSSEINI S. M. H. Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. **Food Chemistry**, v. 120, p. 193-198, 2010.

OLIVEIRA, N. M. S. et al. Physical-chemical evaluation of "tilápia" (*Oreochromis niloticus*) fillets submitted to sanitization. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 83-89, 2008.

O'SULLIVAN, M. G., & KERRY, J. P. Instrumental assessment of the sensory quality of meat, poultry and fish. **Instrumental Assessment of Food Sensory Quality**. 1ª Edição, p. 355-373, 2013.

PATTERSON, E. et al. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, 2012.

RIBEIRO, A. R. et al. As macroalgas dietéticas são uma ferramenta natural e eficaz para fortificar filetes de dourada com iodo: efeitos no crescimento, qualidade sensorial e valor nutricional. **Aquicultura**, v. 437, p. 51-59, 2015.

RIBEIRO, T.; LORDELO, M. M.; ALVES, S. P.; BESSA, R.J.B.; COSTA, P.; LEMOS, J.P.C.; FERREIRA, L.M.A.; FONTES, C.M.G.A.; PRATES, J.A.M. Direct supplementation of diet is the most efficient way of enriching broiler meat with n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. **British Poultry Science**, 54(6): 753-765, 2013.

RODRIGUES, P. T. et al. Quality index method (QIM) and quantitative descriptive analysis (QDA) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) quality indices. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 3, p. 209-216, 2016.

SATO, M. et al. Determinação de octopina por derivatização de fluorescência pré-coluna usando benjoim. **Bioquímica Internacional**, v. 23, n. 6, pág. 1035-1039, 1991.

SIMOPOULOS, A. P. A importância da proporção de ácidos graxos essenciais ômega-6/ômega-3. **Biomedicina e Farmacoterapia**, 56,8: 365-379, 2002.

SIMOPOULOS, A. P. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio: health implications. **Oléagineux, Corps gras, Lipides,** v. 17, n. 5, p. 267-275, 2010.

SKJERVOLD, P. O. et al. Efeitos da filetagem pré, durante ou pós-rigor de salmão do Atlântico vivo resfriado. **Aquicultura**, v. 194, n. 3-4, pág. 315-326, 2001.

SOARES, Vanessa Mendonça, et al. Qualidade microbiológica de filés de peixe congelados distribuídos na cidade de Botucatu-SP. *UNOPAR Científica.* **Ciências Biológicas e da Saúde**, 85-88, 2011.

SOUZA, N. E.; MATSUSHITA, M.; FRANCO, M. R. B.; PRADO, I. N. do; VISENTAINER, J. V. Composição química, perfil de ácidos graxos e quantificação dos ácidos a-linolênico, eicosapentaenóico e docosahexaenóico em vísceras de tilapias (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Tecnology,** v. 27, n. 1, p. 73-76, 2005.

SPRAGUE, M.; WALTON, J.; CAMPBELL, P. J.; STRACHAN, F.; DICK, J. R.; BELL, J. G. Replacement of fish oil with a DHA-rich algal meal derived from *Schizochytrium sp*. on the fatty acid and persistent organic pollutant levels in diets and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) post-smolts**. Food Chemistry**, v.185, p.413–421, 2015.

TURCHINI, G. M.; TORSTENSEN, B. E.; Ng, W. K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 10-57, 2009.

VILA NOVA, C. M. V. M.; GODOY, H. T.; ALDRIGUE, M. L. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos,** v. 25, n. 3, p. 430-436, 2005.

VITAL, A. C. P. et al. Qualidade e aceitabilidade sensorial de filé de peixe (Oreochromis niloticus) com revestimento à base de alginato contendo óleos essenciais. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 55, p. 4945-4955, 2018.

VYNCKE, W. Determinação direta do valor do ácido tiobarbitúrico em extratos de ácido tricloroacético de peixe como medida de ranço oxidativo. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v. 12, pág. 1084-1087, 1970.

WANG, Z-C. et al. Effective inhibition and simplified detection of lipid oxidation in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets during ice storage. **Aquaculture**, v.511: 634183, 2019.

WANG, Jin et al. Efeitos do campo elétrico pulsado de frequência extremamente baixa (ELF-PEF) na qualidade e microestrutura da tilápia durante o armazenamento refrigerado. **LWT**, v. 113937, 2022.

WATTERS, C. A.; ROSNER, L. S.; ADRIAN, A. F.; DOMINY, W. G.; KLINGER-BOWEN, R.; TAMARU, C. S. Nutritional Enhanceament of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids in Tilapia (*Oreochromis honorum*). **The Israeli Journal of Aquaculture**, p. 7, 2013.

YANG, G. et al. Effect of oil source on growth performance, antioxidant capacity, fatty acid composition and fillet quality of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 4, p. 1186-1197, 2020.

5 REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ALBUQUERQUE, WF de; ZAPATA, J. F. F.; ALMEIDA, R. Santos. Estado de frescor, textura e composição muscular da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) abatida com dióxido de carbono e armazenada em gelo. **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, p. 264-271, 2004.

ANDRADE P. M. M, CARMO M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. **Revista Mn-Metabólica**, 8(3):135-43, 2006.

APGAR, M. E.; HULTIN, H. O. Lipid peroxidation in fish muscle microsomes in the frozen state. **Cryobiology**, v. 19, n. 2, p. 154-162, 1982.

ASHTON, T. J.; MICHIE, I.; JOHNSTON, I. A. A Novel Tensile Test Method to Assess Texture and Gaping in Salmon Fillets. **Journal of Food Science**, [S.l.], v. 75, n. 4, p.182- 190, 2010.

AZAZA, M. S.; DHRAIEF, M. N.; KRIEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology 33**, 98-105, 2008.

BALIĆ, A. et al. Omega-3 versus omega-6 polyunsaturated fatty acids in the prevention and treatment of inflammatory skin diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. 741, 2020.

BARROSO, M.; CARECHE, M.; BORDERIAS, A. J. Quality control of frozen fish using rheological techniques. **Trends in Food Science & Technology**, v. 9, n. 6, p. 223-229, 1998.

BERNARDO, Y. A. A. et al. Fish Quality Index Method: Principles, weaknesses, validation, and alternatives—A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 2657–2676, 2020.

BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Industrialização de tilápias. **Toledo: GFM Gráfica e Editora**, 2007.

BOURNE, M. C. Texture profile analysis. **Food Technology**, v. 32, p. 62-66, 1978.

BRASIL. RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Decreto Nº 9,013 de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial de União**, Brasília – DF, edição 62, seção 1, 3p. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa – IN nº 161, de 01 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União** nº 126, de 06 de julho de 2022, seção 1, p. 235, 2022.

CHARO-KARISA, H. et al. Heritability of cold tolerance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, juveniles. **Aquaculture**, v. 249, n. 1–4, p. 115–123, 12 set. 2005.

COMISSÃO EUROPEIA. Diretrizes Dietéticas Baseadas em Alimentos na Europa. **Resumo das recomendações do FBDG para peixes para a UE, Islândia, Noruega, Suíça e Reino Unido**, 2020.

CONCEIÇÃO, F. V. E. DA; GONÇALVES, É. C. B de A. Qualidade fisíco-quimíca de mortadelas e carnes e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos**. Ciência e Tecnologia de Alimentos,** Campinas, 29(2), p. 283-290, abril a junho de 2009.

CONTINI, C. et al. Effect of an active packaging with citrus extract on lipid oxidation and sensory quality of cooked turkey meat. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1171-6, 2014.

COPPES-PRETICORENA, Z. Texture Measurements in Fish and Fish products. In: Alasalvar, C., Shalidi, F., Miyaslita, K. e Wanasundara, U. (Eds.). Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications. **Blackwell Publishing Ltd**, UK, 130 – 138, 2011.

CORRÊA, C. F. et al. Dietary lipid sources affect the performance of Nile tilapia at optimal and cold, suboptimal temperatures. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1016-1026, 2017.

DALGAARD, P. Freshness, quality and safety in seafoods. **Danish Institute for Fisheries Research. Technical Manual**, Lyngby, Denmark, p. 31, 2000.

DE SOUZA, A. F. L. et al. Effect of seasonal variations on fatty acid composition and nutritional profiles of siluriformes fish species from the amazon basin. **Food Research International**, v. 132, p. 109051, 2020.

EFSA. Overview on Dietary Reference Values for the EU population as derived by the EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). **Summary of Dietary Reference Values**, version 4, September 2017.

ERIKSON, U.; MISIMI, E. Atlantic salmon skin and fillet color changes effected by perimortem handling stress, rigor mortis, and ice storage. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 2, p. C50-C59, 2008.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. **Sustainability in action. Retrieved from Rome**, 2020.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO, 2022.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática**. 2a edición, Artmed. Porto Alegre, p. 602, 2006.

FERRARI, M. et al. Evaluation of the occurrence of mesophilic bacteria in raw milk. **Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 4, n. 2, p. 30-42, 2017.

FERREIRA CANAS, W. F., F. DE SOUSA, J. C. and Lima, N. Microbiologia. pp.166-195: Edit. Lidel, 2010.

FITZSIMMONS, K. et al. Why tilapia is becoming the most important food fish on the planet. **Better science, better fish, better life**, v. 8, 2011.

FOGAÇA, F. H. S.; SANT'ANA, L. S. Oxidação lipídica em peixes: mecanismo de ação e prevenção. **Archives of Veterinary Science**, v. 14, n. 2, p.117-127, 2009.

FRANCIS F. J, CLYDESDALE F. M. Food colorimetry: theory and applications. Westport: **AVI Publishing Co**, p. 477, 1975.

FREITAS, A. C.; FIGUEIREDO, P. **Conservação por Utilização de Baixas Temperaturas**. In: Conservação de Alimentos. Lisboa, p. 129-136, 2000.

FURUYA, W.M. **Tabelas Brasileiras para Nutrição de Tilápias**, 21. GFM, Toledo, p. 100, 2010.

FURUYA, W. M.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; CYRINO, J. E. P. Exigências nutricionais e alimentação da tilápia. In. **Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura**, Débora Machado Fracalossi e José Eurico Possebon Cyrino (Editores), Florianópolis: Aquabio, p. 255-268, 2012.

GHALY, A.E. et al. Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. **American Journal of Applied Sciences**, v. 7, n. 7, p. 859-877, 2010.

GORGA, C. E ROSINVALLI, L. J. Quality Assurance of Seafood. **Avi Publishing Company**, Nova Iorque, 1988.

GRASSI, S. et al. Seafood freshness: e-nose data for classification purposes. **Food Control**, v. 138, p. 108994, 2022.

GUERRERO-LEGARRETA, I. Detecção de deterioração. **Manual de Análise de Carnes Processadas e Aves**, p. 446-456, 2009.

HALLIER, A. et al. Influence of farming conditions on colour and texture of European catfish (*Silurus glanis*) flesh. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 5, p. 814-823, 2007.

HUBBS, J. Fish: microbiological spoilage and safety. **Food Science Technology. Today**, v. 5, p. 166-173, 1991.

HUSS, H. H. **Quality and quality changes in fresh fish**. In FAO Fisheries Technical Paper - 348. Rome: FAO, 1995.

ICMSF. International Commision on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in foods. 2. Sampling for microbiological analyis: Principles and specific applicantions. **Blackwell Scientific Publications**, 2 ed., 1986.

JEYASEKARAN, G. et al. Bacterial quality of vacuum packed Tuna (*Euthynnus affinis*) chunks stored under abused refrigerated temperatures. Ciência Pesqueira Asiática, 17, p. 217-227, 2004.

JIMÉNEZ A, GUTIÉRREZ, G. Color. In: Alvarado JD, Aguilera JM. **Métodos para medir**

propriedades físicas em indústrias de alimentos. Zaragoza: Editorial Acribia S.A, p. 325-346, 2001.

JORGE, T. B. F. et al. Effects of dietary supplementation time with *Schizochytrium* microalgae meal on growth, meat quality and fatty acid composition of Nile tilapia. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 2, p. 528-543, 2022.

JUSTI, K. C et al. Influência do tempo de alimentação no perfil de ácidos graxos da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com dieta enriquecida com ácidos graxos n-3. **Química dos Alimentos**, v. 80, n. 4, p. 489-493, 2003.

LI, M. H.; ROBINSON, E. H.; TUCKER, C. S.; MANNING, B. B.; KHOO, L. Effects of dried algae *Schizochytrium sp*., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, 292: 232–236, 2009.

LEHMKUHL, V. M. Enfrentando o frio com a tilápia: suplementação com aditivo alimentar para melhorar o desempenho zootécnico de tilápia-do-nilo, criada a campo, sob baixas temperaturas. Dissertação (Mestrado Profissional em Produção e Sanidade Animal) - Instituto Federal Catarinense. p. 57. 2023.

MA, X. Y. et al. Changes in the physiological parameters, fatty acid metabolism, and SCD activity and expression in juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared at three different temperatures. **Fish Physiology and Biochemistry**. v. 41, n. 4, p. 937–950, 2015**.**

MONTEIRO, M. L. G. et al. Influence of good manufacturing practices on the shelf life of refrigerated fillets of tilapia (*Oreochromis niloticus*) packed in modified atmosphere and gamma-irradiated. **Food Science & Nutrition**, v. 1, n. 4, p. 298-306, 2013.

NG, W.-K.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, p. 220–254, 2013.

NOBREGA, R. O. et al. Dietary supplementation of *Aurantiochytrium sp*. meal, a docosahexaenoic-acid source, promotes growth of Nile tilapia at a suboptimal low temperature. **Aquacultur**e, v. 507, p. 500–509, 2019.

NOBREGA, R. O., CORRÊA, C. F., MATTIONI, B., FRACALOSSI, D. M. Dietary α-linolenic for juvenile Nile tilapia at cold suboptimal temperature. **Aquaculture** 471, 66–71, 2017.

NOBREGA, R. O.; BANZE, J. F.; BATISTA, R. O.; FRACALOSSI, D. M. Improving winter production of Nile tilapia: What can be done? **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100-453, 2020.

NOBREGA, R. O. et al. Oxidative damage in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, is mainly induced by water temperature variation rather than *Aurantiochytrium* sp. meal dietary supplementation. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 1, p. 85-99, 2022.

NRC. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp**. National Academy Press, Washington, D. C., p. 360, 2011.

OETTERER, M. Técnicas de beneficiamento e conservação do pescado de água doce. **Panorama da Aqüicultura**, v.8, n.46, p.14-20, 1998.

OGAWA, M.; MAIA, F. L.; **Manual de Pesca.** São Paulo: Livraria Varela, 1999.

ORDOÑEZ, J. A. et. al. **Tecnologia dos Alimentos** - Vol. 2, Porto Alegre: Artmed, p. 280, 2005.

ÖZOĞUL, Y. Methods for Freshness Quality and Deterioration. In: Nollet, L. e Toldrá, F. (Eds.). **Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis**. CRC Press, USA, 189 – 214, 2010.

PACHECO-AGUILAR, R.; LUGO-SÁNCHEZ, M. E.; ROBLES-BURGUEÑO, M. R. Postmortem Biochemical and Functional Characteristic of Monterey Sardine Muscle Stored at 0°C. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 1, p. 40-47, 2000.

PEIXE-BR. Associação Brasileira da Piscicultura. **ANUÁRIO Peixe-BR da Pisicultura, BRASIL, 2023**.

PELEG, M. A kinetic model and endpoints method for volatiles formation in stored fresh fish. **Food Research International**, v. 86, p. 156-161, 2016.

PERIAGO M. J, AYALA M. D, LOPEZ-ALBORS O, ABDEL I, MARTINEZ C, GARCIA-ALCAZAR A, ROS G, GIL F. Celularidade muscular e qualidade da carne de robalo selvagem e de criação, *Dicentrarchus labrax*. **Aquicultura,** 249:175–88, 2005.

PRABHAKAR, P. K. et al. A comprehensive review on freshness of fish and assessment: Analytical methods and recent innovations. **Food Research International**, v. 133, p. 109157, 2020.

PRABHAKAR, P. K.; SRIVASTAV, P. P.; PATHAK, S. S. Kinetics of total volatile basic nitrogen and trimethylamine formation in stored rohu (*Labeo rohita*) fish. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 28, n. 5, p. 452-464, 2019.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher LTDA, 2007.

RODRIGUES, B. L. et al. Fatty acid profiles of five farmed Brazilian freshwater fish species from different families. **PLoS One**, v. 12, n. 6, p. e0178898, 2017.

SACHAROW, S.; GRIFFIN, R. C. Milk and dairy products. **Principles of food packaging.** 2nd edition. The AVI publishing company, Inc., Westport, Connecticut. p. 176-208, 1980.

SALLAM, K. I. et al. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4°C. **Food Chemistry**, n. 102, p. 1061-1070, 2007.

SIGURGISLADOTTIR, S. et al. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 99-104, 1999.

SIKORSKI, Z. E. **Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation**. Department of Food Preservation and Technical Microbiology, Technical University Politechnika Gdanska e CRC Press Inc., Florida, 1990.

SILVA, N. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** São Paulo: Varela, p. 552, 2007

SIMOPOULOS, A. P. The omega-6/omega-3 fatty acid ratio: health implications. **Oléagineux, Corps gras, Lipides**, v. 17, n. 5, p. 267-275, 2010.

SOHN, Jeong-Ho et al. Lipid oxidations in ordinary and dark muscles of fish: Influences on rancid off-odor development and color darkening of yellowtail flesh during ice storage. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 7, p. s490-s496, 2005.

SOKOLOVA, I. M.; LANNIG, G. Interactive effects of metal pollution and temperature on metabolism in aquatic ectotherms: implications of global climate change. **Climate Research**, v. 37, n. 2-3, p. 181-201, 2008.

STRINGER, M. E DENNIS, C. Chilled Foods: a comprehensive guide. **Woodhead Publishing**, 2000.

SUSSEL, F. R. Burocracia atravanca a produção de tilápias. **Anualpec. v**, 2013.

SYKES, A. V. et al. Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis, L.*) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 424-432, 2009.

TURCHINI, G. M., BENTE E. TORSTENSEN, AND WING-KEONG NG. "Fish oil replacement in finfish nutrition." **Reviews in Aquaculture** 1, no. 1: 10-57, 2009.

TURCHINI, G. M.; NG, WING-KEONG; TOCHER, DOUGLAS REDFORD. **Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds**. CRC Press, 2010.

ULLAH, A. et al. Effect of Temperature on Fatty Acid Composition in the Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): A Healthy Lipid Profile. **Available at SSRN 4006882**, 2022.

VELAND, J. O.; TORRISSEN, O. J. The texture of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle as measured instrumentally using TPA and Warner–Brazler shear test. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 12, p. 1737-1746, 1999.

WEBER, T. E.; BOSWORTH, B. G. Effects of 28 day exposure to cold temperature or feed restriction on growth, body composition, and expression of genes related to muscle growth and metabolism in channel catfish. **Aquaculture**, v. 246, n. 1-4, p. 483-492, 2005.

WATTERS, C. A.; ROSNER, L. S.; ADRIAN, A. F.; DOMINY, W. G.; KLINGER-BOWEN, R.; TAMARU, C. S. Nutritional Enhanceament of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids in Tilapia (*Oreochromis honorum*). **The Israeli Journal of Aquaculture**. p. 7, 2013.

ZACHAROV, E. H.; HALPERN, M. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 22, p. 7162-7168, 2007.

ZEOLA, N. M. B. L. Conceitos e parâmetros utilizados na avaliação da qualidade da carne ovina. **Revista Nacional da Carne**, 26(304):36-56, 2002.

APÊNDICE A – TESTE DE ACEITABILIDADE DE DIFERENTES ATRIBUTOS SENSORIAIS.

TESTE DE ACEITABILIDADE DE DIFERENTES ATRIBUTOS SENSORIAIS.

Nome:_____Data: ____/____/____

Instruções: Você está recebendo individualmente amostras de filé. As tilápias-do-nilo receberam dietas contendo a inclusão de ALLPRO, que evidencie a maior deposição de DHA nos filés. Avalie e indique, usando a escala abaixo de (1 a 5), o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra em relação aos seguintes atributos: aparência, odor, sabor e textura.

1 = extremamente descolorido, 5 = sem descoloração.
1 = alto odor/inaceitável, 5 = extremamente desejável.
1 = muito macio, 5 = compactado.
1 = extremamente indesejável, 5 = extremamente desejável.

Código da Amostra	Cor	Odor	Textura	Aparência

Comentários:_____

_____

_____.

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

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

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Caro (a) participante,

Eu, Profª. Drª. Débora Machado Fracalossi, do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, juntamente com a Virian Coradini Brutti, aluna de mestrado do Curso do Programa de Pós Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, convidamos você a participar da pesquisa cujo título é "Suplementação dietética de ácido docosahexaenoico (DHA), via ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, para tilápia-do-nilo mantida em temperatura subótima fria: qualidade e vida de prateleira do filé", tendo como objetivo principal avaliar se a suplementação dietética de DHA, principal constituinte do aditivo ALLPRO, por um período curto de tempo, promove o acúmulo deste ácido graxo no filé de tilápias, sem que ocorram alterações negativas no seu padrão de qualidade, quando os peixes são mantidos em temperatura subótima de crescimento. Esta pesquisa terá permitirá inferir sobre a possibilidade da tilápia ser utilizada como uma fonte alternativa de DHA na alimentação humana. Cabe ressaltar que não haverá benefícios financeiros para os participantes da análise sensorial e também não estão previstos gastos nesta pesquisa, entretanto caso você tenha alguma despesa comprovadamente em decorrência da mesma você será ressarcido de acordo com a resolução CNS 466/12.

Sua participação é voluntária. Será solicitado a cada provador avalie a aceitabilidade e a intenção de consumo (dez amostras do filé), utilizando escalas apropriadas. Além disso, será solicitado que o julgador não ingira o filé, desprezando a mesma em local apropriado. Pessoas alérgicas a peixe ou que apresentem algum desconforto ao consumo deste tipo de produto não devem participar da análise sensorial. No entanto, os participantes estarão cientes que, em caso de algum problema relacionado com a pesquisa, possivelmente um mal-estar gerado ao avaliar o filé, terá direito à assistência médica que será prestada na rede pública de saúde, sendo acompanhando por um dos integrantes da equipe do projeto. Além disso, poderão existir outros riscos associados à pesquisa, principalmente relacionados ao cansaço, constrangimento ao responder as fichas e a possibilidade de pessoas alérgicas tentarem participar da análise. Para

minimizar possíveis efeitos citados acima, serão tomados cuidados higiênicos durante todo o processo de elaboração do produto, além de uma cuidadosa explicação sobre a não ingestão dos filés. O cansaço será minimizado devido à aplicação de intervalos entre o preenchimento de documentos e fichas, caso seja requisitado pelos provadores. O constrangimento será evitado mediante o sigilo dos dados e respostas fornecidas nas fichas de avaliação, garantindo a preservação da identidade do participante. Dessa forma, a participação de indivíduos com predisposição a tais quadros está vetada. Se por acaso decidir não continuar o teste ou não participar, sinta-se absolutamente à vontade de fazê-lo a qualquer momento, sem justificativas ou penalidades. Ao decidir deixar de participar da pesquisa você não terá prejuízos.

O risco associado ao projeto de pesquisa é extremamente baixo, uma vez que os testes sensoriais consistem na avaliação, pelos participantes da pesquisa, de amostras de filés obtidas de acordo com rigorosos padrões de higiene, em equipamentos previamente limpos e sanitizados. Para minimizar possíveis efeitos adversos como os expostos acima serão tomados cuidados durante a elaboração do produto, além da realização das análises microbiológicas previstas na legislação brasileira visando garantir a segurança dos provadores. Suas respostas serão registradas e utilizadas como resultado da pesquisa, a fim de saber a aceitabilidade e intenção de consumo do produto. No entanto, seus dados serão mantidos em sigilo e seu nome não será revelado em momento algum. Com a ciência destas informações, o participante tem total liberdade de se recusar a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma a este indivíduo. Assegura-se o direito de desistência durante a coleta de dados sem necessidade de aviso prévio ou justificativa, e ainda não será permitido em hipótese algum qualquer constrangimento, físico, intelectual ou moral do participante.

Serão fornecidas duas vias deste documento que deverão ser assinadas por você, sendo que uma delas lhe pertence. Comprometo-me a conduzir a pesquisa de acordo com o que preconiza a Resolução 466/12 de 12/06/2012 e suas complementares, que trata dos preceitos éticos e da proteção aos participantes da pesquisa. Em caso de algum problema relacionado com a pesquisa, você terá direito à assistência médica que será prestada na rede pública de saúde. Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores. Fica, também, garantida a indenização em casos de danos comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa.

Além disso, você terá a possibilidade de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento ao Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos da UFSC (Prédio Reitoria II R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401, Trindade, Florianópolis/SC, CEP 88.040-400, contato: (48) 3721-6094, cep.propesq@contato.ufsc.br) ou ao pesquisador responsável - Profa. Dra. Débora Machado Fracalossi (Depto de Aquicultura, Rod. Admar Gonzaga, nº 1346

– Itacorubi, Florianópolis/SC, CEP 88034-001, contato: (48) 3721-6300, debora.fracalossi@ufsc.br).

Assinatura: Pesquisador responsável

_____.
Débora Machado Fracalossi

.....

Consentimento Pós-informação

Eu,_____,RG_____,
li este documento e fui esclarecido sobre a pesquisa "Suplementação dietética de ácido docosahexaenoico (DHA), via ALLTECH® ADVANTAGE ALLPRO, para tilápia-do-nilo mantida em temperatura subótima fria: qualidade e vida de prateleira do filé" e concordo por livre e espontânea vontade em participar desta pesquisa.

Florianópolis, _____de _____ de_____.

Assinatura do participante:_____.