

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Efeito da combinação de atmosfera modificada com filmes ativos
sobre a qualidade e vida útil de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo
salar*)**

Thais Cardoso Merlo

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestra em Ciências. Área de concentração:
Ciência e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2017**

**Thais Cardoso Merlo
Engenheira de Alimentos**

**Efeito da combinação de atmosfera modificada com filmes ativos
sobre a qualidade e vida útil de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo
salar*)**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Profa. Dra. **CARMEN JOSEFINA CONTRERAS CASTILLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2017**

Dados internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Merlo, Thais Cardoso

Efeito da combinação de atmosfera modificada com filmes ativos sobre a qualidade e vida útil de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) / Thais Cardoso Merlo - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011 - - Piracicaba, 2017.

87 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

1.Pescado 2.Quitosana 3.Pimenta rosa 4.Antioxidante I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José e Shirlei, por sempre acreditarem e investirem em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre estar presente na minha vida, aquele que me amparou, me deu força interior e mostrou o caminho nas horas mais difíceis, suprimindo todas as minhas necessidades;

Agradeço a Nossa Senhora Aparecida, minha mãezinha e intercessora, aquela que sempre me cobriu com seu manto sagrado;

Agradeço aos meus pais e família, os quais eu amo muito, por me ensinarem o valor e a importância do estudo, além de não medirem esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida;

Agradeço à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP) por me acolher e fornecer conhecimentos de excelência na minha formação;

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado;

Agradeço à empresa MARCOMAR, pela doação da matéria-prima, pois sem esta não seria possível o desenvolvimento do trabalho;

Agradeço à empresa Sealed Air pela doação das bandejas próprias para atmosfera modificada;

Agradeço a minha orientadora Profa. Dra. Carmen J. Contreras Castillo, por acreditar em mim, mostrar o caminho da ciência e ser um exemplo de profissional, a qual sempre fará parte da minha vida;

Agradeço a Profa. Dra. Anna Cecilia Venturini, aquela que sempre esteve disposta a me ajudar, dedicando seu tempo e confiança para que fosse realizado um bom trabalho;

Agradeço aos meus amigos de mestrado, Samara, Renata, Rafael e Allana, os quais sempre compartilharam das mesmas alegrias e dores, amigos que levarei eternamente comigo por onde for;

Agradeço aos meus amigos Carol, Caio e Giu do Laboratório de Qualidade e Processamento de Carnes, muito obrigada pela amizade e apoio incondicional, sempre estarão em meu coração;

Agradeço aos amigos Mari (técnica), Marcio, Izabella, Grazielle, Mariana, Juan Dario, Beatriz, Kamilla, Bruna e Giovana do Laboratório de Qualidade e Processamento de Carnes, os quais me ajudaram direta ou indiretamente neste trabalho;

Agradeço ao Erick e a professora Renata Alcarde por me ajudarem e muito na parte estatística do trabalho;

Agradeço a Profa. Dra. Elisabete Maria Macedo Viegas e a Dra. Sheyla Vargas por todo o auxílio na análise de degradação de nucleotídeos e doação dos padrões necessários;

Agradeço a todos os laboratórios, professores, técnicos e alunos da ESALQ que me acolheram e me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

EPÍGRAFE

*“Não é o mais forte que sobrevive,
nem o mais inteligente,
mas o que melhor se adapta às mudanças”*

Leon C. Megginson

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1. CARACTERÍSTICAS DO SALMÃO DO ATLÂNTICO (SALMO SALAR)	15
2.2. DETERIORAÇÃO DO PESCADO	16
2.3. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO PESCADO	19
2.4. EMBALAGENS COM ATMOSFERA MODIFICADA	21
2.5. EMBALAGENS ATIVAS	23
2.5.1. Quitosana	24
2.5.2. Antioxidantes	25
2.5.3. Resíduos agroindustriais de Pimenta Rosa (Schinus Terebinthifolius Raddi)	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1. OBTENÇÃO DO EXTRATO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE PIMENTA ROSA	29
3.2. DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DO EXTRATO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE PIMENTA ROSA	30
3.3. PREPARO DAS EMBALAGENS ATIVAS: FILMES ATIVOS DE QUITOSANA E FILMES ATIVOS DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA	30
3.4. MATÉRIA-PRIMA E PROCESSAMENTO	31
3.5. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	35
3.5.1. Composição gasosa	35
3.5.2. pH	35
3.5.3. Cor instrumental	35
3.5.4. Capacidade de Retenção de Água (CRA)	35
3.5.5. Análise de Perfil de Textura (TPA)	36
3.5.6. Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA)	36
3.5.7. Estabilidade Oxidativa	37
3.5.8. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos	37
3.5.9. Degradação de ATP e seus catabólitos (ADP, AMP, IMP, INO, Hx)	38
3.6. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	39
3.7. ANÁLISE SENSORIAL	40
3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DO EXTRATO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DE PIMENTA ROSA	43
4.2. COMPOSIÇÃO GASOSA	43
4.3. PH	44
4.4. COR INSTRUMENTAL	46
4.5. CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (CRA)	49
4.6. ANÁLISE DE PERFIL DE TEXTURA (TPA)	50
4.7. BASES VOLÁTEIS TOTAIS (BVT) E TRIMETILAMINA (TMA)	52
4.8. ESTABILIDADE OXIDATIVA	55
4.9. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DOS ÉSTERES METÍLICOS DE ÁCIDOS GRAXOS	57
4.10. DEGRADAÇÃO DE ATP E SEUS CATABÓLITOS (ADP, AMP, IMP, INO, HX)	58
4.11. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	63
4.12. ANÁLISE SENSORIAL	66
5. CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS	83

RESUMO

Efeito da combinação de atmosfera modificada com filmes ativos sobre a qualidade e vida útil de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*)

A vida útil do filé de salmão fresco é em grande parte limitada pela deterioração microbiana, proteolítica e oxidativa. Esse trabalho visou estudar o efeito do filme de quitosana adicionado ou não do extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*) sobre a vida útil e qualidade de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) fresco, embalado em atmosfera modificada (AM, 100% CO₂), durante 28 dias. Os filés de salmão (\pm 300 g) com 11 dias *post mortem* sem pele e sem ossos foram embalados em 100% de dióxido de carbono (CO₂), submetidos aos tratamentos: sem filme (TC), com filme de quitosana (TFQ) e com filme de quitosana adicionado do extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa (TFQPR), armazenados a $2 \pm 1^\circ$ C e sem exposição à luz por 0 (11 dias), 7, 14, 21 e 28 dias. Após cada período de armazenamento, nove bandejas de cada tratamento foram analisadas de acordo com parâmetros físico-químicos (pH, cor, capacidade de retenção de água (CRA), perfil de textura (PT), bases voláteis totais (BVT), trimetilamina (TMA), estabilidade oxidativa, perfil de ácidos graxos (PAG), degradação de ATP e seus catabólitos), microbiológicas (microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos, bactérias lácticas, coliformes totais e termotolerantes) e sensoriais. O estudo foi conduzido por um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial (3 tratamentos x 5 tempos de armazenamento), considerado como parcela o filé de salmão embalado em atmosfera modificada, com 3 repetições. Os dados foram analisados no ambiente R, a fim de verificar o efeito de tempo, tratamento e tempo x tratamento. Durante o armazenamento, o pH oscilou para os três tratamentos. Observou-se a descoloração dos filés de salmão devido à oxidação dos carotenoides astaxantina e cantaxantina, presentes no músculo do pescado. Ao longo do armazenamento, CRA foi reduzida, influenciando no perfil de textura das amostras. Os filés de salmão tornaram-se mais macios devido à proteólise muscular e a ação de microrganismos deteriorantes presentes. Os dados de oxidação lipídica foram baixos e não influenciou no PAG do salmão - considerando que o salmão é uma boa fonte de ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-3. Os microrganismos deteriorantes analisados aumentaram ao longo do armazenamento, porém não ultrapassaram os limites recomendados pela ICMSF, bem como a contagem dos microrganismos patogênicos. A análise sensorial permitiu verificar as mudanças nos filés de salmão ao longo do armazenamento, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos. Em conclusão, o filme ativo foi eficiente na manutenção da qualidade e vida útil dos filés de salmão embalados com AM durante 28 dias de armazenamento, em comparação com o grupo controle (TC).

Palavras-chave: Pescado; Quitosana; Pimenta rosa; Antioxidante

ABSTRACT

Effect of modified atmosphere combination with active films on the quality and shelf-life of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets

Shelf-life of the fillet of fresh salmon is greatly limited by microbial, proteolytic and oxidative deterioration. This research aimed to study the effect of chitosan active films and the addition of agro-industrial residue of pink pepper (*Schinus terebinthifolius Raddi*) on this film on fresh Atlantic salmon (*Salmo salar*) shelf-life and quality packaged in modified atmosphere packaging (MAP, 100% CO₂) during 28 days. Skinless and boneless salmon fillets (± 300 g) with 11 days *post mortem* were packaged in 100% carbon dioxide (CO₂) MAP according to three treatments: without chitosan film (TC), with chitosan film (TFQ) and with chitosan film added with agro-industrial residue of pink pepper (TFQPR), stored at $2 \pm 1^\circ$ C and under dark condition for 0 (11 days), 7, 14, 21, and 28 days. After each retail day, 9 trays of each treatment were analyzed according to physical-chemical (pH, color, water holding capacity (WHC), texture profile (TP), total volatile basic nitrogen (TVB-N), trimethylamine (TMA), oxidative stability, fatty acid profile (FAP), and ATP and ATP-catabolites quantification), microbiological (the content of mesophilic, psychrotrophic, lactic, thermotolerant bacteria and total coliform), and sensory parameters. This research used Completely Randomized Design (CRD) with a factorial arrangement (3 treatments x 5 five storage time), considering the packaged salmon fillet as a research unity, with 3 repetitions. Data was analyzed on R environment, in order to verify time, treatment and time x treatment effects. During storage, pH oscillated for the three treatments. The salmon fillets discolored due to the carotenoids astaxanthin and canthaxanthin oxidation, which are present in fish muscle. Along storage time, WHC reduced, influencing on sample texture profile. Salmon fillets softened, which is possibly resulting from muscle proteolysis and from spoilage bacteria action. Lipid oxidation data were low and did not influence on salmon FAP – considering that salmon is a good source of omega-3 poly-unsaturated fatty acid. Fish spoilage bacteria increased along storage, but it was not higher than the legal limit established by ICMSF, as well as pathogen bacteria. Sensory analysis revealed overall changing on salmon fillets during storage. In conclusion, active film was efficient in the maintenance of quality and shelf-life of MAP-packaged salmon fillets during 28 days of storage, compared to control group (TC).

Keywords: Fish; Chitosan; Pink pepper; Antioxidant

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS ANTIOXIDANTES DO RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA.	29
FIGURA 2. FILMES ATIVOS DE QUITOSANA (À ESQUERDA) E FILMES ATIVOS DE QUITOSANA ADICIONADOS COM EXTRATO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA (À DIREITA).	31
FIGURA 3. SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>).	32
FIGURA 4. PROCESSAMENTO DO SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>). 1: PEIXE INTEIRO; 2: CORTE DA CABEÇA, BARBATANAS E CAUDA; 3: CORTE AO MEIO DO SALMÃO; 4: FILÉ COM PELE; 5: LIMPEZA E RETIRADA DE ESPINHOS; 6: RETIRADA DA PELE; 7: PESAGEM; 8: LAVAGEM DO FILÉ; 9: FILÉS DENTRO DA EMBALAGEM A VÁCUO; 10: APLICAÇÃO DO VÁCUO E SELAGEM; 11: FILÉS EMBALADOS A VÁCUO.	33
FIGURA 5. PORCIONAMENTO E EMBALAGEM COM ATMOSFERA MODIFICADA DOS FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>). 1: FILÉ DE SALMÃO INTEIRO; 2: PORCIONAMENTO DOS FILÉS DE SALMÃO (± 300 G); 3: FILÉS PORCIONADOS; 4: FILÉ DE SALMÃO EM BANDEJA PRÓPRIA PARA ATMOSFERA MODIFICADA COM FILME DE QUITOSANA; 5: FILÉ DE SALMÃO EM BANDEJA PRÓPRIA PARA ATMOSFERA MODIFICADA COM FILME DE QUITOSANA ADICIONADO DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA; 6 E 7: BANDEJAS ACONDICIONADAS NA MÁQUINA INJETORA DE GÁS; 8: FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA (100%CO ₂); 9: ACONDICIONAMENTO DAS BANDEJAS EM CÂMARA DE REFRIGERAÇÃO A $2 \pm 1^\circ\text{C}$	34
FIGURA 6. ANÁLISE DE PERFIL DE TEXTURA (TPA).	36
FIGURA 7. VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DA % DE CO ₂ PRESENTES NAS EMBALAGENS DOS TRATAMENTOS (TC = 100% CO ₂ ; TFQ = 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA) DURANTE O ARMAZENAMENTO RESFRIADO A $2 \pm 1^\circ\text{C}$	44
FIGURA 8. VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DE PH DAS AMOSTRAS DE FILÉ DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO ₂ ; TFQ = 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA).	45
FIGURA 9. VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DE LUMINOSIDADE, VALOR DE A* E B* DAS AMOSTRAS DE FILÉ DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO ₂ ; TFQ = 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA).	47
FIGURA 10. VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DA CAPACIDADE DE RETENÇÃO DE ÁGUA (% CRA) DE FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO ₂ ; TFQ = 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA).	49
FIGURA 11. VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DO PERFIL DE TEXTURA DOS FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO ₂ ; TFQ = 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA).	52
FIGURA 12. VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DE BASES VOLÁTEIS TOTAIS (MG N-BVT/100 G DE AMOSTRA) DE FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (<i>SALMO SALAR</i>) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO ₂ ; TFQ = 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO ₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA).	53

- FIGURA 13.** VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DE TRIMETILAMINA (MG N-TMA/100 G DE AMOSTRA) DE FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*SALMO SALAR*) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA). 54
- FIGURA 14.** VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA (MG MDA/ KG DE AMOSTRA) DE FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*SALMO SALAR*) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA). 56
- FIGURA 15.** COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS PRESENTES NOS FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*SALMO SALAR*) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA). 57
- FIGURA 16.** VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DAS CONCENTRAÇÕES DE ADENOSINA TRIFOSFATO (ATP), ADENOSINA DIFOSFATO (ADP), ADENOSINA MONOFOSFATO (AMP) E INOSINA MONOFOSFATO (IMP) NOS FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*SALMO SALAR*) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA). 59
- FIGURA 17.** VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DAS CONCENTRAÇÕES DE INOSINA (INO) E HIPOXANTINA (HX) NOS FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*SALMO SALAR*) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA). 61
- FIGURA 18.** VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DO VALOR K (%) DOS FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*SALMO SALAR*) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA). 62
- FIGURA 19.** CONTAGEM DE MESÓFILOS AERÓBIOS OBTIDOS POR MEIO DE UM *POOL* PARA CADA TRATAMENTO DOS FILÉS DE SALMÃO (*SALMO SALAR*) EM DIFERENTES DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EXPRESSOS EM LOG UFC/G DE AMOSTRA, SENDO TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA. 64
- FIGURA 20.** CONTAGEM DE PSICOTRÓFICOS AERÓBIOS OBTIDOS POR MEIO DE UM *POOL* PARA CADA TRATAMENTO DOS FILÉS DE SALMÃO (*SALMO SALAR*) EM DIFERENTES DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EXPRESSOS EM LOG UFC/G DE AMOSTRA, SENDO TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA. 65
- FIGURA 21.** CONTAGEM DE BACTÉRIAS LÁTICAS OBTIDAS POR MEIO DE UM *POOL* PARA CADA TRATAMENTO DOS FILÉS DE SALMÃO (*SALMO SALAR*) EM DIFERENTES DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EXPRESSOS EM LOG UFC/G DE AMOSTRA, SENDO TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA. 66
- FIGURA 22.** VALORES MÉDIOS E DESVIO PADRÃO (DP) DA ANÁLISE SENSORIAL DE COR (CLARO A ESCURO), ODORE ESTRANHO (NENHUM A FORTE) E APARÊNCIA GLOBAL (MUITÍSSIMO DESAGRADÁVEL A MUITÍSSIMO AGRADÁVEL) DE FILÉS DE SALMÃO DO ATLÂNTICO (*SALMO SALAR*) ACONDICIONADOS A $2 \pm 1^\circ\text{C}$ EM DIFERENTES TRATAMENTOS (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ COM FILMES DE QUITOSANA; TFQPR= 100% CO₂ COM

FILMES DE QUITOSANA ADICIONADOS DE EXTRATO DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE PIMENTA ROSA). 68

1. INTRODUÇÃO

O comércio mundial de salmão aumentou nas últimas décadas em torno de 14%, tal aumento foi influenciado pela expansão da produção de salmão na aquicultura em países do Norte Europeu; Norte e Sul da América. No geral a demanda tem crescido de forma constante na maioria dos mercados, devido à expansão geográfica, especialmente para o Salmão do Atlântico criado em cativeiro, o qual tem sido transformado em diversos produtos processados (FAO, 2014).

O salmão resfriado tem alto valor agregado em relação ao peixe congelado (FLETCHER et al., 2002), cada vez mais é consumido cru (sushi, sashimi). No entanto, o salmão refrigerado é um alimento altamente perecível e apresenta vida útil muito curta, portanto, distribuidores e varejistas tem um período de tempo muito limitado para a distribuição e comercialização do produto fresco. A deterioração do pescado fresco é causada principalmente pela ação microbiana que resulta na produção de odores e sabores desagradáveis, concomitante ou após a degradação autolítica por enzimas (POWELL; RATKOWSKY; TAMPLIN, 2015), exceto para alguns peixes gordos ou por resfriamento rápido durante o armazenamento (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002).

A microbiota deteriorante do pescado embalado depende principalmente da espécie, teor de gordura, composição de ácidos graxos, microflora endógena presente nos produtos, do processamento pós-captura, do sistema de embalagem (atmosfera modificada, vácuo, ar) e, principalmente, da temperatura de estocagem (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002). *Pseudomonas* spp. e *Shewanella putrefaciens* são as bactérias deteriorantes mais comuns no pescado refrigerado, embalado sob condições aeróbicas, independentemente da origem (GRAM; HUSS, 1996). Macé et al. (2012) constatou que bactérias lácticas (LAB), particularmente *Lactococcus piscium* e *Hafnia alvei* são algumas das bactérias deteriorantes do salmão embalado em atmosfera modificada.

Normalmente, o efeito da atmosfera modificada (AM) sobre a extensão da vida útil do pescado fresco está condicionado à concentração e à quantidade de dióxido de carbono (CO₂) disponível na atmosfera, à disponibilidade de oxigênio (O₂), à qualidade da matéria-prima e, principalmente, a temperatura de armazenamento (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002). O CO₂ inibe o crescimento de bactérias aeróbicas deteriorantes e favorece a seleção de bactérias lácticas. Porém os benefícios da atmosfera modificada podem ser anulados sem o controle adequado da temperatura de armazenamento: a solubilidade do CO₂ na carne diminui com o aumento da temperatura e, conseqüentemente, ocorre uma diminuição do efeito bacteriostático do gás, o que pode resultar numa maior atividade microbiana e enzimática.

A combinação de atmosfera modificada com filmes ativos pode ser vantajosa na preservação de produtos alimentícios. Há muitos anos vem sendo estudado o desenvolvimento de filmes ativos, sendo estes feitos de polissacarídeos, proteínas e também lipídeos, os quais apresentam um grande potencial no aumento da vida útil de alimentos. Os filmes ativos podem ser utilizados para manter a qualidade de produtos refrigerados, congelados e processados, retardando a perda de água, evitando a oxidação lipídica, bem como a descoloração. Os filmes podem ser

carreadores de agentes antimicrobianos e antioxidantes, influenciando assim diretamente na qualidade e vida útil do produto (GRENADIOS; HANNA; KURTH, 1997).

A quitosana é um polissacarídeo natural derivado da desacetilização da quitina. A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza depois da celulose, sendo o principal componente do exoesqueleto de crustáceos e insetos. As propriedades antimicrobianas e antioxidantes da quitosana em alimentos têm sido bastante documentadas, e, recentemente, tem havido um interesse crescente no seu uso em aplicações comerciais (FAI; STAMFORD; STAMFORD, 2008; COMA, 2008).

Conservantes naturais podem ser adicionados em filmes ativos com a finalidade de potencializar sua utilização, segundo Serrano-León (2015) a aplicação de resíduos agroindustriais de pimenta rosa nos filmes ativos é um potencial para a atividade antioxidante, sendo comprovado em seu estudo que a aplicação deste resíduo em filmes contribuiu para a redução da oxidação lipídica em produto cárneo. Desta maneira, a combinação de atmosfera modificada com filmes ativos poderá ter efeito sinérgico, sendo potencial para a extensão da vida útil dos produtos.

Assim o presente trabalho propôs estudar o efeito da embalagem em atmosfera modificada contendo 100% CO₂ e filmes de quitosana adicionados ou não com extrato dos resíduos agroindustriais de pimenta rosa sobre a qualidade e a vida útil (*shelf life*) do filé de Salmão do Atlântico, importado pelo Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Características do Salmão do Atlântico (*Salmo salar*)

A família Salmonidae representa o grupo de peixes originários do hemisfério norte, onde uma parcela deste grupo foi introduzida no hemisfério sul pelas ótimas características zootécnicas apresentadas (TABATA et al., 2011). Mais de sessenta e seis espécies de salmão compõem a família Salmonidae. Ainda há muitas controvérsias sobre a taxonomia de muitos membros desta família, sendo assim as pesquisas concluem seus estudos através de rigorosas observações morfológicas, porém estudos de DNA possibilitam a distinção de espécies, raças e populações (MARTIN et al., 2000).

A maioria das espécies desta família é chamada de anádromas, ou seja, o nascimento e boa parte dos primeiros anos de vida acontecem em água doce, posteriormente migram para o mar onde permanecem até atingirem a maturidade sexual e então retornam ao rio onde nasceram e cresceram para se reproduzirem (TABATA et al., 2011).

O salmão do atlântico (*Salmo salar*) é originário da costa leste da América do Norte, a desova acontece nos rios de águas frias ao longo da costa do Atlântico Norte, especialmente no Canadá. Caso estes salmões estejam livres na natureza podem chegar a permanecer até 3 anos nos rios onde nasceram e então prosseguirem para o mar onde permanecerão por 6 ou mais anos até atingirem a maturidade sexual (TABATA et al., 2011).

A maior parte do salmão consumido em todo o mundo provém da criação destes animais em cativeiro, principalmente em países como Noruega, Chile, Escócia e Canadá. Quase todo o salmão consumido no Brasil é importado do Chile, o qual se tornou um grande produtor, destacando-se por seu padrão de qualidade e grandes volumes de exportação. O Chile enfrentou diversas dificuldades na criação destes peixes, entre as dificuldades estavam a localização do país, ou seja, distante das gélidas águas do hemisfério norte e então do seu habitat natural. Porém, após anos de estudos, pesquisas e investimentos, o Chile ultrapassou as barreiras impostas e se tornou um dos maiores produtores de salmão (CHANDÍA, 2010).

Segundo Salán, Galvão e Oetterer (2006) o salmão fresco é caracterizado por ser um pescado de alta umidade, em torno de 70%, alto teor de lipídeos (11%), uma ótima fonte de proteína (18 - 20%) e cinzas próxima a 1%.

Na carne do salmão (*Salmo salar*) são encontrados carotenoides, ou seja, pigmentos naturais e solúveis em lipídeos. O principal carotenoide presente nos salmões é a astaxantina (3,3'-dihidroxi- β,β -caroteno-4,4'-diona) responsável pela coloração vermelho-alaranjado, além disso, este carotenoide é de grande valia para a saúde humana devido ao seu alto poder antioxidante, o qual pode ser o responsável pela redução de doenças degenerativas. Os carotenoides também são reconhecidos pelo seu importante papel nutricional, o β -caroteno (β,β -caroteno) em especial é conhecido como provitamina A, sendo esta a de maior valor de absorção de vitamina A na dieta alimentar (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001). Desta maneira, a coloração ocorre devido à absorção de

carotenoides no trato digestivo, transporte deste pigmento no sangue e a fixação do mesmo no músculo dos salmonídeos, principalmente o salmão (*Salmo salar*) (OSTERLIE et al., 2001).

O salmão (*Salmo salar*) juntamente com outras espécies de salmonídeos que são provenientes de águas geladas principalmente do Atlântico e do Pacífico apresenta grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), destacando-se os AGPI da série ômega-3 e ômega-6. A presença destes ácidos graxos na carne de salmonídeos deve-se principalmente pela alimentação destes animais, os quais se alimentam basicamente de algas unicelulares. Estas algas apresentam em torno de 20% de lipídeos em base seca, sendo que a metade destes lipídeos é apresentada na forma de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente na forma de ômega-3. Tais ácidos graxos poli-insaturados tem alavancado o consumo de pescado em todo o mundo, dentre todos os ácidos graxos temos os essenciais como o ômega-3 e ômega-6, os quais são considerados de grande importância para a dieta humana, pois podem agir de forma preventiva contra várias doenças como depressão, desordens neurológicas, doenças do coração, entre outros (KOUSOULAKI et al., 2015).

O salmão é um pescado de grande valor econômico para o mercado, porém a vida útil do salmão fresco tem duração em torno de 8 dias sob refrigeração de 0 a -2°C. Sendo assim, cuidados devem ser tomados ao fazer a distribuição deste produto, principalmente para mercados mais distantes, sendo importante o reforço da cadeia do frio e/ou o incremento de outros fatores conservantes (SIVERTSVIK; ROSNES; KLEIBERG, 2003).

2.2. Deterioração do pescado

As diversas alterações que ocorrem na musculatura do pescado *post mortem* podem influenciar na deterioração do mesmo, sendo estas alterações tecnologicamente inaceitáveis. A falta de cuidado ao manipular, processar e até mesmo na forma de estocar o pescado pode potencializar os efeitos de deterioração (ADAMS; MOTARJEMI, 2002).

Após o abate do pescado, o fluxo de oxigênio no músculo cessa fazendo com que uma nova via de produção de energia se inicie. Na maioria dos peixes ósseos após a morte a única via para a produção de energia é a glicólise anaeróbia. Esta nova via de produção de energia resultará em uma menor geração de adenosina trifosfato (ATP), influenciando assim na diminuição deste composto no interior das células musculares. Portanto, durante a instalação do *rigor mortis* os compostos como ATP e glicogênio praticamente não existirão, devido à diminuição dos mesmos nas células. Porém, há o acúmulo dos compostos resultantes da desaminação e defosforilação do ATP, como a inosina monofosfato, inosina, hipoxantina, entre outros. Além disso, irá ocorrer também o acúmulo de ácido lático o qual incidirá na queda do pH muscular (HUSS, 1995).

Desta maneira, após a retirada do pescado da água há o início da deterioração, o mesmo sofrerá alterações causadas por autólise, oxidação e atividade microbiana. O pescado é um alimento muito perecível, o qual apresenta alta atividade de água e um pH próximo a neutralidade, além de ser rico em enzimas autolíticas, favorecendo desta forma que as reações de deterioração ocorram muito mais rápido, desenvolvendo maus odores e sabores. As modificações provocadas por

microrganismos são tidas como um dos fatores principais para a deterioração do pescado, entretanto alterações causadas por oxidação, hidrólise enzimática da fração lipídica e a atividade de enzimas também são fatores contribuintes, desta maneira, as diferentes espécies de peixes apresentam características específicas de deterioração. Assim fatores externos como temperatura de armazenamento, processamento e estocagem irão determinar em conjunto com as alterações microbiológicas e bioquímicas, a vida útil do pescado (VIEIRA, 2004; SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002).

O início da deterioração do pescado pode ser avaliado sensorialmente devido à perda do odor e sabor a fresco, o odor neutro sofre modificações passando para um odor de peixe, o qual se torna cada vez mais intenso. Tais modificações ocorrem devido às reações autolíticas, que não necessariamente estão correlacionadas com microrganismos, porém os produtos gerados por estas reações servem de substrato para os microrganismos continuarem o processo degradativo. As reações autolíticas podem ocorrer em pescado congelado, sendo a principal reação a desmetilação do óxido de trimetilamina (OTMA), a qual dá origem a dimetilamina e o formaldeído. A formação e o acúmulo de formaldeído tem relação direta com a perda da capacidade de retenção de água do pescado, uma vez que este composto provoca o cruzamento das fibras musculares o tornando mais duro (GRAM; HUSS, 1996; HUSS, 1995).

Ainda sob refrigeração os peixes gordos podem sofrer reações de oxidação devido ao nível de sua fração lipídica. Tais reações de oxidação dão origem a sabores e odores estranhos ao pescado, destacando-se o ranço. Além disso, estas substâncias geradas pelas reações podem influenciar diretamente na textura do pescado ao se ligarem às proteínas do músculo (HUSS, 1995). A reação de oxidação da fração lipídica dos pescados é causada pelos compostos químicos ou por espécies reativas ao oxigênio estarem presentes, os mesmos causam a quebra das ligações duplas nas frações fosfolipídicas das membranas celulares. Isto ocorre muito em pescado devido a estes animais serem mais susceptíveis por possuírem lipídeos com maior grau de instauração (RUFF et al., 2004).

Além das reações autolíticas, a deterioração do pescado pode ocorrer através das reações de proteólise, as quais geram produtos como peptídeos de baixa massa molecular e aminoácidos livres, sendo muitas vezes relacionadas com a perda de firmeza do músculo (HUSS, 1995).

Durante o metabolismo *post mortem* do pescado e consumida toda a reserva de fósforo, a ATP não poderá ser regenerada, acarretando em uma rota degenerativa regulada por enzimas do tecido muscular. Desta maneira, a ATP é degradada em outros compostos, na seguinte sequência, adenosina difosfato (ADP), adenosina monofosfato (AMP), inosina monofosfato (IMP), inosina (INO) e hipoxantina (Hx). Dentre todos estes compostos a hipoxantina, a qual é resultante da etapa final da degradação do ATP confere sabor amargo na carne do pescado, sendo um contribuinte majoritário para o *off-flavour* no pescado (NOLLET; TOLDRÁ, 2010; OZOGUL; OZOGUL, 2004).

Outro fator influenciável para a deterioração do pescado são os microrganismos, este tipo de deterioração é muitas vezes percebido pelas mudanças sensoriais, sendo que há a produção de odores e sabores estranhos, pode haver o aparecimento de manchas e até mesmo a descoloração e produção de gás (GRAM; HUSS, 1996). A contaminação microbiológica do pescado é bastante

complexa, podendo ocorrer devido a própria flora presente no pescado devido ao ambiente de origem, bem como por fatores extrínsecos e intrínsecos como a temperatura, o pH, a interação entre os microrganismos presentes, lembrando que a carga microbiana varia de espécie para espécie e de até mesmo pelo ambiente de origem, sendo estes pescados provenientes de água doce ou salgada, águas geladas, águas tropicais e até mesmo águas poluídas. A maior parte da carga microbiana presente no pescado é encontrada na superfície e no trato digestivo, porém o seu interior (músculo estéril) pode ser facilmente contaminado pela forma com que o peixe é capturado, pelo método de abate, manuseio e processamento ao qual é submetido (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002; GRAM; HUSS, 1996; HUSS, 1995).

Os microrganismos presentes no pescado podem ser tanto deteriorantes como patógenos. Os deteriorantes são aqueles capazes de provocar a deterioração do pescado devido a sua capacidade proteolítica, lipolítica, entre outras, podendo desenvolver-se tanto em temperatura ambiente como em baixas temperaturas. Já os microrganismos patógenos são aqueles associados à falta de higiene, podendo ocasionar problemas à saúde de quem consumir o produto, como por exemplo, a *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus*. Tais microrganismos não possuem a característica de se desenvolver em baixas temperaturas, porém podem continuar viáveis bem como suas toxinas (VIEIRA, 2004).

A deterioração do pescado armazenado sob refrigeração se dá principalmente por bactérias psicrófilas, entretanto, a deterioração do pescado ocorrerá somente quando estas bactérias tenham se multiplicado a níveis capazes de produzir maus odores. Assim, o frescor do pescado armazenado sob refrigeração é bem correlacionado com análises sensoriais e com a contagem em placas de bactérias à 20°C (VIEIRA, 2004).

Alguns dos fatores intrínsecos que podem influenciar no desenvolvimento microbiano em pescado é o alto valor de pH *post mortem*, além de que nos músculos também são encontrados baixas quantidades de hidratos de carbono, tais fatores tornam o meio propício para o crescimento de microrganismos como a *Shewanella putrefaciens*. Os aminoácidos livres e os nucleotídeos também são fatores intrínsecos que favorecem a atividade microbiana, sendo que estes compostos são usados pelos microrganismos como substrato, produzindo desta maneira compostos voláteis, os quais caracterizam o odor pútrido no pescado. A maioria dos peixes marinhos e algumas espécies de água doce apresentam como parte da fração não proteica o óxido de trimetilamina, este por sua vez pode ser reduzido por enzimas endógenas, mas muitas vezes em temperatura de refrigeração e em falta de oxigênio este composto será reduzido a trimetilamina por ação de bactérias, conferindo o mau odor e sabor ao pescado (HUSS, 1995; GRAM; HUSS, 1996).

Por fim, devido aos múltiplos fatores que podem afetar a deterioração do pescado mesmo em condições de armazenamento sob refrigeração, vários estudos vem sendo realizados com a finalidade de obter técnicas capazes de reduzir a deterioração e manter o frescor do pescado. Sendo assim, dentre as técnicas estudadas a embalagem com atmosfera modificada vem se destacando como uma técnica que permite aumentar a vida de prateleira do produto, controlando de alguma maneira, as reações químicas, enzimáticas e até mesmo microbiológicas durante o armazenamento (CUNHA et al., 2013).

2.3. Avaliação da Qualidade do pescado

Vários são os métodos aplicados para a avaliação da qualidade do pescado, por meio da determinação de parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e sensoriais. Entre os métodos físicos empregados a análise de pH é um dos mais utilizados. Huss (1995) explica que após a morte do pescado o pH do músculo diminui, o qual vai interferir nas características físicas do mesmo. Com a diminuição do pH as proteínas sofrerão uma desnaturação parcial devido a mudança de carga, o que influenciará na textura do músculo com a diminuição da capacidade de retenção de água (CRA). Além disso, tal diminuição do pH (6,2-6,5) devido ao acúmulo de ácido láctico influenciará na formação de compostos os quais apresentarão comportamento de base durante a deterioração.

Outro parâmetro físico muito analisado na qualidade de pescado é a cor, que juntamente com a análise de odor e textura representam os principais métodos para a avaliação da qualidade. A análise de cor é importante devido a esta propriedade ser a grande responsável pelas primeiras impressões do consumidor sobre o produto. A mudança de cor pode ocorrer devido as alterações causadas no processo de deterioração, causadas pelas reações autolíticas ou por microrganismos (HALLIER et al., 2007). Muitos instrumentos permitem fazer a avaliação de cor em alimentos, mas o mais utilizado é o colorímetro equipado com o sistema CIE, os quais dão como resposta o L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho) e b* (intensidade de amarelo), sendo os resultados apresentados por este equipamento correlacionáveis com a análise sensorial.

A capacidade de retenção de água é tida como a capacidade que o músculo tem para resistir a perda de água, este fator é de grande importância tanto para o consumidor como para o comércio. Há duas maneiras em que a água pode ser encontrada nos alimentos, na forma de água livre ou então na forma ligada. Nos tecidos do pescado cerca de 90% da água é encontrada na forma livre, encontrada principalmente em locais intracelulares, a presença desta água nos músculos é diretamente influenciada pelas alterações causadas na estrutura das proteínas pelo pH, pela força iônica e física durante o processamento. A medida de capacidade de retenção de água é de grande importância para analisar a qualidade do pescado, uma vez que a perda de água influencia diretamente no valor econômico, o exsudado amarelo apresentado pelo pescado o torna desagradável para o consumidor, além da água ser um dos constituintes importantes para a textura (JONSSON et al., 2001; OLSSON; OLSEN; OFSTAD, 2003).

A avaliação do pescado também é muito realizada pelo odor, este atributo está correlacionado com a formação de compostos nitrogenados, os quais são formados através das reações autolíticas e microbiológicas, diretamente relacionadas com a degradação do pescado. Os compostos nitrogenados mais representativos para a degradação do pescado são as bases nitrogenadas voláteis (BVT) (ÓLAFSDÓTTIR et al., 1997). O procedimento para a determinação das BVT é uma técnica simples, de baixo custo e que não necessita de grandes equipamentos para a sua realização (HOWGATE, 2010). No Brasil a Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento determina a quantidade máxima de N-BVT de 30 mg N-BVT/100 g de amostra (peixe fresco), sendo esta quantidade empregado para as diferentes espécies (BRASIL, 1997b).

A oxidação lipídica pode causar alterações no odor, sabor, textura, cor e até mesmo no valor nutricional do pescado. Porém a rejeição do pescado é causada antes mesmo que as alterações causadas pela oxidação se tornem evidentes. Os ácidos graxos insaturados presentes nos pescados ao reagirem com o oxigênio dão origem aos peróxidos, os quais são inodoros e insípidos. Os peróxidos por sua vez podem ser convertidos em aldeídos e cetonas, sendo estes compostos os causadores dos maus odores e sabores, além de que a formação do ranço é muito mais perceptível em peixes com alto teor de gordura (HUSS, 1995). Segundo Ólafsdóttir et al. (1997) a avaliação da deterioração lipídica no pescado é realizada pela determinação do índice de peróxido, além de que os métodos colorimétricos como o método do ácido 2-tiobárbítico é muito utilizado para a determinação dos compostos secundários da oxidação lipídica.

Muitos são os fatores que influenciam na aparência do salmão como a cor, distribuição de gordura e textura (JONSSON et al., 2001). A firmeza do músculo cru é um parâmetro de grande relevância que influencia na aceitabilidade do produto, pois quanto mais a carne é macia menos é a aceitabilidade apresentada por parte do consumidor. A propriedade de textura depende de vários fatores como o tecido conjuntivo, o qual é constituído principalmente por colágeno, sendo este o grande responsável pela resistência a tração, tem-se outros fatores também como as miofibrilas representadas pela miosina e actina. Nos últimos anos muitos estudos estão sendo realizados sobre a textura instrumental do pescado (VELAND; TORRISSEN, 1999; ERDOGDU; BALABAN, 2000). As técnicas envolvidas com a análise de textura envolvem princípios de compressão, punção e força de corte. Os equipamentos utilizados para esta análise são denominados de texturômetros, os quais são equipados por uma gama de acessórios, capazes de realizar diferentes análises. Um dos acessórios mais utilizados para esta análise são as células de Warner-Bratzler, as quais são muito utilizadas para a análise de corte e compressão. A análise de perfil de textura é obtida através de um gráfico de força-tempo a partir de duas compressões realizadas em uma mesma amostra (SIGURGISLADOTTIR et al., 1999).

Segundo Ólafsdóttir et al. (1997) um fator limitante para a determinação da qualidade do pescado é o desenvolvimento de microrganismos, devido ao índice de aceitabilidade ser determinado pelo número total de microrganismos viáveis. Em pescado inteiro ou então em filés a contagem de microrganismos não deve exceder a faixa de 10^6 - 10^7 UFC/g, porém em pescado refrigerado o grande responsável pela deterioração são os microrganismos psicrotóxicos. Outros microrganismos responsáveis pela deterioração do pescado é a *S. putrefaciens* também responsável pela deterioração do pescado refrigerado, já em pescado embalado em atmosfera modificada estudos têm revelado que o *P. phosphoreum* tem sido o grande responsável pelas alterações indesejáveis (DALGAARD, 1995). E por fim, a análise sensorial também é uma ferramenta muito utilizada para determinar a qualidade do pescado, algumas características são imprescindíveis para tal determinação, como a aparência, odor e cor. Além de que os parâmetros de origem do pescado, o modo de processamento e os defeitos apresentados também são de grande importância.

2.4. Embalagens com atmosfera modificada

Nas embalagens com atmosfera modificada ocorre a remoção e substituição da atmosfera ao redor do produto antes que esta seja selada. As embalagens a vácuo podem ser consideradas um tipo de embalagem com atmosfera modificada, devido o produto ser embalado por um material impermeável em que há a remoção do ar interior antes que esta seja selada. Além da remoção do ar, as embalagens com atmosfera modificada podem ser substituídas quanto à atmosfera interior, ou seja, há a remoção do ar interior e insuflação de um novo gás ou então uma mistura de gases antes da selagem. Alguns gases são mais utilizados, dentre eles temos O_2 , CO_2 e nitrogênio (N_2). Estes gases podem ter atividades como a estabilização da cor (metamioglobina), ter efeito bacteriostático (CO_2) ou então servirem apenas para enchimento (MCMILLIN, 2008).

O material da embalagem é um ponto crucial para o sucesso da tecnologia de atmosfera modificada. Um material de alta barreira a gases não é importante somente para evitar a permeabilização de O_2 , mas também para evitar que os gases inflados dentro (como CO_2 e N_2) não sejam perdidos para o ambiente. A grande maioria das embalagens utilizadas para atmosfera modificada é feita de polímeros termoplásticos. A permeabilização dos gases em questão aumenta com o aumento de temperatura, porém a taxa de permeabilização varia de acordo com o polímero utilizado na fabricação da embalagem. Devido à variação gasosa que pode ocorrer nas embalagens poliméricas com atmosfera modificada é importante utilizar embalagens com altíssima barreira (JAKOBSEN et al., 2005; PETTERSEN; GÄLLSTEDT; EIE, 2004).

Vários materiais poliméricos podem ser utilizados na fabricação das embalagens para atmosfera modificada, bem como para os filmes que irão recobri-las. Porém é necessário que estes materiais sejam resistentes e apresentem características desejáveis para o que se pretende embalar. Dentre os materiais utilizados tem-se o polipropileno (PP). Segundo Sarantópoulos et al. (2002) este material é bastante utilizado devido as suas propriedades atraentes como a de possuir barreira ao vapor d'água, ser resistente a produtos químicos e à abrasão, ter boa estabilidade térmica, além de ser resistente a rachaduras. Por outro lado, apresenta algumas desvantagens como, não possui boa barreira a gases, sofre degradação oxidativa quando exposto a altas temperaturas, sendo necessário o uso de antioxidantes no seu processamento.

Ainda segundo Sarantópoulos et al. (2002) o copolímero de etileno e álcool vinílico (EVOH) é muito utilizado na indústria alimentícia devido ser excelente na barreira a gases e de fácil processamento. Sua utilização baseia-se principalmente em embalagens que devam ser impermeáveis ao oxigênio. Assim, sua aplicação em embalagens com atmosfera modificada visa manter o dióxido de carbono ou outros gases de interesse ao redor do produto.

Uma das consequências da alteração na atmosfera das embalagens é o aumento significativo da vida útil do produto embalado nestas condições, devido a esta embalagem reduzir a velocidade dos processos de degradação, em particular degradações microbiológicas (RUIZ-CAPILLAS; MORAL, 2004). A embalagem com atmosfera modificada para peixes mais indicada é a composta por alto teor de CO_2 , devido as suas propriedades bacteriostáticas e fungistática sobre a microflora contaminante do peixe. O CO_2 inibe o crescimento de bactérias causadoras de

deterioração microbiana, há uma inibição crescente desta microflora com o aumento da concentração do gás na embalagem (HO; SMITH; SHANAHAN, 1987).

Ainda segundo Ho, Smith e Shanahan (1987), a concentração de CO₂ no produto dependerá da quantidade de água no alimento, o conteúdo de gordura e a pressão parcial de CO₂ na atmosfera. Consequentemente, a solubilidade do gás será maior em temperaturas mais baixas, ou seja, a eficácia do gás aumentará com a redução da temperatura de armazenamento. A razão entre volume de gás injetado e o produto de alta umidade deve respeitar a razão de 2:1 ou então 3:1 devido a grande solubilidade do CO₂ neste tipo de produto, evitando assim o colapso das embalagens. Outro fator a ser levado em consideração em relação ao CO₂ é que devido a sua alta solubilidade em produtos de alta umidade pode acarretar na perda de água, ou seja, o produto perde sua capacidade de retenção de água, influenciando em uma maior quantidade de exsudado (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002).

Vários estudos foram realizados em atmosfera modificada na conservação de pescado variando a concentração de dióxido de carbono a fim de propor uma melhor concentração na preservação de qualidade do mesmo. Lopes et al. (2004) estudaram o efeito da atmosfera modificada para a conservação de sardinhas, onde trabalharam com cinco atmosferas diferentes (100% ar; 100% N₂; 100% CO₂; 40/60% CO₂/N₂ e 80/20% CO₂/N₂) a fim de obter a melhor atmosfera para a conservação das sardinhas durante 18 dias de armazenamento sob refrigeração a 4 ± 1°C. Para avaliar a qualidade das sardinhas embaladas com diferentes gases foram realizadas análises de pH, bases voláteis totais, concentração de histamina e a contagem de microrganismos deteriorantes como heterotróficos aeróbios, aeróbios mesófilos e psicotróficos. Em resultado as embalagens que continham alto teor de dióxido de carbono foram as que apresentaram melhor qualidade do pescado avaliado, ou seja, os pHs dos tratamentos com alto teor de dióxido de carbono mantiveram-se estáveis durante o período de armazenamento, os valores de bases voláteis evoluíram para todas as amostras sem apresentarem diferenças significativas entre as amostras e a produção de histamina foi maior entre o 8° e o 11° dia com exceção das amostras armazenadas em altas concentrações de CO₂. Por fim, as análises microbiológicas comprovaram que a embalagem enriquecida com dióxido de carbono é a melhor opção para a conservação das sardinhas.

Guedes et al. (2006); Teodoro, Andrade e Mano (2007) e Babic et al. (2015) também estudaram o efeito de diferentes atmosferas modificadas para avaliar a qualidade e vida útil de pescado. Através de análises físico-químicas e microbiológicas estes autores constataram que as embalagens com atmosfera modificada de alto teor de dióxido de carbono foram as mais eficazes para aumentar a vida útil do pescado sem prejudicar a qualidade do mesmo.

Sendo assim a atmosfera modificada é uma técnica amplamente utilizada devido a ser um método de preservação eficaz para os produtos de pesca. Esta técnica permite prolongar a vida útil e manter as características naturais do pescado (KOSTAKI et al., 2009).

2.5. Embalagens ativas

Embalagem pode ser definida como aquela que de alguma maneira protege e garante a qualidade do produto embalado, além de estender a vida útil e evitar a oxidação e a deterioração microbiana de produtos mais sensíveis (COMA, 2008).

Atualmente novas linhas de pesquisa têm surgido quanto ao desenvolvimento de novas embalagens. Estudos estão sendo feitos a fim de desenvolver embalagens que sejam capazes de interagir com o produto embalado, e assim de alguma forma beneficiar estes produtos, as quais são chamadas de embalagens ativas. Segundo Santana et al. (2013) grande parte destas embalagens ativas estão sendo desenvolvidas a partir de matérias-primas naturais e renováveis, deixando para traz as antigas matérias-primas sintéticas. Matérias-primas com matrizes poliméricas estão sendo utilizadas com possível adição de aditivos funcionais, apresentando como característica a biodegradabilidade.

Diversas são as embalagens ativas já desenvolvidas, exemplos delas são os filmes antioxidantes e antimicrobianos, além dos absorvedores e removedores de substâncias como a umidade, O₂, etileno e odores. As embalagens ativas tem despertado grande interesse nas indústrias de alimentos, pois elas permitem que a vida útil do produto seja estendida, mantendo a qualidade e a segurança adequada para a saúde humana (WORANUCH; YOKSAN; AKASHI, 2014).

Há duas maneiras tradicionais de se incorporar compostos ativos em alimentos, o primeiro método consiste na aplicação direta nos alimentos, já o segundo visa a imersão ou pulverização do composto ativo no alimento. Porém, a incorporação destes compostos pode ser muito mais eficiente quando aplicado na embalagem em comparação com os métodos tradicionais (COMA, 2008).

Ainda segundo Coma (2008) a aplicação do composto ativo diretamente na embalagem possibilita o aumento de proteção, devido a este estar diretamente em contato com a superfície do alimento, onde a migração dos compostos acontece lentamente entre embalagem e alimento, possibilitando assim a inibição da oxidação lipídica e crescimento microbiológico, os quais se iniciam na superfície.

Outro fator que tem grande influência para o desenvolvimento dessas novas embalagens é devido a elas reduzirem os problemas causados pelos resíduos ambientais gerados pelos polímeros sintéticos de petróleo, os quais não são biodegradáveis. Sendo assim, as embalagens biodegradáveis, comestíveis e antimicrobianas estão sendo desenvolvidas (CORRALES; FERNÁNDEZ; HAN, 2014). As embalagens ativas são desenvolvidas a partir de matérias-primas de base biológica, como os polissacarídeos, proteínas, lipídeos e seus compostos, estes materiais apresentam vantagens por serem biodegradáveis, estão disponíveis em abundância e são renováveis (HOSSEINI et al., 2016).

O preparo das embalagens ativas podem ser por diferentes maneiras, um dos métodos mais utilizados para a fabricação e que está sendo estudado intensivamente é o *casting*. O *casting* consiste na dissolução de uma macromolécula em um solvente, sendo a solução filmogênica obtida aplicada em um suporte para então ser levada a uma estufa para secagem e evaporação do solvente. É válido ressaltar que para obter um filme a macromolécula a ser utilizada seja capaz de formar uma matriz sólida e coesa (GUILBERT; CUQ; GONTARD, 1997).

2.5.1. Quitosana

Entre os polissacarídeos estudados para a obtenção dos filmes temos a quitosana, esta vem sendo estudada devido a sua biocompatibilidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade e atividade antimicrobiana (MAJETI; KUMAR, 2000). A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina, a qual está entre os polímeros mais abundantes da natureza, sendo constituído por uma sequência linear de açúcares monoméricos. A quitina pode ser sintetizada por um grande número de organismos vivos encontrados na natureza como na parede celular de fungos e leveduras, na cutícula de insetos e moluscos, além de ser encontrado também no exoesqueleto de crustáceos e insetos (FAI; STAMFORD; STAMFORD, 2008).

Ainda segundo Fai, Stamford e Stamford (2008) a quitosana é um polissacarídeo sendo estruturalmente constituída por unidades de 2-amino-2-deoxi-D-glicopiranosose e 2-acetamida-2-deoxi-D-glicopiranosose unidos por ligações β 1-4 glicosídicas, e como dito anteriormente é obtida pela desacetilação parcial da quitina. A desacetilação da quitina para a obtenção da quitosana acontece devido à substituição dos grupos acetilas (COCH_3) por grupos aminas livre ($-\text{NH}_2$), os quais podem ser protonados em meio ácido ($-\text{NH}_3^+$), isto faz com que a quitosana passe a ser solúvel em soluções ácidas de ácidos como acético, láctico, málico, cítrico, oxálico entre outros. O grau de desacetilação da quitina pode variar de 5 a 15 % enquanto o da quitosana varia de 70 a 95% (ZHONG; SONG; LI, 2011).

Os filmes de quitosana apresentam algumas características como a de ser uma barreira ao oxigênio, barreira ao dióxido de carbono, porém apresentam alta permeabilidade ao vapor de água devido a sua natureza hidrofílica. Além disso, os filmes de quitosana também são bastante frágeis, desta maneira faz-se necessário o uso de plastificantes junto a solução filmogênica a fim de melhorar as propriedades mecânicas do filme e diminuir as forças de fricção nas cadeias do polímero (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010; PARK; MARSH; RHIM, 2002).

A quitosana é um potencial material utilizada na fabricação de embalagens alimentícias, sendo muito utilizada como filmes e revestimento comestíveis. Vários trabalhos têm sido desenvolvidos com a finalidade de estudar a influência deste material na qualidade e vida útil de vários produtos. Fan et al. (2009) investigaram o efeito do revestimento de quitosana na qualidade e vida útil de carpa prateada durante o armazenamento (até 30 dias) à -3°C . Os peixes foram analisados quanto às características químicas, microbiológicas e sensoriais. Os resultados obtidos através destas análises permitiu sustentar o efeito positivo do revestimento de quitosana, uma vez que este tratamento dado aos peixes manteve as características de qualidade e permitiu estender a vida útil dos mesmos durante o armazenamento congelado.

Vários agentes bioativos podem ser adicionados na base polimérica dos filmes, desta maneira não sendo necessária a incorporação direta nos produtos, exemplos desses agentes bioativos são os antioxidantes, bactericidas, antimicrobianos entre outros (YOSHIDA; OLIVEIRA JUNIOR; FRANCO, 2009).

Desta maneira, cada dia mais estão sendo incorporados compostos ativos em embalagens com a finalidade de estender a vida útil e manter a qualidade do produto embalado, um trabalho realizado por Gómez-Estaca et al. (2010) avaliaram o efeito antimicrobiano da incorporação do óleo

essencial de cravo em filmes a base de gelatina e quitosana contra seis microrganismos, e em resultado obtiveram a inibição de todos os microrganismos, e em um experimento adicional testaram o mesmo filme contendo o óleo essencial de cravo em peixes durante o armazenamento refrigerado e novamente obtiveram resultados positivos, já que o crescimento de microrganismos foram drasticamente reduzidos.

Li et al. (2013) também objetivaram estudar a combinação de compostos ativos com quitosana sobre a qualidade de peixes vermelhos. Estes autores fizeram a combinação de quitosana com extrato de semente de uva e quitosana com polifenóis de chá, avaliando a qualidade dos peixes vermelhos revestidos com estes filmes durante o armazenamento (20 dias) sob refrigeração ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) em comparação com um tratamento controle. As respostas obtidas através de análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais indicaram que o revestimento com compostos ativos aumentam de 6 a 8 dias a vida útil do peixe vermelho em comparação com o tratamento controle.

Assim o desenvolvimento de conservantes naturais bem como o de revestimentos comestíveis com atividade antioxidante e microbiana é de grande valia para aumentar a vida útil de produtos alimentícios (SIRIPATRAWAN; NOIPHA, 2012).

2.5.2. Antioxidantes

Os antioxidantes presentes nos alimentos têm como função principal prevenir a oxidação lipídica do mesmo, ou seja, o antioxidante age diretamente sobre os radicais livres sequestrando-os ou então os impedindo de serem formados, em consequência evitando assim a rancificação do alimento e consequente formação de *off flavour* (MERTZ et al, 2009; ARAÚJO,2011). Um dos principais fatores que influenciam na oxidação dos alimentos é a presença de ácidos graxos insaturados, devido a estes apresentarem duplas ligações, os quais interagem com o oxigênio (ANDREO; JORGE, 2006). Assim a ação do antioxidante acontece ao reagir com um radical livre, onde o mesmo oxida-se ao ceder um elétron, convertendo-se em um radical fraco, não gerando efeitos tóxicos (ARAÚJO, 2011).

A utilização de antioxidantes vem crescendo a cada dia na indústria alimentícia, sendo de grande importância para a conservação das características dos alimentos como a cor, odor, e até mesmo o sabor (MOURE et al., 2000). Os antioxidantes podem ser encontrados no próprio alimento ou então ser acrescido a este, sendo que para apresentar a atividade antioxidante desejada o mesmo deve apresentar características como a de ser lipossolúvel, serem resistentes aos tratamentos que forem empregados, ativos em baixas concentrações além de serem econômicos (ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os antioxidantes a serem adicionados nos alimentos podem ser de origem sintética como natural, sendo que os sintéticos são compostos fenólicos que contém vários graus de substitutos alquilas, enquanto os antioxidantes naturais podem ser diferentes compostos como fenólicos, polifenóis, quinonas e lactonas (MARTÍNEZ-TOMÉ et al., 2001). Os antioxidantes sintéticos mais utilizados na indústria alimentícia são os Butil-hidroxianisol (BHA), Butil-hidroxitolueno (BHT), Terc-butilhidroquinona (TBHQ), Propil Galato (PG) e ácido cítrico (SHAHIDI; RUBIN; WOOD, 1987).

Porém, o uso destes antioxidantes sintéticos causam diversos questionamentos quanto a sua toxicidade e segurança. Sendo assim, os antioxidantes naturais vêm sendo estudados ao longo de muitos anos devido a sua eficiência e a preocupação dos consumidores quanto à segurança alimentar. Assim, os estudos visam obter novas fontes de antioxidantes a fim de substituir os antioxidantes sintéticos, os quais podem apresentar uma maior segurança quando aplicados em alimentos (WANASUNDARA; SHAHIDI, 1998).

Os antioxidantes naturais têm sido aplicados em vários alimentos e até mesmo em embalagens ativas, a fim de evitar os problemas que podem ser causados pelos sintéticos. Como exemplo disso resíduos gerados pela agroindústria pode ser uma boa alternativa, pois estudos comprovam que a grande maioria dos resíduos de frutas e vegetais apresentam substâncias antioxidantes (Vitamina C e E), carotenoides e compostos fenólicos (RHODES, 1996).

Segundo Estévez, Ventana e Cava (2007) e Naveena et al. (2008) a grande maioria dos compostos fenólicos ou polifenóis provindos de plantas tem demonstrado propriedades antioxidantes em carnes, prevenindo a oxidação de lipídeos e proteínas. Desta maneira, as aplicações dos antioxidantes naturais em carnes contribuem não só no retardamento de fenômenos oxidativos, mas também refletem na extensão da vida útil, auxiliam na estabilidade da cor devido aos compostos ser capaz de evitar a oxidação da mioglobina em metamioglobina, bem como manter as características organolépticas e promover resistência contra microrganismos deteriorantes, pois a maioria dos compostos polifenólicos apresenta ação antimicrobiana.

2.5.3. Resíduos agroindustriais de Pimenta Rosa (*Schinus Terebinthifolius Raddi*)

Milhões de toneladas de resíduos são gerados em todo o mundo e boa parte destes resíduos gerados é proveniente de atividades agroindustriais (MAKRIS, BOSKOU; ANDRIKOPOULOS, 2007).

No Brasil, estes resíduos causam vários problemas ambientais, desta maneira, várias pesquisas são desenvolvidas com a finalidade de dar um destino útil a estes resíduos. A grande maioria dos resíduos agroindustriais contém substâncias biologicamente ativas, como os compostos polifenólicos, porém muitas vezes são desperdiçados (CATANEO et al., 2008).

Os resíduos agroindustriais são caracterizados como sementes, cascas e partes não comestíveis de frutas e hortaliças. Sua composição em base seca apresenta em torno de 75% de açúcares, 9% de celulose, 5% de lignina e baixa quantidade de lipídeos (KOSSEVA, 2011).

Diversos estudos realizados comprovaram que os resíduos agroindustriais obtidos de frutas e hortaliças contêm substâncias antioxidantes, sendo a vitamina E e C, carotenoides e compostos fenólicos. Assim a utilização destes resíduos é de grande importância, seja para, geração de empregos, prevenção de problemas ambientais bem como na agregação de valor aos subprodutos agroindustriais (RHODES, 1996; MALACRIDA et al., 2007).

No Brasil há a geração de diversos resíduos agroindustriais, como exemplo tem-se os de pimenta rosa. A pimenta rosa (*Schinus Terebinthifolius Raddi*) é uma planta nativa do Brasil, sendo

muito conhecida como aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira e pimenta brasileira. A variação dos nomes se dá principalmente pelos frutos apresentarem forma arredondada e coloração rosa-avermelhada, recebendo o nome também de pimenta rosa. Esta pimenta é encontrada e cultivada principalmente em regiões do litoral brasileiro, sendo sua exploração restringida ainda em coleta manual em populações naturais (LENZI; ORTH, 2004).

A pimenta rosa é dentre os condimentos um dos mais utilizados e consumidos desde a década de 80. As cascas, folhas e os frutos apresentam propriedades que auxiliam no tratamento de diarreia e inflamações (AMORIM; SANTOS, 2003). As principais atividades bioativas da pimenta rosa estão associadas ao alto conteúdo de polifenóis. Os compostos polifenólicos podem estar presentes em geral em toda a estrutura da planta, desde folhas, casca até os frutos e sementes (SANTOS et al., 2012).

Um estudo realizado por Carvalho et al. (2003) demonstrou através de uma análise fitoquímica que a pimenta rosa contém diversos compostos como taninos, flavonoides, alcaloides, esteróis entre outros, além de apresentar uma grande quantidade de óleo essencial. O mesmo foi presenciado por Lorenzi e Matos (2008) onde os mesmos através da análise fitoquímica em função dos compostos fenólicos presentes no fruto como um todo revelou a presença de taninos, flavonoides e os ácidos triterpênicos na casca, já nos frutos e nas folhas foram encontrados até 5% de óleo essencial formado pelos mono e sequeiterpenos presentes nos mesmos.

Desta maneira, a pimenta rosa devido aos seus compostos funcionais como os flavonoides, polifenóis, carotenoides, vitamina C entre outros colaboram para o fruto quanto a sua qualidade nutricional e sensorial, levando em consideração a cor, aroma e sabor além de oferecer efeitos benéficos à saúde (ORNELAS-PAZ et al., 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção do extrato de resíduos agroindustriais de pimenta rosa

Os resíduos agroindustriais de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*) foram fornecidos pela Empresa Agrorosa Ltda, localizada em São Mateus-ES, no segundo semestre de 2011. Os resíduos consistiam de casca, pele, talos e frutos e estavam armazenados em câmara de congelamento a -20°C . A extração foi realizada em solvente alcoólico (etanol 80%: água 20% v/v). Para isto, 1 g de resíduo agroindustrial de pimenta rosa seco foi pesado dentro de um tubo de ensaio de vidro e então adicionado 10 mL de etanol:água (80:20% v/v). Na sequência, os compostos solúveis em etanol foram extraídos em banho de água durante 30 min a 90°C . Após este procedimento, o material foi submetido a uma nova extração por um banho de ultrassom (marca Unique, modelo VSC-1400, Brasil) por mais 15 min, e finalmente foi filtrado em papel filtro Whattman N°3. O extrato hidroalcoólico foi armazenado a -80°C até o momento do desenvolvimento dos filmes (BERGAMACHI, 2010).

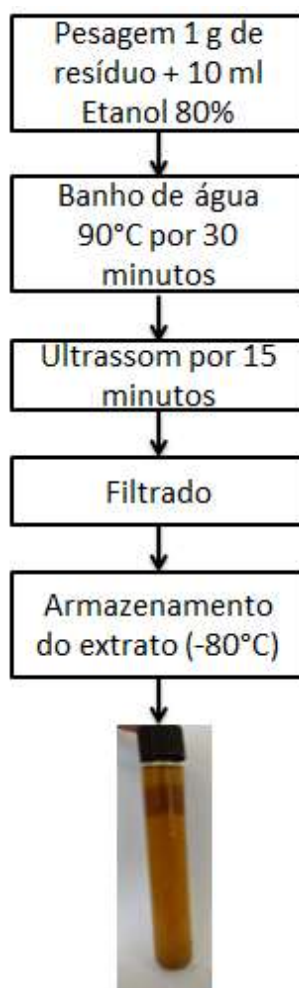


Figura 1. Fluxograma do processo de extração dos compostos antioxidantes do resíduo agroindustrial de pimenta rosa.

3.2. Determinação dos compostos fenólicos totais do extrato de resíduos agroindustriais de pimenta rosa

A análise para a determinação dos compostos fenólicos totais do extrato obtido do resíduo agroindustrial de pimenta rosa foi realizado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu em microplacas, descrito por Al-Duais et al. (2009) com algumas modificações. O ácido gálico foi utilizado como padrão comparativo e a leitura foi realizada em um espectrofotômetro a $\lambda = 740$ nm. O extrato do resíduo agroindustrial de pimenta rosa foi diluído 1:5; 1:10; 1:50; 1:100 e 1:200. Assim, foi coletada uma alíquota de 20 μ l de cada diluição e transferiu-se para os poços da microplaca onde se adicionou 100 μ l do reagente de Folin-Ciocalteu (diluído 10 vezes). A mistura permaneceu em repouso por 5 min. Em seguida adicionou-se 75 μ l de solução de carbonato de sódio (7,5%) em cada poço seguido de repouso por 40 min, em local escuro. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas (Molecular Devices, LLC, Sunnyvale, CA, EUA). Uma amostra em branco foi conduzida nas mesmas condições e o resultado dos compostos fenólicos totais foi expresso em equivalente de ácido gálico (mg AG/g de resíduo agroindustrial de pimenta rosa), calculado por meio do ajuste da curva de calibração, onde o resíduo agroindustrial de pimenta rosa apresentava 10% de umidade.

3.3. Preparo das embalagens ativas: filmes ativos de quitosana e filmes ativos de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa

A obtenção dos filmes de quitosana e filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa, consistiram primeiramente na dispersão de quitosana (Primex - ChitoClear®) a 2% (m/v) em solução aquosa de ácido acético (1%, em volume), seguida de homogeneização até solubilidade total por 60 min.

A partir da solução filmogênica, o filme que consistiu somente de quitosana foi adicionado de glicerol que serviu de plastificante na concentração de 0,25% (m/v), sob agitação branda por 10 min. Em seguida, 50 mL de solução filmogênica foram aplicadas em suportes planos (placas de acrílico, quadradas, 13 cm x 13 cm), ocorrendo o processo de evaporação do solvente em estufa de convecção forçada a 40°C por 24 horas. O mesmo procedimento ocorreu para os filmes de quitosana com extrato de pimenta rosa, diferenciando-se apenas na adição do extrato de pimenta rosa, a quantidade de extrato aplicado na solução filmogênica foi determinada pela quantidade de compostos fenólicos presentes no mesmo (2,92 mg de AG/mL de extrato). Serrano-León (2015) reportou em seu estudo que dentre as faixas de concentração de extrato estudadas na aplicação do filme a que mais apresentou atividade antioxidante foi a concentração de 90 mg /Kg em relação ao peso da amostra. O mesmo indicou que possivelmente concentrações acima desta relatada poderia atingir uma atividade antioxidante ainda maior, desta maneira, neste presente estudo foi estudado a faixa de concentração de 100 mg/Kg de amostra. Após aplicação do extrato, a finalização do filme ocorreu da mesma maneira que o apresentado para o filme de quitosana (Figura 2).



Figura 2. Filmes ativos de quitosana (à esquerda) e filmes ativos de quitosana adicionados com extrato de resíduos agroindustrial de pimenta rosa (à direita).

3.4. Matéria-prima e processamento

Para este estudo foram utilizados filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*). Os peixes foram criados em cativeiro, sendo que durante o primeiro ano de vida foram criados em tanques de água doce e posteriormente a este primeiro ano de vida passaram a ser criados em cativeiros de água salgada do mar, em redes de 20 x 20 metros. Os peixes foram abatidos quando atingiram o peso ideal para abate (± 5 kg). O abate foi realizado pela Pesquera del Mar Antartico S.A (Puerto Montt, Chile), seguindo o procedimento de insensibilização do peixe em água gelada, ou seja, condição em que o peixe entra em hipotermia e então foi realizado a sangria através de um corte feito na guelra. Feito o abate, os peixes foram eviscerados, previamente limpos e então embalados em caixa térmica de isopor com gelo em camadas. Os peixes foram importados para o Brasil pela empresa Marcomar Comércio de Alimentos Ltda. O transporte do Chile até a planta piloto do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da ESALQ/USP, localizada em Piracicaba – SP foi realizado em caminhão frigorífico com temperaturas entre -13 a -10°C . Os 18 peixes (Figura 3) chegaram à planta piloto 9 dias após abate e foram mantidos em câmara fria em temperatura de $1 \pm 1^{\circ}\text{C}$ até o dia seguinte quando ocorreu sua filetagem. Para o presente estudo foram escolhidos peixes que pertenciam a um mesmo lote e com pesos próximos ($5 - 5,5$ kg).



Figura 3. Salmão do Atlântico (*Salmo salar*).

No décimo dia *post mortem* ocorreu a limpeza e filetagem do salmão, em ambiente com temperatura de $10 \pm 2^\circ\text{C}$. Posteriormente os filés obtidos foram colocados em sacos plásticos e embalados a vácuo em seladora (Selovac, 300B) e mantidos em câmara fria a $1 \pm 1^\circ\text{C}$ (Figura 4).

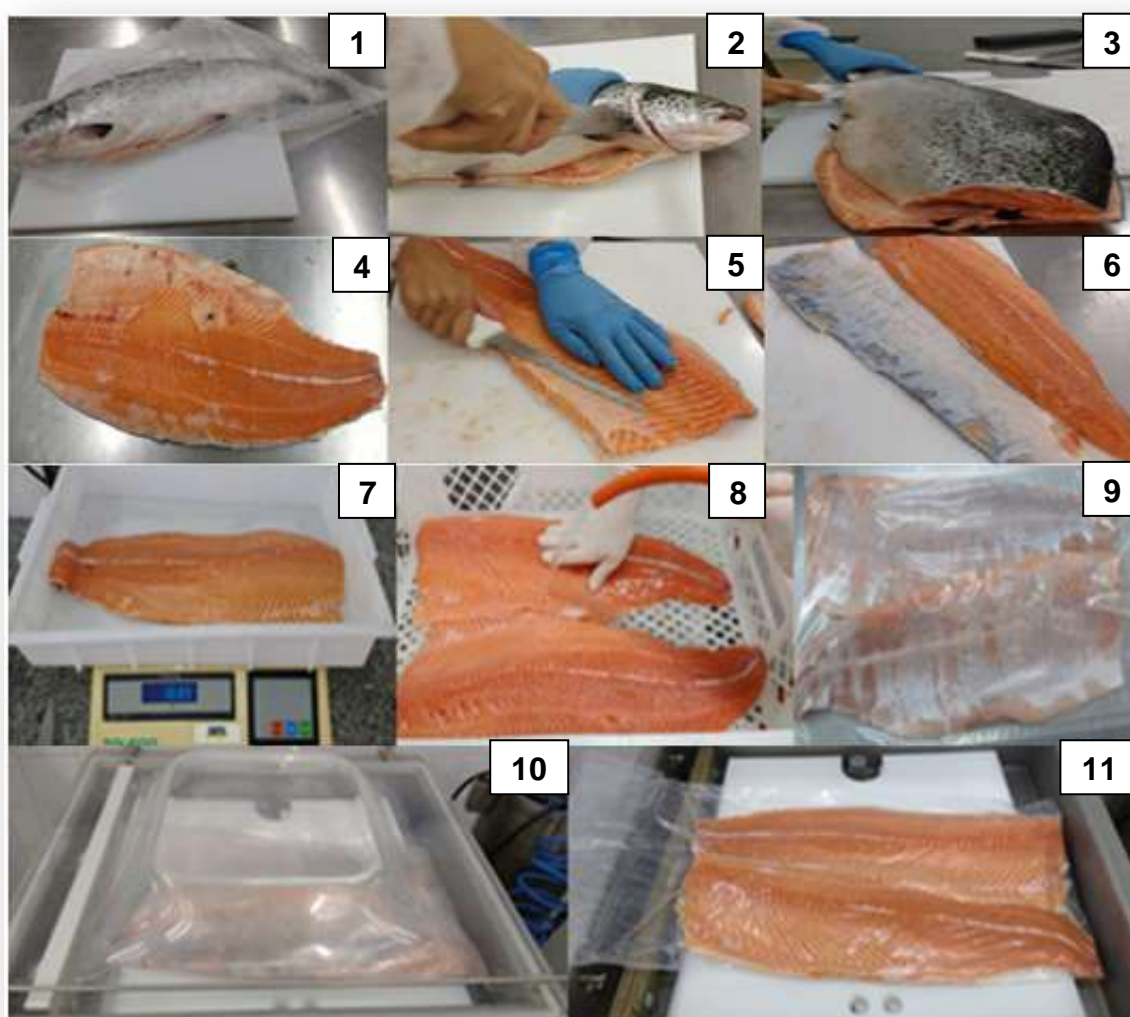


Figura 4. Processamento do Salmão do Atlântico (*Salmo salar*). 1: Peixe inteiro; 2: Corte da cabeça, barbatanas e cauda; 3: Corte ao meio do Salmão; 4: Filé com pele; 5: Limpeza e retirada de espinhos; 6: Retirada da pele; 7: Pesagem; 8: Lavagem do filé; 9: Filés dentro da embalagem a vácuo; 10: Aplicação do vácuo e selagem; 11: Filés embalados a vácuo.

No décimo primeiro dia *post mortem* os 36 filés de salmão (lados direito e esquerdo) foram porcionados (± 300 g) e randomicamente divididos em três tratamentos: salmão sem pele (TC; controle); salmão sem pele com filme de quitosana (TFQ) e salmão sem pele com filme de quitosana adicionado de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa (TFQPR), o qual continha 100 mg de ácido gálico (AG). Os filés porcionados foram acondicionados individualmente em bandejas rígidas (modelo 13D65, 24 x 16 x 65 cm, polipropileno branco com barreira de EVOH, permeabilidade ao oxigênio $< 0,5 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$ a 50% de umidade relativa, Sealed Air). Os filmes ativos presentes nos tratamentos TFQ e TFQPR substituíram os absorvedores de umidade, sendo colocados embaixo dos filés. As bandejas foram evacuadas, o gás foi injetado (100% CO_2) e em seguida as bandejas foram seladas com um filme de alta barreira (Tampa 4532-G, com espessura nominal de $70\mu\text{m}$, permeabilidade ao oxigênio $< 0,5 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24\text{h}$ a 23°C , 66% UR e permeabilidade ao vapor de água $< 0,5 \text{ g}/\text{m}^2/24\text{h}$ a 38°C e 90% UR, Bemis Company, Dixie Toga) utilizando uma máquina

termosseladora (modelo T200, marca Multivac®). O controle automático do ciclo de vácuo/injeção/fechamento do filme tampa foi programado para operar nas seguintes condições: pressão de evacuação de 10 mbar; pressão de injeção de atmosfera de 750 mbar e selagem a 168°C por 5 segundos (Figura 5).

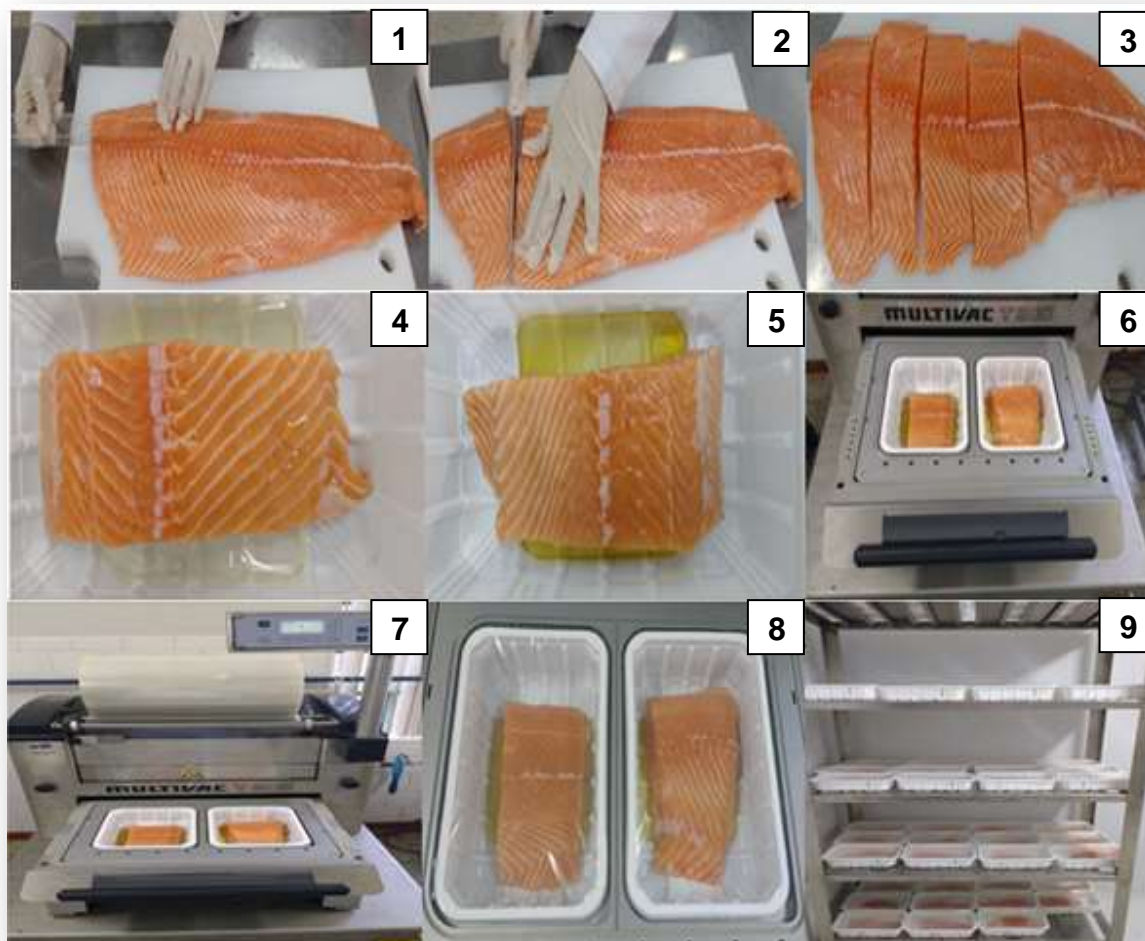


Figura 5. Porcionamento e embalagem com atmosfera modificada dos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*). 1: Filé de Salmão inteiro; 2: Porcionamento dos filés de Salmão (± 300 g); 3: Filés porcionados; 4: Filé de Salmão em bandeja própria para atmosfera modificada com filme de quitosana; 5: Filé de Salmão em bandeja própria para atmosfera modificada com filme de quitosana adicionado de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa; 6 e 7: Bandejas acondicionadas na máquina injetora de gás; 8: Filés de Salmão do Atlântico embalados em atmosfera modificada (100%CO₂); 9: Acondicionamento das bandejas em câmara de refrigeração a $2 \pm 1^\circ\text{C}$.

As bandejas com AM foram mantidas em câmara de refrigeração a $2 \pm 1^\circ\text{C}$, sem exposição a luz durante todo o período de armazenamento (28 dias). As análises químicas, físicas, microbiológicas e sensoriais ocorreram nos tempos 0 (11 dias), 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento. Em cada tempo de armazenamento foram retiradas aleatoriamente da câmara de refrigeração 9 bandejas de cada tratamento para as análises.

3.5. Análises Físico-Químicas

3.5.1. Composição gasosa

A concentração de CO₂ (%) no interior das bandejas contendo o filé de salmão do Atlântico foi determinada por meio do uso de um analisador de gases portátil (CheckPoint[®], PBI Dansensor A/S, Ringsted, Denmark).

3.5.2. pH

A avaliação do pH no interior de cada amostra foi feita através do uso de um pHmetro de punção (modelo pH300, marca OAKTON[®]) com um eletrodo de penetração de corpo de vidro acoplado a um potenciômetro de punção com compensação de temperatura. Foi realizado a mensuração em 3 pontos de cada amostra.

3.5.3. Cor instrumental

Para a determinação da medida física de cor foi utilizado um colorímetro portátil marca Minolta Chroma Meter CR-400 conectado ao computador, onde foi realizada a leitura dos parâmetros L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho/verde), b* (intensidade de amarelo/azul) do sistema CIELab, com fonte iluminante D65, área de medição de 8 mm de diâmetro, um ângulo de observação de 10° e calibrado em porcelana branca padrão com Y = 93,7, x = 0,3160, e y = 0,3323 (CIELAB). As coordenadas L*a*b* foram obtidas pelo movimento do equipamento em três posições aleatórias de cada amostra, sendo realizada em 3 bandejas diferentes para cada tratamento nos diferentes dias de armazenamento.

3.5.4. Capacidade de Retenção de Água (CRA)

A capacidade de retenção de água foi determinada pelo método de centrifugação descrito por Eide, Børresen e Strøm (1982) com algumas modificações. Foi pesado 2 g de amostra de cada tratamento em triplicata, as quais foram colocadas em papel filtro (tamanho do poro = 0,1 mm) e posteriormente dentro de um tubo Falcon (50 mL). A centrifugação ocorreu nas seguintes condições de 1.500 g, a 10°C durante 5 min. Finalizado a centrifugação as amostras foram pesadas e então colocadas em placas de petri e levadas para secagem a 70°C por 12 horas, ao final foram pesadas novamente.

O cálculo para determinar a CRA em porcentagem foi obtido pela diferença do peso da amostra de carne após centrifugação e o peso da amostra após secagem, sendo dividida pelo peso inicial da amostra crua e posteriormente multiplicado por 100.

3.5.5. Análise de Perfil de Textura (TPA)

Para a análise de perfil de textura as amostras cruas foram acondicionadas, tendo um tamanho final de 2 cm comprimento x 2 cm largura x 2 cm altura. Foi utilizado um analisador de textura TAX-T2 PLUS equipado com êmbolo cilíndrico de ponta plana (7,5 cm de diâmetro) seguindo o método modificado proposto por Bourne (2002), realizando-se uma Análise de Perfil de Textura (Figura 6). As condições empregadas para a análise foram a velocidade constante pré-teste de $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$; velocidade do teste $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$; velocidade do pós-teste $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$; 9,6 mm de compressão (40% de compressão); tempo de compressão 5 segundos. Foram obtidos resultados de dureza (Kgf), elasticidade (%), coesividade, mastigabilidade e resiliência.



Figura 6. Análise de Perfil de Textura (TPA).

3.5.6. Bases Voláteis Totais (BVT) e Trimetilamina (TMA)

A análise de bases voláteis totais e trimetilamina foram realizadas de acordo com Brasil (1999). Primeiramente foram pesadas 50 g de amostra previamente picadas, posteriormente foram homogeneizadas com 150 mL de solução de ácido tricloroacético até obter uma massa homogênea. Esta massa foi filtrada com o auxílio de um papel filtro até a obtenção de um extrato límpido. Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, foram transferidos 5 mL de extrato para tubo de digestão e

adicionado 5 mL de solução de hidróxido de sódio 2 mol.L^{-1} . Então esta mistura foi destilada, recebendo 15 mL do destilado em um erlenmeyer contendo 5 mL de solução de ácido sulfúrico 0,01N e indicador. O excesso de ácido foi titulado com solução de hidróxido de sódio 0,01N até a coloração rosa pálido, então foi adicionado 1 mL de formaldeído para cada 10 mL de líquido no erlenmeyer e titulado o ácido liberado com solução de hidróxido de sódio 0,01N até o mesmo ponto final.

Foram utilizadas as seguintes fórmulas para o cálculo de BVT e TMA:

$$BVT \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{14 * (150 + 40) * V}{Va * p}$$

$$TMA \left(\frac{mg}{100g} \right) = \frac{14 * (150 + 40) * V'}{Va' * p}$$

Sendo: V = volume de hidróxido de sódio utilizado na primeira titulação;
 V' = volume de hidróxido de sódio utilizado na segunda titulação;
 Va = volume da alíquota;
 Va' = volume da alíquota;
 p = massa da amostra em gramas.

3.5.7. Estabilidade Oxidativa

A estabilidade oxidativa das amostras durante o armazenamento foi determinada utilizando-se o método do ácido tiobarbitúrico (TBARS) segundo metodologia descrita por Vyncke (1970, 1975) e Sorensen e Jorgensen (1996). As análises foram realizadas em triplicata, utilizando três amostras por tratamento. Foi utilizado como padrão o 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP), cuja hidrólise ácida gerou malonaldeído na proporção 1mol:1mol, para obtenção de uma curva padrão, composta por 8 pontos de diferentes concentrações (0; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25; 0,30; 0,35; 0,40 $\mu\text{mol/mL}$ de TEP). Os aldeídos foram extraídos através da homogeneização a 3500 rpm (Ultra Turrax) de 15 mL de uma solução de ácido tricloroacético (7,5%) / Propil Galato (0,1%) / EDTA (0,1%), com 5 g de amostra. Em seguida a mistura foi filtrada em papel de filtro qualitativo, 12,5 mm. Cinco mL do filtrado foram adicionados a 5 mL da solução TBA (0,02 M) com posterior reação da mistura durante 40 min a 100°C (banho-maria) para a formação do complexo colorido, o qual foi medido em espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV-Vis mini 1240) em comprimentos de onda de 532 e 600 nm.

3.5.8. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos

A gordura das amostras foi extraída utilizando o método de Folch, Lees e Sloane-Stanley (1957). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram preparados a partir de 50 mg de gordura, empregando o método descrito por Hartman e Lago (1973) com algumas modificações, sendo elas: a quantidade de amostra (50 mg), reagente de saponificação (2 mL), aquecimento (100°C), reagente de esterificação (2,5 mL) e adição de éter de petróleo (5 mL).

As amostras transmetiladas foram analisadas em cromatógrafo a gás modelo Focus CG-Finnigan, com detector de ionização de chama, coluna capilar CP-Sil 88 (Varian), com 100 m de comprimento por 0,25 mm de diâmetro interno e 0,20 mm de espessura do filme. Foi utilizado o hidrogênio como gás de arraste, numa vazão de 1,8 mL/min. O programa de temperatura do forno inicial foi de 70 °C tempo de espera 4 min, 175 °C (13 °C/min) tempo de espera 27 min, 215 °C (4 °C/min) tempo de espera 9 min. E, em seguida aumentando 7 °C/min até 230 °C, permanecendo por 5min, totalizando 65 min. A temperatura do vaporizador foi de 250 °C e a do detector foi de 300 °C.

Uma alíquota de 1 µl do extrato esterificado foi injetada no cromatógrafo. Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões de ácidos graxos (Supelco TM Component FAME Mix, cat 18919 Supelco, Bellefonte, PA). Os ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos. Os resultados dos ácidos graxos foram expressos em percentual de área (%).

3.5.9. Degradação de ATP e seus catabólitos (ADP, AMP, IMP, INO, Hx)

A análise de degradação de ATP e seus catabólitos foram realizados seguindo a metodologia de Burns, Kee e Irvine (1985). Para cada tempo de armazenamento (0 (11 dias), 7, 14, 21 e 28 dias) foi coletado 1 g do músculo da parte dorsal dos filés de cada tratamento, sendo realizados três repetições para cada tratamento. Desta maneira, o músculo foi homogeneizado com 10 mL de solução de Ácido Perclórico 0,6 M dentro de um tubo Falcon, mantido em gelo, com o auxílio de um Ultra-Turrax (Modelo T18, marca IKA) a 18.000 rpm por 20 segundos. O homogeneizado foi filtrado em papel filtro (Whatman n°41). Em eppendorfs com capacidade de 1,5 mL foram colocados 0,6 mL do homogeneizado filtrado mais 0,6 mL de solução tampão fosfato (pH=7,6), então foram centrifugados durante 3 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi coletado e armazenado em eppendorfs em câmara de congelamento à -20°C até o momento da análise em cromatógrafo líquido de alta precisão (High Precision Liquid Chromatography, HPLC).

Os catabólitos analisados foram: Adenosina trifosfato (ATP), Adenosina difosfato (ADP), Adenosina monofosfato (AMP), Inosina monofosfato (IMP), Inosina (INO) e Hipoxantina (Hx). Para a construção da curva padrão dos catabólitos citados anteriormente foram usados padrões adquiridos na forma purificada (Sigma Aldrich).

As condições usadas para a realização da análise foram o uso de detector UV-Vis, coluna C18 (250 x 4,6 mm), injeção de 20 µl, método isocrático, comprimento de onda de 254 nm, fase móvel tampão KH₂PO₄ 0,06 M (pH=7,0) e fluxo de 1,4 mL/min.

O valor K foi calculado através da fórmula apresentada por Saito, Arai e Matsuyoshi (1959):

$$Valor K (\%) = \frac{Hx + HxR}{ATP + ADP + AMP + IMP + Hx + HxR} * 100$$

Onde: Hx = Hipoxantina; HxR= Inosina; ATP= adenosina trifosfato; ADP= adenosina difosfato; AMP= adenosina monofosfato; IMP= inosina monofosfato.

3.6. Análises microbiológicas

As análises microbiológicas realizadas nas amostras foram contagem total de aeróbios mesófilos e aeróbios psicotróficos, bactérias lácticas, coliformes totais e termotolerantes para cada tempo de armazenamento (0 (11 dias), 7, 14, 21 e 28 dias). O método empregado para a contagem total de aeróbios mesófilos foi descrito por Morton (2001). Esta metodologia consistiu na homogeneização de 25 g de amostra em 225 mL de água peptonada 0,1%. Este processo foi realizado em sacos plásticos estéreis adequados em um equipamento homogeneizador de amostras tipo Stomacher (Instrumentos para Laboratório, MC1204) por 2 min. Após a diluição decimal seriada, foram plaqueadas em profundidade alíquotas de 1 mL em meio Plate Count Agar – PCA, da marca Kasvi™, em duplicata de cada diluição. Em seguida, as placas foram incubadas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. No caso dos aeróbios psicotróficos a metodologia utilizada foi a descrita por Cousin, Jay e Vasavada (2001). Após a homogeneização de 25 g de amostra em 225 mL de água peptonada 0,1% e a realização da diluição decimal seriada, uma alíquota de 0,1 mL foi plaqueada em superfície em meio Plate Count Agar DifcoPCA™, em 2 placas para cada diluição correspondente. Após o plaqueamento as placas foram incubadas a $7 \pm 1^\circ\text{C}$ por 10 dias. As placas que foram contadas tanto de mesófilos como psicotróficos foram as que apresentaram uma faixa de 25 a 250 colônias e o resultado expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de produto.

A análise de bactérias lácticas foi realizada de acordo com Hall, Ledenbach e Flowers (2001). A metodologia consistiu na homogeneização de 25 g de amostra em 225 mL de água peptonada 0,1%, após a homogeneização foi realizado uma diluição decimal seriada e de cada diluição foi retirada uma alíquota de 1 mL para plaqueamento em profundidade com sobrecamadas em meio De Man Rogosa & Sharp (MRS) (Acumedia™), com sobrecamadas do mesmo meio em placas de Petri contendo ágar MRS. As placas foram incubadas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas em atmosfera normal, sendo os resultados expressos em UFC/g de produto. Por fim, as análises de coliformes totais e termotolerantes foram realizadas pelo método do Número Mais Provável, em série de 3 tubos, de acordo com a *American Public Health Association* (APHA) do número mais provável (NMP) descrito por Kornacki e Johnson (2001). Sendo assim, 25 g de amostra foram homogeneizadas em 225 mL de água peptonada 0,1%. Após a homogeneização foi realizado uma diluição decimal seriada e, de cada diluição, foi retirado 1 mL e colocado em tubo contendo 10 mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (Himedia™) e incubados a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 48 horas, esta etapa foi realizada em triplicata. Os tubos que apresentaram crescimento e produção de gás seguiram para a confirmação dos coliformes termotolerantes e coliformes totais. Para a confirmação dos coliformes termotolerantes uma alçada do tubo que apresentou a produção de gás e crescimento foi repassada para um tubo contendo Caldo *Escherichia Coli* (EC) (Difco™) e incubado a $45,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 horas em banho-maria, onde sendo após este tempo foi realizada a contagem de coliformes termotolerantes (NMP/g) a partir de tubos que apresentaram crescimento bacteriano com formação de gás. Para o teste confirmativo de

coliformes totais uma alçada dos tubos que apresentaram as características citadas acima foi inoculada em um tubo contendo Caldo Verde Brilhante Bile (VB) (Difco™) a 2% a $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 48 horas. Tubos que apresentaram crescimento bacteriano com produção de gás foram destinados a contagem dos coliformes totais, sendo os resultados expressos em NMP/g.

3.7. Análise sensorial

Os atributos sensoriais (cor típica do salmão, odor estranho e aparência global) do salmão cru foram avaliados em triplicata por um painel de 8 provadores com ampla experiência em análise descritiva de produtos de origem animal.

As etapas de seleção, treinamento e monitoramento da equipe de provadores seguiram as recomendações da ISO 8586-1 (ISO, 1993). O recrutamento dos provadores foi realizado através de convite verbal, priorizando pessoas que já haviam participado anteriormente de outras equipes de análise sensorial no Laboratório de Qualidade e Processamento de Carnes (ESALQ/USP) (SALDAÑA et al., 2015; SELANI et al., 2016), desta maneira, possuindo maior conhecimento e habilidades neste tipo de análise. Durante o recrutamento dos provadores foi esclarecido que as avaliações seriam visuais. A seleção dos provadores foi baseada na acuidade sensorial a cores (ordenação de cores) e odores, e na capacidade discriminativa (análise sequencial de Wald). O treinamento foi realizado para que os provadores desenvolvessem a mesma memória sensorial. O monitoramento da equipe foi baseado na capacidade discriminativa, consenso e repetibilidade.

Na avaliação final, as amostras de salmão foram servidas monadicamente seguindo um delineamento de blocos balanceados para evitar efeitos de ordem de apresentação, codificadas com 3 números aleatórios. Os provadores foram instruídos previamente quanto ao uso da escala linear não estruturada de 9 cm, variando de claro e escuro para cor, nenhum a forte para odor estranho e muitíssimo desagradável a muitíssimo agradável para aparência global. As avaliações foram realizadas no Laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição (Esalq-USP).

3.8. Análise estatística

O estudo foi conduzido por um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial (3×5), considerando como fatores de estudo três tratamentos: salmão sem pele (TC; controle); salmão sem pele com filme de quitosana (TFQ) e salmão sem pele com filme de quitosana adicionado de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa (TFQPR)) e 5 tempos de armazenamento (0 (11 dias), 7, 14, 21 e 28 dias). A unidade experimental no estudo foi o filé de salmão embalado em atmosfera modificada, sendo constituído por três repetições independentes dentro de cada faixa de tempo de armazenamento. As características físico-químicas foram submetidas à análise de variância (ANOVA) para se determinar o efeito do tratamento, tempo e interação tratamento e tempo de armazenamento. Os atributos sensoriais foram analisados por ANOVA considerando amostra, provador, repetição e suas interações duplas como fontes de

variação. Quando houve efeitos significativos foi realizado o teste de Tukey. O nível de significância usado para todas as análises estatísticas foi de 5%.

A Análise de Componentes Principais (ACP) foi realizada para estudar as associações entre as amostras e os ácidos graxos usando a matriz de correlação de Pearson. Todas as análises estatísticas foram realizadas no ambiente R (R CORE TEAM, 2016).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Compostos fenólicos totais do extrato de resíduos agroindustriais de pimenta rosa

Para o cálculo de concentração de compostos fenólicos totais a serem adicionados nos filmes de quitosana, foi necessário determinar a concentração de compostos fenólicos totais (CFT), expresso em ácido gálico (AG), contido no extrato do resíduo agroindustrial de pimenta rosa. O teor de compostos fenólicos totais encontrados no extrato do resíduo agroindustrial de pimenta rosa apresentou valor diferente aos encontrados por Bertoldi (2006), Bergamachi (2010) e Serrano-León (2015). No presente estudo o teor de compostos fenólicos foi de 29,2 mg AG/ g de resíduo agroindustrial de pimenta rosa.

Tal valor obtido foi maior ao encontrado por Bertoldi (2006), o qual ao extrair os compostos fenólicos da pimenta rosa obteve um teor de 10,77 mg AG/ g de amostra, porém foi menor ao encontrado por Serrano-León (2015), reportou um teor de 45,01 mg de AG/ g de amostra. Já Bergamachi (2010) avaliou em seu estudo a extração dos compostos fenólicos de plantas e chegou a conclusão de que a relação 80:20 (etanol:água) de solvente apresenta os melhores efeitos sobre a extração. Desta maneira, em relação à extração de compostos fenólicos de resíduo de pimenta rosa esse mesmo autor obteve um teor de 38,42 mg de AG/ g de resíduo seco de pimenta rosa.

Estas variações na composição dos teores de fenólicos totais podem ocorrer devido a vários fatores, podendo ser devido à armazenagem e até mesmo ao processamento empregado, sendo que o resíduo agroindustrial de pimenta rosa estava armazenado em câmara de congelamento (-20°C) desde o segundo semestre de 2011, acarretando assim na perda dos antioxidantes naturalmente presentes, formação de compostos pró-oxidantes ou novos compostos antioxidantes. Porém devido à característica antioxidante dos compostos fenólicos ele torna-se susceptível a degradação por oxidação, sendo ela causada pela presença de luz, oxigênio, calor e íons metálicos (NICOLI; ANESE; PARPINEL, 1999; DAVEY et al., 2000).

4.2. Composição gasosa

A concentração de CO₂ nas embalagens de atmosfera modificada durante os dias de armazenamento para todos os tratamentos pode ser observada na Figura 7.

Não houve interação significativa entre tratamento e tempo, sendo a diferença significativa ($p < 0,05$) observada ao longo do tempo para todos os tratamentos.

Analisando o TC houve uma queda significativa ($p < 0,05$) na concentração do gás no 14º dia com a menor concentração observada ($96,54 \pm 1,66$), o mesmo aconteceu para o TFQ ($96,53 \pm 1,49$), porém nos outros dias de armazenamento a concentração do gás injetado teve a tendência em manter-se estável. E por último o TFQPR teve a queda significativa ($p < 0,05$) na concentração do

gás observado no 7º dia de armazenamento ($98,37 \pm 0,74$) em relação ao 1º dia, porém a partir do 7º dia manteve-se estável.

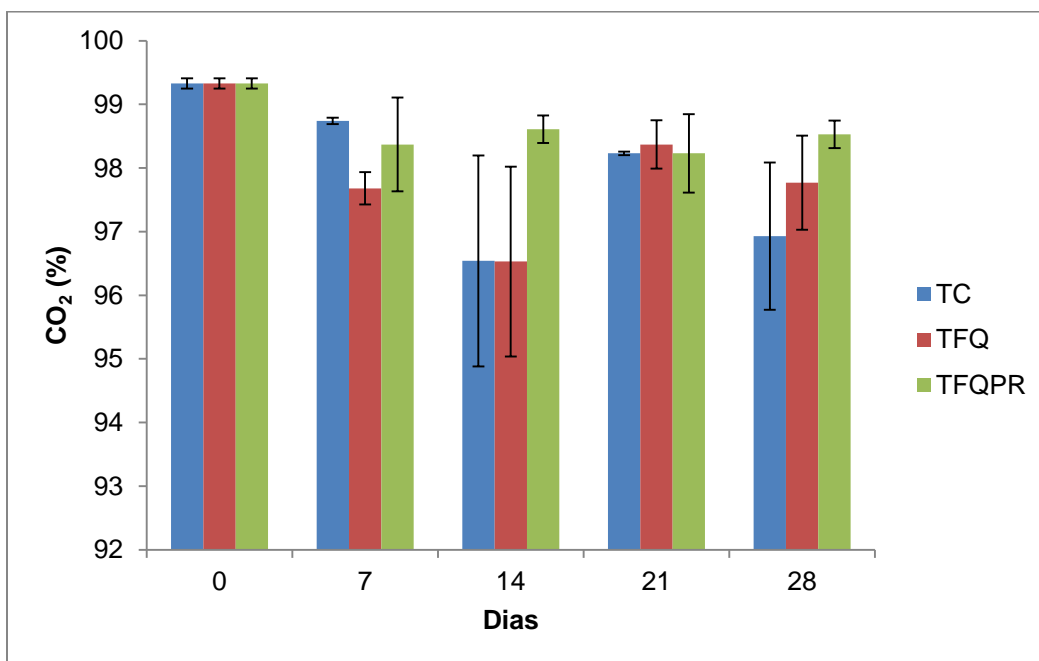


Figura 7. Valores médios e desvio padrão (DP) da % de CO₂ presentes nas embalagens dos tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa) durante o armazenamento resfriado a $2 \pm 1^\circ\text{C}$.

A diminuição na concentração de CO₂ nos dias de armazenamento anteriormente citados, deve-se provavelmente a maior solubilidade do gás nos filés de salmão, uma vez que a Lei de Henry explica, uma parte do CO₂ dissolvido será liberada quando a pressão do gás diminuir devido à solubilização. Assim os materiais das embalagens de atmosfera modificada devem possuir barreiras com a finalidade de manter a quantidade de gás injetado durante o período de armazenamento (SIVERTSVIK; ROSNES; KLEIBERG, 2003). Porém o aumento da concentração de CO₂ após sua queda com posterior estabilidade deve-se a atividade enzimática e microbiana presente no músculo do pescado ao longo do armazenamento, o mesmo foi reportado por WANG et al. (2008).

4.3. pH

O valor de pH é um dos fatores mais importante na conservação dos alimentos. O pescado requer cuidados especiais quanto à sua conservação, isto é necessário, pois seu pH é próximo a neutralidade, o que propicia o desenvolvimento de microrganismos patógenos e deteriorantes (OGAWA; MAIA, 1999).

A Figura 8 apresenta os valores obtidos para o pH nos filés de salmão do atlântico durante o período de armazenamento, começando a ser avaliados com 11 dias *post mortem* (dia 0). Os valores de pH sofreram alterações que foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$), sendo possível a

observação da interação entre tratamento e tempo. Para melhor compreensão dos resultados ver Anexo A.

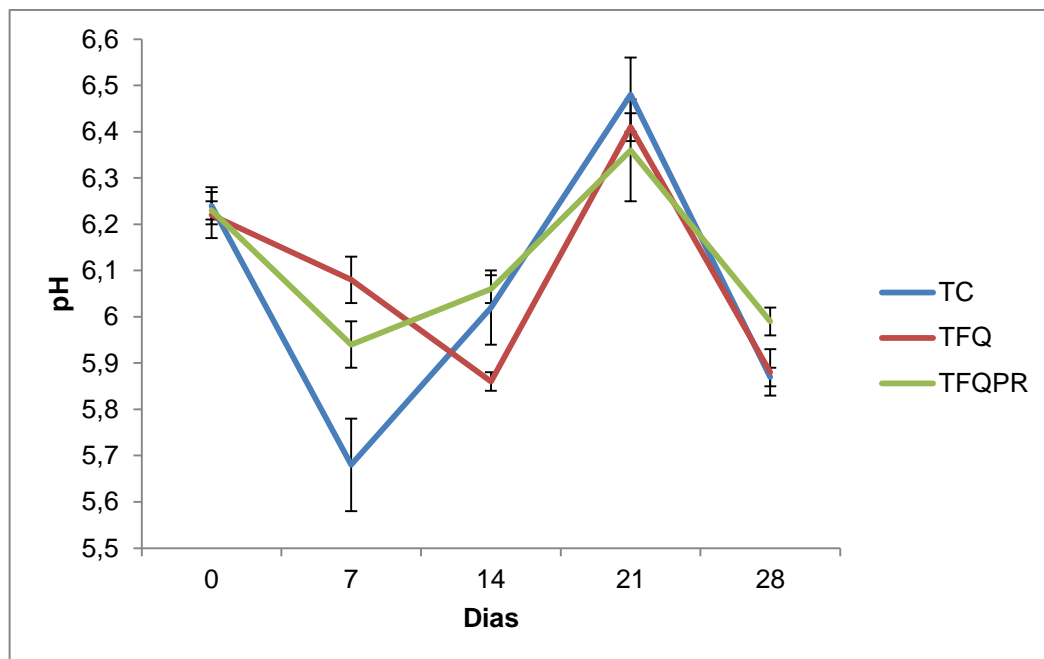


Figura 8. Valores médios e desvio padrão (DP) de pH das amostras de filé de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionadas a 2 ± 1°C em diferentes tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR = 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

O valor máximo de pH estabelecido pelo RIISPOA (BRASIL, 1997a) para a parte interna do pescado é de 6,5 para que seja considerado fresco. O pescado que apresentar valor de pH acima do estabelecido terá se tornado inaceitável para o consumo. A legislação brasileira é imposta para as diversas espécies de pescado existente. Baseando-se no valor limite de pH preconizado pela legislação brasileira, nenhum dos tratamentos ultrapassou o valor indicado até o 28º dia de armazenamento.

No dia 0 de armazenamento, os três tratamentos avaliados apresentaram valor de pH próximo, não apresentando diferença significativa neste tempo. Porém, durante o período de armazenamento o pH sofreu oscilações, o mesmo foi reportado por Kostaki et al. (2009). Queda nos valores de pH abaixo de 6,0 pôde ser observado no 7º dia para os tratamentos TC e TFQPR, apresentado diferença significativa ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos analisados, no 14º dia foi observado a queda do pH para o tratamento TFQ, diferenciando-se estatisticamente ($p < 0,05$) dos outros tratamentos. No 21º dia de armazenamento o pH tornou a aumentar, onde o valor de pH para o TFQPR foi estatisticamente menor ($p < 0,05$) em relação aos demais tratamentos.

O aumento no valor do pH no 21º dia de armazenamento para todos os tratamentos pode ser devido a produção de aminas básicas como a trimetilamina e outras aminas voláteis, formadas principalmente pela ação das bactérias deteriorantes (ORDÓÑEZ et al., 2000).

Por fim no último dia de armazenamento (28º dia) houve novamente a queda de pH para todos os tratamentos, o pH obtido para o tratamento TFQPR foi estatisticamente maior ($p < 0,05$) quando comparado com os outros tratamentos.

A redução no valor do pH é devido aos tratamentos estarem embalados em atmosfera modificada com alto teor de CO₂, desta maneira, a dissolução do CO₂ na água livre do músculo do pescado acarreta na acidificação do mesmo devido a produção de H₂CO₃ (VELU et al., 2013).

Além da medição do pH faz-se necessário a realização de muitas outras análises para poder verificar o estado de frescor ou então início da deterioração do pescado, uma vez que, o pH sofre oscilações durante a estocagem refrigerada e é variável entre as diferentes amostras (OGAWA; MAIA, 1999).

4.4. Cor Instrumental

A determinação de cor instrumental permitiu visualizar a modificação da cor para os diferentes tratamentos analisados ao longo do armazenamento refrigerado a $2 \pm 1^\circ\text{C}$.

Em relação à cor dos filés de salmão do atlântico armazenados no dia 0, os valores de a* e b* ficaram bem próximos as escalas apresentadas por Veiseth-Kent et al. (2010), diferenciando-se apenas quanto a luminosidade, a escala apresentada foi L= 44,2 a 45,6; a*= 13,2 a 15,1 e b*= 16,7 a 20,0.

Através dos resultados obtidos (Anexo B, C e D) pode-se observar que houve interação significativa ($p < 0,05$) entre tratamento e tempo para todos os parâmetros de cor analisados. Sendo assim é possível ver através da Figura 9 que os parâmetros de Luminosidade e valor de b* aumentaram no decorrer do tempo independente do tratamento aplicado, entretanto o valor de a* diminuiu.

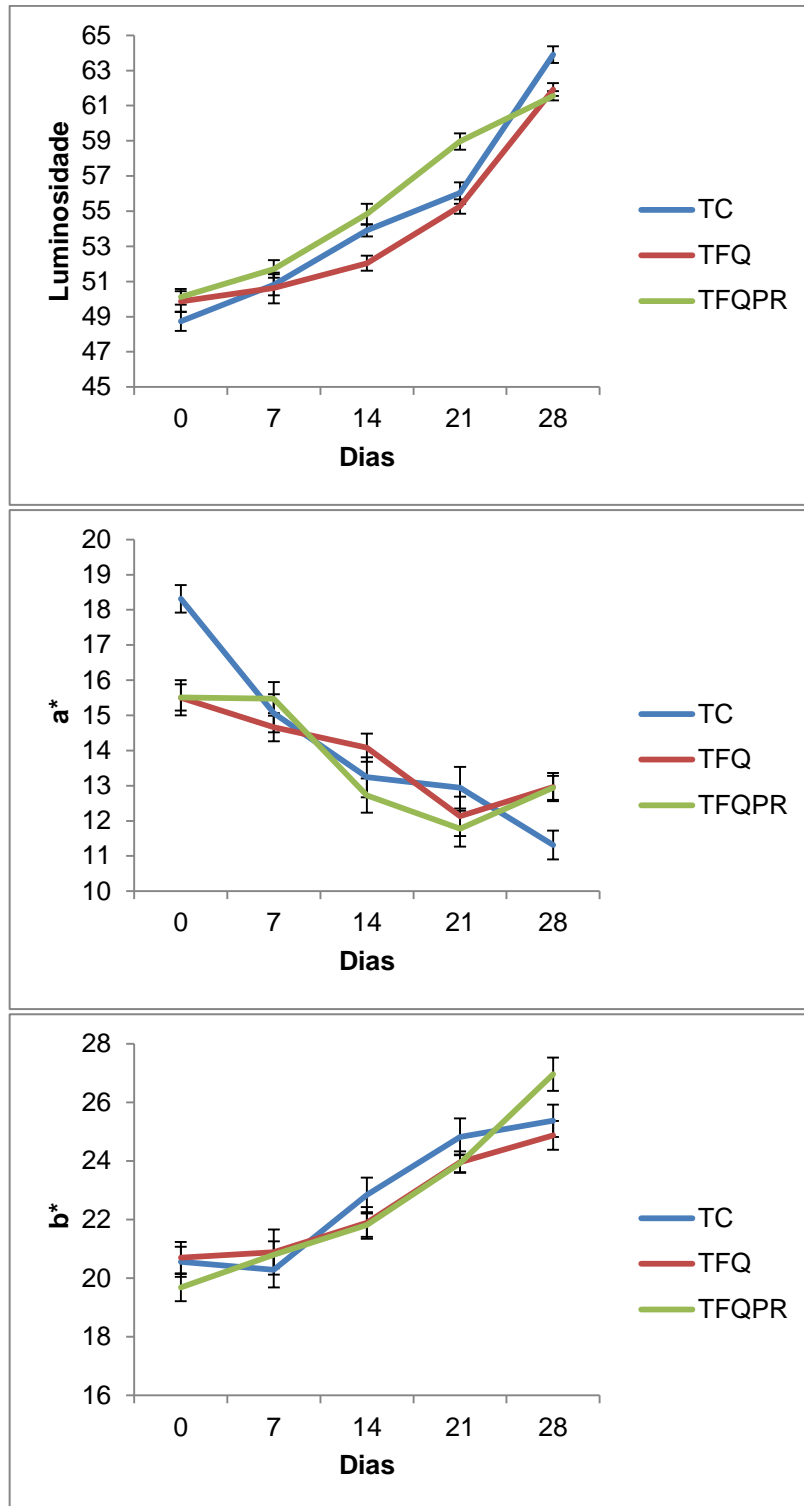


Figura 9. Valores médios e desvio padrão (DP) de Luminosidade, valor de a^* e b^* das amostras de filé de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

Analisando a luminosidade (L^*) e o valor de b^* no último dia de armazenamento (28 dias) é possível observar que, a luminosidade dos filés de salmão de todos os tratamentos avaliados aumentou durante o armazenamento em atmosfera modificada (100% CO_2). No entanto, os

tratamentos que continham filmes de quitosana e quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa apresentaram valores estatisticamente menores ($p < 0,05$) que o tratamento controle (Anexo B). Erikson e Misimi (2008) observaram que as mudanças nos valores de L^* após o rigor mortis estão relacionadas com as alterações da dispersão da luz do músculo. A translucidez do músculo é um fator típico de peixes muito frescos, porque o feixe de luz penetra mais profundamente na carne e o resultado é uma cor mais intensa. Mas com o tempo a carne do pescado gradualmente se torna menos translúcida e mais opaca, devido às alterações de textura resultantes das alterações nas estruturas das proteínas musculares, aumentando a dispersão da luz e a cor do pescado que se torna mais clara e pálida (HUTCHINGS, 1994). Essas alterações estruturais foram mais evidentes nos filés armazenados no tratamento controle que apresentaram menor CRA ($p < 0,05$), menor dureza ($p < 0,05$) e maiores valores de K muito provavelmente devido à maior proteólise muscular quando comparado com os demais tratamentos e, conseqüentemente, maior dispersão da luz e maiores valores de L^* .

Já analisando o b^* , também no último dia de armazenamento, pôde-se observar que no tratamento TFQPR esse valor foi significativamente maior ($p < 0,05$) que os tratamentos TC e TFQ.

O aumento do valor de b^* (Anexo D) ao longo do armazenamento está de acordo com o trabalho realizado por Masniyom, Benjakul e Visessonguan (2002), os quais demonstraram o aumento destes parâmetros para robalos embalados em atmosfera modificada com alto teor de CO_2 . O valor de b^* também aumentou para os filés de atum embalados em atmosfera modificada com alto teor de CO_2 combinados com embalagens ativas contendo α -tocoferol (TORRIERI et al., 2011).

Os valores altos de b^* ao final do armazenamento estão relacionados com a formação da coloração amarelada na superfície do pescado, sendo esta coloração dominante em pescados embalados com atmosfera modificada com alto teor de CO_2 , demonstrando tendência a descoloração do pescado devido à oxidação dos seus pigmentos (MASNIYOM; BENJAKUL; VISESSONGUAN, 2002; JÚNIOR et al., 2015).

Uma diminuição significativa nos valores de a^* foi detectada após 28 dias de estocagem anóxica ($100\%CO_2$), com concomitante aumento de L^* e b^* para todos os tratamentos avaliados ($p < 0,05$). Porém os valores de a^* encontrados neste estudo encontram-se no mesmo intervalo que os resultados previamente publicados por Bjørlykke et al. (2011), os quais relataram valores de a^* em salmão de aproximadamente 12 determinado, enquanto que Misimi et al. (2007) relataram valores de a^* no salmão entre 11 e 15.

No entanto, as amostras de filé acondicionadas com filmes ativos, com ou sem presença do extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa, apresentaram valores de a^* estatisticamente superiores aos das amostras controle, indicando que a presença da quitosana reduziu a oxidação dos pigmentos carotenoides provocada pelos radicais livres, que pode ser explicado pelo mecanismo de oxidação dos pigmentos presentes na carne do salmão (SATHIVEL, 2005). Os radicais livres são os principais agentes pró-oxidantes da astaxantina e da cataxantinas. Paralelamente, os produtos finais da auto-oxidação lipídica, os aldeídos, podem interagir com os grupos amino das proteínas intensificando o escurecimento dos filés (HUTCHINGS, 1994).

Ottestad et al. (2011) concluíram que a estabilidade de cor no salmão parece ser em grande parte dependente da atmosfera ao redor do produto e do estado heme, embora a quantidade de mioglobina e hemoglobina seja muito baixa no salmão. Esses autores observaram diferenças significativas nos valores de a^* entre todas as atmosferas testadas (CO_2 > vácuo > ar) o que sugere que o efeito de cor do heme pigmento possa ser mascarado pela absorção dos pigmentos carotenoides presentes no salmão (astaxantina e cataxantinas).

4.5. Capacidade de Retenção de Água (CRA)

A capacidade que o músculo tem de reter água é um parâmetro qualitativo essencial e influenciável na textura, além de ser de grande importância para a indústria e os consumidores (OLSSON; OLSEN; OFSTAD, 2003).

A Figura 10 faz um demonstrativo dos valores da capacidade de retenção de água (CRA) expressos em porcentagem para os diferentes tratamentos ao longo do armazenamento refrigerado $2 \pm 1^\circ\text{C}$.

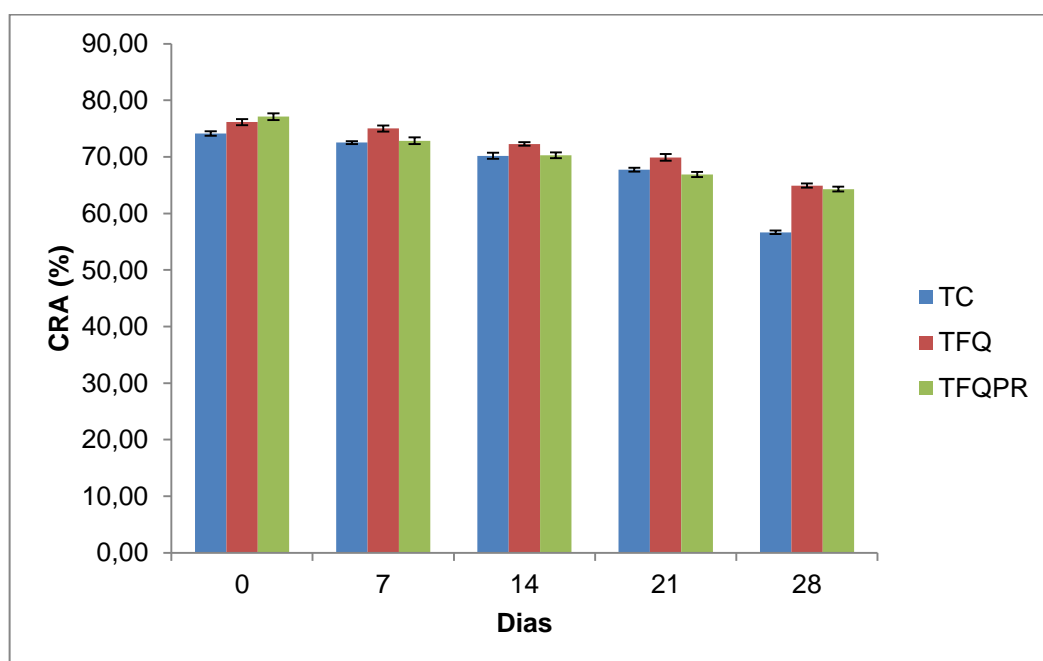


Figura 10. Valores médios e desvio padrão (DP) da capacidade de retenção de água (% CRA) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

Foi possível analisar que houve interação significativa entre tratamento e tempo. Ao analisar o efeito do tempo pode-se observar que durante o armazenamento a CRA diminuiu significativamente ($p < 0,05$) para todos os tratamentos, a média dos valores e o desvio padrão podem também ser encontrados no Anexo E.

Os valores de CRA para o primeiro dia de armazenamento foram de $74,14 \pm 0,39\%$; $76,14 \pm 0,52\%$; $77,11 \pm 0,59\%$ para TC, TFQ e TFQPR respectivamente. Tais valores são menores do que o encontrado por Lakshmanan, Parkinson e Piggott (2007), onde constataram que a CRA do salmão fresco é de $90,6 \pm 1,0\%$. No entanto, as análises no presente estudo começaram a decorrer no 11º dia *post mortem*, desta maneira, os resultados de CRA encontram-se em concordância com os resultados encontrados por Sharifian et al. (2014), onde encontraram a mesma capacidade de retenção de água para filés de garoupas armazenados a 4°C no 10º dia de armazenamento.

Já ao analisar o efeito de tratamento é visto que o TFQ apresentou maior capacidade de retenção de água do 7º ao 28º dia, diferenciando-se significativamente ($p < 0,05$) dos outros tratamentos.

No decorrer do armazenamento refrigerado houve a queda na CRA, onde no último dia foram obtidos valores de $56,67 \pm 0,30\%$; $64,93 \pm 0,38\%$ e $64,30 \pm 0,41\%$ para TC, TFQ e TFQPR, respectivamente. Um primeiro fator que pode ser correlacionado com a perda da capacidade de retenção de água em todos os tratamentos é a solubilização do CO₂ na parte aquosa do músculo contido nas embalagens de atmosfera modificada, acarretando na perda de água e aumento de exsudado (SIVERTSVIK; JEKSRUD; ROSNES, 2002).

Outro fator responsável pela diminuição da capacidade de retenção de água durante o armazenamento é devido ao crescimento de bactérias deteriorantes, em particular os psicrotróficos, os quais se desenvolvem em baixas temperaturas. Tais bactérias são capazes de acelerar o processo de autólise bem como a atividade das enzimas proteolíticas, responsáveis pela degradação dos componentes musculares *post mortem*, reduzindo assim a capacidade de retenção de água, este mesmo mecanismo influente na CRA é reportado por Olsson, Olsen e Ofstad (2003) os quais também fazem a mesma correlação anteriormente citada para a perda da capacidade de retenção de água em halibutes do atlântico.

Mesmo os tratamentos TFQ e TFQPR diferenciando-se significativamente ($p < 0,05$) no último dia de armazenamento, estes tratamentos foram os que apresentaram melhores resultados de CRA, isto é devido ao poder antimicrobiano dos filmes de quitosana presentes nestes tratamentos, podendo ser observado através das análises microbiológicas a menor contagem de psicrotróficos aeróbios nestes tratamentos.

4.6. Análise de Perfil de Textura (TPA)

A firmeza do músculo do pescado é um parâmetro crítico usado para determinar a aceitabilidade do produto (VELAN; TORRISSEN, 1999). Devido as diversas condições *post mortem* em que o pescado é submetido, o músculo dos peixes tornam-se propensos ao amaciamento, afetando diretamente a qualidade da textura (CHÉRET et al., 2006). Diversos são os fatores que influenciam diretamente no amaciamento do músculo no pescado, geralmente estão associados a fatores químicos (teor e distribuição de água, conteúdo e distribuição de gordura, conteúdo de colágeno), além de fatores externos como tempo e temperatura de armazenamento, processamento pelo qual o pescado é submetido. Durante o período *post mortem* a autólise do músculo causada

pelas enzimas colagenases e outras proteases levam a quebra das ligações de colágeno, levando a alteração da textura (PEARCE et al., 2011; SUÁREZ et al., 2005).

Os resultados do perfil de textura podem ser observados através da Figura 11. Para os dados obtidos para a análise de dureza dos filés de salmão não houve interação significativa entre tratamento e tempo, porém o tempo influenciou significativamente ($p < 0,05$) para todos os tratamentos analisados. Desta maneira os dados obtidos para o primeiro dia de armazenamento foi de $1,83 \pm 0,12$; $1,82 \pm 0,09$ e $1,89 \pm 0,14$ Kgf para TC, TFQ e TFQPR respectivamente. Estes valores foram diminuindo ao longo do armazenamento chegando no último dia a valores de $1,24 \pm 0,03$; $1,32 \pm 0,09$ e $1,36 \pm 0,13$ Kgf na mesma ordem dos tratamentos anteriormente citados, resultando assim na diminuição da força necessária durante a primeira compressão, tornando a amostra mais macia. Através da análise de mastigabilidade é possível comprovar o amaciamento das amostras, havendo interação significativa entre tratamento e tempo. Ao longo dos dias a resistência na mastigação foi diminuindo, podendo observar que no último dia de armazenamento o TFQPR apresentava-se mais firme diferindo significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos, ou seja, maior resistência quanto à ruptura durante a mastigação.

A análise da elasticidade das amostras permitiu avaliar a porcentagem de recuperação das amostras após a compressão. Houve interação significativa entre tratamento e tempo. Ao longo do tempo a elasticidade foi sendo perdida para todos os tratamentos e a partir do 14º dia ficou evidente a maior elasticidade do TFQPR diferindo-se significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos até o último dia.

A resistência das ligações internas (coesividade) que compunham os filés de salmão do atlântico submetido aos diferentes tratamentos armazenados refrigerados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ foram diminuindo com o passar dos dias. A análise estatística detectou a interação significativa entre tratamento e tempo. A partir do 21º dia ficou evidente a maior coesividade do TFQPR, o qual diferenciou-se significativamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos.

E quanto a resiliência das amostras pôde-se observar que também houve interação significativa entre tratamento e tempo. A análise de resiliência consiste na propriedade em que a amostra tem de voltar ao seu estado inicial mesmo após passar por uma mudança, os valores obtidos indicam que o tempo influenciou significativamente ($p < 0,05$) nesta propriedade, diminuindo com o passar dos dias. Observações entre os tratamentos analisados permitiu verificar que a partir do 14º dia de armazenamento os tratamentos não diferenciaram-se, apresentando valores parecidos até o último dia de armazenamento.

Estas diferenças na textura do pescado também foram observadas por Viji et al. (2014) em pescado armazenado sob refrigeração a 4°C . Os mesmos autores indicam que as alterações causadas são devido ao enfraquecimento do tecido conjuntivo do músculo durante a proteólise, a qual é causada por enzimas endógenas e microbianas.

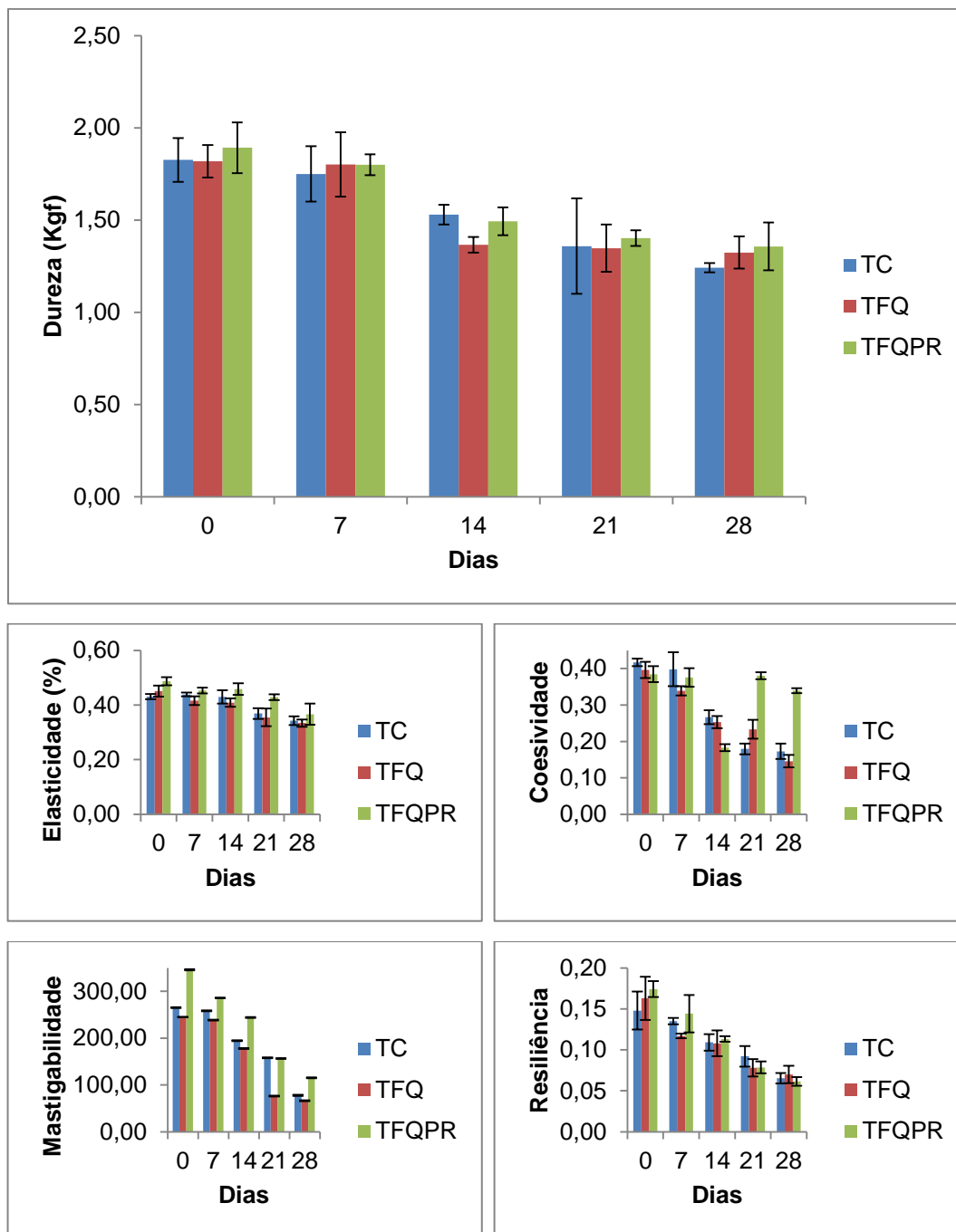


Figura 11. Valores médios e desvio padrão (DP) do Perfil de Textura dos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

4.7. Bases voláteis totais (BVT) e Trimetilamina (TMA)

Bases voláteis totais é um parâmetro amplamente utilizado para determinar o frescor do pescado e é constituído principalmente por amônia e aminas primárias, secundárias e terciárias. A atividade de bactérias deteriorantes e enzimas endógenas acarretam no aumento do valor das bases voláteis totais (FAN et al., 2009).

Os valores das bases voláteis totais, expressos em mg N-BVT/ 100 g de amostra, para os três tratamentos analisados durante o armazenamento sob refrigeração a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ está representado pela Figura 12. Os dados também estão disponibilizados no Anexo F.

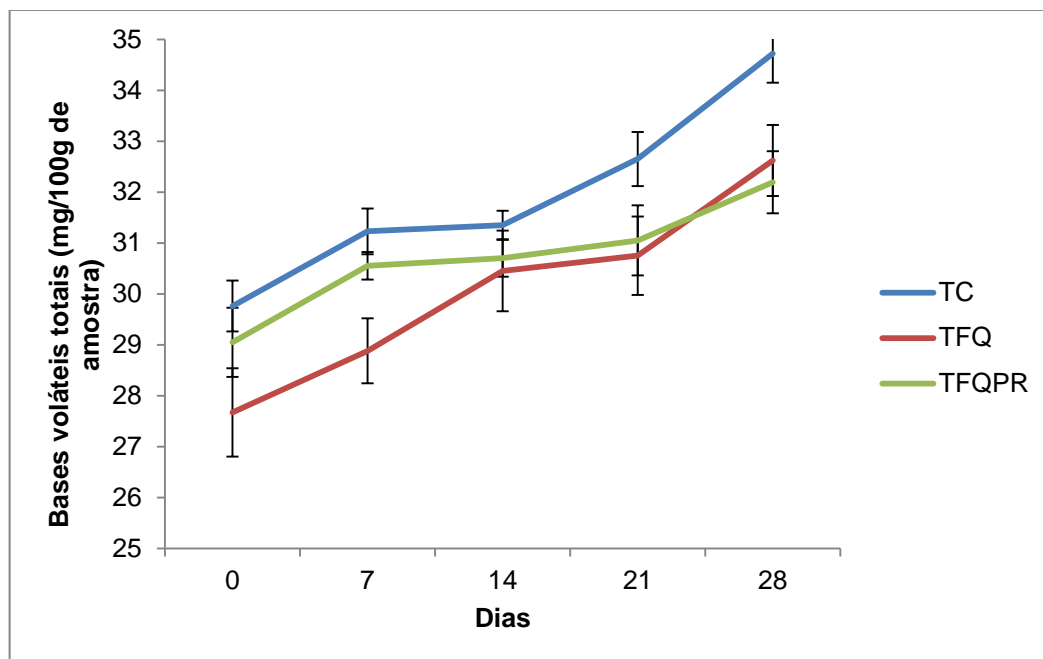


Figura 12. Valores médios e desvio padrão (DP) de bases voláteis totais (mg N-BVT/100 g de amostra) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

Verificou-se que os valores iniciais de BVT para os tratamentos TC, TFQ e TFQPR foram $29,76 \pm 0,50$, $27,67 \pm 0,87$ e $29,05 \pm 0,68$ mg de N-BVT/100 g de amostra, apresentando diferença significativa ($p < 0,05$) entre os três tratamentos. Nota-se que estes valores encontravam-se elevados desde o primeiro dia de armazenamento, isto deve-se provavelmente ao pescado começar a ser analisado com 11 dias *post mortem*, uma vez que Kostaki et al. (2009) encontrou valor de BVT no primeiro dia de armazenamento de 7,34 mg de N-BVT/100 g de amostra para filés de robalos embalados em atmosfera modificada combinado com óleo essencial de tomilho.

No 7º dia de armazenamento os tratamentos TC e TFQPR já apresentavam valores superiores ao permitido pela legislação brasileira, porém dentro do permitido pela Comunidade Europeia.

A legislação brasileira estabelece o valor de 30 mg de N-BVT/ 100 g de amostra como limite máximo de bases voláteis totais para o pescado fresco (BRASIL, 1997b). Porém a Comunidade Europeia estabelece valores máximos aceitáveis de BVT maiores que o estabelecido pela legislação brasileira, sendo de 35 mg N-BVT/ 100 g de amostra e 12 mg TMA/ 100 g de amostra para trimetilamina (MOHAN et al., 2012).

No último dia de armazenamento, os tratamentos encontravam-se dentro do estabelecido pela Comunidade Europeia, porém com valores maiores ao estabelecido pela legislação brasileira. Os valores do tratamento TC foram estatisticamente maiores ($p < 0,05$) que os outros dois

tratamentos (TFQ e TFQPR). Esta constatação provavelmente pode ser atribuída ao aumento da atividade antimicrobiana da quitosana no tratamento TFQ e da combinação de quitosana com o extrato do resíduo agroindustrial de pimenta rosa. Fan et al. (2009) também reportou valores menores de bases voláteis totais em carpas prateadas revestidas com quitosana combinada com extrato de semente de uva e polifenóis de chá. Estes menores valores são devido à quitosana inibir a atividade das bactérias que agem na desaminação oxidativa dos componentes nitrogenados não proteicos.

A trimetilamina é uma substância característica do pescado marinho, e está presente nos músculos e vísceras. A quantidade de trimetilamina no pescado fresco é insignificante, porém seu teor se eleva conforme o tempo de armazenamento aumenta. Após a morte do pescado, sua elevação ocorre pela redução bacteriana do óxido de trimetilamina (OTMA). O valor de pH é um dos principais influenciadores na volatilidade da trimetilamina, onde 0,2 – 0,5% de trimetilamina é volatilizada quando o pescado apresenta valor de pH 5,8 – 6,4, já em valores de pH mais alto, em torno de 6,8 – 7,7, o percentual da volatilidade aumenta para 2 – 3% (OGAWA; MAIA, 1999).

Os valores de TMA deste estudo, expressos em mg de N-TMA/ 100 g de filé de salmão do atlântico, para os três tratamentos durante o armazenamento sob refrigeração a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ estão representados pela Figura 13. Os dados também podem ser vistos no Anexo G.

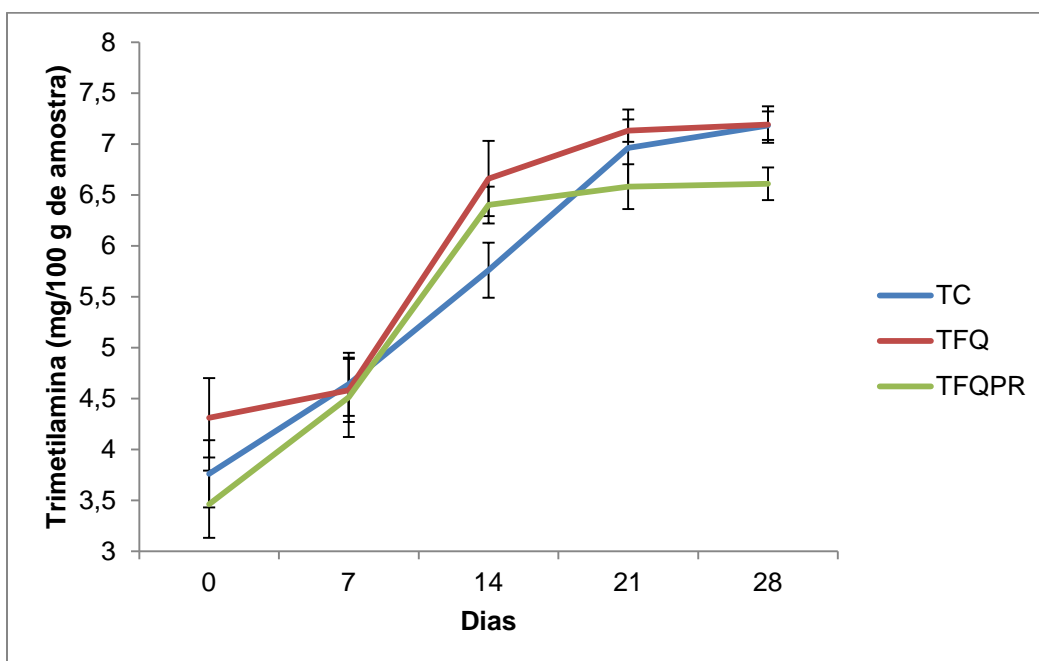


Figura 13. Valores médios e desvio padrão (DP) de trimetilamina (mg N-TMA/100 g de amostra) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

Os valores iniciais obtidos de N-TMA para os tratamentos TC, TFQ e TFQPR foram de $3,76 \pm 0,33$, $4,31 \pm 0,39$ e $3,46 \pm 0,33$ mg N-TMA/100 g de filé de salmão do atlântico, respectivamente. Esses resultados foram aumentando significativamente ($p < 0,05$) até o último dia de armazenamento, porém analisando o último dia, os tratamentos TC e TFQ não apresentaram diferença, somente o tratamento TFQPR apresentou um valor de N-TMA menor do que os outros tratamentos neste dia,

diferenciando-se significativamente ($p < 0,05$) dos demais. O tratamento TFQPR apresentou valores menores de N-TMA desde o 14º dia, mantendo-se estável até o fim do armazenamento.

No Brasil o valor limite de trimetilamina é de 4 mg de N-TMA/ 100 g de amostra, entretanto, este valor é baixo em relação ao limite adotado em outro países. Contreras-Guzmán (1994) considerou valor razoável de trimetilamina para as espécies comercializadas no Brasil entre 5 – 7 mg de N-TMA/ 100 g de amostra, já Mohan et al. (2012) apresenta como limite máximo de aceitabilidade do pescado um valor de 10 – 15 mg de N-TMA/100 g de amostra.

Somente o tratamento TFQPR apresentou-se no último dia de armazenamento dentro do valor máximo estabelecido por Contreras-Guzmán para N-TMA/ 100 g de amostra, com valor de $6,61 \pm 0,16$. Isto sugere um efeito sinérgico da atmosfera enriquecida com CO_2 com os filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa, no qual a produção de N-TMA foi reduzida devido à atmosfera enriquecida com CO_2 reduzir o crescimento de bactérias gram-negativas, as quais são responsáveis pela redução do óxido de trimetilamina (OTMA) em trimetilamina (HUSS, 1995). Kostaki et al. (2009), observaram que o tratamento combinando atmosfera modificada com alto teor de CO_2 combinado com óleo de tomilho em filés de badejo, apresentou menor valor de N-TMA.

4.8. Estabilidade oxidativa

A oxidação lipídica é um dos principais problemas encontrados para pescado marinho, acarretando no desenvolvimento de odores estranhos, o chamado ranço. A determinação do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) é um dos métodos mais empregados para determinar o ranço em pescado. O resultado da análise é expresso em malonaldeído (MDA), o qual é formado através de hidroperóxidos, sendo estes produtos da reação dos ácidos graxos insaturados com o oxigênio (LI et al., 2013; KOSTAKI et al., 2009).

Neste trabalho, o valor de TBA para os diferentes tratamentos durante o armazenamento a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ é mostrado pela Figura 14.

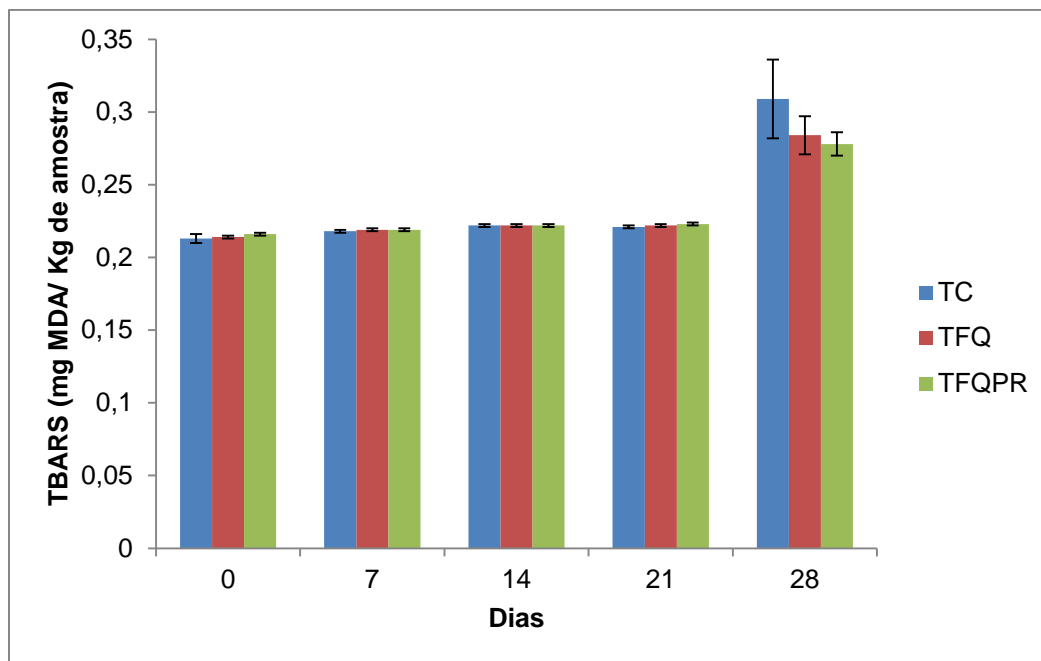


Figura 14. Valores médios e desvio padrão (DP) de oxidação lipídica (mg MDA/ Kg de amostra) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

Os resultados mostraram que o valor de TBA de todos os tratamentos manteve-se inalterado praticamente durante todos os dias. Diferenças significativas ($p < 0,05$) puderam ser observadas no último dia de armazenamento, onde se obteve valores de TBA de $0,309 \pm 0,02$, $0,284 \pm 0,01$ e $0,278 \pm 0,00$ mg MDA/Kg para TC, TFQ e TFQPR, respectivamente. Para melhor compreensão dos resultados, ver Anexo H.

O valor de TBA do tratamento TC, foi estatisticamente maior ($p < 0,05$) do que os valores encontrados para os outros tratamentos no último dia de armazenamento.

Desta maneira, constata-se que houve um efeito sinérgico entre a atmosfera modificada com alto teor de CO_2 e os filmes ativos. Os filmes de quitosana utilizados para revestir o pescado provavelmente agem como uma barreira, impedindo a difusão do oxigênio como foi argumentado por Li et al. (2013). Os valores de TBA encontrados neste trabalho até o último dia de armazenamento estão semelhantes ao encontrado pelo autor anteriormente mencionado no primeiro dia de armazenamento. Estes autores estudaram o efeito de filmes de quitosana adicionados de conservantes naturais. Além disso, a adição de conservantes naturais a estes filmes podem auxiliar na redução da oxidação lipídica, devido ao seu poder antioxidante (Li et al., 2012a; Li et al., 2012b). Assim Torrieri et al. (2009) explicam que a ação do antioxidante do composto combinado com atmosfera modificada é relacionado com a cinética de oxidação e difusão. Ou seja, quando a cinética de oxidação é retardada pela atmosfera modificada, torna-se evidente a ação do antioxidante, o mesmo não acontece quando filmes antioxidantes são expostos no ar, não há efeito protetor devido à oxidação acontecer de forma muito rápida.

Outros fatores que podem ter interferido para que os valores de TBA não se elevassem ao longo do armazenamento é devido ao controle de alguns fatores pró-oxidantes. Em todos os sistemas

alimentares são encontrados pró-oxidantes, os quais podem ser compostos ou fatores que aceleram a oxidação de lipídeos. Alguns dos pró-oxidantes que agem negativamente sobre os alimentos foram controlados neste trabalho, como, luz e temperatura. A exposição à luz e a elevação da temperatura propiciam a decomposição de hidroperóxidos para produzir radicais livres. A falta de luz também impossibilita a formação de oxigênio singlete, o qual ao reagir com substratos (ácidos graxos insaturados) isolam um hidrogênio causando a iniciação da oxidação lipídica (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Assim, os valores de TBA encontrados neste trabalho foram bem abaixo dos valores encontrados por Kostaki et al. (2009), sendo o valor de 0,46 mg MDA/ Kg no primeiro dia de armazenamento de filés de badejo embalados em atmosfera modificada com alto teor de CO₂ combinado com óleo de tomilho tendo aumento progressivo nos valores de TBA ao longo do armazenamento, obtendo valor máximo de 2,4 mg de MDA/kg no 18° dia de armazenamento.

4.9. Análise Cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos

A Figura 15 apresenta as associações entre os tratamentos e os ácidos graxos. A análise de ácidos graxos foi realizada para o TC no dia 0 de armazenamento e para os tratamentos TC, TFQ e TFQPR para o 28° dia.

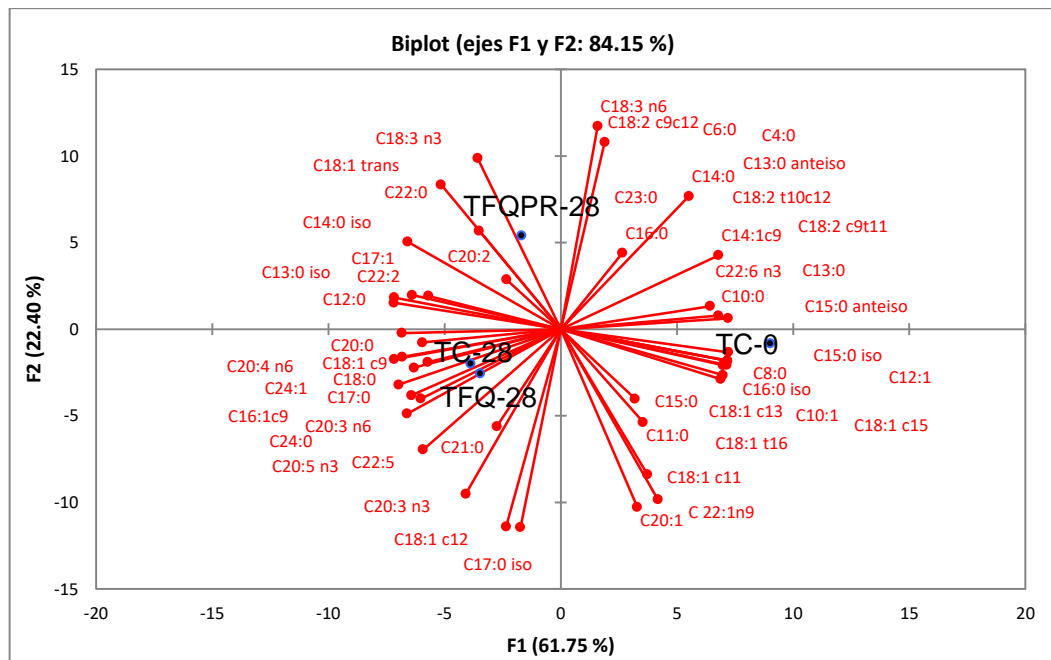


Figura 15. Composição de ácidos graxos presentes nos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

O componente principal 1 (eixo x) é capaz de explicar 61,75% da variação dos dados. Ao analisar este componente é possível ver que o TC no dia 0 apresenta composição de ácidos graxos

diferentes dos demais tratamentos no dia 28. Possivelmente esta diferença é dada pelo TC do dia 0 apresentar todos os ácidos graxos saturados também presentes nos tratamentos do dia 28, porém o total de ácidos graxos saturados (%) é menor do que nos outros tratamentos do dia 28.

Ao analisar o componente principal 2 (eixo y), o qual explica 22,40% da variação dos dados, nota-se a diferença do TFQPR do dia 28 em relação aos demais tratamentos, isto indica uma maior composição dos seguintes ácidos graxos: C13:0 iso, C14:0 iso, C22:0, C17:1, C18:1 trans, C20:2, C22:2, C18:3 n3.

A análise de ácidos graxos permitiu fazer a caracterização do perfil dos ácidos graxos para os tratamentos analisados, no dia 0 e 28.

A composição dos ácidos graxos presentes nos filés de salmão do atlântico submetidos aos diferentes tratamentos analisados no dia 0 e 28 dias de armazenamento teve a predominância de ácidos graxos monoinsaturados com valor total variando de 47,12 a 48,53%, seguido dos ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) (30,23 a 31,43%) e por último ácidos graxos saturados (18,93 a 19,49%). Dentro dos ácidos graxos poli-insaturados temos a presença de AGPI da série ômega-3 e ômega-6, a composição total dos ácidos graxos presentes no salmão pode ser observada no Anexo I.

Este tipo de pescado é rico em ácidos graxos poli-insaturados da série ômega-3, o consumo destes peixes está associado a efeitos benéficos na saúde, auxiliando no retardamento de doenças visuais e doença de Alzheimer. Para manter estas propriedades inalteradas deve-se manter a estabilidade dos ácidos graxos insaturados, desta maneira, o processamento do pescado incluindo antioxidantes naturais e embalagens com atmosfera modificada sem a presença de oxigênio são métodos valiosos de impedimento da oxidação dos ácidos graxos insaturados (ARAB-TEHRANY et al., 2012), o qual pôde ser observado no presente trabalho.

4.10. Degradação de ATP e seus catabólitos (ADP, AMP, IMP, INO, Hx)

A adenosina trifosfato e os produtos da sua degradação são usados como índices para a determinação do frescor do pescado. As enzimas presentes no tecido muscular degradam os nucleotídeos de adenina durante o armazenamento refrigerado. No músculo *post mortem* do pescado a degradação da adenosina 5'-trifosfato (ATP) é devido a este mecanismo: a adenosina 5'-trifosfato (ATP) forma a adenosina 5'-difosfato (ADP) através da ação da enzima adenosina trifosfatase. O ADP por sua vez formará a adenosina 5'-monofosfato (AMP) devido a ação da mioquinase. A enzima AMP deaminase age sobre a AMP formando a Inosina 5-monofosfato (IMP), esta sofrendo a ação da nucleotidase resultará na formação de inosina, a qual poderá ser degradada em hipoxantina (NOLLET; TOLDRÁ, 2010).

A degradação da ATP em seus produtos intermediários (ADP, AMP e IMP) pode ser observada na Figura 16. Analisando os valores de ATP pôde-se observar que houve efeito significativo de tratamento e tempo, onde a concentração de ATP foi diminuindo ao longo do tempo para todos os tratamentos, sendo TFQ estatisticamente diferente dos demais tratamentos.

A concentração de ADP também diminuiu ao longo do armazenamento para todos os tratamentos, porém os tratamentos TFQ e TFQPR foram estatisticamente maiores ($p < 0,05$) que o

TC. Foi observada a queda na concentração de AMP para todos os tratamentos ao longo do armazenamento, porém não houve diferença significativa entre os tratamentos analisados. E por fim pôde-se observar o acúmulo de IMP ao longo do armazenamento, onde houve interação significativa entre tratamento e tempo. A partir do 21º dia os tratamentos TC e TFQ foram estatisticamente menores ($p < 0,05$) que o TFQPR.

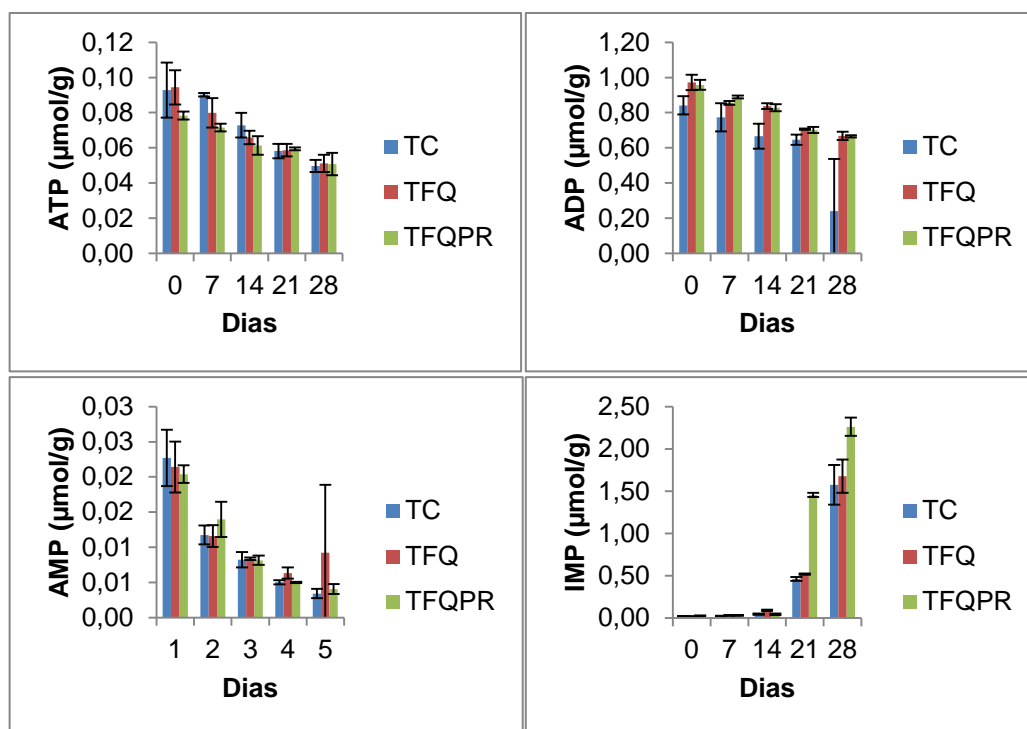


Figura 16. Valores médios e desvio padrão (DP) das concentrações de Adenosina trifosfato (ATP), Adenosina difosfato (ADP), Adenosina monofosfato (AMP) e Inosina monofosfato (IMP) nos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

A taxa de degradação do ATP em seus produtos intermediários e o modo com que isso acontece é dependente de vários fatores, como a espécie, o local do corpo (músculo branco ou escuro), a maturidade dos peixes e até o estresse sofrido durante a captura (HUSS, 1995). A degradação da ATP em IMP é devido principalmente pela ação das enzimas autolíticas presentes nos tecidos musculares dos peixes (GRAM; HUSS, 1996)

Os baixos valores de concentração para a ATP e seus produtos intermediários encontrados neste trabalho é devido a estes nucleotídeos se degradarem rapidamente a IMP dentro de 3 dias *post mortem* (SALLAM, 2007), contudo os peixes começaram a ser analisados com 11 dias *post mortem*, justificando as baixas concentrações encontradas.

A Figura 17 apresenta os valores de concentrações da Inosina e Hipoxantina para todos os tratamentos durante os dias de armazenamento sob refrigeração a $2 \pm 1^\circ\text{C}$.

Analisando a concentração de inosina pôde-se observar que não houve interação significativa entre tratamento e tempo, porém houve efeito de tratamento e tempo. Sendo assim os tratamentos TFQ e TFQPR foram estatisticamente maiores ($p < 0,05$) que o TC. E quanto ao tempo é

possível observar que este tem influência significativa ($p < 0,05$) sobre todos os tratamentos, fazendo com que a concentração de inosina aumente no decorrer dos dias.

Através dos valores de concentração de hipoxantina obtidos foi possível analisar que houve interação significativa entre tratamento e tempo. A concentração de hipoxantina no primeiro dia de armazenamento correspondia a $1,073 \pm 0,01$; $1,094 \pm 0,01$ e $1,086 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/g}$ de amostra para TC, TFQ e TFQPR respectivamente, não havendo diferença significativa entre amostras no dia 0. A partir do dia 21 pôde-se observar a diferença entre as amostras, uma vez que o TFQ e TFQPR foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) do TC, apresentando concentração mais baixa de hipoxantina, mantendo esta concentração até o último dia de armazenamento.

A degradação da IMP em INO e posteriormente a Hx está associada ao crescimento de bactérias. A IMP é associada a aceitabilidade do pescado fresco, já que é um componente influente no sabor do mesmo, enquanto a Hx é um dos principais promotores na modificação do sabor do pescado por apresentar um ligeiro sabor amargo, interferindo diretamente no *off-flavour* (SALLAM, 2007; GRAM; HUSS, 1996).

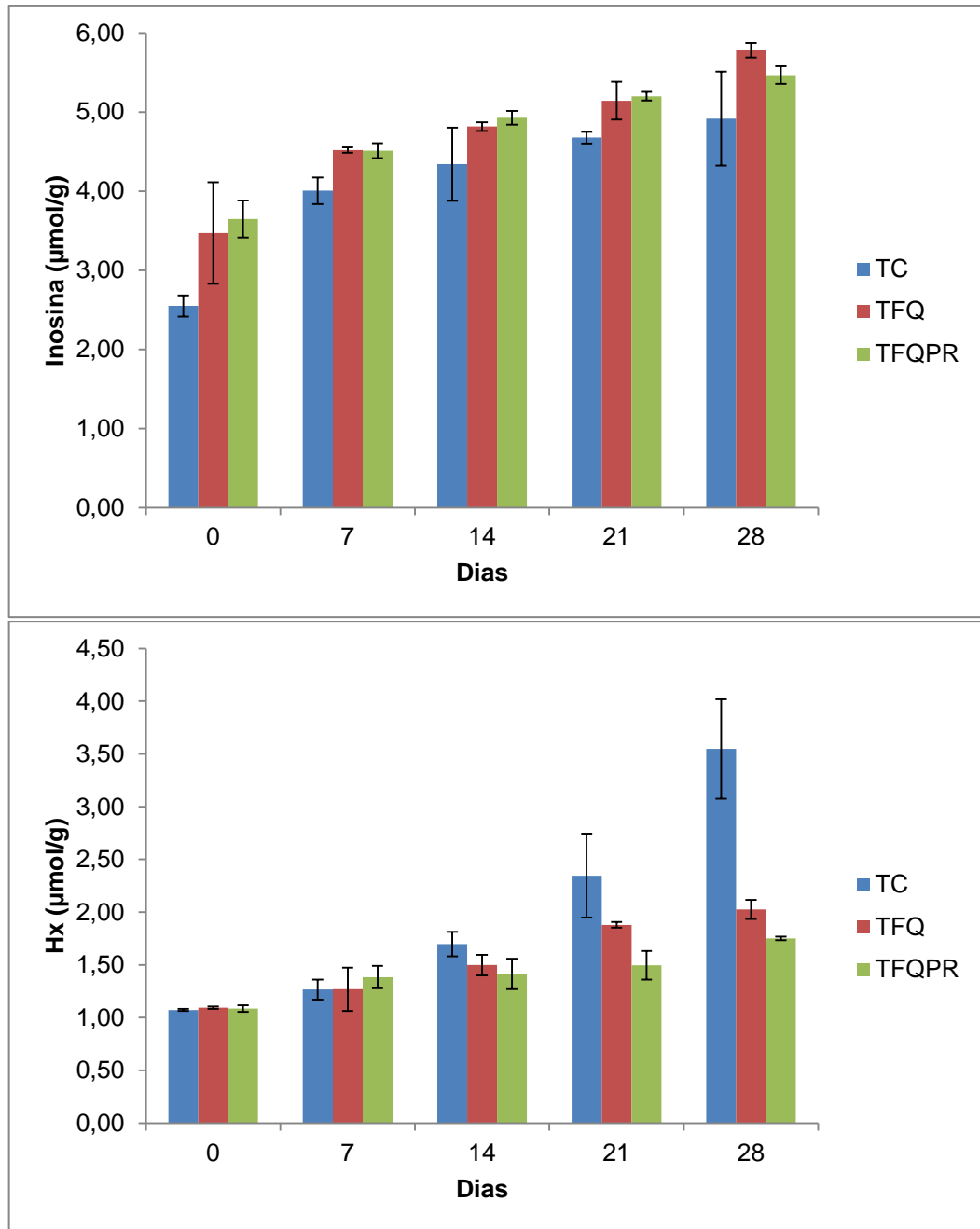


Figura 17. Valores médios e desvio padrão (DP) das concentrações de Inosina (INO) e Hipoxantina (Hx) nos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

A determinação do valor K é um parâmetro utilizado para a avaliação do frescor do pescado, o qual é baseado a partir da determinação da concentração dos compostos resultantes da degradação da adenosina trifosfato (ATP) (NOLLET; TOLDRÁ, 2010).

Segundo Contreras-Guzmán (1994); Ogawa e Maia (1999) há faixas de valor K estabelecidas para que seja possível a determinação de qualidade do mesmo. Valores K abaixo de 5% é recorrente a peixes frescos, ou seja, recém-abatidos e morte sem sofrimento, o aumento do valor K para a faixa de 5 – 20% indica que o peixe ainda encontra-se fresco e pode ser consumido

cru. Ao aumentar o valor para uma faixa de 20 – 60% são indicativos de que o peixe deve ser cozido para consumo e por fim para valores acima de 60% é sinônimo de putrefação.

Analisando os valores K obtidos foi possível ver que houve interação significativa entre tratamento e tempo, tais valores podem ser observados na Figura 18. Analisando o efeito de tempo para todos os tratamentos é perceptível que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) do valor K.

Os valores K (%) para o primeiro dia de armazenamento são $24,484 \pm 0,33$; $21,295 \pm 0,50$ e $19,169 \pm 0,49$ para TC, TFQ e TFQPR, respectivamente. Estes valores diferenciaram-se significativamente entre si ($p < 0,05$). Estas diferenças iniciais no valor K pode ser devido a alterações nos níveis de ATP e a degradação dos compostos durante o armazenamento (LI et al., 2013), uma vez que os peixes começaram a ser analisados com 11 dias *post mortem*.

No 7° e 14° dia de armazenamento os valores K para TFQ e TFQPR foram estatisticamente iguais e menores, diferenciando-se significativamente ($p < 0,05$) do TC. No 21° dia todos os tratamentos foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) e no último dia o TC diferenciou-se significativamente do TFQ e TFQPR, apresentando maior valor K. Sendo assim, o TFQ e TFQPR apresentaram menor valor K devido à ação da quitosana minimizar a atividade da enzima nucleotidase responsável pela decomposição da inosina monofosfato (IMP) (FAN et al., 2009; LI et al., 2012a).

Pelas faixas de valor K anteriormente citadas, no 1° dia de armazenamento somente o TFQPR poderia ser consumido cru, mas ao longo dos dias os valores foram aumentando, porém não ultrapassaram 60%, indicando assim que para todos os tratamentos analisados os filés de Salmão do Atlântico devem passar por cozimento prévio antes de serem consumidos.

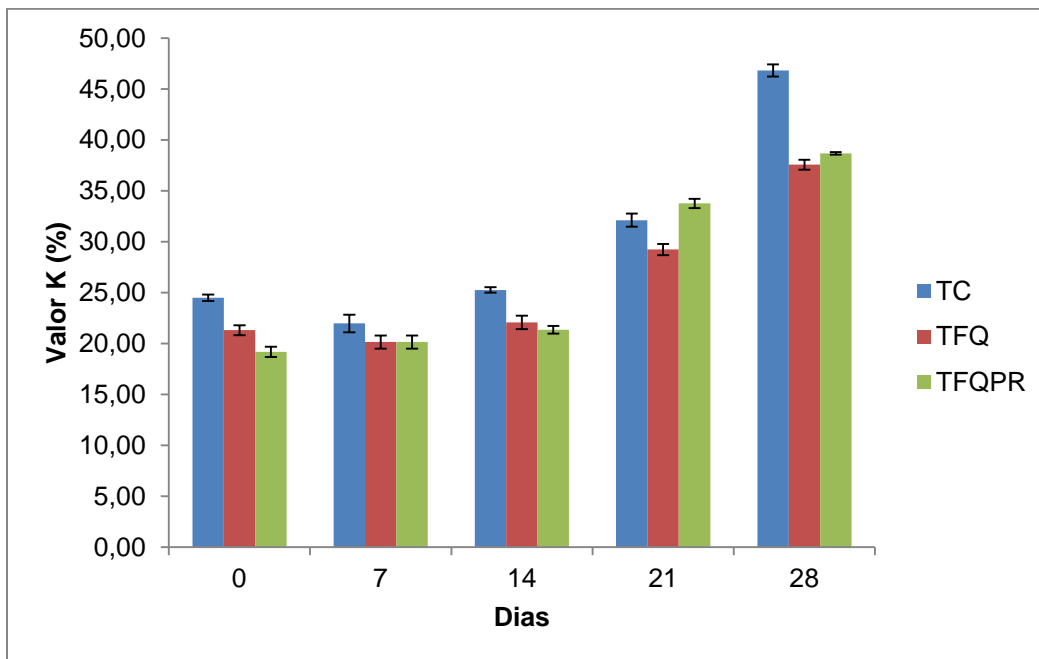


Figura 18. Valores médios e desvio padrão (DP) do Valor K (%) dos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

4.11. Análises microbiológicas

A contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios foi menor para os tratamentos que continham os filmes ativos. O tratamento TFQ (Figura 19) foi o que apresentou menor contagem no último dia de armazenamento, sendo que a contagem mais alta ao final do período de armazenamento foi para o tratamento TC.

Apesar da legislação brasileira (BRASIL, 2001) não possuir padrões para a contagem de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e coliformes termotolerantes para pescado *in natura*, é importante a realização destas análises, devido a estes microrganismos serem indicadores da deterioração e condições higiênico-sanitárias. Segundo a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986) a contagem de mesófilos e psicrotróficos aeróbios não deve exceder 5 log UFC/g de amostra para que o pescado seja considerado de boa qualidade, já a contagem de 6 log UFC/g de amostra representa uma qualidade inferior, porém ainda é considerado aceitável.

Desta maneira, todos os tratamentos no último dia de armazenamento estavam dentro do limite considerado aceitável, sendo o tratamento TFQ considerado de boa qualidade. Nesse sentido, é justificável que a contagem de microrganismos neste tratamento deu-se pela ação sinérgica do CO₂ com os filmes de quitosana, já que CO₂ é considerado um gás eficiente para o controle bacteriostático e quando acompanhado do filme de quitosana apresentaram resultados de eficiente controle de crescimento para este tipo de microrganismo, uma vez que a atividade antimicrobiana da quitosana deve-se aos seus grupos aminos carregados positivamente, sendo que ao interagirem com as membranas bacterianas, as quais são carregadas negativamente podem causar danos irreversíveis a estes, como a perda de compostos intracelulares que constituem o microrganismo (HO; SMITH; SHANAHAN, 1987; KANNAT et al., 2012).

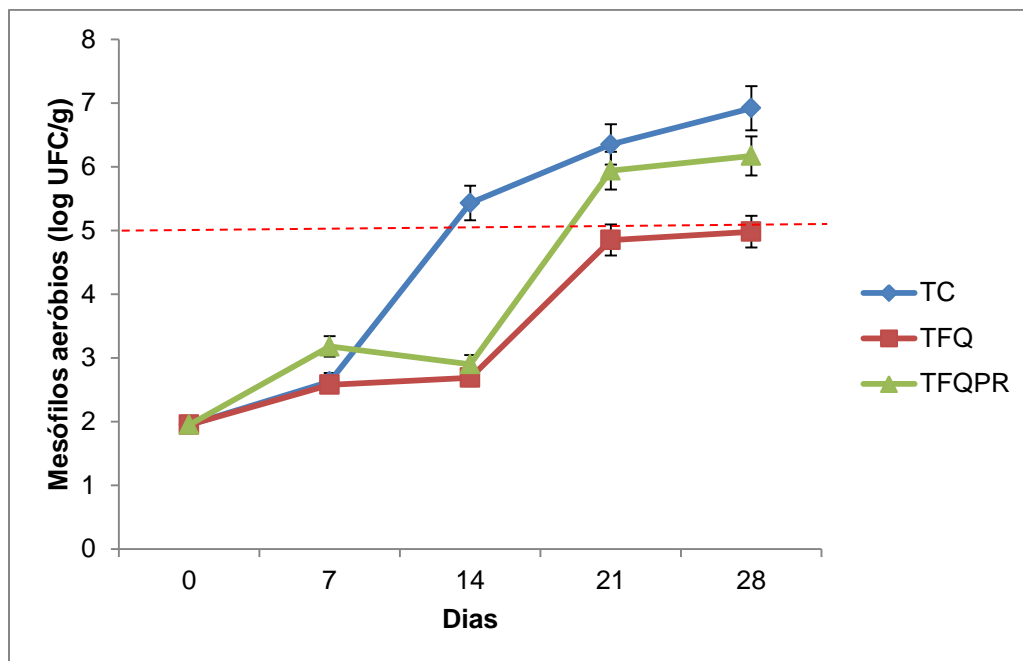


Figura 19. Contagem de mesófilos aeróbios obtidos por meio de um *pool* para cada tratamento dos filés de Salmão (*Salmo salar*) em diferentes dias de armazenamento refrigerado a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ expressos em log UFC/g de amostra, sendo TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa.

Para a contagem dos microrganismos psicrotróficos aeróbios também foi possível observar que os tratamentos TFQ e TFQPR apresentados na Figura 20 foram os que apresentaram menor contagem no último dia de armazenamento em relação ao tratamento TC, estando o tratamento TFQ dentro do limite aceitável preconizado pela *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986). Desta maneira, novamente os tratamentos que continham filme de quitosana tenderam a apresentar melhor resultado, neste caso a adição do extrato do resíduo agroindustrial de pimenta rosa no filme não potencializou o efeito do mesmo. Estudos realizados com filme de quitosana para o revestimento em peixe foram realizados. Fan et al. (2009) ao estudarem o efeito do revestimento de quitosana sobre a qualidade e vida útil da carpa prateada durante o armazenamento congelado, observaram que os peixes recobertos com filme de quitosana estenderam a vida útil para 30 dias em relação aos 25 dias da amostra controle. Sendo assim, os melhores resultados obtidos para as amostras que continham os filmes de quitosana deve-se ao efeito inibitório da mesma sobre as bactérias deteriorantes.

Apesar do tratamento que continha filme de quitosana com adição do extrato do resíduo agroindustrial de pimenta rosa não apresentar melhoria em relação ao que continha somente filme de quitosana quanto à contagem de microrganismos mesófilos e psicrotróficos, vários trabalhos têm relatado a eficiência da incorporação de antioxidantes naturais em filmes de quitosana no prolongamento da vida útil do pescado. O trabalho realizado por Chaparro-Hernández et al. (2015) reportaram que filmes de quitosana com carvacrol apresentaram ser mais eficientes na redução de microrganismos deteriorantes como os mesófilos em filés de tilápia.

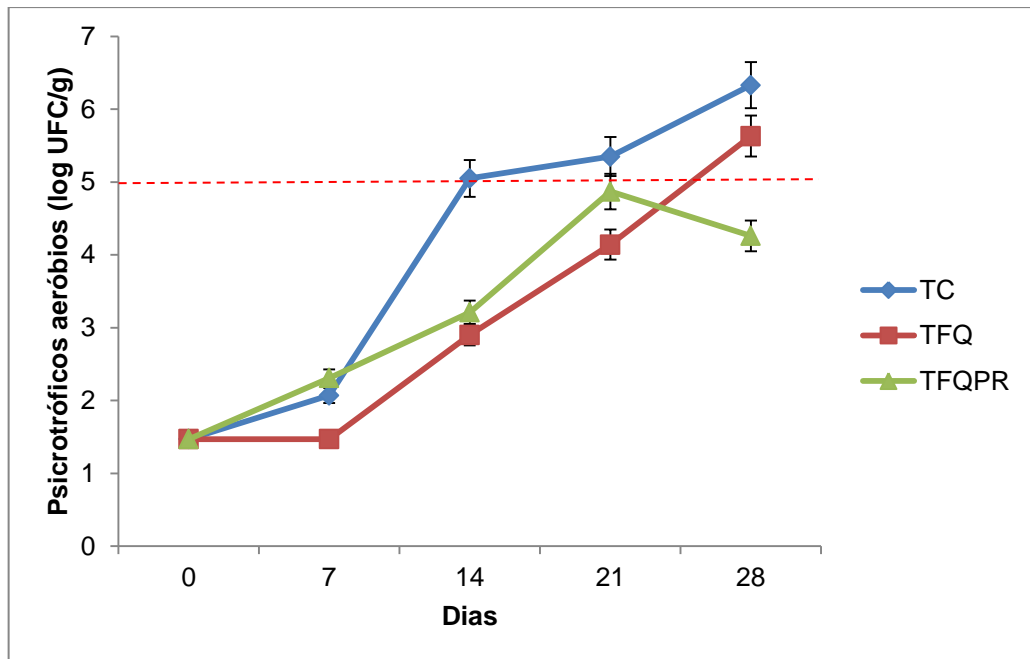


Figura 20. Contagem de psicrotrofos aeróbios obtidos por meio de um *pool* para cada tratamento dos filés de Salmão (*Salmo salar*) em diferentes dias de armazenamento refrigerado a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ expressos em log UFC/g de amostra, sendo TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa.

A Figura 21 apresenta o aumento de bactérias lácticas ao longo do armazenamento para todos os tratamentos, sendo que no último dia de armazenamento os tratamentos com filmes de quitosana e quitosana com extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa apresentaram contagem inferior ao tratamento controle. O aumento no crescimento de bactérias lácticas pode ser devido à alta concentração de CO_2 utilizado, uma vez que Finne (1982) relata que as bactérias lácticas tem seu crescimento incentivado pela presença de CO_2 e níveis baixos de O_2 .

Este aumento de bactérias lácticas no presente estudo pode ser comparado com o trabalho desenvolvido por Ordóñez et al. (2000), já que os mesmos também encontraram um aumento na contagem de bactérias lácticas durante o armazenamento em atmosferas enriquecidas com CO_2 . Hansen et al. (2009) também observou o crescimento de bactérias lácticas em embalagens com altas taxas de CO_2 ao longo do armazenamento refrigerado (4°C) durante 25 dias de armazenamento. O aumento destas bactérias pode ocorrer devido às bactérias Gram-positivas não serem sensíveis ao CO_2 , o que é o caso das bactérias lácticas. Apesar disso, tal aumento no crescimento destas bactérias não prejudicou a vida útil dos filés de salmão, uma vez que Sawaya et al. (2005) em seus estudos comprovam que mesmo em número elevado de bactérias lácticas, as mesmas não influenciam na deterioração.

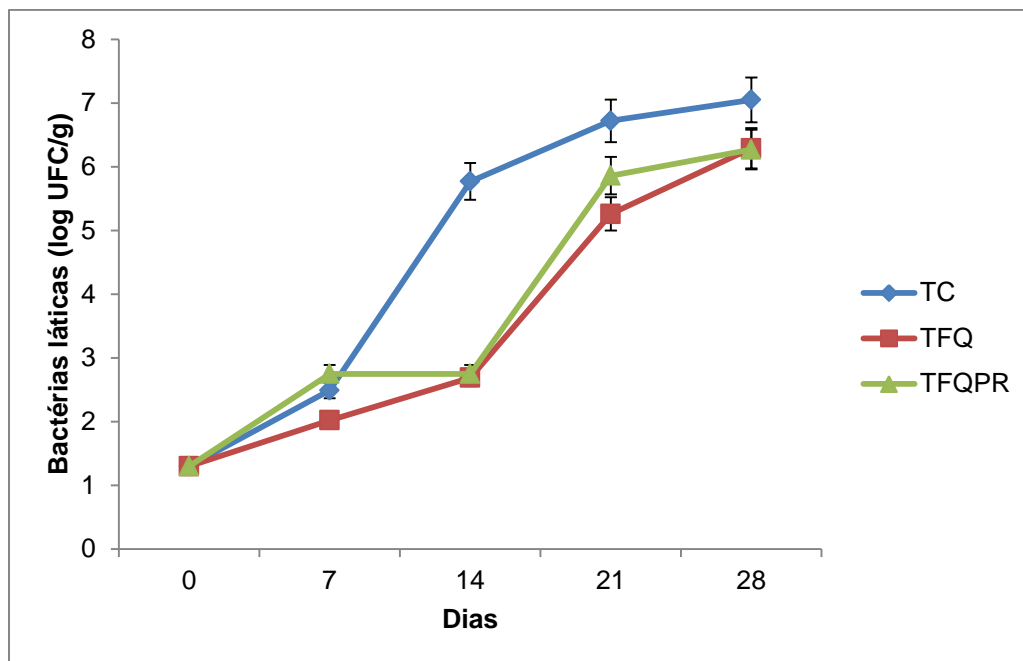


Figura 21. Contagem de bactérias lácticas obtidas por meio de um *pool* para cada tratamento dos filés de Salmão (*Salmo salar*) em diferentes dias de armazenamento refrigerado a 2 ± 1 °C expressos em log UFC/g de amostra, sendo TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa.

A contagem de coliformes totais e termotolerantes realizados para todos os tratamentos no início do experimento não ultrapassaram a contagem de 3 NMP/g de amostra, sendo esta contagem uma constante ao longo de todo o armazenamento. A legislação brasileira (BRASIL, 2001), não preconiza limites de coliformes totais e termotolerantes para pescados *in natura*, porém a *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1986) estabelece o padrão para a avaliação de coliformes termotolerantes de no máximo 10^{-3} NMP/g de amostra.

A avaliação deste tipo de microrganismo é de grande importância uma vez que estes fornecem informações sobre possíveis contaminações de origem fecal, a presença de patógenos e até mesmo o estado de deterioração do produto. Além disso, o crescimento destes microrganismos também fornece informações de como foram as condições de manipulação do produto, ou seja, adequadas ou inadequadas, e até mesmo o processo de armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Desta maneira, devido a contagem de coliformes totais e termotolerantes serem extremamente baixos desde o início (0 dia de armazenamento) do experimento até o final (28 dia de armazenamento) é possível confirmar que as condições de manipulação, processamento e armazenamento foram adequadas durante todo o processo até o final do experimento.

4.12. Análise sensorial

A avaliação sensorial é uma das ferramentas mais utilizadas para determinar o frescor do pescado e está diretamente relacionado com os padrões de aceitação adotados pelo consumidor. O

odor e a cor do Salmão do Atlântico são atributos críticos na avaliação sensorial, parâmetros responsáveis pela rejeição e determinação da vida útil.

O pescado fresco apresenta características sensoriais próprias, como odor e sabor que remetem a algas marinhas, doce e delicado, a coloração é dependente da espécie, porém é uniforme e brilhante. Dado o início da deterioração há o aparecimento de odores ácidos e sulfúricos, bem como o sabor amargo e ácido, tais alterações indesejáveis são causadas por microrganismos (HUSS, 1995).

A Figura 22 mostra a evolução do odor e cor; e a diminuição dos valores de aparência global durante o armazenamento refrigerado a $2 \pm 1^\circ\text{C}$, levando em consideração as escalas atribuídas para cada atributo. Estatisticamente não houve diferença significativa entre os tratamentos analisados, porém houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre tratamento e tempo.

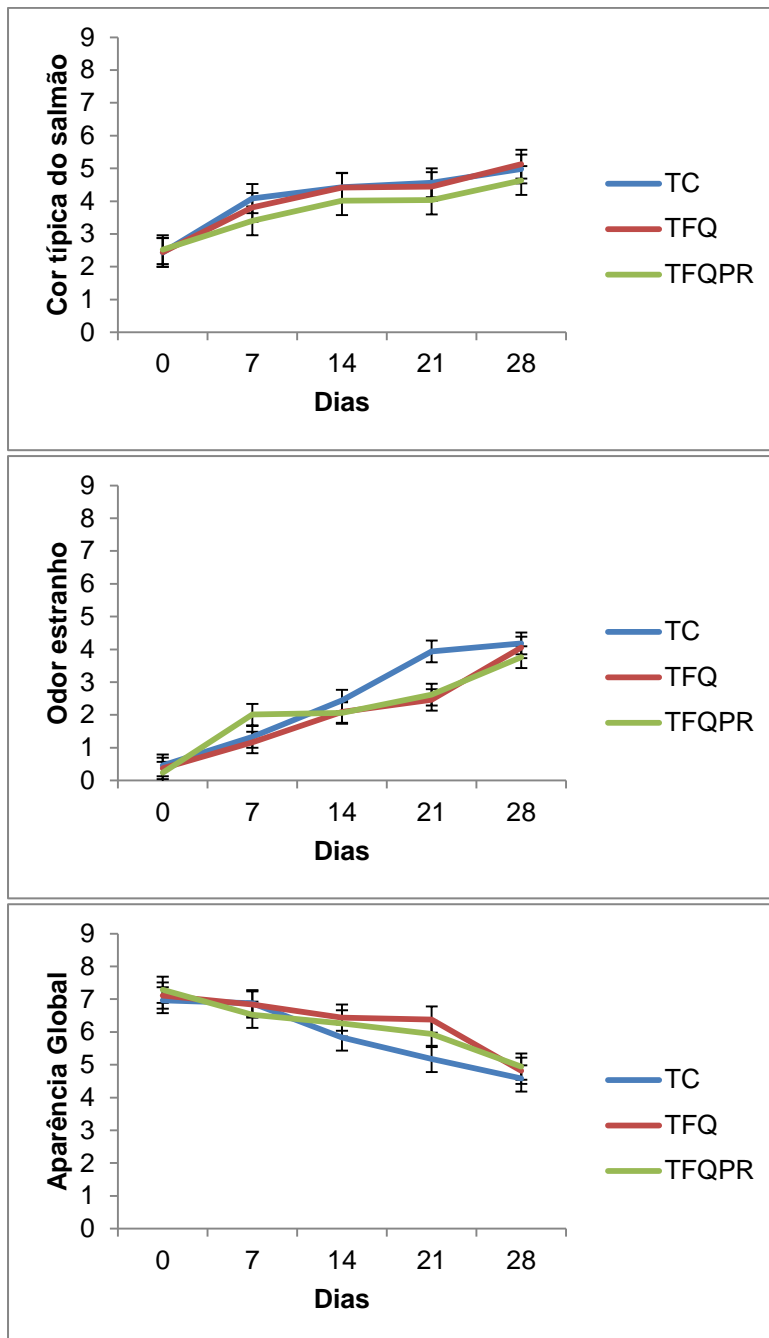


Figura 22. Valores médios e desvio padrão (DP) da análise sensorial de cor (claro a escuro), odor estranho (nenhum a forte) e aparência global (muitíssimo desagradável a muitíssimo agradável) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR = 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

A cor típica dos filés de salmão varia de laranja-avermelhado a laranja claro e é uma propriedade muito importante e muito apreciada pelos consumidores e deve estar uniformemente distribuída ao longo do filé.

Os provadores habituados em avaliar produtos de origem animal foram capazes de detectar a alteração de cor ao longo do armazenamento, indicando a descoloração das amostras submetidas aos diferentes tratamentos analisados, observado na análise instrumental de cor.

O alto teor de gordura nos salmonídeos cultivados causa diluição da astaxantina e interfere na percepção da cor. A cor é consideravelmente mais pálida em regiões com elevado teor de gordura, tal como a aba do ventre em comparação com, por exemplo, tecidos musculares acima da linha lateral. Isso ocorre porque a gordura não é distribuída uniformemente ao longo do filé (TOLASA; CAKLI; OSTERMEYER, 2005).

A tonalidade da cor depende dos teores de astaxantina e cantaxantina na carne, os quais são afetados pela composição alimentar e regimes de alimentação antes do abate (NICKELL; SPRINGATE, 2001). Na pigmentação do salmão do Atlântico cultivado em cativeiro, a cantaxantina tem sido amplamente utilizada e, em alguns casos, 100% do pigmento alimentício provém dessa fonte. Os níveis de alimentação de pigmento variam de um produtor de peixe para outro, dependendo dos regulamentos técnicos do mercado pretendido e dos regimes de alimentação projetados pelo produtor. Estes regimes de alimentação são concebidos para alcançar a cor típica com o menor custo possível sem incorrer em riscos de sub-pigmentação.

Quanto ao atributo odor desagradável, os provadores indicaram que houve o aumento deste atributo para todos os tratamentos, porém não indicaram o odor de ranço, mas sim de odores ácidos e levemente amoníaco a partir do 21º dia de armazenamento. Isto é decorrente do desenvolvimento de bactérias lácticas e aumento do valor de trimetilamina (TMA) ao longo do armazenamento. Hansen et al. (2009) também indicou o aumento do odor amoníaco e ácido em salmão do atlântico embalado em atmosfera modificada com alto teor de CO₂ após 15 dias de armazenamento refrigerado.

O atributo de aparência global visou analisar de forma geral os filés de salmão do atlântico submetidos aos diferentes tratamentos durante os dias de armazenamento. Analisando as respostas obtidas pôde-se observar que todos os tratamentos no último dia de armazenamento apresentaram altos valores de aparência global, mesmo com a perda de exsudado, descoloração e a leve presença de odores a aparência global das amostras foram agradáveis.

5. CONCLUSÕES

A vida útil dos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) em atmosfera modificada armazenados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ totalizou 38 dias, incluindo os 10 dias *post mortem* mais 28 dias de armazenamento, independente do uso de filmes ativos (quitosana ou quitosana adicionado do extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa).

A qualidade dos filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) embalados com atmosfera modificada (100% CO_2) foi significativamente maior com o uso de filmes ativos, quando comparado com o tratamento controle (sem uso dos filmes ativos), sendo comprovado através das análises físico-químicas e microbiológicas.

Houve efeito positivo da incorporação de antioxidantes e/ou antimicrobianos naturais em combinação com a tecnologia de atmosfera modificada sobre a qualidade de produtos altamente perecíveis como o pescado.

Considerando o aumento do consumo de salmão cru em restaurantes, esse resultado poderá ser útil em estudos futuros e aplicações comerciais.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, M.; MOTARJEMI, Y. **Organização Mundial da Saúde: Segurança básica dos alimentos para profissionais de saúde**. São Paulo: Roca, 2002, 51 p.
- ALDAI, N.; OSORO, K.; BARRÓN, L.J.R.; NÁJERA, A.I. Gas-liquid chromatographic method for analysing complex mixtures of fatty acids including conjugated linoleic acids (*cis9trans11* and *trans10cis12* isomers) and long-chain (n-3 or n-6) polyunsaturated fatty acids Application to the intramuscular fat of beef meat. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1110, p. 133-139, 2006.
- AL-DUAIS, M.; MÜLLER, L.; BÖHM, V.; JETSCHKE, G. Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before and after processing: use of different assays. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 228, p. 813-821, 2009.
- AMORIM, M.M.R.; SANTOS, L.C. Tratamento de vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 25, p. 95-102, 2003.
- ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.
- ARAB-TEHRANY, E.; JACQUOT, M.; GAIANI, C.; IMRAN, M.; DESOBRY, S.; LINDER, M. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 25, n.1, p. 24-33, 2012.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 5. ed. Viçosa: UFV-MG, 2011.601 p.
- BABIC, J.; MILIJASEVIC, M.; VRANIC, D.; VESKOVIC-MORACANIN, S.; DJINOVIC-STOJANOVIC, J. Effect of modified atmosphere packaging on the shelf-life of common carp (*Cyprinus carpio*) steaks. **Procedia Food Science**, Londres, v. 5, p. 2-5, 2015.
- BERGAMACHI, K.B. **Capacidade antioxidante e composição química de resíduos vegetais visando seu aproveitamento**. 2010. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- BERTOLDI, M.C. **Atividade antioxidante in vitro da fração fenólica, das oleorresinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius Raddi*)**. 2006. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- BJØRLYKKE, G.A.; ROTH, B.; SØRHEIM, O.; KVAMME, B.O.; SLINDE, E. The effects of carbon monoxide on Atlantic salmon (*Salmo salar*, L). **Food Chemistry**, Londres, v. 127, n. 4, p. 1706-1711, 2011.
- BOURNE, M.C. **Food texture and viscosity: concept and measurement**. 2 ed. Academic Press: Londres, 2002. 416 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Lei nº 30691, de 29 de Março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1997a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Portaria nº 185, de 13 de Maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1997b.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes: sal e salmoura. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 1999.

BRASIL. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Teórico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasil, nº 7, p. 46-53, 2001.

BURNS, G.B.; KEE, P.J.; IRVINE, B.B. Objective procedure for fish freshness evaluation based on nucleotide changes using a HPLC system. **Canadian Technical Reports of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 1373, p. 35, 1985.

CARVALHO, M.C.R.D., BARCA, F.N.T.V., AGNEZ-LIMA, L.F., MEDEIROS, S.R.B. Evaluation of mutagenic activity in extract of pepper tree skin bark (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Environmental and Molecular Mutagenesis**, Nova York, v. 42, p. 185-191, 2003.

CATANEO, C.B.; CALLARI, V.; GONZAGA, L.V.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, 2008.

CHANDÍA, L. Salmão chileno: exemplo de produção e exportação de qualidade. **Revista Tuvrheiland**, v. nov-dez, n. 22, 2010. Disponível em: <http://tuvbrasil.com.br/newsletter/TUV-Conexao_nov-dez_2010-pt.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2015.

CHAPARRO-HERNÁNDEZ, S.; RUÍZ-CRUZ, S.; MÁRQUEZ-RÍOS, E.; OCAÑO-HIGUERA, V.M.; VALENZUELA-LÓPEZ, C.C.; ORNELAS-PAZ, J.J.; DEL-TORO-SÁNCHEZ, C.L. Effect of chitosan-carvacrol edible coatings on the quality and shelf life of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets stored in ice. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 35, n. 4, p. 734-741, 2015.

CHÉRET, R.; CHAPLEAU, N.; DELBARRE-LADRAT, C.; VERREZ-BAGNIS, V.; LAMBALLERIE, M.D. Effects of high pressure on texture and microstructure of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 70, n. 8, p. 477-483, 2006.

COMA, V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**, Barking, v. 78, p. 90-103, 2008.

CONTRERAS-GUZMÁN, E.S. **Bioquímica de pescados e derivados**. Jaboticabal: Funesp, 1994. 409 p.

CORRALES, M.; FERNÁNDEZ, A.; HAN, J.H. Antimicrobial Packaging Systems. In: HAN, J.H. (Ed). **Innovations in Food Packaging**, 2014, p. 133-170.

COUSIN, M.A.; JAY, J.M.; VASAVADA, P.C. Psychrotrophic microorganisms. In: DOWNES, F.P.; ITO, K (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. chap 13, p. 159-166.

CUNHA, F.L.; MONTEIRO, M.L.G.; JÚNIOR, C.A.C.; LA TOREE, C.A.L.; SANTOS, E.B.; VITAL, H de C.; MÁRSICO, E.T.; MANO, S. Determinação e monitoramento de aminas biogênicas por cromatografia líquida de alta eficiência em filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 3, p. 275-282, 2013.

DALGAARD, P. Qualitative and quantitative characterization of spoilage bacteria from packed fish. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 26, p. 319-333, 1995.

DAVEY, M.W., MONTAGU, M.V; INZÉ, D.; SANMARTIN, M.; KANELIS, A.; SMIRNOFF, N.; BENZIE, I.J.J.; STRAIN, J.J.; FAVELL, D.; FLETCHER, J. Plant L-ascorbic acid: chemistry function metabolism bioavailability and effects of processing. **Journal of the Science Food and Agriculture**, Londres, v. 80, n. 7, p. 825-860, 2000.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

EIDE, O.; BØRRESEN, T.; STRØM, O. Minced fish production from capelin (*Mallotus villosus*). A new method for gutting, skinning and removal of fat from fatty species. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 47, p. 347-349, 1982.

ERDOGDU, F.; BALABAN, M.O. Thermal processing effects on the textural attributes of previously frozen shrimp. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, Nova York, v. 9, p. 67-84, 2000.

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**, Champaign, v. 73, n. 2, 2008.

ESTEVEZ, M.; VENTANAS, S.; CAVA, R. Oxidation of lipids and protein in frankfurters with different fatty acid compositions and tocopherol and phenolic contents. **Food Chemistry**, Londres, v. 100, p. 55-63, 2007.

FAI, A.E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L.M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, Bilbao, v. 9, n. 5, p. 435-451, 2008.

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

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2014.

FINNE, G. Modified and controlled-atmosphere storage of muscle foods. **Food Technology**, Chicago, v. 36, n. 2, p. 128-133, 1982.

FLETCHER, G.C.; SUMMERS, G.; CORRIGAN, V.; CUMARASAMY, S.; DUFOUR, J.P. Spoilage of King Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Fillets Stored Under Different Atmospheres. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 67, n. 6, p. 2362-2374, 2002.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 226, n.1, p. 497-509, 1957.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 196 p.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LACEY, A.L.; LÓPEZ-CABALLERO, M.E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M.C.; MONTERO, P. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, Londres, v. 27, n. 7, p. 889-896, 2010.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 33, p. 121-137, 1996.

GRENADIOS, A.; HANNA, M.A.; KURTH, L.B. Application of edible coatings on meat, poultry and seafoods: a review. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v. 30, p. 337-350, 1997.

GUEDES, W.; MÁRSICO, E.T.; SILVA, L.P.; ALMEIDA FILHO, E.S.; FREITAS, M.Q.; MANO, S. Effect of modified atmosphere packing on tuna-fish (*Thunnus albacares*) loin conservation. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 13, n. 2, p. 89-93, 2006.

GUILBERT, S.; CUQ, B.; GONTARD, N. Recent innovations in edible film and/or biodegradable packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, Londres, v. 14, n. 6, p. 741-751, 1997.

HALL, P.A.; LEDENBACH, L.; FLOWERS, R.S. **Acid-producing microorganisms**. In: DOWNES, F. P.; ITO, K (Ed.). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. chap 19, p. 201-207.

HALLIER, A.; CHEVALLIER, S.; SEROT, T.; PROST, C. Influence of farming conditions on colour and texture of European catfish (*Silurus glanis*) flesh. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 87, p. 814-823, 2007.

HANSEN, A.D.; MORKORE, T.; RUDI, K.; RODBOTTEN, M.; BJERKE, F.; EIE, T. Quality changes of prerigor filleted Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) packaged in modified atmosphere using CO₂ emitter, traditional MAP, and vacuum. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 74, n. 6, p. 242-249, 2009.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, Londres, v. 22, n. 6, p. 475-476, 1973.

HO, C.S.; SMITH, M.D.; SHANAHAN, J.F. Carbon dioxide transfer in biochemical reactors. **Advances in Biochemical Engineering**, Nova York, v. 35, p. 83-125, 1987.

HOSSEINI, S.F.H.; REZAEI, M.; ZANDI, M.; FARAHMANDGHAVI, F. Development of bioactive fish gelatin/chitosan nanoparticles composite films with antimicrobial properties. **Food Chemistry**, Londres, v. 194, p. 1266-1274, 2016.

HOWGATE, P. A Critical Review of Total Volatile Bases and Trimethylamine as Indices of Freshness of Fish. Part 1: Determination. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, West Sussex, v. 9, n. 1, p. 29-57, 2010.

HUSS, H.H. **Quality and Quality Changes in Fresh Fish**. Roma: FAO Fisheries technical paper (FAO), 1995. 195 p.

HUTCHINGS, J.B. **Chemistry of food colour**. In: *Food Colour and appearance*. Cambridge: Blackie Academic & Professional, 1994. chap 10, p. 401-410.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). **Microorganisms in Foods**. Sampling for microbiological analysis: Principles and specific applications. 2 ed. London: Blackwell Scientific Publications, 1986. p.127-278.

ISO. International Organization for Standardization. **Sensory Analysis - - General Guidance for the Selection, Training and Monitoring of Assessors. ISO 8586**. Netherlands: International Organization for Standardization, 1993.

JAKOBSEN, M.; JESPERSEN, L.; JUNCHER, D.; BECKER, E.M.; RISBO, J. Oxygen- and light-barrier properties of thermoformed packaging materials used for modified atmosphere packaging. Evaluation of performance under realistic storage conditions. **Packaging Technology and Science**, Chichester, v.18, p. 265-272, 2005.

JONSSON, A.; SIGURGISLADOTTIR, H.; HAFTEINSSON, H.; KRISTBERGSSON, K. Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets measured by different methods in comparison to expressible moisture. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 7, p. 81-89, 2001.

JÚNIOR, M.A.G.; JORGE, M.B.; CORTEZ-VEJA, W.R.; PIZATO, S.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Quality attributes of Cobia (*Rachycentran Canadum*) fillets chilled and package in modified atmospheres. **Journal Food Processing & Technology**, v. 6, n. 5, 2015.

KANNAT, S.R.; RAO, M.S.; CHAWLA, S.P.; SHARMA, A. Active chitosan-polyvinyl alcohol films with natural extracts. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 29, p. 290-297, 2012.

KORNACKI, J.L.; JOHNSON, J.L. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWNES, F. P.; ITO, K (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. chap 8, p. 69-82.

KOSSEVA, M.R. Management and processing of food wastes. In: MOO-YOUNG, M. (Ed.). **Comprehensive biotechnology, environmental biotechnology and safety**. 2th ed. Amsterdam: Elsevier, 2011. chap. 6, p. 557- 593.

KOSTAKI, M.; GIATRAKOU, V.; SAVVAIDIS, I.N.; KONTOMINAS, M.G. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. **Food Microbiology**, Londres, v. 26, p. 475-482, 2009.

KOUSOULAKI, K.; ØSTBYE, T-K. K.; KRASNOV, A.; TORGERSEN, J.S.; MØRKØRE, T.; SWEETMAN, J. Microalgae feed for future omega-3 rich farmed fish: Fish Metabolism, Health and Fillet nutritional quality. **Journal of Nutritional Science**, Cambridge, v. 4, n. 24, p.1-13, 2015.

LAKSHMANAN, R.; PARKINSON, J.A.; PIGGOTT, J.R. High-pressure processing and water-holding capacity of fresh and cold-smoked salmon (*Salmo salar*). **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v.40, p.544-551, 2007.

LENZI, M.; ORTH, A.I. Caracterização funcional do sistema reprodutivo da aroeiravermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 198-201, 2004.

LI, T.T.; LI, J.R.; HU, W.Z.; ZHANG, X.G.; LI, X.P.; ZHAO, J. Shelf-life extension on crucian carp (*Carassius auratus*) using natural preservatives during chilled storage. **Food Chemistry**, Londres, v. 135, p. 140–145, 2012a.

LI, T.T.; HU, W.Z.; LI, J.R.; ZHANG, X.G.; ZHU, J.L.; LI, X.P. Coating effects of tea polyphenol and rosemary extract combined with chitosan on the storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). **Food Control**, Guildford, v. 25, p. 101-106, 2012b.

LI, T.; LI, J.; HU, W.; LI, X. Quality enhancement in refrigerated red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives. **Food Chemistry**, Londres, v. 138, p. 821-826, 2013.

LOPES, M.M.; MÁRSICO, E.T.; SOBREIRO, L.G.; SILVA, L.P.; CONTE-JÚNIOR, C.A.; PARDI, H.S.; MANO, S.B. Effect of modified atmosphere packaging in sardine (*Sardinella brasiliensis*) Preservation. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 99, p. 207-210, 2004.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2. ed. São Paulo: **Plantarum**, 2008. 244 p.

MACÉ, S.; CORNET, J.; CHEVALIER, F.; CARDINAL, M.; PILET, M.F.; DOUSSET, X.; JOFFRAUD, J.J. Characterisation of the spoilage microbiota in raw salmon (*Salmo salar*) steaks stored under vacuum or modified atmosphere packaging combining conventional methods and PCR–TTGE. **Food microbiology**, Londres, v. 30, p. 164-172, 2012.

MAJETI, N.; KUMAR, R. A review: chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, Amsterdam, v. 46, n. 1, p. 1- 27, 2000.

MAKRIS, D.P.; Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v.20, p.125-132, 2007.

MALACRIDA, C.R.; ANGELO, P.M.; ANDREO, D.; JORGE, N. Composição química e potencial antioxidante de extratos de sementes de melão amarelo em óleo de soja. **Revista Ciência Agrônômica**, Ceará, v. 38, n. 4, p. 372-376, 2007.

MARTIN, R.E.; CARTER, E.P.; FLICK, G.J.; DAVIS, L.M. **Marine & Freshwater Products Handbook**. USA: Technomic Publishing Company, 2000. 913 p.

MARTÍNEZ-TOMÉ, M.; JIMÉNEZ, A.M.; RUGGIERI, S.; FREGA, N.; STRABBIOLI, R.; MURCIA, M.A. Antioxidant Properties of Mediterranean Spices Compared with Common Food Additives. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 9, p. 1412-1419, 2001.

MASNIYOM, P.; BENJAKUL, S.; VISESSONGUAN, W. Shelf-life extension of refrigerated seabass slices under modified atmosphere packaging. **Journal of the Science of Food Agriculture**, Londres, v. 82, p. 873-880, 2002.

MCMILLIN, K.W. Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. **Meat Science**, Barking, v. 80, n. 1, p. 43-65, 2008.

MERTZ, C.; GANCEL, A-L.; GUNATA, Z.; ALTER, P.; DHUIQUE-MAYER, C.; VAILLANT, F.; PEREZ, A.M.; RUALUES, J.; BRAT, P. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 22, p. 381-387, 2009.

MISIMI, E.; MATHIASSEN, J.R.; ERIKSON, U. Computer visionbased sorting of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets according to their color level. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 71, n. 1, p. 30-35, 2007.

MOHAN, C.O.; RAVISHANKAR, C.N.; LALITHA, K.V.; SRINIVASA GOPAL, T.K. Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 26, p. 167-174, 2012.

MORTON, R.D. Aerobic plate count. In: DOWNES, F. P.; ITO, K (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. chap 7, p. 63-67.

MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMINGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H.; NÚÑEZ, M.J.; PARAJÓ, J.C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, Londres, v. 72, p. 145-171, 2000.

NAVEENA, B.M.; SEN, A.R.; VAITHIYANATHAN, S.; BABJI, Y.; KONDAIAH, N. Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder extract and BHT as antioxidants in cooked chicken patties. **Meat Science**, Barking, v. 80, p. 1304-1308, 2008.

NICKELL, D.C.; SPRINGATE, J.R.C. **Pigmentation of farmed salmonids**. In: Kestin, S.C.; Warriss, P.D. (Eds.). *Fish Farmed Quality*. Oxford: Blackwell Science, 2001. p. 58-75.

NICOLI, M.C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 94-100, 1999.

NOLLET, L.M.L.; TOLDRÁ, F. **Handbook of seafood and seafood products analysis**. Boca Raton: CRC Press – Taylor & Francis Group, 2010. 910 p.

OGAWA, M.; MAIA, E. **Manual de pesca: ciência e tecnologia do pescado**. São Paulo: Varela, 1999. 430 p.

ÓLAFSDÓTTIR, G.; MARTINSDÓTTIR, E.; OEHLENSCHLÄGER, J.; DALGAARD, P.; JENSEN, B.; UNDELAND, I.; MACKIE, I.M.; HENEHEN, G.; NIELSEN, J.; NILSEN, H. Methods to evaluate fish freshness in research and industry. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 8, p. 258-265, 1997.

OLSSON, G.B.; OLSEN, R.L.; OFSTAD, R. Post-mortem structural characteristics and water-holding capacity in Atlantic halibut muscle. **LWT – Food Science and Technology**, Londres, v.36, n.1, p. 125-133, 2003.

ORDÓÑEZ, J.A.; LÓPEZ-GÁLVEZ, D.E.; FERNÁNDEZ, M.; HIERRO, E.; DE LA HOZ, L. Microbial and physicochemical modifications of hake (*Merluccius merluccius*) steaks stored under carbon dioxide enriched atmospheres. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v. 80, p. 1831-1840, 2000.

ORDÓÑEZ, J.A. **Tecnología de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294 p.

ORNELAS-PAZ, J.J.; MARTÍNEZ-BURROLA, J.M.; RUIZ-CRUZ, S.; SANTANA-RODRÍGUEZ, V.; IBARRA-JUNQUEIRA, V.; OLIVAS, G.I.; PÉREZ-MARTÍNEZ, J.D. Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers. **Food Chemistry**, Londres, v. 119, p. 1619-1625, 2010.

OSTERLIE, M.; BJERKENG, B.; KARLSEN, H.; STORRA, H.M. Influence of Added Astaxanthin Level and Color on Flavor of Pastes of Rainbow Trout. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, Nova York, v.10, n.4, p. 65-76, 2001.

OTTESTAD, S.; SØRHEIM, O.; HEIA, K.; WOLD, J.P. Effects of Storage Atmosphere and Heme State on the Color and Visible Reflectance Spectra of Salmon (*Salmo salar*) Fillets. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 14, p. 7825-7831, 2011.

OZOGUL, Y.; OZOGUL, F. Effects of slaughtering methods on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) stored in ice and MAP. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 219, n. 3, p. 211-216, 2004.

PARK, S.Y.; MARSH, K.S.; RHIM, J.W. Characteristics of Different Molecular Weight Chitosan Films Affected by the Type of Organic Solvents. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 67, n. 1, 2002.

PEARCE, K.L.; ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H.J.; HOPKINS, D.L. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. **Meat Science**, Barking, v. 89, n. 2, p. 111-124, 2011.

PETTERSEN, M.K.; GÄLLSTEDT, M.; EIE, T. Oxygen Barrier Properties of Thermoformed Trays Manufactured with Different Drawing Methods and Drawing Depths. **Packaging Technology and Science**, Chichester, v. 17, p. 43-52, 2004.

POWELL, S.M; RATKOWSKY, D.A; TAMPLIN, M.L. Predictive model for the growth of spoilage bacteria on modified atmosphere packaged Atlantic salmon produced in Australia. **Food Microbiology**, Londres, v. 47, p.111-115, 2015.

R CORE TEAM. **R:A** language and environmental for statistical computing. Vienna, Austria:R foundation.

RHODES, M.J.C. Physiologically-active compounds in plant food: an overview. **Proceedings of the Nutrition Society**, Londres, v. 55, n. 1B, p. 371-384, 1996.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Carotenóides e saúde: Temas atuais. In: Mercadante, A.Z.; Bobbio, F.O.; Bobbio, P.A.; Pereira, J.L.; Pastore, G.M. (Ed.). **Ciência de Alimentos - Avanços e Perspectivas**. Campinas: Unicamp, 2001. chap. 58. p. 216-222.

RUFF, N.; FITZGERALD, R.D.; CROSS, T.F.; LYNCH, A.; KERRY, J.P. Distribution of α -tocopherol in fillets of turbot (*Scophthalmus maximus*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), following dietary α -tocopheryl acetate supplementation. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 10, p. 75-81, 2004.

RUIZ-CAPILLAS, C.; MORAL, A. Free amino acids in muscle of Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) in controlled and modified atmospheres during chilled storage. **Food Chemistry**, Londres, v. 86, p. 85-91, 2004.

SAITO, T.; ARAI, K.; MATSUYOSHI, M. A new method for estimating the freshness of fish. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 24, p. 749-750, 1959.

SALÁN, E.O.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. Use of Smoking to Add Value to the Salmoned Trout. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 1, p. 57-62, 2006.

SALDAÑA, E.; BEHRENS, J.H.; SERRANO, J.S.; RIBEIRO, F.; ALMEIDA, M.A.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J. Microstructure, texture profile and descriptive analysis of texture for traditional and light mortadela. **Food Structure**, Chicago, v. 6, p. 13-20, 2015.

SALLAM, K.I. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. **Food Chemistry**, Londres, v. 101, n.2, p. 592-600, 2007.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; CHÁFER, M.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 82, p. 277-283, 2010.

SANTANA, M.C.C.B.; MACHADO, B.A.S.; SILVA, T.N.; NUNES, I.L.; DRUZIAN, J.I. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 3, p. 544-550, 2013.

SANTOS, O.J.; BARROS-FILHO, A.K.; MALAFAIA, O.; RIBAS-FILHO, J. M.; SANTOS, R.H.; SANTOS, R.A. *Schinus terebinthifolius raddi (anacardiaceae)* in the healing process of gastrorrhaphy in rats. **ABCD: Brazilian Archives of Digestive Surgery**, São Paulo, v. 25, n. 3. p. 140-146, 2012.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; OLIVEIRA, L.M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.E.C. Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades. **Campinas: CETEA/ITAL**, 2002. 267 p.

SATHIVEL, S. Chitosan and Protein Coatings Affect Yield, Moisture Loss, and Lipid Oxidation of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) Fillets During Frozen Storage. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 70, n. 8, p. 2005.

SAWAYA, W.; ELNAWAWY, A.S.; AL-ZENKI, S.; AL-OTAIBI, J.; AL-OMIRAH, H.; AL-AMIRI, H. Storage Stability of Chicken as Affected by Map and Lactic Acid Treatment. **Journal of Food Science**, Champaign, v. 60, n. 3, p. 611-614, 2005.

SELANI, M.M.; SHIRADO, G.A.N.; MARGIOTTA, G.B.; SALDAÑA, E.; SPADA, F.P.; PIEDADE, S.M.S.; CONTRERAS-CASTILLO, C.J.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Effects of pineapple byproduct and canola oil as fat replacers on physicochemical and sensory qualities of low-fat beef burger. **Meat Science**, Barking, v. 112, p. 69-76, 2016.

SERRANO-LEÓN, J.S. **Caracterização química e estabilidade oxidativa de produto reestruturado de frango sob a ação de embalagem ativa adicionada de extratos de resíduos agroindustriais**. 2015. 129 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

SHAHID, F.; RUBIN, L.J.; WOOD, D.F. Control of lipid oxidation in cooked ground pork with antioxidants and dinitrosyl ferrohemochrome. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, p. 584-587, 1987.

SHARIFIAN, S.; ALIZADEH, E.; MORTAZAVI, M.S.; MOGHADAM, M.S. Effects of refrigerated storage on the microstructure and quality of Grouper (*Epinephelus coioides*) fillets. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v.51, n.5, p.929-935, 2014.

SIGURGISLADOTTIR, S.; HAFSTEINSSON, H.; JONSSON, A.; LIE, Ø.; NORTVEDT, R.; THOMASSEN, M.; TORRISSEN, O. Textural Properties of Raw Salmon Fillets as Related to Sampling Method. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 64, p. 99-104, 1999.

SIRIPATRAWAN, U.; NOIPHA, S. Active film from chitosan incorporating green tea extract for shelf life extension of pork sausages. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 27, p. 102-108, 2012.

SIVERTSVIK, J.T.; JEKSRUD, W.K.; ROSNES, J.T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 37, p. 107-127, 2002.

SIVERTSVIK, J.T.; ROSNES, J.T.; KLEIBERG, G.H. Effect of modified atmosphere packaging and superchilled storage on the microbial and sensory quality of atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 68, n.4, p.1467-1472, 2003.

SORENSEN, G.; JORGENSEN, S.S. A critical examination of some experimental variables in the 2-hiobarbituric acid (TBA) test for lipid oxidation in meat products. **Zeitschrift fur Lebensmittel Untersuchung und-Forschung**, Berlin, v. 202, n. 3, p. 205-210, 1996.

SUÁREZ, M.; ABAD, M.; RUIZ-CARA, T.; ESTRADA, J.; GARCÍA-GALLEGO, M. Changes in muscle collagen content during post mortem storage of farmedsea bream (*Sparus aurata*): influence on textural properties. **Aquaculture International**, Dordrecht, v. 13, n. 4, p. 315-325, 2005.

TABATA, Y.A.; RIGOLINO, M.G.; TSUKAMOTO, R.Y.; TAKAHASHI, N.S. Incubação de ovos de salmão do atlântico (*salmo salar*) landlocked em sistema de recirculação de água. **Pesquisa & Tecnologia**, Campinas, v. 8, n. 2, 2011.

TEODORO, A.J.; ANDRADE, E.C.B.; MANO, S.B. Evaluation of the use of modified atmosphere packaging in sardine (*Sardinella brasiliensis*) preservation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 158-161, 2007.

TOLASA, S.; CAKLI, S.; OSTERMEYER, U. Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 221, n. 6, p. 787-791, 2005.

TORRIERI, E.; CARLINO, P.A.; CAVELLA, S.; FOGLIANO, V.; ATTIANESE, I.; BUONOCORE, G.G.; MAIS, P. Effect of modified atmosphere and active packaging on the shelf-life of fresh Bluefin tuna fillets. **Journal of Food Engineering**, Essex, v.105, p.429-435, 2011.

VEISETH-KENT, E.; HILDRUM, J.I.; OFSTAD, R.; RØRÅ, A.M.B.; LEA, P.; RØDBOTTEN, M. The effect of postmortem processing treatments on quality attributes of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) measured by sensory and instrumental methods. **Food Chemistry**, Londres, v. 121, p. 275-281, 2010.

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**, Londres, v. 79, p. 1737-1746, 1999.

VELU, S.; ABU BAKAR, F.; MAHYUDIN, N.A.; SAARI, N.; ZAMAN, M.Z. Effect of modified atmosphere packaging on microbial flora changes in fishery products. **International Food Research Journal**, Serdang, v. 20, n. 1, p. 17-26, 2013.

VIEIRA, R.H.S.F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática**. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 380 p.

VIJI, P.; TANUJA, S.; GEORGE, N.Z.A.A.; LATITHA, K.V. Quality Characteristics and Shelf Life of Sutchi Cat Fish (*Pangasianodon Hypophthalmus*) Steaks During Refrigerated Storage. **International Journal of Agriculture and Food Science Technology**, Besel, v. 5, n. 2, p. 105-116, 2014.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbitric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fatte Seifen Anstrichmittel**, Leinfelden-Echterdingen, v. 72, p. 1084-1087, 1970.

VYNCKE, W. Evaluation of direct thiobarbituric acid extraction method for determining oxidative rancidity in mackerel (*Scomber scombrus* L.). **Fatte Seifen Anstrichmittel**, Leinfelden-Echterdingen, v. 77, n. 6, p. 239-240, 1975.

WANASUNDARA, U.N.; SHAHID, F. Antioxidant and pro-oxi-dant activity of green tea extracts in marine oils. **Food Chemistry**, Londres, v. 63, p. 335-342, 1998.

WANG, T.; SVEINSDOOTTIR, K.; MAGNÚSSON, H.; MARTINSDOOTTIR, E. Combined application of modified atmosphere packaging and superchilled storage to extend the shelf life of fresh cod (*Gadus morhua*) loins. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 1, p. 11-19, 2008.

WORANUCH, S.; YOKSANA, R.; AKASHI, M. Ferulic acid-coupled chitosan: thermal stability and utilization as an antioxidant for biodegradable active packaging film. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.115, p. 744-751, 2015.

YOSHIDA, C.M.P.; OLIVEIRA JUNIOR, E.N.; FRANCO, T.T. Chitosan tailor-made films: the effects of additives on barrier and mechanical properties. **Packaging Technology and Science**, Londres, v. 22, n. 3, p. 161-170, 2009.

ZHONG, Y.; SONG, X.; LI, Y. Antimicrobial, physical and mechanical properties of kudzu starch–chitosan composite films as a function of acid solvent types. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 84, p.335-342,2011.

ANEXO A. Valores médios e desvio padrão (DP) de pH de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionadas a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo (dias)	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
pH	0	6,24 \pm 0,04 ^{ab}	6,22 \pm 0,05 ^{ab}	6,23 \pm 0,02 ^{ab}
	7	5,68 \pm 0,10 ^{cE}	6,08 \pm 0,05 ^{aC}	5,94 \pm 0,05 ^{bD}
	14	6,02 \pm 0,08 ^{aC}	5,86 \pm 0,02 ^{bD}	6,06 \pm 0,03 ^{aC}
	21	6,48 \pm 0,08 ^{aA}	6,41 \pm 0,03 ^{abA}	6,36 \pm 0,11 ^{bA}
	28	5,87 \pm 0,02 ^{bD}	5,88 \pm 0,05 ^{bD}	5,99 \pm 0,03 ^{aCD}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO B. Valores médios e desvio padrão (DP) da Luminosidade de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo (dias)	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
Luminosidade	0	48,73 \pm 0,53 ^{bE}	49,87 \pm 0,58 ^{aD}	50,13 \pm 0,44 ^{aE}
	7	50,82 \pm 0,60 ^{bD}	50,63 \pm 0,87 ^{bD}	51,71 \pm 0,50 ^{aD}
	14	53,91 \pm 0,34 ^{bC}	52,04 \pm 0,43 ^{cC}	54,83 \pm 0,59 ^{aC}
	21	56,03 \pm 0,61 ^{bB}	55,27 \pm 0,41 ^{cB}	58,96 \pm 0,47 ^{aB}
	28	63,90 \pm 0,47 ^{aA}	61,92 \pm 0,37 ^{bA}	61,56 \pm 0,26 ^{bA}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO C. Valores médios e desvio padrão (DP) do valor a^* de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo (dias)	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
a^*	0	18,31 \pm 0,39 ^{aA}	15,50 \pm 0,50 ^{bA}	15,51 \pm 0,37 ^{bA}
	7	15,06 \pm 0,54 ^{abB}	14,66 \pm 0,40 ^{bB}	15,47 \pm 0,48 ^{aA}
	14	13,24 \pm 0,57 ^{bC}	14,08 \pm 0,40 ^{aB}	12,72 \pm 0,49 ^{bB}
	21	12,94 \pm 0,59 ^{aC}	12,13 \pm 0,56 ^{bD}	11,78 \pm 0,51 ^{bC}
	28	11,31 \pm 0,41 ^{bD}	12,96 \pm 0,40 ^{aC}	12,94 \pm 0,34 ^{aB}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO D. Valores médios e desvio padrão (DP) do valor b^* de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo (dias)	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
b^*	0	20,56 \pm 0,51 ^{aC}	20,70 \pm 0,53 ^{aD}	19,68 \pm 0,46 ^{bE}
	7	20,29 \pm 0,61 ^{bC}	20,89 \pm 0,77 ^{aD}	20,80 \pm 0,46 ^{abD}
	14	22,84 \pm 0,59 ^{aB}	21,89 \pm 0,54 ^{bC}	21,81 \pm 0,40 ^{bC}
	21	24,82 \pm 0,63 ^{aA}	23,96 \pm 0,37 ^{bB}	23,92 \pm 0,30 ^{bB}
	28	25,37 \pm 0,55 ^{bA}	24,87 \pm 0,49 ^{bA}	26,96 \pm 0,57 ^{aA}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO E. Valores médios e desvio padrão (DP) da capacidade de retenção de água (CRA) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo (dias)	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
CRA	0	74,14 ± 0,39 ^{CA}	76,14 ± 0,52 ^{BA}	77,11 ± 0,59 ^{AA}
	7	72,53 ± 0,24 ^{BB}	75,01 ± 0,54 ^{AB}	72,85 ± 0,58 ^{BB}
	14	70,17 ± 0,54 ^{BC}	72,27 ± 0,31 ^{AC}	70,26 ± 0,50 ^{BC}
	21	67,72 ± 0,34 ^{BD}	69,91 ± 0,59 ^{AD}	66,88 ± 0,44 ^{CD}
	28	56,67 ± 0,30 ^{CE}	64,93 ± 0,38 ^{AE}	64,30 ± 0,41 ^{BE}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO F. Valores médios e desvio padrão (DP) de Bases Voláteis Totais (BVT) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo (dias)	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
BVT	0	29,76 ± 0,50 ^{AD}	27,67 ± 0,87 ^{CD}	29,05 ± 0,68 ^{BC}
	7	31,23 ± 0,45 ^{AC}	28,88 ± 0,64 ^{BC}	30,55 ± 0,27 ^{AB}
	14	31,35 ± 0,28 ^{AC}	30,45 ± 0,79 ^{BB}	30,70 ± 0,36 ^{abB}
	21	32,65 ± 0,53 ^{AB}	30,75 ± 0,77 ^{BB}	31,05 ± 0,68 ^{BB}
	28	34,72 ± 0,57 ^{AA}	32,62 ± 0,70 ^{BA}	32,19 ± 0,61 ^{BA}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO G. Valores médios e desvio padrão (DP) de Trimetilamina (TMA) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo (dias)	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
TMA	0	3,76 ± 0,33 ^{bD}	4,31 ± 0,39 ^{aC}	3,46 ± 0,33 ^{bC}
	7	4,64 ± 0,31 ^{aC}	4,58 ± 0,31 ^{aC}	4,51 ± 0,30 ^{aB}
	14	5,76 ± 0,27 ^{bB}	6,66 ± 0,37 ^{aB}	6,40 ± 0,18 ^{aA}
	21	6,95 ± 0,38 ^{aA}	7,13 ± 0,11 ^{aA}	6,58 ± 0,22 ^{bA}
	28	7,18 ± 0,14 ^{aA}	7,19 ± 0,18 ^{aA}	6,61 ± 0,16 ^{bA}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO H. Valores médios e desvio padrão (DP) da estabilidade oxidativa (TBA) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO₂; TFQ = 100% CO₂ com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO₂ com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Variável	Tempo	TRATAMENTOS		
		TC	TFQ	TFQPR
TBARS	0	0,213 ± 0,00 ^{aB}	0,214 ± 0,00 ^{aB}	0,216 ± 0,00 ^{aB}
	7	0,218 ± 0,00 ^{aB}	0,219 ± 0,00 ^{aB}	0,219 ± 0,00 ^{aB}
	14	0,222 ± 0,00 ^{aB}	0,222 ± 0,00 ^{aB}	0,222 ± 0,00 ^{aB}
	21	0,221 ± 0,00 ^{aB}	0,222 ± 0,00 ^{aB}	0,223 ± 0,00 ^{aB}
	28	0,309 ± 0,02 ^{aA}	0,284 ± 0,01 ^{bA}	0,278 ± 0,00 ^{bA}

Diferentes letras maiúsculas indicam diferenças significativas entre o tempo de armazenamento (coluna), enquanto diferentes letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos testados (linha), usando teste de Tukey ($p < 0,05$).

ANEXO I. Perfil dos principais ácidos graxos (%) de filés de Salmão do Atlântico (*Salmo salar*) acondicionados a $2 \pm 1^\circ\text{C}$ em diferentes tratamentos (TC = 100% CO_2 ; TFQ = 100% CO_2 com filmes de quitosana; TFQPR= 100% CO_2 com filmes de quitosana adicionados de extrato de resíduo agroindustrial de pimenta rosa)

Ácidos graxos	Dia 0		Dia 28	
	TC	TC	TFQ	TFQPR
C14:0	2,13	2,015	1,99	2,111
C16:0	12,513	12,527	12,295	12,496
C18:0	3,27	3,661	3,529	3,494
Total saturados^a	18,937	19,495	19,091	19,259
C18:1 n-9	32,749	33,35	34,094	33,538
C24:1	0,2	0,264	0,234	0,23
Total monoinsaturados^b	48,537	47,904	48,453	47,125
C20:4 n-6	0,753	0,884	0,89	0,848
C18:3 n-6	0,153	0,116	0,118	0,208
C20:3 n-6	0,142	0,189	0,193	0,164
Total n-6	1,048	1,189	1,201	1,22
C18:3 n-3	3,343	3,512	3,381	3,673
C20:3 n-3	0,186	0,245	0,280	0,170
C20:5 n-3	2,414	2,715	2,608	2,536
C22:6 n-3	5,251	4,897	4,627	4,881
Total n-3	11,194	11,369	10,896	11,26
C18:2 n-9 n-12	16,431	15,742	16,155	17,040
Total PUFA^c	30,326	30,637	30,235	31,434
n6/n3	0,094	0,104	0,110	0,108

^a inclui: C8:0; C10:0; C11:0; C12:0; C13:0 iso; C13:0; C14:0 iso; C15:0 iso; C15:0 anteiso; C15:0; C16:0 iso; C17:0 iso; C17:0; C20:0; C21:0; C22:0; C24:0.

^b inclui: C10:1; C12:1; C14:1 n-9; C16:1 n-9; C17:1; C18:1 trans; C18:1 n-11; C18:1 n-12; C18:1 n-13; C18:1 n-16; C18:1 n-15; C20:1; C 22:1 n-9.

^c inclui: C20:2; C22:2; C22:5.