

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO**

**USO DE REVESTIMENTO EDÍVEL DE ALGINATO DE SÓDIO
INCORPORADO COM PRÓPOLIS VERDE NA CONSERVAÇÃO DE
FILÉS DE TAMBAQUI REFRIGERADOS**

ALEXSANDRA IARLEN CABRAL CRUZ

**CRUZ DAS ALMAS - BAHIA
AGOSTO- 2019**

**USO DE REVESTIMENTO EDÍVEL DE ALGINATO DE SÓDIO
INCORPORADO COM PRÓPOLIS VERDE NA CONSERVAÇÃO DE
FILÉS DE TAMBAQUI REFRIGERADOS**

ALEXSANDRA IARLEN CABRAL CRUZ

Tecnóloga em alimentos

Instituto Federal do Maranhão, 2017

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Microbiologia Agrícola.

Orientadora: Dra. Norma Suely Evangelista-Barreto

Coorientadora: Dra. Floricéa Magalhães Araújo

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

AGOSTO – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

C957u

Cruz, Alexsandra Iarlen Cabral.

Uso de revestimento edível de alginato de sódio incorporado com própolis verde na conservação de filés de tambaqui refrigerados / Alexsandra Iarlen Cabral Cruz. Cruz das Almas, BA, 2019.
85f.; il.

Orientadora: Norma Suely Evangelista-Barreto.

Coorientadora: Floricéa Magalhães Araújo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas.

1.Pescados – Alimentos. 2.Pescados – Própolis – Extrato. 3.Conservantes de alimentos – Análise.
I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 664.94028

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas – UFRB.

Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário – CRB5 / 1615).

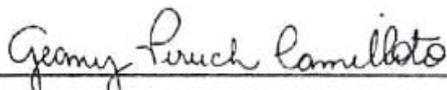
Os dados para catalogação foram enviados pela usuária via formulário eletrônico.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA
CURSO DE MESTRADO

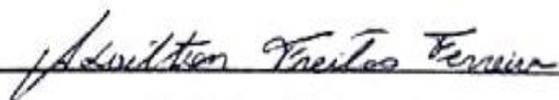
COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ALEXSANDRA IARLEN CABRAL CRUZ



Prof^ª. Dra. Norma Suely Evangelista-Barreto
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
(Orientadora)



Prof^ª. Dra. Geany Peruch Camilloto
Universidade Estadual de Feira de Santana



Prof^º. Dr. Adailton Freitas Ferreira
Falculdade de Tecnologia e Ciência

Dissertação homologada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em
Microbiologia Agrícola em _____ conferindo o grau de Mestre
em Microbiologia Agrícola em _____.”

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha base: meus pais Rossana Cabral e Francisco da Cruz, por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida, não somente por todo incentivo e apoio, mas acima de tudo por me proporcionarem o amor incondicional, ao meu irmão, Adriano Ítalo, por todo apoio durante essa jornada e por me incentivar a lutar e a nunca desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que em sua enorme generosidade me concedeu bençãos, dando-me saúde e força mental e física para a realização deste trabalho.

À minha mãe Rossana Cabral, pelo exemplo de dedicação, força, honestidade e principalmente pelos conselhos, apoio, amor e carinho que sempre me foram destinados durante toda a minha existência.

Ao meu pai Francisco Cruz e ao meu irmão Adriano Ítalo que são homens incríveis e estão sempre ao meu lado, me apoiando, aconselhando, protegendo e incentivando.

À toda minha família, em especial as minhas tias, Rosilene Cabral, Rosane Cabral, Rosângela Cabral, Raquel Cabral e as minhas avós Maria Cruz e Maria Mônica, pelo incentivo, confiança e apoio. Vocês são minhas fontes de exemplo e inspiração!

À minha orientadora, Prof^a Dra. Norma Suely Evangelista-Barreto pela paciência, comprometimento, disponibilidade, atenção, orientação e por todo o conhecimento transmitido que me proporcionou concluir com êxito este trabalho.

A minha coorientadora, Prof^a Dra. Floricéa Magalhães Araújo, pelo conhecimento compartilhado, por sua disponibilidade, pela sua paciência e por suas importantes contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

À querida, Dra. Mariza Alves Ferreira, por sua disponibilidade, paciência, atenção, conhecimento compartilhado, além do seu carinho e sua amizade! Muito Grata!

À Dra. Aline Simões, pela sua disponibilidade, pela ajuda, por todas as contribuições ao trabalho e pelo carinho e amizade.

Ao professor João Albany, pela ajuda concedida que contribuiu a finalização deste trabalho.

Ao técnico do laboratório de química, Fabricio Mendes, pela colaboração e ajuda ao longo de todo o desenvolvimento desse estudo.

As minhas queridas amigas, Jessica de Cássia, Aline Passos, Gabriela Rocirene, Amanda Brito que sempre estiveram presente com seu apoio, incentivo, carinho e amizade.

Á minha amiga e irmã, Milena Costa pela jornada compartilhada, pelos momentos tristes e felizes, pelo seu incentivo, cuidado, carinho, apoio, pelas nossas conversas, pelos ensinamentos, por ter aberto as portas da sua casa para mim e por ter compartilhado a sua linda família comigo. Meu muito obrigada minha amiga! Levarei sua amizade para a vida toda!

Á toda a família Costa, em especial, á Jaciara da Cruz, Clodoaldo Mota e Gustavo Santana por terem me recebido tão bem na casa de vocês, pelo carinho, cuidado e paciência que apresentaram por mim durante todo esse período. Sou muito grata a cada um de vocês!

Aos meus colegas de pesquisa, Jessica Mafra e Tiago Sampaio pelas experiências trocadas, conhecimento compartilhado e pelo auxílio na execução do trabalho.

A todo o grupo LABMAA, em especial, á Aline Ribeiro, Evenlly, Lara, Renata, Catarine e Vitória, por toda ajuda concedida. Vocês contribuíram muito para o desenvolvimento deste trabalho.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia-UFRB pela oportunidade de cursar essa pós-graduação.

Á Capes pelo apoio ao desenvolvimento desse trabalho.

Meu muito obrigada a todos!

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABTS** - Radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
- AC** - Aceitação
- AR** - Aroma
- AS** - Alginato de sódio
- AV** - Análise visual
- BHA** - Hidroxianisol butilado
- BHT** – Butil hidroxi tolueno
- BAM**- Bacteriological Analytical Manual
- CBM** – Concentração Bactericida Mínima
- CIM** – Concentração Inibitória Mínima
- CLSI** – National Committee for Clinical Laboratory Standard
- CP** - Componentes principais
- CR** - Cor
- DPPH** - Radical (2,2-Diphenyl-picrilhidrazil)
- DVA** - Doenças Veiculadas por Alimentos
- EAG** - Equivalentes de ácido gálico
- EPV** - Extrato de própolis verde
- EC₅₀** – Concentração eficiente
- g** – Grama
- h** – Horas
- ICMSF** - International Commission Microbiological Specifications for Foods
- IC** - Intenção de compra
- Log** - Logarítimo
- MDA**- malonaldeído
- mg/mL** – Miligrama /mililitro
- mL** – Mililitro
- Na₂CO₃** – Carbonato de sódio
- N-BVT** – Bases voláteis totais
- NEPA** – Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura
- Nm** - Nanômetro
- °C** – Graus Celsius

pH – Potencial hidrogeniônico

PR - Preferência -

rpm – Rotação por minuto

SB - Sabor -

TBARS - Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TX - Textura -

TCA - Ácido tricloroacético

TCLE - Termo de Consentimento Livre Esclarecido

UFC – Unidade Formadora de Colônia

μL – microlitro

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2	Página
Tabela 1. Resultados da triagem química do extrato de própolis verde.	64
Tabela 2. Teor de flavonoides e fenóis e atividade antioxidante do extrato de própolis	64
Tabela 3. Atividade antimicrobiana do extrato de própolis verde frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas.	66

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1	Página
Figura 1. Produção da aquicultura brasileira em 2017 por espécie, em percentual do total produzido.	23
Figura 2. <i>Apis mellifera</i> coletando resinas de <i>Baccharis dracunculifolia</i> para produção de própolis verde no Brasil.	38
Capítulo 2	
Figura 1. Contagem de bactérias psicotróficas em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidos com AS+EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.	68
Figura 2. Valor de pH em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidos com AS+ EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.	69
Figura 3. Percentual de umidade em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidos por AS+EPV (T1) e durante 30 dias de armazenamento a 4°C.	70
Figura 4. Valor de N-BVT em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidas com AS+EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.	71
Figura 5. Valor de TBARS em MDA eq.kg ⁻¹ de filé de tambaqui sem revestimento (C) e revestido com AS+EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.	72

Figura 6. Distribuição das cargas fatoriais dos atributos da análise sensorial dos filés de tambaqui revestidos com AS+ EPV. 73

Figura 7. Percentual de aceitação (A) e intenção de compra (B) dos filés de Tambaqui revestidos com AS+EPV. 74

ÍNDICE

RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	16
OBJETIVOS	18
OBJETIVO GERAL	18
OBJETIVOS ESPECIFICOS	18
Capítulo 1	
Aplicação de revestimento edível contendo compostos bioativos com ação antimicrobiana e antioxidante	19
RESUMO	20
ABSTRACT	21
1. Produção e consumo de peixe no Brasil	22
2. Tambaqui	23
3. Deterioração do pescado	24
3.1. Deterioração microbiana	25
3.2. Oxidação lipídica	28
4. Técnicas de conservação de alimentos	29
5. Revestimentos edíveis em alimentos	30
6. Antioxidantes sintéticos	33
7. Antioxidantes naturais	34
8. Antimicrobianos naturais	35
9. Própolis verde	37
REFERÊNCIAS	40
Capítulo 2	54
Respostas físico-químicas, microbiológicas e sensorial do revestimento em bicamada de alginato de sódio incorporado com própolis verde em filés de tambaqui em estocagem refrigerada	
Resumo	56

Abstract	56
1. Introdução	56
2. Material e métodos	59
2.1. Obtenção do extrato	59
2.2. Triagem fitoquímica do extrato	59
2.3. Determinação do teor de fenóis e flavonoides totais	59
2.4. Ensaio de sequestro de radicais DPPH e ABTS+	60
2.5. Atividade antibacteriana do extrato de própolis verde	60
2.6. Preparação da solução de revestimento	61
2.7. Preparação e revestimento dos files de tabaquis	61
2.8. Análises microbiológicas	62
2.9. Análises físico-químicas	62
2.9.1. pH e umidade	62
2.9.2. Bases voláteis totais (N-BVT)	62
2.9.3. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	62
2.10. Análise sensorial	63
2.11. Análises estatísticas	63
3. Resultados e discussão	63
3.1. Atividade antioxidante do extrato de Própolis verde	63
3.2. Atividade antibacteriana do extrato de própolis verde	66
3.3. Avaliação dos filés de tabaqui revestidos com alginato de sódio e extrato de própolis verde	67
3.3.1. Avaliação microbiológica	67
3.3.2. pH	68
3.3.3. Umidade	69
3.3.4. Bases voláteis totais (N-BVT)	70
3.3.5. Oxidação lipídica	71
3.3.6. Avaliação sensorial	72
4. Conclusão	74
5. Agradecimentos	75
6. Referências	75
CONSIDERAÇÕES FINAIS	86

RESUMO

CRUZ, A. I. C. **Uso de revestimento edível de alginato de sódio incorporado com própolis verde na conservação de filés de tambaqui refrigerados**

O presente estudo teve por objetivo verificar a atividade antioxidante e antibacteriana do extrato de própolis verde e avaliar a eficiência do revestimento de alginato de sódio incorporado com própolis verde sobre a qualidade físico-química, microbiológica e aceitação sensorial de filés de tambaqui (*Colossoma macropomum*) refrigerados. Na primeira etapa foi avaliado a atividade antimicrobiana do extrato de própolis verde (EPV) frente as bactérias *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* ATCC43300 e *Listeria monocytogenes* CERELA, a atividade antioxidante (DPPH e ABTS), triagem fitoquímica e quantificação de fenóis totais e flavonoides. Na segunda etapa foi verificado a eficiência do revestimento edível de alginato de sódio + EPV (25 mg mL⁻¹) em filés de tambaqui mantidos sob refrigeração durante 30 dias e realizadas análises microbiológicas (contagem de psicotróficos e coliformes a 45°C) e físico-químicas (pH, umidade, bases voláteis totais e oxidação lipídica). Também foi realizado teste de aceitação sensorial dos filés revestidos. O EPV apresentou concentração inibitória mínima - CIM variando de 0,18 a 12,5 mg mL⁻¹, atividade antioxidante (ABTS 724,05 ± 0,04 e DPPH 4,30 ± 0,11) com presença de taninos, esteroides, saponina e alcaloide, fenóis (39,40 ± 0,19) e flavonoides (7,29 ± 0,11). O revestimento inibiu o crescimento de coliformes a 45°C nos filés e manteve a contagem de psicotróficos (7,0 log UFC g⁻¹) por 15 dias, aumentando a vida útil dos filés em 11 dias, quando comparado ao controle (4 dias). Para os parâmetros pH, bases voláteis e oxidação lipídica, o revestimento aumentou a vida útil dos filés de tambaqui entre 7 e 9 dias. O revestimento também foi eficaz na redução de perda de umidade ao longo do armazenamento. Os filés revestidos obtiveram alto índice de aceitação (67%) e intenção de compra (69%). Como conclusão o revestimento com alginato de sódio e própolis verde aumenta a vida útil de filés de tambaqui mantidos sob refrigeração de 7 a 11 dias.

Palavras-chave: pescado, conservantes naturais, vida útil.

ABSTRACT

CRUZ, A. I. C. **Use of edible of sodium alginate incorporated with green propolis to preserve refrigerated tambaqui fillets**

The aim of the present study was to verify the antioxidant and antibacterial activity of green propolis extract and evaluate the efficiency of sodium alginate coating incorporated with green propolis on physicochemical, microbiological quality and sensory acceptance of tambaqui fillets (*Colossoma macropomum*) refrigerated. For this the work was divided in two stages. In the first stage was evaluated the antimicrobial activity of green propolis extract (EPV) against bacteria *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* ATCC43300 and *Listeria monocytogenes* CERELA, the antioxidant activity (DPPH and ABTS), phytochemical screening and quantification of total phenols and flavonoids. In the second stage, the efficiency of the sodium alginate + EPV coating (25 mg mL⁻¹) in tambaqui fillets was verified under refrigeration for 30 days, microbiological (psychrotrophic and coliform counting at 45 ° C) and physicochemical (pH, humidity, total volatile bases and lipid oxidation) analyzes were performed. Sensory acceptance test was also performed on the coated fillets. The EPV showed minimal inhibitory concentration - MIC ranging from 0.18 to 12.5 mg mL⁻¹, antioxidant activity (ABTS 724.05 ± 0.04 and DPPH 4.30 ± 0.11) with of tannins, steroid, saponin and alkaloid, as well as phenols (39.40 ± 0.19) and flavonoids (7.29 ± 0.11). Coating inhibited coliform growth at 45 ° C in the fillets and kept the psychrotrophic count (7.0 log CFU g⁻¹) for 15 days, increasing the shelf life of fillets by 11 days, when compared to control (4 days). For pH, volatile bases and lipid oxidation parameters, coating increased tambaqui fillet life by 7 to 9 days. The coating was also effective in reducing moisture loss throughout storage. The coated fillets had a high acceptance rate (67%) and purchase intention (69%). As conclusion the coating with sodium alginate and green propolis increases the shelf life of tambaqui fillets kept under refrigeration.

Keywords: fish, natural preservatives, shelf life

INTRODUÇÃO

Dentre as espécies de peixes mais cultivadas no Brasil se destaca o tambaqui, *Colossoma macropomum*. Esta espécie apresenta ótimo padrão de crescimento, alta produtividade e facilidade de comercialização. Sua carne apresenta excelente sabor e suculência, devido à presença de alto teor de lipídeos. No entanto, essa característica torna seus filés mais suscetíveis às reações oxidativas e produzem sabor e odor de ranço nos peixes (FOGAÇA et al., 2014).

O peixe é um alimento que possui elevada atividade de água, alto teor de nutrientes e pH próximo da neutralidade. Por isso, é um alimento facilmente deteriorável, muito suscetível à autólise enzimática e bacteriana (SILVA et al., 2017). Além desses fatores, o desenvolvimento microbiano em peixes pode ser relacionado a fatores extrínsecos, como a falta de higiene pessoal dos manipuladores, exposição dos produtos sem refrigeração e manuseio do pescado com equipamentos e utensílios contaminados (MOURA et al., 2018; ARAUJO et al., 2018).

Visando a manutenção da qualidade do produto alimentício, os revestimentos edíveis vêm sendo desenvolvidos, uma vez que a utilização de métodos tradicionais de conservação, como a refrigeração e o congelamento, não são suficientes para reduzir ou inibir o desenvolvimento bacteriano e a oxidação lipídica nos alimentos comprometendo a vida útil do pescado armazenado por longos períodos (GALUS; KADZINSKA, 2015; HASSOUN; ÇOBAN, 2017).

Os revestimentos edíveis são definidos como camadas finas de material comestível de coloração transparente que são aplicados à superfície dos alimentos para atuar como barreira mecânica e controlar as trocas gasosas, além de reduzir as perdas nutritivas e de umidade (COSTA et al., 2017). Os revestimentos também são alternativas para a substituição de inúmeros antioxidantes sintéticos, que são usados em alimentos com a finalidade de prevenir ou retardar a oxidação lipídica, embora, alguns países a exemplo da Canadá, já restrinjam seu uso em alimentos devido sua relação com o desenvolvimento de carcinogênese (RAMALHO; JORGE, 2006; DEHGHANI; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018; PISOSCHI et al., 2018).

Os revestimentos edíveis podem ser desenvolvidos com biopolímeros, como polissacarídeos, proteínas e lipídios. Entre os polissacarídeos, o alginato têm se

destacado devido as suas propriedades funcionais, como espessante, estabilizador e produtor de gel, o que possibilita a formação de filmes mais fortes (TAVASSOLI-KAFRANI; SHEKARCHIZADEH; MASOUDPOUR-BEHABADI, 2016). Aos revestimentos podem ser adicionados agentes antimicrobianos e antioxidantes naturais, como a própolis, com a finalidade de prolongar a vida útil dos produtos alimentícios (CASTRO-ROSAS et al., 2017; POBIEGA; KRASNIEWSKA; GNIEWOSZ, 2019).

A própolis é uma substância resinosa produzida pelas abelhas *Apis Mellifera*, que coletam exsudatos de plantas e misturam com cera e secreções salivares (OPSENICA et al., 2016; SALGUEIRO; CASTRO, 2016; SEIBERT et al., 2019). Entre as própolis existentes, a verde se destaca pelo rico teor em ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico, também conhecido como artepelin C, obtido da *Baccharis dracunculifolia*, que é a principal fonte botânica deste tipo de própolis (VEIGA et al., 2017; MONROY et al., 2017).

A própolis vem ganhando destaque no que se refere a aplicação em alimentos por sua ação na inibição do desenvolvimento microbiano e do processo de oxidação lipídica (POBIEGA; KRASNIEWSKA; GNIEWOSZ, 2019). Diversas pesquisas já relataram a eficiência da própolis com aplicação em alimentos (VARGAS-SÁNCHEZ et al., 2014; DUMAN, OZPOLAT, 2015; VIERA et al., 2016; PAYADAN et al., 2017). Entretanto, ainda não há relatos sobre a aplicação do extrato de própolis verde em filés de tambaqui. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo verificar a atividade antioxidante e antibacteriana do extrato de própolis verde e avaliar a eficiência da sua incorporação no revestimento a base de alginato de sódio no aumento da vida útil de filés de tambaqui mantidos sob refrigeração e verificar a aceitação sensorial dos filés revestidos

Essa dissertação está dividida em dois capítulos. No primeiro capítulo é apresentado a revisão de literatura com temas referentes ao estudo, embasando-o teoricamente e no segundo capítulo se encontra o artigo da pesquisa.

OBJETIVOS

- **OBJETIVO GERAL**

Verificar a eficiência do revestimento edível a base de alginato de sódio incorporado com própolis verde na redução antimicrobiana e oxidação lipídica em filés de tambaqui (*Colossoma macropomum*) armazenados sob refrigeração.

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato de própolis verde;
- Verificar a eficácia do revestimento edível a base de alginato de sódio incorporado com extrato de própolis verde nos parâmetros físico químicos e microbiológicos na matriz alimentar;
- Verificar a aceitação sensorial dos filés de tambaqui (*Colossoma macropomum*) revestidos com alginato de sódio incorporados com extrato de própolis verde.

CAPÍTULO 1

**Aplicação de revestimento edível contendo compostos bioativos
com ação antimicrobiana e antioxidante**

RESUMO

CRUZ, A. I. C. **Aplicação de revestimento edível contendo compostos bioativos com ação antimicrobiana e antioxidante**

Os peixes são alimentos saudáveis devido a presença de vitaminas, minerais e baixo teor de colesterol em sua composição. No Brasil, o tambaqui é a segunda espécie de água doce mais produzida e se caracteriza por apresentar grande porte. É um peixe proveniente da bacia amazônica, rico em ácido linolênico (ômega 3), proteínas, minerais e vitaminas. Essa riqueza de nutrientes torna esse peixe suscetível a oxidação lipídica e ao desenvolvimento de microrganismos que causam a deterioração, modificando as características sensoriais, como sabor, aroma, textura e o valor nutritivo do alimento. Uma das técnicas utilizadas para a conservação de peixes é o uso de refrigeração e congelamento, porém essas técnicas não reduzem de maneira eficaz o crescimento microbiano. Outro meio de conservação utilizado nos peixes são os conservantes sintéticos, como o hidroxitolueno butilado (BHT) e o hidroxianisol butilado (BHA), porém, sua aplicação tem sido relacionada ao desenvolvimento de câncer. Nesse contexto, pesquisas com revestimentos edíveis utilizando substâncias naturais estão sendo desenvolvidas com o objetivo de substituir o uso dos conservantes sintéticos e reduzir os processos de deterioração microbiológica e oxidativa em alimentos. Dentre as categorias de substâncias naturais, a própolis verde apresenta alto potencial devido a sua composição química rica em compostos bioativos que estão relacionados a ação antibacteriana, antiviral, antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante.

Palavras-chave: pescado, conservantes, substância bioativa.

ABSTRACT

CRUZ, A. I. C. Application of edible coating containing bioactive compounds with antimicrobial and antioxidant action

The fish are healthy foods due to the presence of vitamins, minerals and low cholesterol in their composition. In Brazil, the tambaqui is the second most produced freshwater species and is characterized by its large size. It is a fish from the Amazon basin, rich in linolenic acid (omega 3), protein, minerals and vitamins. However, this richness of nutrients makes this fish susceptible to lipid oxidation and the development of microorganisms that cause spoilage, modifying sensory characteristics, such as taste, aroma, texture and nutritional value of food. One of the techniques used for fish conservation are the use of refrigeration and freezing, but these techniques do not effectively reduce microbial growth. Another conservation medium used in fish are synthetic preservatives such as butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA), but their application has been related to the development of cancer. In this context, research on edible coatings using natural substances is being developed to replace the use of preservative synthetic and reduce the processes of microbiological and oxidative spoilage in foods. Among the categories of natural substances, green propolis presents high potential due to its chemical composition, such as p-coumaric acid, ferulic acid and artepillin C, which are related to antibacterial, antiviral, antitumor, anti-inflammatory and antioxidant action.

Keywords: fish, preservatives, bioactive substance.

1. Produção e consumo de pescado no Brasil

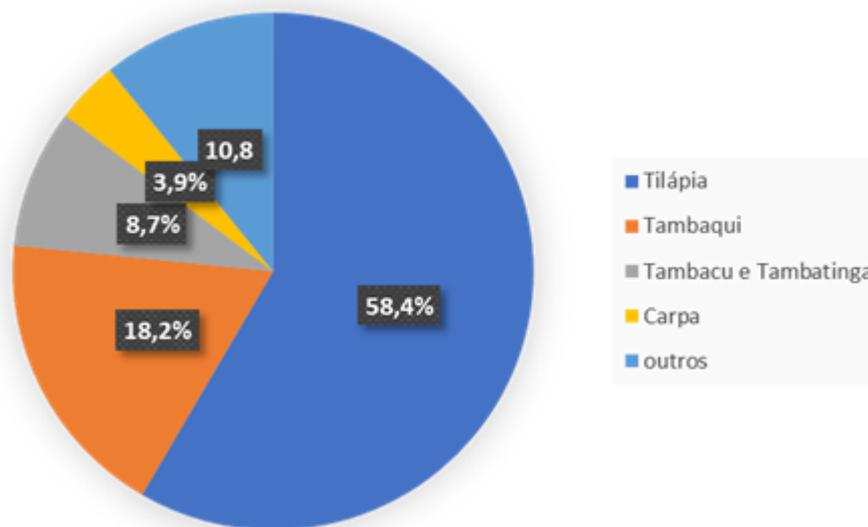
No Brasil há um grande potencial para a produção pesqueira em decorrência da disponibilidade de água, clima favorável e a variedade de espécies. O setor de aquicultura vem se destacando por ser uma das principais fontes de proteína de origem animal. Esse setor cresceu em decorrência do aumento da população e da procura constante por alimentos mais saudáveis (BRABO et al., 2016).

O peixe é um alimento rico em proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos insaturados e vitaminas, que tem sido considerado uma opção de alimento mais saudável pois diminui os riscos de doenças cardíacas por apresentar baixo teor de colesterol quando comparado as demais carnes (MORALES; HIGUCHI, 2018). Atualmente, a Organização Mundial da Saúde recomenda que o consumo per capita de peixes seja de 20 kg/ano. Entretanto, de acordo com os dados da Associação Brasileira de Piscicultura-PEIXEBR (2018), o consumo anual de peixe no Brasil cresceu, mas ainda não atingiu esse quantitativo, os brasileiros consomem, em média, 9,5 kg por ano.

Em 2016, o Brasil havia produzido 640.410 toneladas, com aumento de apenas 1% sobre o resultado de 2015 (638 mil toneladas). Em 2017, a produção da piscicultura brasileira cresceu 8% terminando o ano com 691.700 toneladas de peixes cultivados. Entre os Estados que vêm apresentando crescimento nesse setor, a Bahia tem se destacado e em 2017 liderou a produção de peixes cultivados na região Nordeste, sendo responsável pela produção de 25.500 toneladas (PEIXEBR, 2018).

A produção de peixes de água doce, principal categoria dentro da aquicultura brasileira, corresponde a 84% da produção desse setor no país. Entre as espécies cultivadas, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) responde por 18,2% da produção nacional (Figura 1) (IBGE, 2017).

Figura 1. Produção da aquicultura brasileira em 2017 por espécie, em percentual do total produzido.



(Fonte: IBGE, 2017).

2. Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

No Brasil, o tambaqui (*C. macropomum*) é uma espécie natural da bacia amazônica, que possui alto potencial de cultivo e grande importância econômica e social para as famílias ribeirinhas do Amazonas. É a principal espécie nativa produzida no Brasil que aceita facilmente rações artificiais, se adapta bem ao cativeiro por ser onívoro e ter tendência à herbivoria (SOUZA et al., 2014).

C. macropomum pertence à classe *Osteichthyes*, ordem *Characiformes* e família *Serrasalminidae*. Considerado o segundo maior peixe de escamas de água doce da América do Sul que está sendo amplamente difundido no continente sul-americano devido ao crescimento e desenvolvimento da piscicultura. Tem sido considerado “símbolo ictíco da floresta tropical” devido a sua preferência alimentar por frutos e sementes (DAIRIKI; SILVA, 2011).

O tambaqui é uma espécie que alcança mais de 1 m de comprimento e peso superior a 30 kg. É um peixe que vive em ambientes de várzea e igapó, possui características adaptativas e morfológicas que permitem a espécie sobreviver em locais com baixas concentrações de oxigênio. A espécie ainda possui numerosos rastros branquiais que permitem a filtração do fitoplâncton que é parte de sua dieta alimentar (GARCEZ et al., 2016).

C. macropomum está entre as espécies de alto valor comercial mais apreciadas no país em decorrência de suas características biológicas e zootécnicas, e ao fato de possuir proteína e gorduras poli-insaturadas benéficas a saúde. Essas características têm contribuído para a inserção de investimentos em sua produção, entre as técnicas que estão sendo utilizadas, está a adoção de sistemas aeradores, a utilização de enzimas exógenas e o dimensionamento de viveiros (BARÇANTE; SOUSA, 2015; BEZERRA et al., 2013).

Em razão de todas essas características, o tambaqui desponta como a espécie nativa que mais cresce nas áreas de cultivo das regiões brasileiras, porém, sua criação tem sido maior no norte do país (IBGE, 2016). Nos mercados, esses peixes já são vendidos em cortes, como posta, filés e costelas ventrechadas, oferecendo maior praticidade ao consumidor (SEAFOODBRASIL, 2015). Em 2017, *C. macropomum* correspondeu por 90% dos peixes processados em frigoríficos da região norte do país (SEAFOODBRASIL, 2018).

3. Deterioração do pescado

A deterioração do pescado está relacionada a fatores inerentes ao próprio peixe, como pH próximo a neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos e alto teor de nutrientes. Esses fatores favorecem a ação de enzimas autolíticas, processo de oxidação lipídica e atividade bacteriana (SOUSA et al., 2018).

O processo de deterioração do peixe se inicia com o *rigor mortis*, que é caracterizado pelo progressivo enrijecimento da musculatura do animal devido à redução nos níveis de glicogênio, ATP (adenosina trifosfato) e acúmulo de ácido láctico no músculo (MENDES; INOUE; JESUS; 2015). Esse processo é resultado de reações bioquímicas no músculo, entre elas, o esgotamento do oxigênio, degradação do glicogênio e decréscimo do pH. Ao término dessa fase, se inicia a deterioração enzimática e bacteriana (ALVES et al., 2016).

O processo de deterioração enzimática e bacteriana em peixes frescos pode acontecer pela ação de enzimas proteolíticas inerentes do peixe, pela atuação de enzimas de origem bacteriana ou ambas (DELBARRE-LADRAT et al., 2006; ARAÚJO; SOARES; GÓIS, 2010). Segundo Leisner e Gram (2014) essas enzimas bacterianas estão presentes no trato digestório dos peixes não eviscerados e podem atuar na degradação dos tecidos produzindo alterações nas características

sensoriais do produto, entre as quais se tem o desenvolvimento de odores desagradáveis, e o aparecimento de manchas, além da formação de substratos que são utilizados como alimento pelas bactérias.

Como resultado dessas reações autolíticas controladas por enzimas endógenas, vários compostos nitrogenados são formados. O óxido de trimetilamina (TMAO) presente em peixes é reduzido a trimetilamina (TMA). A TMA é então, degradado em dimetilamina (DMA) e formaldeído, que são alguns dos produtos responsáveis pelo odor característico de peixe estragado (EVANGELISTA; OGAWA; OGAWA, 2000; ORBAN et al., 2011; WELLS; YUSUFU; MILLS, 2019).

Em peixes, a dimetilamina, trimetilamina e amônia são os principais compostos nitrogenados responsáveis pelas alterações nos valores de Bases Nitrogenadas Voláteis (BNV) (RODRIGUES et al., 2012). No entanto, dentro da composição de BNV, a amônia é o principal componente do grupo quando se trata de peixe de água doce, sendo responsável pelas maiores alterações químicas em peixes (OCAÑO-HIGUERA et al., 2009; ARAÚJO, SOARES; GÓIS, 2010).

3.1. Deterioração microbiana

Os peixes são alimentos suscetíveis a vários contaminantes de natureza biológica, química ou física que são relacionados a fatores extrínsecos, como, manipulação inadequada durante as etapas de captura, transporte e armazenamento, além da temperatura inadequada de refrigeração (SANTIAGO et al., 2013; AIYEGORO, 2014; SANTOS et al., 2016).

A população bacteriana presente no peixe varia de acordo com as condições de armazenamento do alimento, da dieta fornecida, da concentração de poluentes na água e das condições climáticas de cultivo do animal. Esses fatores influenciam diretamente na microbiota das superfícies externas e internas do peixe, como o muco, a pele, as guelras e o trato digestório (BENHAMED et al., 2014).

A qualidade higiênica sanitária do pescado está relacionada a três fatores: tempo, higiene e temperatura. O tempo e temperatura é ligado à rapidez com que se desencadeia reações autolíticas. E a higiene está relacionada aos manipuladores, às condições de limpeza do barco e a estrutura de processamento (SANTIAGO et al., 2013).

Dentre as principais bactérias que contribuem para a deterioração do pescado estão: *Pseudomonas*, *Acetivobacter*, *Moraxella* e *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Aeromonas*, *Vibrio* e *Shewanella*, dentre outras. Estas são influenciadas pela natureza do ambiente aquático, onde a temperatura é um dos fatores seletivos (LEISNER; GRAM, 2014; BOZIARIS; PARLAPANI, 2017).

O pescado foi responsável por 2,1% dos surtos de doenças veiculadas por alimentos (DVA) no Brasil entre o período de 2009 a 2018 (BRASIL, 2019). Os surtos de DVA podem ocorrer a partir do consumo de pescado contaminado por microrganismos, como *Vibrio* spp., *Listeria monocytogenes*, *Yersinia* spp., diversos sorovares de *Salmonella* e *Clostridium botulinum* (NOVOSLAVSKIJ et al., 2015).

O tambaqui como qualquer outro peixe pode ser facilmente contaminado e sofrer processo de deterioração. Entre os microrganismos responsáveis por muitas das alterações estão aqueles que se desenvolvem em baixas temperaturas, como os psicotróficos. Estas bactérias se multiplicam em temperaturas de $7^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e formam colônias visíveis entre 7 e 10 dias, independente da temperatura ótima de multiplicação (ARCURI et al., 2008; WEI et al., 2019).

O grupo de psicotróficos são deteriorantes devido à produção de exoenzimas, como, proteases, lipases e fosfolipases, que tem a função de hidrolisar proteínas e gorduras de produtos cárneos, além de usar uma variedade de não-carboidratos como fonte de carbono para produzir uma grande quantidade de metabólitos que afetam a qualidade dos produtos alimentícios. Esses metabólitos produzem odor forte e mais muco sobre os alimentos (ARCURI et al., 2008; MAIANGWA et al., 2015; WEI et al., 2019). O grupo de microrganismos psicotróficos possui relação direta com a manipulação e armazenamento inadequado, sendo encontrados com certa frequência em peixes estragados (ALCANTARA; MORAIS; SOUZA, 2012).

Vivekanandhan, Hatha e Lakshmanaperumalsamy (2005), verificaram a presença de *Aeromonas* spp. em pescado comercializado no mercado do peixe na Índia e atribuíram a presença dessa bactéria a falta de saneamento e a temperatura inadequada de exposição dos alimentos. Ainda de acordo com os pesquisadores, a presença desse gênero em peixes e outros produtos da pesca é preocupante devido a multiplicidade de fatores de virulência que esse gênero bacteriano possui.

Dentre os psicrotróficos relacionados a deterioração de alimentos estão as bactérias do gênero *Pseudomonas* e *Flavobacterium*. As bactérias desses gêneros podem causar modificação na coloração dos alimentos (ARAÚJO, SOARES, GÓIS, 2010; ALCANTARA; MORAIS; SOUZA, 2012). O gênero *Pseudomonas* compreende patógenos oportunistas que têm sido responsáveis por infecções hospitalares. As infecções causadas por *P. aeruginosa* são difíceis de tratar devido à sua resistência intrínseca a muitos agentes antimicrobianos (FENG et al., 2017). Em geral, espécies de *Pseudomonas* spp. são frequentemente associadas a peixes, uma vez que são isoladas comumente da pele, brânquias e intestinos desses animais. São bactérias que podem contribuir para os processos de deterioração tanto no peixe fresco quanto durante seu processamento (ARAÚJO; SOARES; GÓIS, 2010). A presença de *P. aeruginosa*, em níveis elevados, resulta na redução da vida útil dos alimentos, devido as alterações nas características sensoriais, como a produção de odores e sabores desagradáveis em produtos alimentícios (ARAÚJO; SOARES; GÓIS, 2010; KACÁNIOVÁ et al., 2017).

Outros microrganismos, como o grupo coliforme, proveniente em sua maioria de águas contaminadas ou práticas incorretas da manipulação do alimento, também podem estar presentes no pescado (ARAÚJO; SOARES; GÓIS, 2010; SOARES; GONÇAVES, 2012; ZOTTA et al., 2019). Além de *Staphylococcus aureus* que é o microrganismo mais facilmente veiculado por produtos da pesca (BAKA et al., 2017).

Pesquisas tem relatado a contaminação de peixes por diversas bactérias devido a falhas higiênico sanitárias na produção e/ou processamento. No estudo desenvolvido por Santos et al. (2019), foi avaliada a qualidade higiênico-sanitária do tambaqui (*C. macropomum*) comercializado em feiras e supermercados da cidade de São Luís-MA e verificaram que o peixe apresentou elevada contagem de coliformes totais e termotolerantes, além da presença de bactérias *Aeromonas* spp. e *E. coli*.

Em um outro estudo desenvolvido por Indyara et al. (2016), verificou-se que o tambaqui (*C. macropomum*) comercializado na feira municipal de Ariquemes-RO, apresentou contaminação por *S. aureus* e coliformes totais. Os pesquisadores atribuíram esse resultado a contaminação por falhas higiênico-sanitárias durante a manipulação. Enquanto, Skowron et al. (2018) verificaram a presença de *L. monocytogenes* com perfil de resistência em vários estágios de uma fábrica de

processamento de peixe na Polônia, e informaram a séria ameaça que os consumidores estavam expostos ao consumir peixes contaminados oferecidos por esse local.

3.2. Oxidação lipídica

A oxidação lipídica é uma das principais causas de redução da qualidade dos alimentos. Os produtos da oxidação lipídica afetam as propriedades sensoriais dos alimentos e seu controle é considerado um desafio para a indústria alimentícia (XIE; WANG; ZHAO, 2018; SHAHIDI; ABAD, 2019). Os lipídios são encontrados nos alimentos, principalmente, na forma de triacilgliceróis, mas também podem ser encontrados como os fosfolipídios (PL), que são importantes lipídios estruturais em alimentos e membranas celulares (JACOBSEN, 2019).

Nos peixes, os fosfolipídios constituem a maior parte dos lipídeos e são mais suscetíveis ao processo de oxidação porque possuem maior grau de insaturações (RUFF et al., 2004; JACOBSEN, 2019). Os ácidos graxos insaturados ligados nas moléculas lipídicas de triacilgliceróis ou fosfolipídios ou simplesmente como ácidos graxos livres são o substrato básico da oxidação lipídica. O processo de oxidação lipídica pode ocorrer por meio da reação entre radicais livre de lipídios com oxigênio (auto-oxidação) (HAMAN et al., 2017).

O processo de auto-oxidação é dividido em três fases: iniciação, propagação e terminação. A reação inicial envolve a geração de um radical livre (L) a partir de um ácido graxo insaturado (LH). Essa fase é muito lenta e depende de um iniciador (I), que pode ser representado pelo calor e certas enzimas catalisadoras. A propagação se inicia pela ação de radicais livres que reage rapidamente com o oxigênio da atmosfera para formar um radical peróxido, resultando em um hidroperóxido e uma nova espécie reativa ao oxigênio. Essa propagação continua até que o radical peróxido seja removido por reação envolvendo outro radical, formando produtos inativos ou não radicais, fase conhecida como terminação (BURTON; TRABER, 1990).

Geralmente, esse processo gera a formação de hidroperóxidos e sua subsequente quebra provoca o surgimento de produtos de oxidação lipídica, como álcoois, cetonas, aldeídos e entre outros. Esses produtos podem causar alterações

indesejáveis em alimentos, produzindo odor e sabor desagradáveis, resultando na diminuição do tempo de vida útil (BERTOLIN et al., 2009; SHAHIDI; ABAD, 2019).

O processo de oxidação provoca ainda a diminuição da coloração vermelha dos músculos dos peixes e o desenvolvimento de “sabores oxidados” e gosto amargo/metálico em peixes que possuem alto índice lipídico, como, o tambaqui (JACOBSEN, 2019). Além disso, a oxidação pode resultar na geração de compostos tóxicos que têm sido associados a doenças cardiovasculares, bem como câncer, aterosclerose, envelhecimento (VANDEMOORTELE; MEULENAER, 2019). O grau de oxidação lipídica na carne e produtos de carne processada é mensurado usando um ensaio em que substâncias reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ZHANG et al., 2019)

A indústria cárnea tem buscado formas para prevenir a oxidação lipídica, uma vez, que seus produtos são indesejáveis, tanto pela produção de odores e *flavours* ofensivos, como pela destruição de constituintes essenciais dos alimentos, ocasionando o decréscimo do valor nutricional das carnes e a formação de compostos tóxicos durante o processamento (ALVES; KUBOTA, 2013).

Em virtude disso, a indústria vem utilizando antioxidantes, como forma de inibir esses tipos de alterações. Todavia, o uso indiscriminado de antioxidantes sintéticos é prejudicial à saúde, uma vez, que podem promover danos ao DNA por ligação aos ácidos nucleicos, exercendo efeitos mutagênicos, cancerígenos e citotóxicos (SEKHON-LOODU et al., 2013; WANG; KANNAN, 2019).

4. Técnicas de conservação de alimentos

Várias técnicas de conservação são aplicadas a fim de retardar o processo de deterioração do pescado e prolongar seu prazo de validade por mais tempo. As técnicas utilizadas para isso são controle de temperatura, tratamentos térmicos, alta pressão (HP), desidratação osmótica, irradiação, entre outros (HASSOUN; ÇOBAN, 2017).

As temperaturas baixas têm um impacto físico direto no desenvolvimento microbiano e podem levar ao retardamento do crescimento e da atividade de deterioração dos microrganismos, isto é, as taxas de reações bioquímicas indesejáveis diminuem à medida que a temperatura é reduzida (HASSOUN; ÇOBAN, 2017). Contudo é importante enfatizar que o resfriamento e o

congelamento não impedem atividades enzimáticas ou deterioração microbiana (SAMPELS, 2015). Além disso, o congelamento leva a formação de cristais de gelo durante o processo, o que pode aumentar o risco de danos na textura e perda de capacidade de retenção de água (KAROUI; HASSOUN; ETHUIN, 2017).

A preservação de alimentos usando tratamento térmico é um meio de conservação antigo que utiliza altas temperaturas para destruir os microrganismos. Porém, esse tipo de tratamento pode causar modificação no sabor, textura e cor dos alimentos, em maior ou menor extensão, além de provocar a coagulação de proteínas (TORRES; RODRIGO; MARTÍNEZ, 2016).

Outra técnica que tem atraído atenção nos últimos anos da indústria é o processamento de alta pressão (HPP), devido ao seu potencial de inativar microrganismos e enzimas autolíticas a baixas temperaturas, estendendo assim, a vida útil dos peixes. No entanto, esta técnica pode causar desnaturação das proteínas e alguns efeitos indesejáveis na cor e textura da carne, além de oxidação lipídica e protéica (GUYON; MEYNIER; LAMBALLERIE, 2016).

Outros métodos utilizados na conservação de pescado são desidratação osmótica e a irradiação. A irradiação é altamente eficaz, mas possui alto custo, enquanto a desidratação osmótica leva muito tempo, o que pode causar degradação parcial da qualidade em alguns produtos alimentícios (TORRES; RODRIGO; MARTÍNEZ, 2016; QIU et al., 2019).

5. Revestimentos edíveis em alimentos

Revestimentos edíveis são definidos como embalagens primárias de alimentos, compostas de substâncias que funcionam como bloqueadores de oxigênio, umidade e movimento de solutos para os alimentos. Nos últimos anos, o interesse em revestimentos edíveis tem crescido devido à demanda dos consumidores por alimentos seguros, saudáveis e estáveis (DEHGhani; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018).

Os revestimentos são formados diretamente na superfície dos alimentos, sendo aplicados por pulverização, imersão e, mais recentemente, por meio de eletropulverização, que produz um revestimento fino e uniforme (HASSAN et al., 2018). Os revestimentos edíveis podem ser resistentes à água, melhorar a aparência, manter a integridade estrutural do produto, transportar agentes ativos

(antioxidantes, vitaminas, etc.), reduzir a permeabilidade ao vapor de água e reter compostos de sabor voláteis (DHALL, 2013).

Durante a fabricação dos revestimentos, as substâncias utilizadas para a formação da película são dissolvidas em água, álcool ou combinação de ambos (HASSAN et al., 2018). Os revestimentos edíveis podem ser estruturados com diversos materiais, como, proteínas, polissacarídeos, lipídeos e compostos, além da adição de plastificantes que são usados com a finalidade de aumentar a flexibilidade e a elasticidade de materiais de base biológica (GALUS; KADZINSKA, 2015).

As fontes de proteínas utilizadas para desenvolver os revestimentos; são geralmente materiais hidrofílicos que são mais suscetíveis à absorção de umidade (DHALL, 2013). As proteínas usadas nesses processos podem ser obtidas de tecidos animais, como, por exemplo, caseína, proteína de soro de leite, colágeno, gelatina, queratina, além de materiais de origem vegetal, como, glúten de trigo, proteína de soja, proteína de amendoim, entre outros (ANANEY-OBIRI et al., 2018).

No mercado também existem revestimentos a base de lipídios, que são utilizados para limitar a saída de umidade dos alimentos, uma vez que, substâncias hidrofóbicas são barreiras eficientes contra a migração de umidade, no entanto, a característica hidrofóbica dos lipídios forma filmes mais espessos e frágeis. Por isso, eles devem ser associados a outros agentes, como proteínas ou derivados de celulose. Entre os lipídios que têm sido utilizados, estão os monoglicerídeos, acetilados, ceras naturais e surfactantes (ZHAO, 2019; ARNON-RIPS; POVERENOV, 2018; DEHGhani; HOSSEINI; REGENSTEIN, 2018).

Outros materiais utilizados para fabricar os revestimentos, são os polissacarídeos, materiais amplamente disponíveis na natureza, incluindo, alginato, quitosana, amido, celulose, pectina e derivados. A maioria desses materiais são incolores, têm aparência livre de oleosidade e um teor calórico mais baixo e podem ser aplicados para prolongar a vida útil de moluscos ou produtos cárneos, frutas, legumes, reduzindo significativamente a desidratação, escurecimento da superfície e a rancidez oxidativa (HASSAN et al., 2018).

Dentre os polissacarídeos, o alginato é obtido de algas marrons, compostos de ácido β - d- manurônico (M) e ácido α - 1- gulurônico (G). Os alginatos têm a capacidade de formar géis uniformes, transparentes, insolúveis em água e termo-

irreversíveis à temperatura ambiente. Além de serem biodegradáveis e possuírem baixo custo (COMAPOSADA et al., 2015).

O alginato de sódio é de grande interesse devido à sua não toxicidade. A formação do seu gel acontece por meio da interação de cátions divalente e trivalente, como o cálcio, o ferro ou o magnésio, que são adicionados como agentes gelificantes. Esse biopolímero tem sido amplamente utilizado, com sucesso, para o encapsulamento de moléculas bioativas, incluindo drogas farmacêuticas, proteínas e óleos essenciais (FAIDI et al., 2019).

Revestimentos à base desse biopolímero podem manter boa qualidade e prolongar a vida útil dos alimentos aumentando a barreira à água. É considerado uma substância geralmente reconhecida como (GRAS) que pode ser utilizada em revestimento de peixes, camarões, vieiras e suínos pois reduz a perda de descongelamento, cozimento e peso (SONG et al., 2011). De acordo com Heydari, Bavandi e Javadian (2015), o alginato de sódio enriquecido com óleo essencial foi eficaz na manutenção da qualidade dos filés de carpa (*Aristichthys nobilis*) armazenados sob refrigeração à 4°C.

Cai et al. (2015) verificaram que o revestimento composto de ϵ -polilisina e alginato teve efeitos benéficos sobre a qualidade físico-química e sensorial de robalo japonês (*Lateolabrax japonicas*) mantidos sobre refrigeração. Com isso, os pesquisadores concluíram que o revestimento com ϵ -polilisina/alginato poderia ser uma alternativa promissora para melhorar as qualidades de conservação dos peixes e produtos de pesca durante um armazenamento prolongado.

É importante afirmar que o alginato não possui propriedades antimicrobianas ou antioxidantes quando usado como revestimentos (LI et al., 2019). Portanto, a incorporação de compostos antimicrobianos naturais é necessária para proporcionar aos revestimentos a atividade antimicrobiana e assim, prolongar a vida útil de produtos alimentícios.

Na fabricação de revestimentos edíveis, além dos materiais utilizados para estruturar a película, acontece a adição de plastificantes, como os polióis (glicerol, sorbitol e polietilenoglicol), açúcares (glicose e sacarose) e lipídios (monoglicerídeos, fosfolipídios e surfactantes). Além dos plastificantes naturais, como, os triglicérides de óleos vegetais ou ésteres de ácidos graxos, os quais o uso vem aumentando porque eles possuem baixa toxicidade e baixa migração (CAZÓN et al., 2017).

Os plastificantes reduzem a coesão dentro da rede de filmes, enfraquecendo as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas adjacentes, isto é, sem adição de plastificante, os filmes tornam-se frágeis, geralmente devido a interações entre cadeias poliméricas. Dessa forma, os plastificantes são essenciais, pois modificam ou melhoram as propriedades mecânicas, reduzem a tensão de deformação, dureza, densidade, viscosidade e aumentam a flexibilidade da cadeia polimérica, bem como a resistência à fratura (GANIARI; CHOULITOU DI; OREOPOULOU, 2017).

Wu et al. (2018), avaliaram o efeito de preservação do revestimento com polissacarídeo (quitosana), junto com uma proteína (lisozima) sobre a qualidade dos filés de corvina amarela (*Larimichthys crocea*) por meio de análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais durante o armazenamento refrigerado e verificaram alta eficiência do revestimento na inibição do crescimento de microrganismos, na oxidação lipídica e na manutenção da qualidade sensorial dos peixes refrigerados.

6. Antioxidantes sintéticos

Antioxidantes são um grupo de conservantes alimentares que retardam ou impedem a deterioração dos alimentos por mecanismos oxidativos, podendo ser citados o hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), butilhidroquinona terciária (TBHQ). Esses antioxidantes atuam neutralizando radicais livres ou oxigênio, ou inibindo enzimas que facilitam a oxidação (SCHYVENS, 2014).

Dentre os antioxidantes mais utilizados estão o BHT e o BHA. O BHT retarda a taxa de auto-oxidação nos alimentos, evitando alterações na cor, odor e sabor ao reagir com os radicais livres (AL-SHABIB et al., 2017), enquanto o BHA é um antioxidante mais generalizado que tem por objetivo controlar a degradação da gordura animal nos alimentos (WANG et al., 2015).

Embora considerados seguros para a saúde humana em níveis autorizados, o uso indiscriminado desses antioxidantes são motivo de preocupação, devido aos seus efeitos toxicológicos (NIEVA-ECHEVARRIA et al., 2015). No Brasil, o uso destas substâncias é controlado pelo Ministério da Saúde e o limite para BHA e BHT em alimentos é 0,02 % e 0,01%, respectivamente (BRASIL, 1961).

Em produtos cárneos, os antioxidantes como BHA e BHT são amplamente empregados para prevenir a oxidação e preservar os atributos sensoriais (RIBEIRO et al., 2019). No estudo realizado por Bertolin et al. (2009), verificou-se que o BHT foi eficiente para inibir o processo de oxidação em pescado salgado-seco.

Entretanto, pesquisas tem relacionado estes antioxidantes ao surgimento de doenças no estômago, intestino e alergia alimentar, além de níveis de toxicidade reprodutiva em animais (CLAPP; TYNDALL; CUMMING 1973; GROGAN, 1986; AL-AKID et al., 2001; RIBEIRO et al., 2019). Em pesquisa realizada no Japão, Sasaki et al. (2002) verificaram que os antioxidantes BHA e BHT induziam danos no DNA do estômago, cólon, bexiga e cérebro de ratos, e concluíram que o consumo desenfreado desses podem causar sérios riscos à saúde humana.

Nesse contexto, diversas pesquisas apresentam avanços quanto ao estudo de substâncias naturais que possam conservar a vida útil do alimento por mais tempo em substituição aos aditivos sintéticos (SCHYVENS, 2014).

7. Antioxidantes naturais

Com na sua atividade dos antioxidantes naturais, eles podem ser categorizados como antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (NEHA et al., 2019). Os antioxidantes enzimáticos decompõem e removem os radicais livres, isto é, as enzimas antioxidantes podem, por exemplo, converter produtos oxidativos perigosos em peróxido de hidrogênio e depois em água. E os antioxidantes não enzimáticos funcionam interrompendo as reações em cadeia dos radicais livres, entre os antioxidantes não enzimáticos naturais, estão a vitamina C, a vitamina E, o polifenol vegetal, os carotenóides e a glutathiona (NIMSE; PAL, 2015).

O reino vegetal é a fonte mais abundante de antioxidantes naturais, estão presentes em especiarias (sementes), ervas e óleos essenciais, extratos, que são usados em produtos de carne tanto para fins organolépticos, como para a conservação. A atividade antioxidante desses vegetais é atribuída a vários compostos fenólicos, que diferem em quantidade e tipo, a depender da origem (JIANG; XIONG, 2016).

Os compostos fenólicos são muito requeridos na dieta humana e de outros animais. Eles inibem oxidação lipídica interrompendo reações em cadeia de radicais livres e pela doação de hidrogênio e elétrons. Os fenólicos vegetais podem

ser classificados em ácidos fenólicos (por exemplo, ácido gálico e ácido cafeico), derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonoides (por exemplo, catequina, quercetina, kaempferol e naringenina) (BREWER, 2011; CHEN; XU, 2019).

Os flavonoides se destacam entre os compostos fenólicos, pelo seu potencial antioxidante. São definidos como compostos aromáticos polihidroxilados naturais que possuem a capacidade de formar complexos com os íons de metais catalíticos, inativando-os, além de inibir a ação de enzimas responsáveis pelo desenvolvimento de rancidez oxidativa em alimentos, como a lipoxigenase (EMBUSCADO, 2015).

Pesquisas já vem relatando a eficiência de compostos fenólicos como antioxidantes, Casagrande et al. (2019) correlacionaram a atividade antioxidante dos extratos de *Baccharis dracunculifolia* aos teores de compostos fenólicos presente. Em outro estudo, Abreu et al. (2010), verificaram que o filme com extratos antioxidantes naturais de casca de cevada utilizados em salmão congelado foi eficaz como antioxidante natural, uma vez que conseguiu retardar a hidrólise lipídica e aumentar a estabilidade oxidativa da carne de salmão

8. Antimicrobianos naturais

Os compostos antimicrobianos naturais estão sendo amplamente utilizados como conservantes de alimentos para melhorar a segurança microbiológica e aumentar a vida útil de produtos alimentícios. O uso de compostos naturais vem atraindo o interesse de pesquisadores e da indústria por sua ação frente a microrganismos deteriorantes e patogênicos (MARESCA et al., 2016).

Antimicrobianos naturais podem ser provenientes de fontes animais, vegetais e microbianas. Os antimicrobianos derivados de animais, como, quitosana, conalbumina, lactoferrina, lisozima, lactoperoxidase, lactoferricina, entre outros, possuem natureza polimérica com exceção da quitosana. Esses antimicrobianos exibem ação inibitória por meio de múltiplos mecanismos, incluindo a eletrostática, desestabilização dos componentes da membrana externa das bactérias, hidrólise de peptidoglicano, sequestro de nutrientes microbianos essenciais e formação enzimática de substâncias antimicrobianas a partir de substratos naturais (DAVIDSON; CRITZER; TAYLOR, 2013).

As bacteriocinas compõem o grupo de compostos naturais de origem microbiana que possuem ação inibitória frente a bactérias, são peptídeos

antimicrobianos sintetizados ribossomicamente ou proteínas complexas secretadas por várias bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Esses antimicrobianos possuem estabilidade ao calor e são atóxicos (AHMAD et al., 2017).

As bacteriocinas têm grande potencial de aplicação como “antimicrobianos de grau alimentício”, a nisina, por exemplo, é um pequeno polipeptídeo catiônico produzido por cepas de *Lactococcus lactis*, que possui ação frente a bactérias patogênicas e deteriorantes, incluindo patógenos de origem alimentar, como *C. botulinum* e *L. monocytogenes*, e portanto, pode ser usada como conservante em carnes, laticínios e vegetais (MARESCA et al., 2016).

Os antimicrobianos de origem vegetal, provenientes de plantas, contém uma variedade de compostos, encontrados nos óleos essenciais de folhas, sementes, flores e bulbos. Entre esses compostos estão os alcaloides, taninos, terpenóides, saponinas e compostos fenólicos, a natureza dessas substâncias permite que a planta resista a fitopatógenos e insetos, além de demonstrar inibição ou inativação de bactérias (DAVIDSON; CRITZER; TAYLOR, 2013).

Estudos com o isolamento de compostos fenólicos estão sendo realizados para o desenvolvimento de novas drogas que possam inibir o crescimento de patógenos bacterianos e fúngicos, além de eliminar os radicais livres que causam problemas tanto no organismo como em alimentos (AKHTAR; IHSAN-UL-HAQ; MIRZA, 2018). Bandeira Junior et al. (2019), verificaram que óleos essenciais provenientes de plantas foram eficientes frente a *Aeromonas hydrophila* isoladas de peixes.

Segundo Bajpai et al. (2008) o mecanismo de ação dos compostos fenólicos derivados de plantas agem pela alteração da permeabilidade das células microbianas, permitindo assim a perda de biomoléculas do interior das células (por exemplo, ribose e glutamato de sódio), além disso esses compostos interferem na funcionalidade da membrana celular (transporte de elétrons, absorção de nutrientes, proteína, síntese de ácidos nucleicos, e atividade enzimática). Assim, compostos fenólicos ativos podem ter vários alvos invasivos que podem levar à inibição de bactérias.

Nos últimos anos, a demanda pelo uso de antimicrobianos naturais tem crescido e estudos têm investigado os efeitos antioxidantes e antimicrobianos da aplicação de extratos de própolis em alimentos, incluindo sucos de frutas, vegetais, ovos, carnes e peixes (THAMNOPOULOS et al., 2018).

9. Própolis verde

A palavra própolis é derivada do grego “pro” que significa “em defesa de” e polis, que significa “cidade”. A própolis é uma substância resinosa coletada por abelhas da espécie *Apis mellífera* de diversas partes das plantas como brotos e botões florais que é misturada com enzimas salivares, ceras e outros compostos resultantes do metabolismo das abelhas (BURDOCK, 1998; SFORCIN, 2016). Esta substância é utilizada pela *A. mellífera* como barreira física para proteger a colméia de invasores (FERREIRA; NEGRI, 2018).

No Brasil, pode ser encontrada uma variedade de própolis, entre elas, a própolis verde, vermelha e marrom (PARK; IKEGAKI; ALENCAR, 2000; SILVA-CARVALHO; BALTAZAR; ALMEIDA-AGUIAR, 2015). Este fato está relacionado à diversidade vegetal em torno das colméias, a região geográfica de sua produção e ao período de coleta (SAWAYA; CUNHA; MARCUCCI, 2011; OLEGÁRIO et al., 2019).

A *Baccharis dracunculifolia* é a principal fonte botânica visitada pelas abelhas para produção da própolis verde (Figura 2) (BARTH et al., 2013), resina que tem sido muito estudada por apresentar também inúmeras propriedades, entre elas, anti-inflamatória, antitumoral e antioxidante (SALAZAR et al., 2018).

Diversos estudos relataram que a própolis verde apresenta em sua composição, principalmente, compostos fenilpropanóides prenilados, como o ácido artepelin C (3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico), éster alílico do ácido 3-prenilcinâmico, ácido cafeico, ácido cinâmico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico terpenóides, ácidos benzoicos, além dos flavonoides, como kaempferol (FERNANDES-SILVA et al., 2013; SILVA et al., 2019; ELKHENANY; EL-BADRI; DHAR, 2019). Segundo Park et al. (2004) diversas propriedades biológicas da própolis verde são atribuídas a estes compostos.

Figura 2. *Apis mellifera* coletando resinas de *Baccharis dracunculifolia* para produção de própolis verde no Brasil.



Fonte: (TORETI et al., 2013).

Estudos têm sido realizados para investigar a composição fitoquímica e as atividades biológicas da própolis verde brasileira e os resultados vem reportando muitas propriedades benéficas, incluindo atividade antimicrobiana e anestésica, além da ausência de toxicidade (COSTA et al., 2018; MONROY et al., 2017). Aguiar, Lima e Athayde (2015) verificaram que o extrato de própolis verde inibiu de maneira significativa os isolados clínicos de *S. aureus* resistentes à metilina. Enquanto na pesquisa realizada por Peter et al. (2017), foi demonstrado a eficácia da atividade antiviral do extrato de própolis verde frente ao Herpes vírus bovino tipo (BoHV-1).

A atividade do extrato de própolis verde frente a radicais livres também tem sido relatada, Andrade et al. (2017), verificaram alta atividade antioxidante do extrato de própolis verde proveniente de Alagoas, Brasil, por meio dos resultados obtidos pelos ensaios DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil), ABTS (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) e ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Além disso, os pesquisadores também relataram a presença de artepelin C, kaempferol e ácidos fenólicos, como p-cumárico e o cafeico nos extratos analisados.

O crescente interesse em produtos naturais pela indústria alimentícia levou ao uso da própolis em diferentes produtos para o consumo humano, como bebidas e alimentos (FREITAS et al., 2019). A adição do extrato de própolis em produtos alimentícios tem garantido a estabilidade microbiana e qualidade dos alimentos durante o armazenamento (POBIEGA; KRASNIEWSKA; GNIEWOSZ, 2019).

Na pesquisa de Viera et al. (2016) foi adicionado extrato de própolis em linguiça toscana armazenada sob refrigeração a 4 °C por 56 dias. Os resultados mostraram que a vida útil do produto foi prolongada com as contagens microbiológicas abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira.

Vargas-Sanchez et al. (2014) ao avaliarem a eficácia do extrato da própolis em hambúrgueres durante o armazenamento refrigerado verificaram redução na oxidação lipídica e no crescimento microbiano das amostras refrigeradas por 8 dias, indicando grande potencial desse extrato como antioxidante e antimicrobiano natural para estender a vida útil de produtos cárneos.

Payandan et al. (2017) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações de extratos etanólicos da própolis iraniana nos parâmetros microbiológicos e sensoriais da carne de *Cyprinus carpio* picada e armazenada a 4°C por 9 dias e verificaram que o revestimento com o extrato da própolis foi eficiente na redução das bactérias psicotróficas e *S. aureus*.

Nesse contexto, pode-se dizer que a utilização de extratos de própolis na conservação de alimentos é importante, pois vem se mostrando eficaz na manutenção da vida útil do produto alimentício por um período maior. Sendo assim, esse estudo busca verificar a atividade antibacteriana e antioxidante do extrato de própolis e investigar a eficiência do revestimento de alginato de sódio incorporado com própolis verde sobre a qualidade físico-química, microbiológica e aceitação sensorial de filés de tambaqui (*Colossoma macropomum*) armazenados sob refrigeração.

Referências

ABREU, P. D. A.; LOSADA, P. P.; MAROTO, J.; CRUZ, J. M. Evaluation of the effectiveness of a new active packaging film containing natural antioxidants (from barley husks) that retard lipid damage in frozen Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). **Food Research International**, v. 43, n. 5, p. 1277-1282, 2010.

AGUIAR, C. G.; LIMA, L. G.; ATHAYDE, L. A. Efeito antimicrobiano da própolis verde frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA). **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 14-18, 2015.

AHMAD, V.; KHAN, M. S.; JAMAL, Q. M. S.; ALZOHAIY, M. A.; KARAAWI, M. A. Al; SIDDIQU, M. U. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 49, n. 1, p. 1-11, 2017.

AIYEGORO, O. A. Microbial Contamination of processed meat. **Encyclopedia of Meat Sciences**, v. 5, n. 8, p. 289-293, 2014.

AKHTAR, N.; IHSAN-UL-HAQ; MIRZA, B. Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of medicinal plant species. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 11, n. 8, p.1223-1235, 2018.

AL-AKID, Y. F.; EL-RAHMAN, A. E. A.; HUSSEIN, H. A.; WASSIF, G. A. Nephro- and pneumotoxic response to chronic administration of butylated hydroxytoluene (BHT) in adult albino rats. **Al-Azhar Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 28, p. 171-195, 2001.

ALCANTARA, M.; MORAIS, I. C. L.; SOUZA, C. D. M. O. Principal Microorganisms involved in the decay of sensory characteristics of meat products. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 6, n. 1, p.1-20, 2012.

AL-SHABIB, N. A.; KHAN, J. M.; ALI, M. S.; AL-LOHEDAN, H. A; KHAN, M. S. AL-SENAIDY, A. M.; HUSAIN, F. M.; SHAMSI, M. B. Exploring the mode of binding between food additive “butylated hydroxytoluene (BHT)” and human serum albumin: Spectroscopic as well as molecular docking study. **Journal of Molecular Liquids**, v. 230, n. 2017, p. 557-564, 2017.

ALVES, A. R.; FIGUEIREDO JÚNIOR, J. P.; SANTANA, M. H. M.; ANDRADE, M. V. M. D.; LIMA, J. B. A.; PINTO, L. S.; RIBEIRO, L. M. Effect of stress on animal products quality. **Pubvet**, v. 10, n. 6, p. 448–459, 2016.

ALVES, E.; KUBOTA, E. H.; Conteúdo de fenólicos, flavonoides totais e atividade antioxidante de amostras de própolis comerciais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 1, p. 37-41, 2013.

ANANEY-OBIRI, D.; MATTHEWS, L.; AZAHRANIA, M. H.; IBRAHIM, S. A.; GALANAKIS, C. M.; TAHERGORABIA, R. Application of protein-based edible coatings for fat uptake reduction in deep-fat fried foods with an emphasis on muscle food proteins. **Trends in Food Science & Technology**, v. 80, n. 2018, p. 167-174, 2018.

ANDRADE, J. K. S.; DENADAIA, M.; OLIVEIRA, C. S.; NUNES, M. L.; NARAIN, N. Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. **Food Research International**, v. 101, n. 8, p. 129-138, 2017.

ARAÚJO, D. A. F. V.; SOARES, K. M. P.; GÓIS, V.A. Características gerais, processos de deterioração e conservação do pescado. **Pubvet**, v. 4, n. 9, p. 1-29, 2010.

ARAUJO, A. J. G.; BRANDÃO, C. O.; CARVALHO, F. C. T.; FERNANDES VIEIRA, R. H. S. Qualidade microbiológica do caranguejo-uçá exposto à venda em três pontos na orla da Praia do Futuro, Fortaleza-CE-Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37, n. 4, p. 409-416, 2018.

ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; LANGE, C. C.; MAGALHÃES, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2250-2255, 2008.

ARNON-RIPS, H.; POVERENOV, E. Improving food products quality and storability by using Layer by Layer edible coatings. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 81-92, 2018.

BAJPAI, V. K.; RAHMAN, A.; DUNG, N. T.; HUH, M. K.; KANG, S. C. In vitro inhibition of food spoilage and foodborne pathogenic bacteria by essential oil and leaf extracts of *Magnolia liliflora* **Journal of Food Science**, v. 73, n. 6, p. 314-320, 2008.

BAKA, M.; VERHEYEN, D.; CORNETTE, N.; VERCRUYSSSEN, S.; VAN IMPE, J. F. *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* dynamics in/on variable (micro) structures of fish-based model systems at suboptimal temperatures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 240, n. 8, p. 32-39, 2017.

BANDEIRA JUNIOR, G.; SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; DESCOVI, S. N.; SILVEIRA, B. P.; TASCA, C.; MOURÃO, R. H. V.; VARGAS, A. P. C.; BALDISSEROTTO, B. Plant essential oils against bacteria isolated from fish: an in vitro screening and in vivo efficacy of *Lippia origanoides*. **Ciência Rural**, v. 49, n. 6, p. 1-8, 2019.

BARÇANTE, B.; SOUSA, A. B. Características zootécnicas e potenciais do tambaqui (*Colossoma macropomum*) para a piscicultura brasileira. **Pubvet**, v. 9, n. 7, p. 287-347, 2015.

BARTH, O. M.; FREITAS, L. S.; MATSUDA, A. H.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Botanical origin and Artepillin-C content of Brazilian propolis samples. **Grana**, v. 52, n. 2, p. 129-135, 2013.

BENHAMED, S.; GUARDIOLA, F. A.; MARSA, M.; ESTEBAN, M. A.; Pathogen bacteria adhesion to skin mucus of fishes. **Veterinary Microbiology**, v. 171, n. 1-2, p. 1-12, 2014.

BERTOLIN, T. E.; GUARIENTI, C.; FARIAS, D.; SOUZA, F. T.; GUTKOSKI, L. C.; COLLA, L. M. Efeito antioxidante da ficocianina em pescado salgado-seco. **Ciências Agrotécnicas**, v. 35, n. 4, p. 751-757, 2009.

BEZERRA, A. S. M.; LEITE, D. O.; SANTOS, J. C. O.; MIRANDA, K. C.; SANTOS, I. H. V. S.; MONGE, S. M.; ROLIM, A. A. S. F.; KRAUSE, A. C. BLASZCZYK, A.; AUGUSTYNIAK, A.; SKOLIMOWSKI, J. Ethoxyquin: An Antioxidant Used in Animal Feed. **International Journal of Food Science**, v. 2013, n. 8, p. 1-12, 2013.

BOZIARIS, I. S.; PARLAPANI, F. F. Specific Spoilage Organisms (SSOs) in Fish. **The Microbiological Quality of Food**, p. 61-98, 2017.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta Fish**, v. 4, n. 2, p. 50–58, 2016.

BRASIL. Decreto nº 50040, de 24 de janeiro de 1961 ementa: Dispõe sobre Normas Técnicas Especiais Reguladoras do Emprego de Aditivos Químicos a Alimentos. D.O.U. - **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 28 de janeiro de 1961. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/DECRETO+N%C2%BA+50.040%2C+DE+24+DE+JANEIRO+DE+1961.pdf/bb735327-8381-4966-b9d9-627e158d6bcf>. Acesso em: 12 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da saúde - MS. **Doenças transmitidas por alimentos- 2019**. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/marco/10/apresenta-o-dados-gerais-dta-2017.pdf>>. Acesso em: 20 maio. 2019.

BREWER, M. S. Antioxidantes naturais: fontes, compostos, mecanismos de ação e potenciais aplicações. **Revisões Abrangentes em Ciência de Alimentos e Segurança Alimentar**, v. 10, n. 4, p. 221-247, 2011.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, n. 4, p. 347-363, 1998.

BURTON, G.W.; TRABER, M.G. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. **Annual Review of nutrition**, v.10, n. 1, p.357-382, 1990.

CAI, L.; CAO, A.; BAI, F.; LI, J.; Effect of ϵ -polylysine in combination with alginate coating treatment on physicochemical and microbial characteristics of Japanese

sea bass (*Lateolabrax japonicas*) during refrigerated storage. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 62, n. 2, p. 1053-1059, 2015.

CASAGRANDE, M.; ZANELA, J.; WAGNER, A. J.; BUSSO, C.; WOUK, J.; IURCKEVICZ, G.; MONTANHER, P. F.; YAMASHITA, f.; MALFATTI, C. R. M. Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: In vitro antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. **Industrial Crops and Products**, v. 125, p. 207-219, 2018.

CASTRO-ROSAS, J.; FERREIRA-GROSSO, C. R.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; RANGEL-VARGAS, E.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L.; GUZMÁN-ORTIZ, F. A.; FALFAN-CORTES, R. N. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food - A review. **Food Research International**, v. 102, p.575-587, 2017.

CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍREZ, J. A.; MANUEL, V. Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 136-148, 2017.

CHEN, B.; XU, M. Natural Antioxidants in Foods. **Encyclopedia of Food Chemistry**, p. 180-188, 2019.

CLAPP, N. K.; TYNDALL, R. L.; CUMMING, R. B.; Hiperplasia de ductos biliares hepáticos em camundongos após administração a longo prazo de hidroxitolueno butilado. **Toxicologia de Alimentos e Cosméticos**, v. 11, n. 5, p. 847-849, 1973.

COMAPOSADA, J.; GOU, P.; MARCOS, B.; ARNAU, J. Physical properties of sodium alginate solutions and edible wet calcium alginate coatings. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 212-219, 2015.

COSTA, P.; ALMEIDA, M. O.; LEMOS, M.; ARRUDA, C.; CASOTI, R.; SOMENSI, L. B.; BOEING, T.; MARIOTT, M.; SILVA, R. C. M. V. A. F.; STEIN, B. D. P.; SOUZA, P.; SANTOS, A. C.; BASTOS, J. K.; SILVA, L. M.; ANDRADE, S. F. Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 226, n. 8, p. 82-89, 2018.

COSTA, L. C.; SANTOS, L. R.; FRANÇA, R.; DAVINI, G.; SHIRAI, M. A. Aplicação de diferentes revestimentos comestíveis na conservação pós-colheita de goiabas (*Psidium guajava* L.). **Brazil Journal of Food Research**, v. 8, n. 2, p. 16-31, 2017

DAIRIKI, J.; SILVA, T. B. A. Revisão de literatura: exigências nutricionais do tabaqui – compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. **Embrapa Amazônia Ocidental-Documentos (INFOTECA-E)**, v. 91, p. 44, 2011.

DAVIDSON, P. M.; CRITZER, F. J.; TAYLOR, T. Naturally occurring antimicrobials for minimally processed foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 4, n. 1, p.163-190, 2013.

DEHGHANI, S.; HOSSEINI, S. V.; REGENSTEIN, J. M. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. **Food Chemistry**, v. 240, n. 8, p.505-513, 2018.

DELBARRE-LADRAT, C.; CHÉRET, R.; TAYLOR, R.; VERREZ-BAGNIS, V. Trends in post mortem aging in fish: understanding proteolysis and disruption of myofibrillar structure. **Critical Reviews on Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 5, p. 409-421, 2006.

DHALL, R. K. Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 5, p. 435-450, 2013.

DUMAN, M.; ÖZPOLAT, E. Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) fillets during chilled storage. **Food Chemistry**, v. 189, n.15, p. 80-85, 2015.

ELKHENANY, H.; EL-BADRI, N; DHAR, M. Green propolis extract promotes in vitro proliferation, differentiation, and migration of bone marrow stromal cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 115, n. 8, p. 82-89, 2019.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 811-819, 2015.

EVANGELISTA, N. P.; OGAWA, N. B. P; OGAWA, M. Determinação do óxido de trimetilamina (OTMA) e trimetilamina (TMA) em pescado. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 2, n. 2, p. 168- 177, 2000.

FAIDI, A.; LASSOUED, M. A.; BECHEIKH, M. E.H.; TOUATI, M.; STUMBÉ, J. F.; FARHAT, F. Application of sodium alginate extracted from a Tunisian brown algae *Padina pavonica* for essential oil encapsulation: Microspheres preparation, characterization and in vitro release study. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 136, p. 386-394, 2019.

FENG, W.; FENGJUN, S.; WANG, Q.; XIONG, W.; QIU, X.; DAI, X.; XIA, P. Epidemiology and resistance characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the respiratory department of a hospital in China. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 8, n. 8, p. 142-147, 2017.

FERNANDES-SILVA, C. C.; SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; BREYER, E. D. H.; NEGRI, G. Chemical profiling of six samples of Brazilian propolis. **Química Nova**, v. 36, n. 2, p. 237-240, 2013.

FERREIRA, J. M.; NEGRI, G. Composição química e atividade biológica das própolis brasileiras: verde e vermelha. **ACTA Apícola Brasileira**, v. 6, n. 1, p. 06-15, 2018.

FREITAS, A. S.; CUNHA, A.; CARDOSO, S. M.; OLIVEIRA, R.; ALMEIDA-AGUIAR, C. Constancy of the bioactivities of propolis samples collected on the same apiary over four years. **Food Research International**, v. 119, p. 622-633, 2019.

FOGAÇA, F. H. S.; VIEIRA, S. G. A.; ARAÚJO, T. D. S.; SANTOS-FILHO, L. G. A.; MAGALHÃES, J. A.; COSTA, N. D. L. Oxidação lipídica em filés de tambaqui (*Colossoma macropomum*) defumados com alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **PUBVET**, v. 8, n. 10, p. 171-7, 2014.

GALUS, S.; KADZINSKA, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, n. 2, p. 273-283, 2015.

GANIARI, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 70-82, 2017.

GARCEZ, R. C. S.; PRADO, G. F.; PYÑEIRO, J. I. G.; NETO, E. B. B. Avaliação do ganho de peso do tambaqui cultivado com diferentes taxas de proteínas na alimentação. **Biota Amazônia**, v. 6, n. 1, p. 40-45, 2016.

GROGAN, M. W. Toxicidade da ingestão de BHT. **Western Journal of Medicine**, v. 145, n. 2, p. 245, 1986.

GUYON, C.; MEYNIER, A.; LAMBALLERIE, M. Oxidação de proteínas e lipídeos em carne: uma revisão com ênfase em tratamentos de alta pressão. **Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 50, p. 131-143, 2016.

HAMAN, N.; ROMANO, A.; ASADUZZAMAN, M.; FERRENTINO, G.; BIASIOLI, F.; SCAMPICCHIO, M. A microcalorimetry study on the oxidation of linoleic acid and the control of rancidity. **Talanta**, v. 164, p. 407-412, 2017.

HASSAN, B.; CHATHA, S. S. A. S.; HUSSAIN, A.; ZIA, K. M.; AKHTAR, N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, n.8, p. 1095-1107, 2018.

HASSOUN, A.; ÇOBAN, Ö. E. Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. **Trends In Food Science & Technology**, v. 68, p. 26-36, 2017.

HEYDARI, R.; BAVANDI, S.; JAVADIAN, S. R. Effect of sodium alginate coating enriched with horsemint (*Mentha longifolia*) essential oil on the quality of bighead carp fillets during storage at 4°C. **Food Science & Nutrition**, v. 3, n. 3, p. 188-194, 2015.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Boletim informativo**. Rio de Janeiro: IBGE, 2017. (Coordenação de Agropecuária,

Pesquisa da Pecuária Municipal). Estatística da Produção Pecuária Municipal, v. 45, p. 1–9, 2017.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2016. (Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal). Estatística da Produção Pecuária Municipal, v. 44, p. 1-51, 2016.

INDYARA, C. L. A. V.; VALIATTI, T. B.; SOBRAL, F. O. S.; ROMÃO, N. F.; FONSECA, C. X.; OLIVEIRA, U. A. Análise microbiológica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na feira municipal de Ariquemes, Estado de Rondônia, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 2, p. 67-73, 2016.

JACOBSEN, C. Oxidative Rancidity. **Encyclopedia of Food Chemistry**, p. 261-269, 2019.

JIANG, J.; XIONG, Y. L. Natural antioxidants as food and feed additives to promote health benefits and quality of meat products: A review. **Meat Science**, v. 120, p. 107-117, 2016.

KACÁNIOVÁ, M.; TERENTJEVA, M.; VUKOVIC N.; PUCHALSKI, C.; ROYCHOUDHURY, S.; KUNOVÁ, S.; KLŪGA, A.; TOKÁR, M.; KLUZ, M.; IVANIŠOVÁ, E. The antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas* spp. isolated from fish. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 8, p. 1108-1116, 2017.

KAROUI, R.; HASSOUN, A.; ETHUIN, P. Front face fluorescence spectroscopy enables rapid differentiation of fresh and frozen-thawed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. **Journal of food engineering**, v. 202, p. 89-98, 2017.

LEISNER, J. J.; GRAM, L. Spoilage of fish. **Encyclopedia of Food Microbiology**, v. 5, n. 8, p. 932-937, 2014.

LI, X.; DU, X.; LIU, Y.; TONG, L. Rhubarb extract incorporated into an alginate-based edible coating for peach preservation. **Scientia Horticulturae**, v. 257, p.108685-108690, 2019.

MAIANGWA, J.; MOHAMAD ALI, M. S.; SALLEH, A. B.; ABD RAHMAN, R. N. Z. R.; SHARIFF, F. M.; LEOW, T. C. Adaptational properties and applications of cold-active lipases from psychrophilic bacteria. **Extremophiles**, v. 19, n. 2, p. 235-247, 2015.

MARESCA, D.; PRISCO, A.; LA STORIA, A.; CIRILO, T.; ESPOSITO, F.; MAURIELLO, G. Microencapsulation of nisin in alginate beads by vibrating technology: Preliminary investigation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, n. 8, p. 436-443, 2016.

MENDES, J. M; INOUE, L. A. K. A.; JESUS, R. S. Influence of transport stress and slaughter method on *rigor mortis* of tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Brasilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 2, p. 162–169, 2015.

MONROY, Y. M.; RODRIGUES, R. A. F.; RODRIGUES, M. V. N.; SANT'ANA, A. S.; SILVA, B. S.; CABRAL, F. A. Extracts of Brazilian green propolis obtained by conventional processes and by high pressure processes with supercritical carbon dioxide, ethanol and water. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.130, n. 8, p. 189-197, 2017.

MORALES, L. E.; HIGUCHI, A. Is fish worth more than meat? – How consumers' beliefs about health and nutrition affect their willingness to pay more for fish than meat. **Food Quality and Preference**, v. 65, n. 8, p.101-109, 2018.

MOURA, C. M. C.; ABREU COSTA, J.; SOUSA, A. M.; SANTOS FILHO, J. H.; BACELAR, R. G. A.; OLIVEIRA SANTOS, J. T.; MURATORI, M. C. S. Avaliação da qualidade microbiológica de filés de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) e do gelo e a interação dos fatores após armazenagem. **Medicina Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 10-16, 2018.

NEHA, K.; HAIDER, M. R.; PATHAK, A.; YAR, M.S. Perspectivas medicinais de antioxidantes: uma revisão. **Revista Européia de Química Medicinal**, v. 178, p.687-704, 2019.

NIEVA-ECHEVARRÍA, B.; MANZANOS, M. J.; GOICOECHEA, E.; GUILLÉN, M. D. 2, 6-Di-tert-butil-hidroxitolueno e seus metabólitos em alimentos. **Revisões Abrangentes em Ciência de Alimentos e Segurança Alimentar**, v. 14, n. 1, p. 67-80, 2015.

NIMSE, S. B.; PAL, D. Radicais livres, antioxidantes naturais e seus mecanismos de reação. **Rsc Advances**, v. 5, n. 35, p. 27986-28006, 2015.

NOVOSLAVSKIJ, A. TERENTJEVA, M.; EIZENBERGA, I.; VALČIŅA, O.; BARTKEVIČS, V.; BĒRZIŅŠ, A. Major foodborne pathogens in fish and fish products: a review. **Annals of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 1-15, 2015.

OCAÑO-HIGUERA, V. M.; MARQUEZ-RÍOS, E.; CANIZALES-DÁVILA, M.; CASTILLO-YÁÑEZ, F. J.; PACHECO-AGUILAR, R.; LUGO-SÁNCHEZ, M. E.; GARCÍA-OROZCO, K. D.; GRACIANO-VERDUGO, A.Z. Post mortem changes in cazon fish muscle stored on ice. **Food Chemistry**, v. 116, n. 4, p. 933-938, 2009.

OLEGÁRIO, L. S.; ANDRADE, J. K. S.; ANDRADE, G. R. S.; DENADAI, M.; CAVALCANTI, R. L.; SILVA, M. A. A. P.; NARAIN, N. Chemical characterization of four Brazilian brown propolis: An insight in tracking of its geographical location of production and quality control. **Food Research International**, v. 123, p. 481-502, 2019.

OPSENICA, D. M.; RISTIVOJEVIĆ, P.; TRIFKOVIĆ, J.; LUŠIĆ, I. V. D.; TEŠIĆ, Ž. Fingerprinting and Pattern Recognition Methods in the Assessment of Authenticity of Poplar-Type Propolis. **Journal of Chromatographic Science**, v. 54, n. 7, p.1077-1083, 2016.

ORBAN, E.; NEVIGATO, T.; DI LENA, G.; MASCI, M.; CASINI, I.; CAPRONI, R.; RAMPACCI, M. Total volatile basic nitrogen and trimethylamine nitrogen levels during ice storage of European hake (*Merluccius merluccius*): A seasonal and size differentiation. **Food Chemistry**, v. 128, n. 3, p. 679-682, 2011.

PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMAN, J. F.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; F. Y. FUJIYARA. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1100-1103, 2004.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classification of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. **Mensagem Doce**, v. 58, n. 2, p. 2-7, 2000.

PAYANDAN, E.; SAYYED-ALANGI, S. Z.; SHAMLOOFAR, M.; KOOHSARI, H. Estudo da composição química e eficácia de diferentes extratos da própolis Iraniana nos parâmetros microbiológicos e sensoriais da Carne de *Cyprinus carpio* picada a 4 °C. **Jornal de Tecnologia de Produtos Alimentares Aquáticos**, v. 26, n. 5, p. 593-603, 2017.

PEIXEBR- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA- **Anuário PEIXEBR da Piscicultura 2018.** Disponível <<https://www.peixebr.com.br/Anuario2018/AnuarioPeixeBR2018.pdf>> Acesso: 15 jul. 2019.

PETER, C. M.; PICOLI, T.; ZANI, J. L.; LATOSINSKI, G. S.; LIMA, M.; VARGAS, G. D.; HÜBNER, S. O.; FISCHER, G. Atividade antiviral e virucida de extratos hidroalcoólicos de própolis marrom, verde e de abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*) frente ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e ao vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 7, p. 667-675, 2017.

PISOSCHI, A. M.; POP, A.; GEORGESCU, C.; TURCOS, V.; OLAH, N. K.; MATHE, E. An overview of natural antimicrobials role in food. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, n. 8, p.922-935, 2018.

POBIEGA, K.; KRASNIEWSKA, K.; GNIEWOSZ, M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 83, n. 8, p. 53-62, 2019.

QIU, L.; ZHANG, M.; TANG, J.; ADHIKARI, B.; CAO, P. Innovative technologies for producing and preserving intermediate moisture foods: A review. **Food Research International**, v. 116, p. 90-102, 2019.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

RIBEIRO, J. S.; SANTOS, M. J. M. C.; SILVA, L. K. R.; PEREIRA, L. C. L.; SANTOS, I. A.; LANNES, S. C. S.; SILVA, M. V. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, v. 148, p.181-188, 2019.

RODRIGUES, B. L.; MÁRSICO, L. R.; CAMARINHA, C. C.; MANO, S. B.; JUNIOR, C. A. C. Physical-chemical quality of fish used for making sushi and sashimi tuna and salmon marketed in Rio de Janeiro, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 5, p. 1847-1854, 2012.

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**, v.10, n. 2, p. 75-81, 2004.

SALAZAR, G. J. T.; SOUSA, J. P.; LIMA, C. N. F.; LEMOS, I. C. S.; DA SILVA, A. R. P.; FREITAS, T. S.; COUTINHO, H. D. M.; DA SILVA, L. E.; DO AMARAL, W.; DESCHAMPS C. Phytochemical characterization of the *Baccharis dracunculifolia* essential oil and antibacterial activity evaluation. **Industrial Crops and Products**, v. 122, n. 8, p. 591-595, 2018.

SALGUEIRO, F. B; CASTRO, R. N. Comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. **Química Nova**, v. 39, n. 10, p. 1192-1199, 2016.

SAMPELS, S. The Effects of Storage and Preservation Technologies on the Quality of Fish Products: A Review. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 6, p. 1206-1215, 2015.

SANTIAGO, J. A. S.; ARAÚJO, P. F. R.; SANTIAGO, A. P.; DE CARVALHO, F. C. T.; VIEIRA, R. H. S. F. Bactérias patogênicas relacionadas à Ingestão de pescados–revisão. **Arquivo de Ciências do Mar**, v. 46, n. 2, p. 92-103, 2013.

SANTOS, E. H. B.; ALVARENGA, F. K. M.; NOGUEIRA, S. M. V; RIBEIRO, I. C. D. evaluation of sanitary conditions in the fish commercialization in a fish market. **Journal of Health Sciences**, v.18, n. 3, p. 151-158, 2016.

SANTOS, E. J. R.; GALENO, L. S.; BASTOS, L. S.; COSTA, T. F.; CARVALHO, I. A.; COSTA, F. N. Sanitary hygienic quality of tambaqui (*Colossoma macropomum*) marketed in the city of São Luís-MA. **Ciência Animal Brasileira**, v. 20, n. 1-12, 2019.

SASAKI, Y. F.; KAWAGUCH, I. S.; KAMAYA, A.; OHSHITA, M.; KABASAWA, K.; IWAMA, K. The comet with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutation Research**, v. 519, n. 1-2, p. 103-119, 2002.

SAWAYA, A. C. H. F.; CUNHA, I. B. S.; MARCUCCI, M. C. Métodos analíticos aplicados a diversos tipos de própolis brasileiras. **Química Central Journal**, v. 5, n. 1, p. 27, 2011.

SCHYVENS, C. Food Additives: Antioxidants. **Encyclopedia of Food Safety**, v. 5, n. 8, p. 455-458, 2014.

SEAFOODBRASIL. Jazidas de atum, 2018. Disponível <<http://www.seafoodbrasil.com.br/revista/seafood-brasil-28>> Acesso em: 15 Jul. 2019.

SEAFOODBRASIL. Os pilares amazônicos, 2015 Disponível <https://issuu.com/seafoodbrasil/docs/seafood_brasil_8>. Acesso em: 28 Jul. 2019.

SEIBERT, J. B.; BAUTISTA-SILVA, J. P.; AMPARO, T. R.; PETIT, A.; PERVIER, P.; ALMEIDA, J. C. d. S.; AZEVEDO, M. C.; SILVEIRA, B. M.; BRANDÃO, G. C.; SOUZA, G. H. B.; TEIXEIRA, L. F. M.; SANTOS, O. D. H. Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. **Food Chemistry**, v. 287, p.61-67, 2019.

SEKHON-LOODU, S.; WARNAKULASURIYA, S. N.; RUPASINGHE, V.; SHAHIDI, V. F. Antioxidant ability of fractionated apple peel phenolics to inhibit fish oil oxidation. **Food Chemistry**, v. 140, n. 1-2, p. 189-196, 2013.

SFORCIN, J. M. Propriedades biológicas e aplicações terapêuticas da própolis. **Pesquisa de Fitoterapia**, v. 30, n. 6, p. 894-905, 2016.

SHAHIDI, F.; ABAD, A. Lipid-Derived Flavours and Off-Flavours in Food. **Encyclopedia of Food Chemistry**, v. 3, n. 8, p. 182-192, 2019.

SILVA, C. C. F.; SALATINO, A.; MOTTA, L. B.; NEGRI, G.; SALATINO, M. L. F. Chemical characterization, antioxidant and anti-HIV activities of a Brazilian propolis from Ceará state. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 8, p. 1-10, 2019.

SILVA-CARVALHO, R.; BALTAZAR, F.; ALMEIDA-AGUIAR, C. Própolis: um produto natural complexo com uma infinidade de atividades biológicas que podem ser exploradas para o desenvolvimento de medicamentos. **Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências**, v. 2015, n. 8, p. 29, 2015.

SILVA, A. T. F.; ROCHA, P. G. G.; FONSECA FILHO, L. B.; COSTA, C. A., SANTOS NASCIMENTO, J. C.; CARVALHO NETO, P. M. Alterações microbianas dos produtos de pescados curados: Revisão. **Pubvet**, v. 11, n. 07, p. 646-743, 2017.

SKOWRON, K.; KWIECIŃSKA-PIROG J.; GRUDLEWSKA, K.; SWIECA, A.; PALUSZAK, Z.; BAUZA-KASZEWSKA, J.; WALECKA-ZACHARSKA, E.; GOSPODAREK -KOMKOWSKA, E. The occurrence, transmission, virulence and antibiotic resistance of *Listeria monocytogenes* in fish processing plant. **International Journal of Food Microbiology**, v. 282, n. 8, p. 71-83, 2018.

SOARES, K. M. P.; GONCALVES, A. A. Qualidade e segurança do pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 1-10, 2012.

SONG, Y.; LIU, L.; SHEN, H.; VOCÊ, J.; LUO, Y.; Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). **Food Control**, v. 22, n. 3-4, p. 608-615, 2011.

SOUSA, F. A.; RODRIGUES, R. A.; ARRUDA, F. A.; DOS SANTOS, W. L. M.; DOS SANTOS, T. M. Caracterização higiênico-sanitária e tecnológica dos pescadores e da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) comercializada no mercado municipal de Salinas-MG. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 197-200, 2018.

SOUZA, R. C.; CAMPECHE, D. F. B.; CAMPOS, R. M. L.; FIGUEIREDO, R. A. C. R.; MELO, J. F. B. Feeding frequency for tambaqui juveniles. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 3, p. 927-932, 2014.

TAVASSOLI-KAFRANI, E.; SHEKARCHIZADEH, H.; MASOUDPOUR-BEHABADI, M. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, n. 10, p. 360-374, 2016.

THAMNOPOULOS, I. I.; MICHAILIDIS, G. F.; FLETOURIS, D. J.; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M. G.; ANGELIDIS, A. S. Inhibitory activity of propolis against *Listeria monocytogenes* in milk stored under refrigeration. **Food Microbiology**, v. 73, p. 168-176, 2018.

TORETI, V. C.; SATO, H. H.; PASTORE, G. M.; PARK, Y. K. Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, n. 8, p. 1-13, 2013.

TORRES, E. F.; RODRIGO, D.; MARTÍNEZ, A. Preservation of Foods. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 491-496, 2016.

VANDEMOORTELE, A.; MEULENAER, B. Reactivity of Lipid Oxidation Products in Foods – Is Malondialdehyde a Reliable Marker? **Encyclopedia of Food Chemistry**, p. 468-477, 2019.

VARGAS-SANCHEZ, R. D.; TORRESCANO-URRUTIA, G. R.; FÉLIX, E. A.; CARVAJAL-MILLÁN, E.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; VALLEJO-GALLAND, B.; TORRES-LLANEZ, M. J.; SÁNCHEZ-ESCALANTE, A. Antioxidant and antimicrobial activity of commercial propolis extract in beef patties. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 8, p. 1499-1504, 2014.

VEIGA, R. S.; MENDONÇA, S.; MENDES, P. B.; PAULINO, N.; MIMICA, M. J.; LAGAREIRO NETTO, A. A.; LIRA, I. S.; LOPEZ, B. G. C.; NEGRÃO, M. C.; MARCUCCI, M. C. Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 4, p.911-920, 2017.

VIERA, V. B.; PIOVESAN, N.; MORO, K. I. B.; RODRIGUES, A. S.; SCAPIN, G.; ROSA, C. S. Preparação e análise microbiológica de linguiça toscana com adição de extrato de própolis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36, n. 8, p. 37-41, 2016.

VIVEKANANDHAN, G.; HATHA, A. A. M; LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Prevalence of *Aeromonas hydrophila* in fish and prawns from the seafood market of Coimbatore, South India. **Food Microbiology**, v. 22, n. 1, p. 133-137, 2005.

WANG, L. The Storage and Preservation of Seafood. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**, p. 619-624, 2019.

WANG, W.; ASIMAKOPOULOS, A. G.; ABAULNAJA, K. O.; COVACI, A.; GEVAO, B.; JOHNSON-RESTREPO, B.; KUMOSANI, T. A.; MALARVANNAN, G.; MINH, T. B.; LUA, H. B.; NAKATA, H.; SINHA, R. K. KANNAN, K. Synthetic phenolic antioxidants and their metabolites in indoor dust from homes and microenvironments. **Ciência e Tecnologia Ambiental**, v. 50, n.1, p. 428-434, 2015.

WANG, W; KANNAN, K. Quantitative identification of and exposure to synthetic phenolic antioxidants, including butylated hydroxytoluene, in urine. **Environment International**, v. 128, p. 24-29, 2019.

WEI, Q.; WANG, X.; SUN, D. W.; PU, H. Rapid detection and control of psychrotrophic microorganisms in cold storage foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, n. 8, p. 453-464, 2019.

WELLS, N.; YUSUFU, D.; MILLS, A. Colourimetric plastic film indicator for the detection of the volatile basic nitrogen compounds associated with fish spoilage. **Talanta**, v. 194, p. 830-836, 2019.

WU, T.; GE, Y.; LI, Y.; XIANG, Y.; JIANG, Y.; HU, Y. Quality enhancement of large yellow croaker treated with edible coatings based on chitosan and lysozyme. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1072-1079, 2018.

XIE, M.; WANG, J.; ZHAO, H. A PVA film for detecting lipid oxidation intended for food application. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 273, n. 8, p. 260-263, 2018.

ZHAO, Y. Edible Coatings for Extending Shelf-Life of Fresh Produce During Postharvest Storage. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**, v. 2, p. 506-510, 2019.

ZHANG, Y.; HOLMAN, B.W.; PONNAMPALAM, E.N.; KERR, M.G.; BAILES, K.L.; KILGANNON, A. K.; COLLINS, D.; HOPKINS, D.L. Understanding beef flavour and overall liking traits using two different methods for determination of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). **Meat Science**, v. 149, p. 114-119, 2019.

ZOTTA, T.; PARENTE, E.; IANNIELLO, R. G.; DE FILIPPIS, F.; RICCIARDI, A. Dynamics of bacterial communities and interaction networks in thawed fish fillets during chilled storage in air. **International Journal of Food Microbiology**, v. 293, n. 8, p. 102-113, 2019.

CAPÍTULO 2

RESPOSTAS FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAL DO REVESTIMENTO EM BICAMADA DE ALGINATO DE SÓDIO INCORPORADO COM PRÓPOLIS VERDE EM FILÉS DE TAMBAQUI EM ESTOCAGEM REFRIGERADA.

Artigo a ser submetido á Revista Food Control

**RESPOSTAS FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAL DO
REVESTIMENTO EM BICAMADA DE ALGINATO DE SÓDIO
INCORPORADO COM PRÓPOLIS VERDE EM FILÉS DE TAMBAQUI EM
ESTOCAGEM REFRIGERADA**

Alexsandra Iarlen Cabral Cruz^a, Milena da Cruz Costa^a, Jessica Ferreira Mafra^a, Mariza Alves Ferreira^a, Fabricio Mendes Miranda^b, Floricéa Magalhães Araújo^c, João Albany Costa^d, Yuji Nascimento Watanabe^e, Norma Suely Evangelista-Barreto^a

^aCentro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas-CCAAB, Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura-NEPA. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

^bTécnico. Laboratório de Química da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. UFRB, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

^cDocente. Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia, Brasil. - UFBA, Salvador, Bahia, Brasil.

^dDocente. Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

^eDocente. Centro de Formação de Professores da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

Destaques

- Foi verificado a atividade antimicrobiana e antioxidante da própolis verde.
- Níveis baixos de TBA e N-BVT foram observados nos filés revestidos.
- Os filés revestidos apresentaram maior retenção de umidade.
- O revestimento aumentou a qualidade microbiológica e físico-química dos filés.
- Os filés de tambaqui revestidos foram aceitos sensorialmente.

Resumo

Esse estudo investigou a atividade antioxidante e antibacteriana do extrato de própolis e verificou a eficiência do revestimento de alginato de sódio incorporado com própolis verde sobre a qualidade físico-química, microbiológica e aceitação sensorial de filés de tambaqui (*Colossoma macropomum*) armazenados sob refrigeração. Inicialmente foi verificada a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato da própolis verde (EPV). Para o revestimento, os filés foram revestidos por imersão em solução de alginato de sódio (AS) + EPV a 25 mg mL⁻¹, e armazenados a 4 °C. Os atributos microbiológicos (contagem viável total e coliformes a 45°C), e físico-químicos (pH, bases voláteis totais - N-BVT e oxidação lipídica) foram avaliados durante 30 dias. Também foi realizado teste de aceitação sensorial do produto. O EPV apresentou atividade antioxidante, com a presença de fenóis, flavonoides, taninos, esteroide, saponina e alcaloide, e atividade antimicrobiana frente as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. O revestimento com a própolis inibiu a presença de coliformes a 45 °C e reduziu a carga microbiana de psicrotróficos em quatro ciclos logarítmicos quando comparado ao grupo controle (11,37 log UFC g⁻¹) ao 15° dia de armazenamento, além de ter aumentado a vida útil desses filés em aproximadamente 11 dias, pois o grupo controle atinge o limite tolerável para psicrotróficos com 4 dias de armazenamento. O revestimento aumentou a vida útil dos filés de tambaqui em 9 dias em relação aos valores de pH, e 7 dias para com relação aos valores de N-BVT e TBARS quando comparados ao grupo controle, e manteve maior retenção de umidade por 30 dias de armazenamento. Os filés de tambaqui revestidos com alginato de sódio e própolis foram bem aceitos sensorialmente (67%) com intenção de compra de 69%. De acordo com os resultados, o revestimento edível aumenta a vida útil de filés de tambaqui e mantém eficazmente a qualidade desses filés sob refrigeração por um período entre 7 a 11 dias de armazenamento.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana; antioxidante; peixe amazônico; vida útil.

Abstract

This study investigated the antioxidant and antibacterial activity of propolis extract and verified the efficiency of sodium alginate coating incorporated with green propolis on the physicochemical, microbiological quality and sensory acceptance of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fillets stored under refrigeration. Initially, the antioxidant and

antimicrobial activity of green propolis extract (EPV) was verified. For coating, the fillets were coated by immersion in sodium alginate (AS) + 25mg mL⁻¹ EPV solution. and stored at 4 °C. Microbiological (total viable count, coliforms at 45°C), physical and chemical (pH, total volatile bases - N-BVT and lipid oxidation) attributes were evaluated for 30 days. A sensory acceptance test of the product was also performed. EPV showed antioxidant activity, with the presence of phenols, flavonoids, tannins, steroids, saponin and alkaloids and activity antimicrobial against bacteria *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Propolis coating totally inhibited the presence of coliforms at 45 ° C and reduced the microbial load of psychrotrophs in four logarithmic cycles when compared to the control group (11.37 log UFC g⁻¹) on the 15th day of storage, and increased the shelf life of these fillets by approximately 11 days because the control group reaches the tolerable limit for psychrotrophs with 4 days of storage. The coating increased the shelf life of tambaqui fillets by 9 days from pH values and 7 days from N-BVT and TBARS values throughout storage when compared to the control group and maintained higher moisture retention for 30 days of storage. Tambaqui fillets coated with sodium alginate and propolis were well accepted sensory (67%) with purchase intent of 69%. According to the results, the edible coating increases the shelf life of tambaqui fillets and effectively maintains the quality of these fillets under refrigeration for a period of 7 to 11 days of storage.

Keywords: antimicrobial activity; antioxidant; amazon fish; shelf life.

1. Introdução

Entre os peixes produzidos em grande escala no Brasil, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) se destaca por ser a principal espécie nativa produzida. Em 2019 foi responsável por 39,8% da produção de peixes (SEAFOODBRASIL, 2019). O tambaqui é um peixe de clima tropical que apresenta elevado índice proteico e carne saborosa, oriundo das bacias dos rios Orinoco e Amazonas, cultivado em praticamente todos os estados da federação, é o principal peixe da região Amazônica (Fernandes, Doria, & Menezes, 2018, Lima, Noletto, Santos, Luiz, & Kirschnik, 2018).

No Brasil, o consumo de peixes nos últimos anos tem aumentado devido a conscientização dos consumidores quanto aos benefícios nutricionais do pescado e o fato de ser uma carne mais saudável quando comparada a outras fontes de proteína de origem animal (Jasour, Ehsani, Mehryar, & Naghibi, 2015; PEIXEBR, 2018). No entanto, a

composição química do peixe torna esse alimento favorável ao rápido crescimento e propagação de microrganismos que provocam alterações nas características sensoriais com consequente deterioração (Wu; Pu, & Sun, 2019). A deterioração não só causa perdas econômicas consideráveis, mas também induz riscos potenciais à saúde dos consumidores (Hui, Wei, Hailin, Jian, & Yuanyuan, 2016).

Para preservar os alimentos a indústria faz uso de várias tecnologias, como o congelamento, tratamento térmico, alta pressão, desidratação osmótica, irradiação, dentre outros. Apesar de eficientes, algumas dessas técnicas podem causar efeitos negativos sobre as características sensoriais dos alimentos, ou ser muito onerosas (Aubourg, 2016, Torres, Rodrigo & Martínez, 2016, Oliveira, Neto, Santos, Ferreira, & Rosenthal, 2017, Qiu, Zhang, Tang, Adhikari, & Cao, 2019, Tsironi & Taoukis, 2019). Conservantes como os sais (nitrito de potássio e nitrito de sódio) e antioxidantes sintéticos, como hidroxitolueno butilado - BHT e hidroxianisol butilado - BHA também tem sido muito empregado como conservantes químicos em alimentos, no entanto, são relacionados a efeitos tóxicos e carcinogênicos em seres humanos (Leão et al., 2017). Estes fatores têm contribuído para o desenvolvimento de pesquisas buscando métodos mais seguros e ecologicamente corretos para prolongar a vida útil dos alimentos.

Uma alternativa tem sido a aplicação de revestimentos edíveis usando compostos bioativos naturais com propriedades antimicrobianas e antioxidantes (Dehghani, Hosseini & Regenstein, 2018). Os Polifenóis de várias fontes naturais presente em plantas, pele de maçã, própolis, entre outros, foram relatados em revestimentos por apresentarem efeitos biológicos benéficos, entre eles atividade antimicrobiana (Mascheroni, Guillard, Nalin, Mora, & Piergiovanni, 2010, Matta, Tavera-Quiroz, & Bertola, 2019).

A riqueza de compostos bioativos presentes na própolis tem estimulado sua aplicação em alimentos (Pobiega, Kraśniewska, & Gniewosz, 2018). No Brasil, existe uma variedade de tipos própolis, entre os quais se destaca a própolis verde, substância resinosa de composição complexa elaborada pelas abelhas *Apis mellífera* de um arbusto nativo, *Baccharis dracunculifolia* (Machado et al., 2016, Costa et al., 2018). Dentre os principais compostos dessa própolis, estão o ácido caféico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, kaempferol e artepelin C (Szliszka et al., 2013).

Na literatura, diversas pesquisas relatam a utilização de extratos de própolis em revestimentos de diversos alimentos (Rollini, Mascheroni, Capretti, Coma & Musatti, 2017, Shavisi, Khanjari, Basti, Misaghi, & Shahbazi, 2017, Suárez Mahecha, Jiménez Toquica, & Díaz Moreno, 2014). No entanto, ainda não há relatos da aplicação de

revestimento edível usando própolis verde em filés de peixes gordos, como o tambaqui. Esta pesquisa teve como objetivo verificar a atividade antioxidante e antibacteriana do extrato de própolis verde e avaliar a eficiência do revestimento de alginato de sódio incorporado com própolis verde sobre a qualidade físico-química, microbiológica e aceitação sensorial de filés de tambaqui (*Colossoma macropomum*) armazenados sob refrigeração.

2. Material e métodos

2.1. Obtenção do extrato

O extrato de própolis verde - EPV a 20% foi adquirido comercialmente de um entreposto certificado por meio da revendedora Abmel em Cruz das Almas-BA. O extrato foi produzido no município de Goiânia (16° 40' 48'' S 49° 15' 18 W), Góias.

2.2. Triagem química do extrato

Foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Arun, Bhobe e Sattarkar (2013) para verificar a presença ou ausência de compostos bioativos no extrato, como alcaloides, flavonoides, triterpenoides e esteroides, taninos e saponinas.

2.3. Determinação do teor de fenóis e flavonoides totais

Para quantificar o teor de fenóis, alíquotas de 100 µL do extrato foram diluídos para 25 mL de metanol. Desta solução, uma alíquota de 100 µL foi agitada com 500 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 6 mL de água destilada por 1 min. Posteriormente 2 mL de Na₂CO₃ a 20% foram adicionados à mistura que foi agitada por 1 minuto. Após 2 h, a absorbância das amostras foi lida a 750 nm. A curva de calibração foi construída relacionando diferentes concentrações de ácido gálico (10 – 60 µg/mL) com suas respectivas absorbâncias com base na equação de calibração: $y = 0,0109x + 0,0143$ (R² = 0,9945). Os resultados foram expressos em mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por grama do extrato (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventós, 1999).

Para determinar o teor total de flavonóides, uma alíquota de 50 µL do EPV foi homogeneizado com uma solução metanólica de cloreto de alumínio (20 mg mL⁻¹) e armazenada no escuro por 30 min. Após esse período, a solução foi lida a 415 nm. A curva de calibração foi construída relacionando diferentes concentrações de rutina (0 – 100 µg/mL) com suas respectivas absorbâncias com base na equação de calibração: $y =$

$14,025x + 0,0722$ ($R^2 = 0,9999$). Os resultados foram expressos em mg de rutina por grama de extrato (Meda, Lamien, Romito, Millogo, & Nacoulma, 2005)

2.4. Ensaio de sequestro de radicais DPPH e ABTS⁺

A capacidade antioxidante foi determinada pelo método de varredura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico). Para o radical DPPH o extrato foi diluído nas concentrações 300; 1000; 2000; 4000; 6000 mg L⁻¹, e uma alíquota de 0,3 mL de cada diluição foi homogeneizado em 2,7 mL do radical DPPH. A solução foi colocada no escuro em repouso durante 30 min e lida a 515 nm. A curva de calibração foi construída com diferentes concentrações do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (0 – 60 µg/mL) com suas respectivas absorbâncias com base na equação de calibração: $y = 0,0135x + 0,0022$ ($R^2 = 0,9991$). Os resultados foram expressos em EC₅₀ (mg mL⁻¹) (Rufino et al., 2007a).

Para o radical ABTS alíquotas de 30 µL do EPV diluídos nas concentrações 200; 500; 800; 2000; 3000 mg L⁻¹ foram homogeneizadas em 3 mL do radical ABTS padronizada em 0,7 nm. A mistura foi armazenada no escuro por 6 minutos e lida em espectrofotômetro (Tecnal - UV 5100) a 734 nm. A curva de calibração foi construída com diferentes concentrações do padrão trolox (100 – 2000 µg/mL) com suas respectivas absorbâncias com base na equação de calibração: $y = -0,0003x + 0,6582$ ($R^2 = 0,9901$). Os resultados foram expressos em µmol de trolox por grama de extrato (Rufino et al., 2007b).

2.5. Atividade antibacteriana do extrato de própolis verde

Foram utilizadas as cepas padrões Gram negativas *Escherichia coli* ATCC25922 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC25923 e Gram positivas *Staphylococcus aureus* ATCC43300 e *Listeria monocytogenes* CERELA, pertencentes ao acervo do Laboratório de Microbiologia Ambiental e de Alimentos (LABMAA) no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura - NEPA da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

Para verificar a eficácia do EPV foi realizado o teste de microdiluição em placa seguindo a metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* [CLSI] (2016). A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) consistiu na distribuição de 100 µL de Caldo Muller-Hinton em poços da placa de Elisa. Posteriormente, adicionou-se 100 µL do extrato de EPV no primeiro poço e, após homogeneização, foi transferido para o segundo e assim sucessivamente. Por fim, obteve-se concentrações de 100 a 0,18 mg mL⁻¹. O inóculo foi padronizado a 0,5 da Escala Mac

Farland (1×10^8 UFC mL⁻¹) em espectrofotômetro (Spectrum SP1105) a 625 nm. Em seguida foi realizado a diluição da suspensão bacteriana 1:10 em solução salina a 0,85%, obtendo o inóculo (1×10^7 UFC mL⁻¹). Posteriormente, foi inoculado 10 µl (1×10^5 UFC mL⁻¹) em cada poço. As microplacas foram incubadas a 35 °C por 24 h. A CIM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de causar inibição do crescimento microbiano.

Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram retirados 10 µL das três últimas concentrações do extrato onde não houve crescimento bacteriano visível e semeados em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton com incubação a 35°C por 24h. A CBM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de causar a morte das células (CLSI, 2016).

2.6. Preparação da solução de revestimento

Para a solução de revestimento foi utilizada a metodologia proposta por Nisar et al. (2019) com adaptações. A dispersão do revestimento foi preparada com a solubilização de alginato de sódio (AS) a 1% em 300 mL de água destilada estéril a temperatura ambiente (25°C), e adição de glicerina a 1% em relação ao volume total como plastificante sob agitação constante (750 rpm) durante 2 h. O EPV foi adicionado na concentração final de 25mg mL⁻¹.

2.7. Preparação e revestimento dos files de tambaquis

Tambaquis pesando entre 6-8 Kg (2 Peixes) foram filetados em condições higiênicas sanitárias e os filés distribuídos em dois grupos com três repetições (15 filés de 80g por grupo) grupo controle -C (filés não revestidos) e grupo T1 (filés revestidos com AS a 1%+ EPV a 25 mg mL⁻¹). Os filés foram revestidos por imersão em dispersão na solução de revestimento por 60 segundos, drenados por 2 minutos, novamente imersos na solução de revestimento por 30 segundos, e drenados em telas de nylon em fluxo estéril por 4 a 6 horas de modo a formar o revestimento (Nisar et al., 2019). As amostras foram armazenadas em bandejas de polietileno, cobertas com filme PVC e mantidas a 4 °C para a avaliação de qualidade durante 30 dias. Análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas em intervalos de 5 dias.

2.8. Análises microbiológicas

Foi realizada a contagem padrão em placas de aeróbios psicrotróficos cultiváveis e coliformes a 45°C de acordo com as metodologias propostas no Bacteriological Analytical Manual (BAM) descritas por Silva et al. (2010).

2.9. Análises físico-químicas

2.9.1. pH e umidade

O pH e a umidade foram determinados segundo o Manual Métodos físico químicos para a análise de alimentos do Instituto Adolf Lutz (Ial, 2008).

2.9.2. Bases voláteis totais (N-BVT)

10 g das amostras foram transferidas para um balão de destilação de Kjeldahl com 300 mL de água, adicionado 2 gramas de óxido de magnésio e três gotas de silicone antiespumante. O balão foi ligado ao conjunto de destilação e mergulhado a extremidade afunilada do condensador em 15 mL de ácido sulfúrico 0,05 M contido em frasco Erlenmeyer de 250 mL. Adicionou-se três gotas do indicador vermelho de metila, a solução foi aquecida até ebulição e destilada por 25 minutos. Titulou-se o excesso de ácido sulfúrico 0,05 M com solução de hidróxido de sódio 0,1 M até viragem do indicador da cor vermelha para amarela. O resultado foi expresso em mg de nitrogênio por 100 g de carne (Ial, 2008).

2.9.3. Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

Seguiu-se a metodologia proposta por Vyncke (1970), a oxidação de lipídios das amostras foi realizada por meio da reação ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). No primeiro momento, foi homogeneizado 10 g das amostras em uma solução de ácido tricloroacético (TCA) a 7,5% e filtrada em papel de filtro qualitativo. Foram medidos 5 mL do filtrado, em triplicata, e adicionado 5 mL de ácido tiobarbitúrico a 0,02 M. A mistura foi aquecida em banho fervente a 100°C durante 40 min. para o desenvolvimento de uma coloração cor-de-rosa e depois resfriada em gelo. A leitura foi realizada por absorvância a 532 nm. As substâncias reativas ao TBARS foram expressas em miligramas de malonaldeído (MDA) eq/ kg da amostra.

2.10. Análise sensorial

A equipe de provadores foi composta por homens e mulheres maiores de idade não treinados, em função do hábito de consumo de peixe e interesse e disponibilidade em participar do teste sensorial, totalizando 66 provadores. Antes da análise, o presente estudo obteve autorização do comitê de ética (3.137.167), e então, os provadores assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE), elaborado conforme resolução CNS/MS N° 196/96.

Para avaliação da aceitação dos filés revestidos, estes foram levemente salgados e grelhados para serem servidos aos provadores. Utilizou-se a escala estruturada mista com intensidade de 1 a 9 para cada atributo: sabor, aroma, cor, textura e aspecto (aparência visual). Também se aplicou o teste de preferência com a escala estrutura de nove pontos, variando de 1 “gostei extremamente” a 9 “desgostei extremamente” e os testes de aceitação e intenção de compra, ambos com a escala de sete pontos variando de 7 “comeria frequentemente”, “compraria sempre” a 1 “não comeria”, “nunca compraria”, respectivamente (Minim, 2006).

2.11. Análises estatísticas

Os teores de fenóis e flavonoides e atividade antioxidante (DPPH e ABTS) foram submetidos a análise descritiva. Para as análises microbiológicas e os parâmetros físicos químicos foi realizado análise de correlação e regressão linear e para avaliar a relação entre os coeficientes de regressão realizou-se o teste t de student. Para os dados das características sensoriais foi utilizado análise de frequência, proporção e análise de componentes principais. Os dados foram processados no software SPSS- Statistics for Windows, versão 25.0 (IBM CORP, 2017).

3. Resultados e discussão

3.1- Atividade antioxidante do extrato de própolis verde

Na triagem química (Tabela 1) é possível observar que algumas das principais classes de metabólitos estão presentes no extrato de própolis verde, com exceção do triterpenoide. A combinação das diferentes substâncias naturais que compõem a própolis é essencial para sua atividade biológica (Fischer, Hubner, Vargas & Vidor 2008).

Tabela 1. Resultados da triagem química do extrato de própolis verde.

Extrato	Metabólitos secundários					
	Flavonoide	Tanino	Esteroides	Triterpenoide	Saponina	Alcaloide
Própolis verde	+	+	+	-	+	+

+ presença, - ausência

Entre os metabólitos presentes (Tabela 1), os alcaloides se destacam, pois possuem uma ampla gama de atividades biológicas, entre elas, a atividade antioxidante (Tian et al., 2018). Os taninos também apresentam relevância, de acordo com Amarowicz e Janiak (2019), os taninos presentes em alimentos e vegetais contribuem para o potencial antioxidante dos produtos alimentícios.

Contudo, a ação conjunta dos metabolitos contribui para uma atuação mais eficaz do extrato, Araújo et al. (2016), ao pesquisarem o perfil químico de extrato hidroalcoólico da própolis afirmam que a ação antioxidante da própolis pode ser atribuída ação sinérgica de fenóis, flavonoides, taninos, esteroides e saponinas, encontrados no extrato.

A quantificação de flavonoides, fenóis totais e da atividade antioxidante por meio dos métodos DPPH e ABTS no EPV é apresentada na Tabela 2. Os compostos fenólicos, do qual os ácidos fenólicos e flavonoides fazem parte são potenciais conservantes naturais de alimentos devido as suas propriedades antioxidantes e antibacterianas (Mark, Lyu, Lee, Parra-Saldívar, & Chen, 2019). Esses compostos podem atuar por efeito sinérgico sobre a atividade antimicrobiana, além de agir como doadoras de elétrons, protegendo as células contra espécies reativas de oxigênio (Casagrande et al., 2018).

Tabela 2. Teor de flavonoides e fenóis e atividade antioxidante do extrato de própolis

Extrato	Fenóis (mg de EAG/g)	Flavonoides (mg de rutina/g)	DPPH EC50 (mg mL ⁻¹)	ABTS (µmol de trolox/g)
Própolis verde	39,40 ± 0,19	7,29 ± 0,11	4,30 ± 0,11	24,05 ± 0,04

EAG - equivalentes de ácido gálico

Andrade et al. (2017), relataram valor de 90,55 ± 1,52 mg EAG por grama de extrato para fenóis totais e 59,45 ± 0,82 mg equivalentes de quercetina por grama de extrato para flavonoides em amostras de própolis verde, resultados estes mais elevados

dos que os encontrados na presente pesquisa (Tabela 2). No entanto, pode-se inferir com base na literatura (Salgueiro & Castro 2016), que a capacidade antioxidante da própolis não está associada à concentração de compostos fenólicos encontrados e sim à natureza química das substâncias fenólicas presentes no extrato. Em outros estudos (Nina et al. 2016, Socha, Gałkowska, Bugaj, & Juszcak, 2015), os pesquisadores verificaram que o extrato de própolis apresentou atividade antioxidante em decorrência da presença de compostos fenólicos. Assim, pode-se inferir que a presença destes no extrato de EPV explica a atividade antioxidante encontrada pelos ensaios DPPH e ABTS (Tabela 3).

Pesquisas realizadas por Salgueiro e Castro (2016), Nunes et al. (2012) e Andrade et al. (2017), também encontraram atividade antioxidante em amostras de extratos de EPV pelos métodos DPPH e/ou ABTS, porém, os resultados desses pesquisadores diferem dos encontrados no presente estudo. Essas diferenças estão relacionadas a composição fenólica de cada extrato, que varia de acordo com alguns fatores, entre eles, região geográfica em que a própolis foi produzida, condições climáticas e o tempo de coleta (Sawaya, Cunha, Marcucci, 2011, Machado et al., 2016). Além disso, vale destacar que o solvente utilizado na produção dos extratos também influencia na composição fenólica, uma vez que, diferentes solventes utilizados na extração podem extrair ou não determinado composto, podendo afetar seu potencial como antioxidante (Miguel, Nunes, Dandlen, Cavaco, & Antunes, 2014, Sun, Wu, Wang, & Zhang 2015).

A relação entre os compostos fenólicos e a atividade antioxidante foi verificada através dos coeficientes de correlação de Pearson (r), o qual mostrou uma correlação moderada entre os fenóis e os métodos DPPH (0,4885) e ABTS (0,4544), sugerindo uma boa relação do constituinte com o poder redutor do extrato. O resultado aqui apresentado corrobora com os dados de correlações entre os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante em amostras de própolis verde, apresentada por Bittencourt et al. (2015).

Com relação aos métodos DPPH e ABTS, a correlação apresentada foi considerada forte e positiva (0,7924), indicando que os dois métodos obtiveram respostas semelhantes e, portanto, podem ser utilizados para avaliar a capacidade antioxidante de extratos. Os resultados da correlação de Pearson, mostram ainda, estatisticamente, que os flavonoides não estão diretamente relacionados com a atividade antioxidante, uma vez que o coeficiente de correlação de Pearson não foi significativo para essa classe de substâncias pelos ensaios DPPH (-0,1834) e ABTS (0,1451).

3.2. Atividade antibacteriana do extrato de própolis

A atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis verde- EPV foi efetivo no controle do crescimento das bactérias testadas, com maior atividade antibacteriana para as bactérias Gram positivas do que as bactérias Gram negativas (Tabela 3). Esse fato pode estar relacionado à composição e as diferenças estruturais da parede celular das bactérias, uma vez que as bactérias Gram negativas possuem uma membrana externa de lipopolissacarídeos, impermeável a várias moléculas com ação antibacteriana, como os compostos fenólicos (Silva, Rodrigues, Feás, & Estevinho, 2012, Andrade et al., 2012).

A maior atividade do EPV foi observada sobre a bactéria *L. monocytogenes*, uma vez, que a concentração bactericida para essa bactéria foi menor (Tabela 3), isso é um fator positivo, por essa bactéria ser um microrganismo oportunista, associada comumente a infecções como listeriose e meningite, as quais podem ser potencialmente fatais em indivíduos imunocomprometidos e idosos (Amajoud et al., 2018).

Tabela 3. Atividade antimicrobiana do extrato de própolis verde frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas.

Bactérias	Extrato de Própolis verde	
	CIM (mg mL ⁻¹)	CBM (mg mL ⁻¹)
<i>S.aureus</i>	0,7	6,2
<i>L. monocytogenes</i>	0,18	0,37
<i>P. aeruginosa</i>	6,2	50
<i>E. coli</i>	12,5	50

CIM- Concentração mínima inibitória. CBM- Concentração mínima bactericida

A concentração inibitória e bactericida variou entre as bactérias, provavelmente porque o extrato pode apresentar mecanismo de ação diferente para cada microrganismo. Segundo Takaisi-Kikuni e Schilcher (1994), dentre os diferentes mecanismos de ação, a própolis pode inibir o crescimento microbiano por impedir a divisão celular, causar defeitos na parede celular, desorganizar o citoplasma, além de inibir a síntese proteica.

A atividade antimicrobiana do EPV é decorrente principalmente da presença de compostos fenólicos, como o ácido-p-cumárico, artepelin C e bacarina (Sousa, Furtado, Jorge, Soares, & Bastos, 2007, Costa et al., 2018). Viega et al. (2017) analisando a

atividade antibacteriana de EPV frente a cepas de *S. aureus* relataram valores de CIM variando de 0,07 a 0,39 mg mL⁻¹. Segundo os autores a eficácia da própolis pode ser relacionada ao conteúdo de artemelin C em sinergismo com outros constituintes encontrados no extrato.

3.3. Avaliação dos filés de tabaqui revestidos com alginato de sódio e extrato de própolis verde

3.3.1. Avaliação microbiológica

A contagem de aeróbios psicotróficos nos filés de tabaqui no grupo controle (C) e grupo revestidos com AS+EPV (T1) são apresentados na Fig 1. O grupo T1 apresentou contagens de psicotróficos mais baixas que o grupo C ao longo do período de armazenamento, demonstrando uma redução significativa ($t = 2,26^*$ GL=34; $p < 0,05$) na contagem microbiana dos filés tratados com AS+EPV em relação aos filés não tratados.

Para avaliar o crescimento de psicotróficos foi utilizado o limite estabelecido pela International Commission Microbiological Specifications for Foods que é de 7,0 log UFC g⁻¹ (ICMSF, 1988). Foi possível verificar através da Fig 1, que os filés revestidos com AS+EPV (T1) alcançaram este valor apenas com aproximadamente 15 dias de armazenamento, enquanto que os filés do grupo C atingiram esse limite ao 4º dia de armazenamento, ou seja, o revestimento com AS+EPV aumentou a vida útil dos filés em aproximadamente 11 dias e reduziu a carga microbiana em 4 ciclos logarítmicos quando se compara a contagem microbiana entre o grupo T1 e o grupo controle C- (log 11,370 UFC g⁻¹) ao 15º de armazenamento (Fig 1).

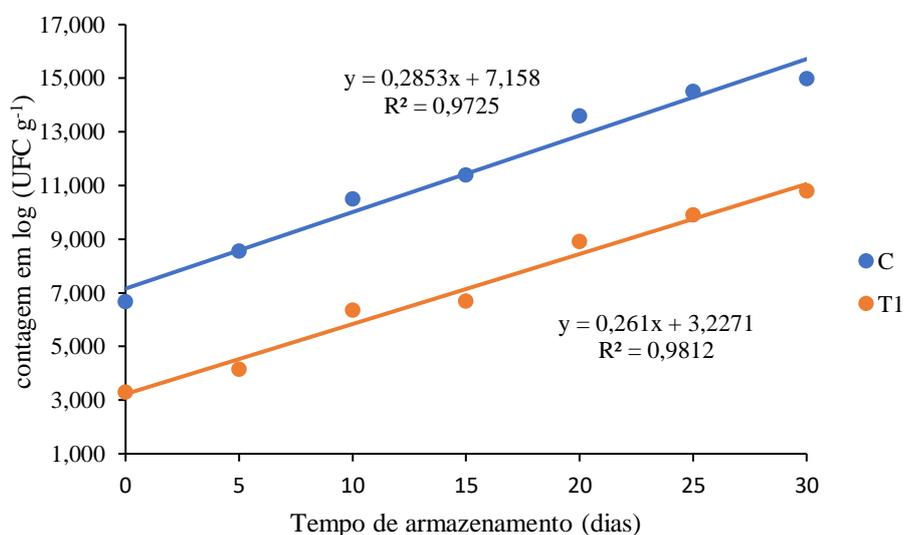


Fig 1. Contagem de bactérias psicrotóficas em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidos com AS+EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.

Para os coliformes a 45°C, os filés do grupo C apresentaram contagens que variaram de 2,01 a 2,67 log UFC g⁻¹, enquanto os filés do grupo T1 apresentaram redução de 100% da carga microbiana. Resultados semelhantes foram encontrados por Jafari, Kargozari, Ranjbar, Rostami e Hamedi (2017), ao relatarem redução na contagem de coliformes e psicrotóficos em filés de frango refrigerados usando extrato de própolis e quitosana.

Os resultados “in vivo” demonstram o potencial antimicrobiano do revestimento de AS e EPV na conservação de alimentos, principalmente com relação a própolis, pois os constituintes presentes no extrato de própolis podem aumentar a permeabilidade da membrana e inibir a motilidade bacteriana (Sforcin, 2016).

3.3.2. pH

Os valores de pH nos filés de tambaqui sem revestimento (C) apresentaram pH máximo de 8,52, enquanto nos filés revestidos (T1) o pH foi de 7,97 com 30 dias de armazenamento ($p < 0,01$) (Fig 2). De acordo com o Regulamento Técnico que fixa a identidade e as características de qualidade que o peixe deve apresentar, os valores de pH devem ser inferior ou igual a 7,0 (Brasil, 2017), sendo assim, o grupo revestido com AS+EPV (T1) apresentou boa qualidade, pois foi eficiente para manter os filés por aproximadamente 19 dias de armazenamento, uma vez, que a faixa de pH não excedeu 7,0, enquanto para o grupo C, os valores de pH atingem o limite tolerável com aproximadamente 10 dias de armazenamento (Fig 2). Isto é, o grupo T1 apresentou um aumento de 9 dias na vida útil desses filés.

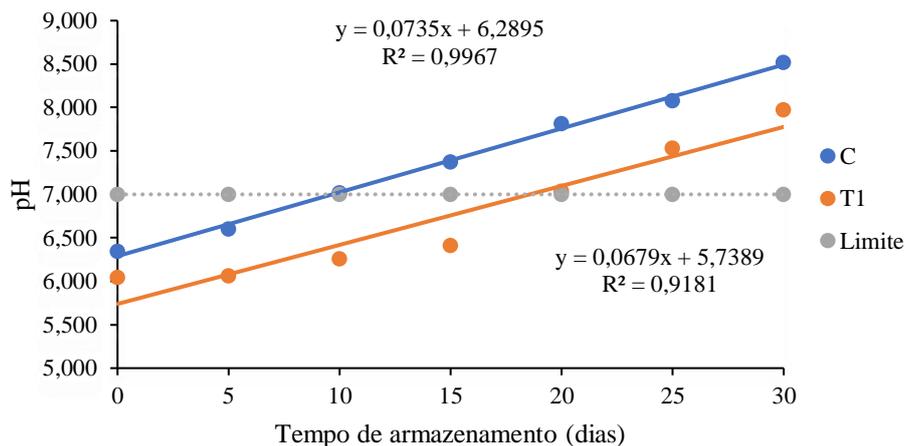


Fig 2. Valores de pH em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidos com AS+EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.

O aumento do pH ao longo do tempo (Fig 2) estar associado com a liberação de metabólitos de proteínas, como amônia e trimetilamina causados pela atividade de bactérias deteriorantes. Com 15 dias de armazenamento, os valores de pH do grupo C atingiram 7,37, período em que a carga microbiana se encontrava em $11,37 \log \text{ UFC g}^{-1}$. No grupo T1, o revestimento, ao inibir a carga microbiana, também reduziu a atividade das proteases endógenas (Araújo, Soares, & Góis, 2010). Valores que corroboram que estes dados foram citados por Duman e Ozpolat (2015), ao observarem que filés de tilápia tratados com extrato de própolis apresentaram valores mais baixos de pH quando comparados ao controle.

3.3.3. Umidade

O controle da transferência de umidade assegura a estabilidade e a segurança do produto durante a distribuição e o armazenamento (Aloui, Khwaldia, Slama, & Hamdi, 2011). Na Fig 3, é possível observar que os filés revestidos (T1) obtiveram maior retenção de umidade ao longo dos 30 dias quando comparado ao grupo controle (C).

O maior percentual na perda de umidade em amostras não revestidas ocorre devido à desnaturação da miosina que reduz a capacidade de hidratação das fibras dessa proteína. Uma vez que as miofibrilas constituem uma porção significativa dos músculos dos peixes, tais fenômenos levam à perda de água. Outro fator relacionado a perda de umidade na

carne de peixe não revestida é o processo de drip que aumenta os processos oxidativos e hidrolíticos causados por microrganismos (Mohan, Ravishankar, Lalitha, & Gopal, 2012).

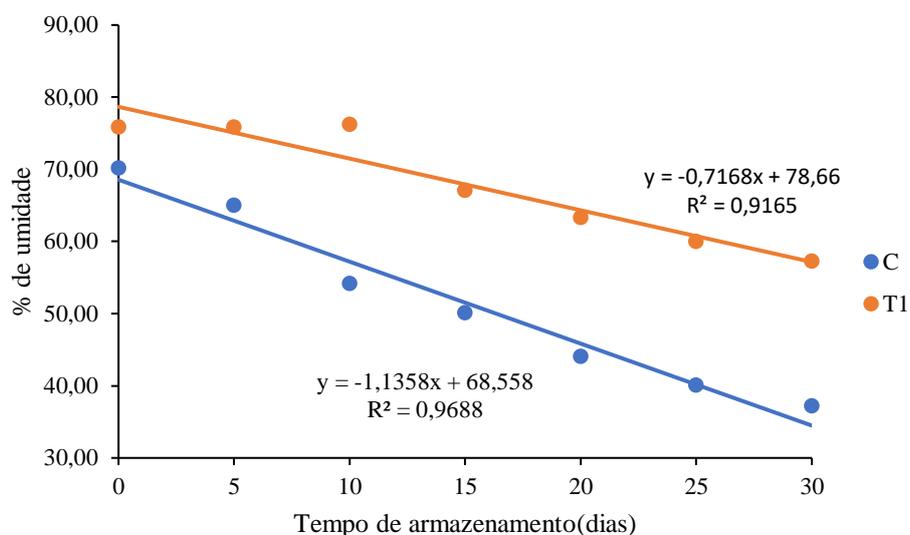


Fig 3. Percentual de umidade em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidos por AS+EPV (T1) e durante 30 dias de armazenamento a 4°C.

O revestimento com AS e EPV nos filés de tambaqui atuou efetivamente como barreira à saída de vapor de água durante todo o período de armazenamento, enquanto controle apresentou maior perda de umidade. A menor perda de água das amostras tratadas com o revestimento incorporado com EPV pode ser atribuído a natureza hidrofóbica dos compostos presentes na própolis que atuam como uma barreira física, limitando a passagem de moléculas líquidas através da superfície do revestimento (Cunha et al., 2017). Por outro lado, o alginato é um derivado de algas marinhas amplamente utilizado em revestimentos por ser eficaz na redução da perda de água em alimentos.

3.3.4. Bases voláteis totais (N-BVT)

Os valores de N-BVT ao longo do armazenamento são apresentados na Fig 4. Com base no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado) do Ministério da agricultura e do abastecimento, o limite aceitável para N-BVT é de 30 mg de Nitrogênio por 100 g de pescado (Brasil, 1997). Com base nesse limite, é possível verificar no grupo C, a N-BVT atinge o limite máximo com aproximadamente 12 dias, enquanto que no grupo T1 o revestimento consegue manter os filés dentro do limite considerado aceitável por aproximadamente 19 dias, demonstrado

um aumento de 7 dias na vida útil dos filés de tambaqui. Nos filés do grupo T1 o valor de N-BVT com 15 dias foi de 13,98 mg 100g, ou seja, praticamente 50% a menos quando comparado ao grupo C para o mesmo período. Na Fig 4 é possível verificar que ao longo do período de armazenamento, os valores de N-BVT aumentaram de forma significativa ($p < 0,01$).

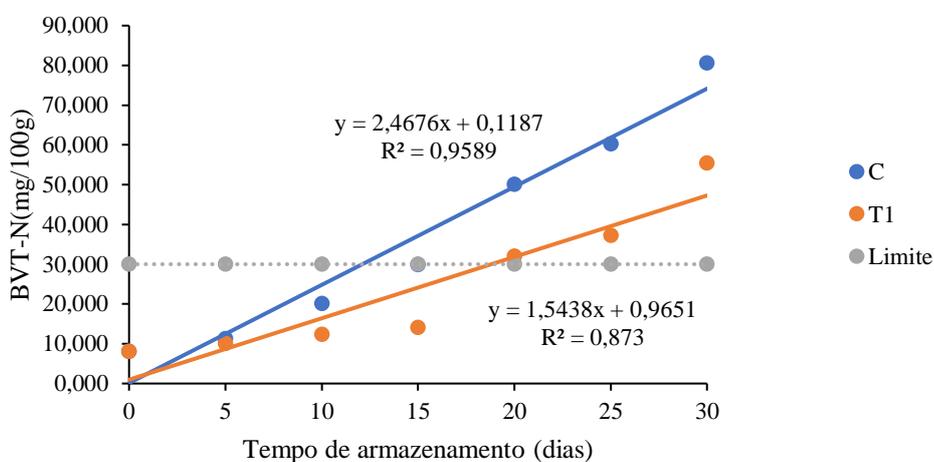


Fig 4. Valor de N-BVT em filés de tambaqui sem revestimento (C) e revestidas com AS+EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.

O N-BVT é um dos índices de qualidade de peixe mais utilizados para a determinação de compostos de baixo peso molecular como a trimetilamina, dimetilamina e amônia, que são formados durante o processo de deterioração do pescado (Cicero et al., 2014). O revestimento teve um impacto significativo na redução dos níveis de N-BVT no presente estudo, corroborando com os achados obtidos por outros pesquisadores como Jafari et al. (2018) em filés de frango e Hassanin e El-Daly (2013) em filés de tilápia do Nilo.

3.3.5. Oxidação lipídica

Os filés tratados com revestimento com AS e EPV (T1) apresentaram valores menores que o grupo não revestido ($p < 0,01$) (Fig 5). Apesar de não haver normativa para o valor de TBA em pescado, tem sido proposto valores de 1 a 2 mg MDA eq kg⁻¹, onde o pescado é considerado de boa qualidade, geralmente considerados com o odor ou sabor normais (Ozogul et al. 2017).

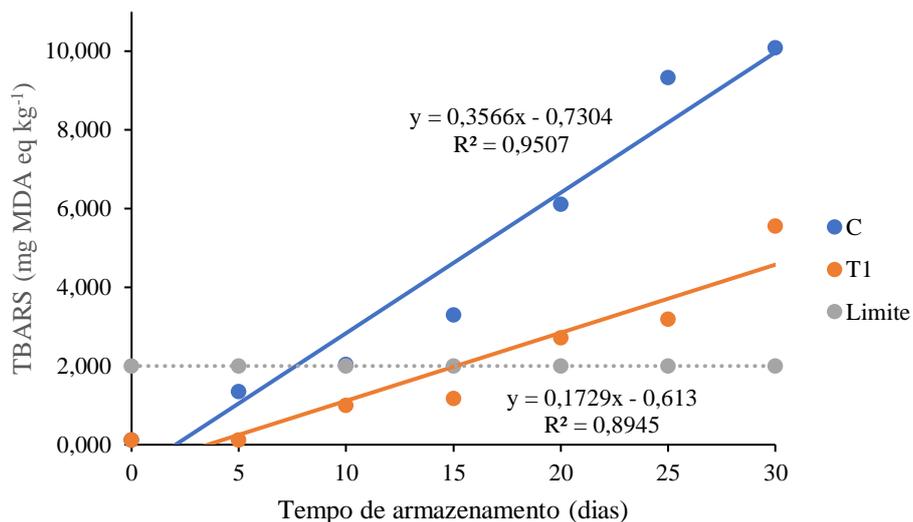


Fig 5. Valor de TBARS em MDA eq kg⁻¹ de filé de tambaqui sem revestimento (C) e revestido com AS+ EPV (T1) durante 30 dias de armazenamento a 4°C.

Até 15 dias de refrigeração a oxidação lipídica nos filés revestidos (T1) não excedeu 2 mg MDA eq kg⁻¹, demonstrando que a atividade antioxidante verificada nos testes ABTS e DPPH apresentam efeito sobre os radicais livres e TBARS. No grupo sem revestimento (C) ao 8º dia de armazenamento, os filés já apresentavam oxidação lipídica atingindo o limite considerado aceitável, isto é, os filés revestidos (T1) conseguiram retardar o processo de oxidação por 7 dias a mais.

Cortés e Suarez (2014), também verificaram que a adição do extrato de própolis em salsichas foi eficaz na redução dos valores de TBA, minimizando a oxidação lipídica.

3.3.6. Avaliação sensorial

As características sensoriais dos filés de tambaqui revestidos com AS+ EPV foram avaliados por 66 provadores não treinados, sendo 23 homens e 43 mulheres, com faixa etária entre 18 a 45 anos.

Em ordem de grandeza da importância relativa que avalia a influência dos atributos na análise sensorial se obteve, análise visual AV (17,91%); Aroma - AR (17,80%); Cor - CR (12,97%); Sabor - SB (10,95%); Intenção de compra - IC (10,48%); Textura - TX (10,22%); Preferência - PR (10,20%) e Aceitação AC (9,46%). Com isso, é possível observar que houve uma variação moderada entre os atributos avaliados nos filés, onde o comportamento dos provadores não apresentou divergência substancial na avaliação sensorial do produto.

Os resultados obtidos pela técnica dos componentes principais (CP) mostra que os dois primeiros CP foram responsáveis por 71,21% da variação total das notas dos atributos avaliados pelos provadores dos filés de tambaqui revestidos com alginato de sódio e própolis verde, sendo o primeiro CP de maior importância (54,95%), constituído por SB (0,872); PR (0,843); TX (0,839); IC (-0,813); AC (-0,665) e AR (0,525), enquanto o segundo componente estabelecido por AV (0,635) e CR (0,618) representou 16,26% das variações (Figura 6).

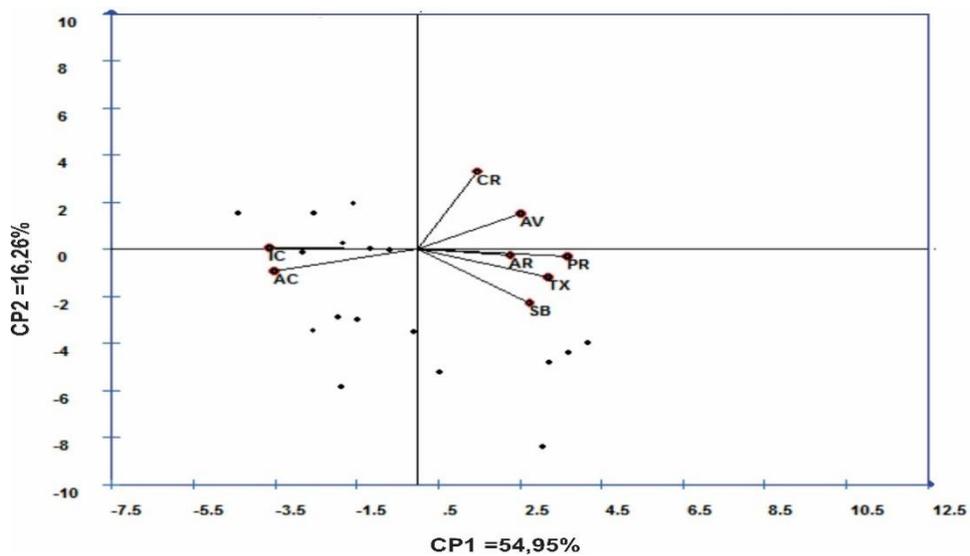


Fig 6. Distribuição das cargas fatoriais dos atributos da análise sensorial dos filés de tambaqui revestidos com AS+EPV.

Os coeficientes de correlação de preferência e intenção de compra (-0,9332); aceitação e preferência (-0,8734); e intenção de compra e aceitação (0,9304) foram altamente significativos, enquanto as outras correlações foram moderadas e não significativas. Com base nesses resultados, verificou-se que os provadores apresentaram grande concordância quanto a preferência, intenção de compra e aceitação dos filés de tambaqui revestidos com AS+ EPV.

Ao avaliar a aceitação e intenção de compra dos provadores para os filés revestidos, verifica-se que a maioria dos provadores atribuiu pontuação máxima, nota 7 correspondendo a (comeria frequentemente e compraria frequentemente, respectivamente) (Figura 7).

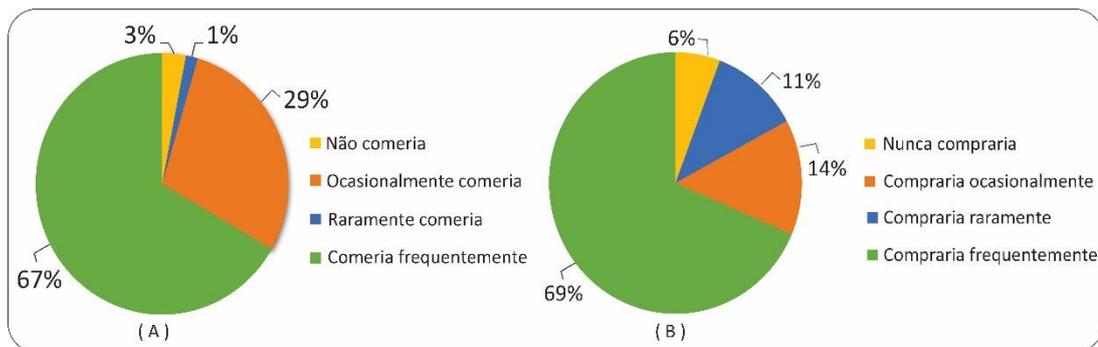


Fig 7: Percentual de aceitação (A) e intenção de compra (B) dos filés de Tambaqui revestidos com AS+ EPV.

Esses resultados evidenciam o potencial da aplicação do revestimento com a própolis verde em peixes como tambaqui e outras espécies de água doce. Segundo Schifferstein (2010), a análise sensorial é uma ferramenta de suma importância para a inserção de um produto no mercado, uma vez que as características sensoriais se apresentam como fatores determinantes para a aceitação e aquisição do alimento pelos consumidores.

4. Conclusão

O extrato de própolis verde apresenta atividade antibacteriana e antioxidante com presença de fenóis e flavonoides. O revestimento de alginato de sódio incorporado com EPV se mostra relevante para o seu uso em filés de tambaqui, uma vez, que aumentou a vida útil dos filés entre 7 e 11 dias de armazenamento, pois manteve as faixas de pH, bases voláteis, oxidação lipídica e crescimento bacteriano em níveis aceitáveis e garantiu maior retenção de umidade aos filés de tambaqui ao longo do armazenamento. Além disso, os filés revestidos com alginato de sódio e extrato de própolis verde também obtiveram aceitação sensorial.

5. Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e da FAPESB – Fundação de Amparo à pesquisa do Estado da Bahia

6. Referências

- Aloui, H., Khwaldia, K., Slama, M. B., & Hamdi, M. (2011). Effect of glycerol and coating weight on functional properties of biopolymer-coated paper. *Carbohydrate polymers*, 86(2), 1063-1072. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.026>.
- Amajoud, N., Leclercq, A., Soriano, J. M., Bracq-Dieye, H., El Maadoudi, M., Senhaji, N. S., Kounnoun, A., Moura, A., Marc, L., & Abrini, J. (2018). Prevalence of *Listeria* spp. and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from food products in Tetouan, Morocco. *Food control*, 84, 436-441. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.023>.
- Andrade, J. K. S., Denadai, M., Oliveira, C. S., Nunes, M. L., & Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International*, 101, 129-138. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.066>
- Amarowicz, R., Janiak, M. (2019). Hydrolysable Tannins. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 337-343. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.21771-x>
- Andrade, N. P. C., da Silva, E. M. S., Mota, R. A., Veschi, J. L. A., Ribeiro, M. F., Krewer, C. C., & Costa, M. M. (2012). Atividade antimicrobiana in vitro de extratos etanólicos de própolis de três estados brasileiros sobre *Aeromonas hydrophila* isoladas de peixes. *Arquivo Instituto Biológico*, 79(1), 9-15. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/923186>.
- Araújo, A. B. C., Freitas, R. L. S., Nascimento, J. M., Campos, E. G. P., Costa, F. M. S., Silva, G. A., Santos, D. C. (2016). Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante da própolis do estado do Pará. *Química: tecnologia, desafios e perspectivas na Amazônia*, 1-8. <http://www.abq.org.br/cbq/2016/trabalhos/7/9683-23065.html>.
- Araújo, A. F. V., Soares, K. M. P., & Góis, V. A. (2010). Características gerais, processos de deterioração e conservação do pescado. *Pubvet*, 4 (9), 766. <http://www.pubvet.com.br/artigo/1864/p-styletext-align-justify>

aligncenterstrongcaracteriacutesticas-gerais-processos-de-deterioraccedilatildeo-e-conservaccedilatildeo-do-pescadostrongp.

Arun, J., Bhohe, M., & Sattarkar, A. (2013). Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos*Linn. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(7), 80-87. http://www.advion.com/wp-content/uploads/Joshi_Goa_jocpr-ajadd.pdf.

Aubourg, S.P. (2016) Fish: Processing. *Encyclopedia of Food and Health*, 710-715. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00290-7>

Bittencourt, M. L., Ribeiro, P. R., Franco, R. L., Hilhorst, H. W., Castro, R. D., & Fernandez, L. G. (2015). Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. *Food Research International*, 76, 449-457. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.008>.

Brasil (1997). Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria 185, 1997. Recuperado em 29 junho, 2019 de http://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Pescado-completo-PORTARIA-185_1997.pdf.

Brasil (2017). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico que fixa a identidade e as características de qualidade que deve apresentar o peixe congelado. Recuperado em 29 junho, 2019 de <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-n-21-de-31-de-maio-de-2017,1100.html>.

Casagrande, M., Zanela, J., Wagner, A. J., Busso, C., Wouk, J., Iurckevicz, G., Montanher, P. F., Yamashita, f., & Malfatti, C. R. M. (2018). Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: In vitro antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. *Industrial Crops and Products*, 125, 207-219. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.088>.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (2016). *Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals*. Approved standard - 26th Edition. M101-S26. Pennsylvania: EUA. Recuperado em 30 junho 2019, de https://clsi.org/media/2321/vet08ed4_sample.pdf.

Cicero, L. H., Furlan, E. F., Tomita, R. Y., Prisco, R. D. C. B., Savoy, V. L. T., & Neiva, C. R. P. (2014). Study of distillation methodologies for the quantification of nitrogen in the total volatile bases of hake, tilapia and shrimp. *Brazilian Journal of Food Technology*, 17(3), 192. <http://dx.doi.org/10.1590/1981-6723.5713>.

Cortés, C. G., & Suarez, H. M. (2014). Atividade antimicrobiana da própolis e seu efeito sobre as características físico-químicas e sensoriais em salsichas. *Vitae*, 21 (2), 90-96. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012140042014000200003&script=sci_arttext&tlng=pt.

Costa, P., Almeida, M. O., Lemos, M., Arruda, C., Casoti, R., Somensi, L. B., Boeing, T., Mariott, M., Silva, R. C. M. V. A. F., Stein, B. P., Souza, P., Santos, A. C., Bastos, J. K., Silva, L. M. & Andrade, S. F. (2018). Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4'-O-methyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. *Journal of ethnopharmacology*, 226, 82-89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2018.08.006>.

Cunha, M. C., Passos, F. R., Queiroz Mendes, F., Alves, S. S., Almeida, W. L., & Nasser, V. G. (2017). Extrato de própolis na conservação pós-colheita de maracujá-amarelo. *Interciencia*, 42(5). <https://www.redalyc.org/pdf/339/33952810009.pdf>

Dehghani, S., Hosseini, S. V., & Regenstein, J. M. (2018). Edible films and coatings in seafood preservation: A review. *Food chemistry*, 240, 505-513. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034>.

Duman, M., & Özpolat, E. (2015). Effects of water extract of propolis on fresh shibuta (*Barbus grypus*) filets during chilled storage. *Food chemistry*, 189, 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.091>.

Fernandes, T. R. C., Doria, C. R. C., & Menezes, J. T. B. (2018). Características de carcaça e parâmetros de desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818) em diferentes tempos de cultivo e alimentado com rações comerciais. *Boletim do Instituto de Pesca*, 36(1), 45-52. <https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/901>.

Fischer, G., Hübner, S. O., Vargas, G. D., & Vidor, T. (2008). Imunomodulação pela própolis. *Arquivo Instituto Biológico*, 75(2), 247-53. <http://www.apisglobal.com.br/images/documentos/3.Imunomodulacaopelapropolis.pdf>.

Hassanin, S. I., & El-daly, E. S. A. (2013). Efeito da própolis e do alho sobre filés de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* durante o armazenamento congelado. *Journal of the arabian aquaculture society*, 8 (1), 237-247. <https://www.scopus.com/record/display>

Hui, G., Wei, L., Hailin, F., Jian, L., & Yuanyuan, G. (2016). Effects of chitosan combined with nisin treatment on storage quality of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Food chemistry*, 203, 276-282. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.122>.

Instituto Adolfo Lutz – (2008). *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. Recuperado em 05 janeiro 2019, de http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1988). *Microrganismos in food. I-Their significance and methods of enumeration*. 2. ed. Toronto: University Press. Recuperado em 05 julho 2019, de <http://www.icmsf.org>.

IBM CORP. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, version 25.0. Armorerk. NY. IBM corp.

Jafari, J. N., Kargozari, M., Ranjbar, R., Rostami, H., & Hamedi, H. (2018). The effect of chitosan coating incorporated with ethanolic extract of propolis on the quality of

refrigerated chicken fillet. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13336. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.13336>.

Jasour, M. S., Ehsani, A., Mehryar, L., Naghibi, S. S. (2015). Revestimento de quitosana incorporado ao sistema lactoperoxidase: um revestimento ativo comestível para a conservação de peixes. *Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura*, 95(6), 1373-1378. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6838>.

Leão, L. L., Oliveira, F. S., Souza, R. S., Farias, P. K. S., da Fonseca, F. S. A., Martins, E. R., & de Souza, R. M. (2017). Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos. *Caderno de Ciências Agrárias*, 9(1), 94-100. <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2951>.

Lima, L. K. F., Noleto, S. S., Santos, V. R. V., Luiz, D. B., & Kirschnik, P. G. (2018). Rendimento e composição centesimal do tambaqui (*Colossoma macropomum*) por diferentes cortes e categorias de peso. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 12(2), 223-235. <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/446>.

Machado, B. A. S., Silva, R. P. D., de Abreu Barreto, G., Costa, S. S., da Silva, D. F., Brandão, H. N., Rocha, J. L. C., Dellagostin, O. A., Henriques, J. A. P., Umsza-Guez, M. A., & Padilha, F. F. (2016). Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. *PLoS One*, 11(1), e0145954. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145954>.

Mark, R., Lyu, X., Lee, J. J., Parra-Saldívar, R., & Chen, W. N. (2019). Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. *Journal of Functional Foods*, 57, 233-254. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.008>.

Mascheroni, E., Guillard, V., Nalin, F., Mora, L., & Piergiovanni, L. (2010). Diffusivity of propolis compounds in Polylactic acid polymer for the development of anti-microbial packaging films. *Journal of Food Engineering*, 98(3), 294-301. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.028>.

Matta, E., Tavera-Quiroz, M. J., & Bertola, N. (2019). Active edible films of methylcellulose with extracts of green apple (Granny Smith) skin. *International journal of biological macromolecules*, 124, 1292-1298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.114>.

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determinação dos teores totais de fenólicos, flavonóides e prolina no mel de Burkina Fasan, bem como sua atividade de eliminação de radicais livres. *Química dos Alimentos*, 91 (3), 571-577. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.006>.

Miguel, M. G., Nunes, S., Dandlen, S. A., Cavaco, A. M., & Antunes, M. D. (2014). Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. *Food Science and Technology*, 34(1), 16-23. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612014000100002>.

Minim, V. P. R. (2010). *Análise Sensorial: estudos com consumidores*. Viçosa: Ed. UFV.

Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V., & Gopal, T. S. (2012). Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 167-174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.005>.

Nina, N., Quispe, C., Jiménez-Aspee, F., Theoduloz, C., Giménez, A., e Schmeda-Hirschmann, G. (2016). Perfil químico e atividade antioxidante da própolis boliviana. *Jornal da ciência da alimentação e agricultura*, 96 (6), 2142-2153. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7330>.

Nisar, T., Yang, X., Alim, A., Iqbal, M., Wang, Z. C., & Guo, Y. (2019). Physicochemical responses and microbiological changes of bream (*Megalobrama ambycephala*) to pectin based coatings enriched with clove essential oil during refrigeration. *International journal of biological macromolecules*, 124, 1156-1166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.005>.

Nunes, C. F., Finger, P. F., Fischer G, C., Clarissa, C., Hübner, S. O., Paulino, N., Marcucci, M. C., Vieira, O., Martes, P. E., Vargas, G. D. (2012). Standardization of an Ethanolic Sample of Green Propolis. *Revista Fitos*, 7(1), 67-72. <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/138>

Oliveira, F. A., Neto, O. C., Santos, L. M. R., Ferreira, E. H. R., Rosenthai, A. (2017). Effect of high pressure on fish meat quality – A review. *Trends In Food Science & Technology*, 66, 1-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.014>.

Ozogul, Y., Yuvka, İ., Ucar, Y., Durmus, M., Kösker, A. R., Öz, M., & Ozogul, F. (2017). Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT*, 75, 677-684.

PEIXEBR- Associação Brasileira de Piscicultura- Anuário PEIXEBR da Piscicultura (2018). <https://www.peixebr.com.br/Anuario2018/AnuarioPeixeBR2018.pdf>> Acessado em 15 de julho de 2019.

Qiu, L., Zhang, M., Tang, J., Adhikari, B., & Cao, P. (2019). Innovative technologies for producing and preserving intermediate moisture foods: A review. *Food Research International*, 116, 90-102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.055>.

Pobiega, K., Kraśniewska, K., & Gniewosz, M. (2018). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality—A review. *Trends in food science & technology*, 83 (09), 53–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.007>.

Rollini, M., Mascheroni, E., Capretti, G., Coma, V., Musatti, A. e Piergiovanni, L. (2017) Propolis and chitosan as antimicrobial and polyphenols retainer for the development of paper based active packaging materials.. *Food Packaging and Shelf Life* , 14 , 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.08.011>

Rufino, M. D. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. D. G., Pérez-Jimenez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007a). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Embrapa*

<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/426953/1/Cot127.pdf>.

Rufino, M. D. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. D. G., Pérez-Jimenez, J., & Saura-Calixto, F. D. (2007b). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. 44(4), 399-408. http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/down/index.php?pub/Cot_128.pdf.

Salgueiro, F., & Castro, R. (2016). comparação entre a composição química e capacidade antioxidante de diferentes extratos de própolis verde. *Quimica Nova*, 39(10), 1192-1199. http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=6492.

Sawaya, A. C. H. F., Cunha, I. B. S., & Marcucci, M. C. (2011). Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 27. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-27>

Schifferstein, H. N. (2010). Da salada à tigela: O papel da análise sensorial na pesquisa em experiência de produto. *Qualidade e preferência alimentar*, 21 (8), 1059-1067. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.07.007>.

SEAFOODBRASIL. (2019). Jazidas de atum. <http://seafoodbrasil.com.br/revista/seafood-brasil-28> Acessado em 21 junho de 2019.

Sforcin, J. M. (2016). Propriedades biológicas e aplicações terapêuticas da própolis. *Pesquisa de Phytotherapy*, 30 (6), 894-905. <https://doi.org/10.1002/ptr.5605>.

Shavisi, N., Khanjari, A., Basti, A. A., Misaghi, A., & Shahbazi, Y. (2017). Efeito de filmes de PLA contendo extrato etanólico de própolis, nanopartículas de celulose e óleo essencial de *Ziziphora clinopodioides* nas propriedades químicas, microbianas e sensoriais da carne picada. *Meat science*, 124, 95-104. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.10.015>

Silva, J.C., Rodrigues, S., Feás, X., & Estevinho, L.M. (2012). Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of própolis. *Food and Chemical Toxicology*, 50 (5), 1790-1795. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.097>

Silva, N., Junqueira, V. C. A., Arruda Silveira, N. F., Taniwaki, M. H., Gomes, R. A. R., & Okazaki, M. M. (2010). *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. Editora Blucher. (3 ed.) Rio de Janeiro: Varela.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178. [http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0076-6879(99)99017-1).

Sousa, J. P., Furtado, N. A. J. C., Jorge, R., Soares, A. E., & Bastos, J. K. (2007). Perfis físico-químico e cromatográfico de amostras de própolis produzidas nas microrregiões de Franca (SP) e Passos (MG), Brasil. *Revista brasileira farmacognosia*, 17(1), 85-93. <http://www.scielo.br/pdf/%0D/rbfar/v17n1/a17v17n1.pdf>

Socha, R., Gałkowska, D., Bugaj, M., & Juszczak, L. (2015). Phenolic composition and antioxidant activity of própolis from various regions of Poland. *Natural product research*, 29(5), 416-422. <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2014.949705>.

Suárez Mahecha, H., Jiménez Toquica, Á., & Díaz Moreno, A. C. (2014). Avaliação físico-química de filés de Cachama (*Piaractus brachypomus*) preservados com própolis durante o armazenamento. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 67 (1), 7229-7236. <http://dx.doi.org/10.15446/rfnam.v67n1.42653>.

Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., & Zhang, H. (2015). Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of Beijing própolis extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 9. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/595393>

Szliszka, E., Kucharska, A. Z., Sokół-Łętowska, A., Mertas, A., Czuba, Z. P., & Król, W. (2013). Chemical composition and anti-inflammatory effect of ethanolic extract of

Brazilian green propolis on activated J774A.1. macrophages. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1- 13. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/976415>.

Takaisi-Kikuni, N. B., & Schilcher, H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Medica*, 60(03), 222-227. doi: 10.1055 / s-2006-959463.

Tian, W., Zhi, H., Yang, C., Wang, L., Long, J., Xiao, L., Liang, J., Huang, Y., Zheng, X., Zhao, S., Zhang, K., Zheng, J. (2018). Chemical composition of alkaloids of *Plumula nelumbinis* and their antioxidant activity from different habitats in China. *Industrial crops and products*, 125, 537-548. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.045>

Tsironi, T. N., Taoukis, P. S. (2019) Advances in Conventional and Nonthermal Processing of Fish for Quality Improvement and Shelf Life Extension. Reference Module In *Food Science*, 1-7, 2019. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22618-8>.

Torres, E. F., Rodrigo, D., & Martínez, A. (2016). Preservation of Foods. *Encyclopedia of Food and Health*, 491-496, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00566-3>.

Veiga, R. S., De Mendonça, S., Mendes, P. B., Paulino, N., Mimica, M. J., Lagareiro Netto, A. A., Lira, I.S., López, B.G.-C., Negrão, V., & Marcucci, M. C. (2017). Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. *Journal of applied microbiology*, 122(4), 911-920. <https://doi.org/10.1111/jam.13400>.

Vyncke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 72(12), 1084-1087. <https://doi.org/10.1002/lipi.19700721218>

Wu, L., Pu, H., & Sun, D. W. (2019). Novel techniques for evaluating freshness quality attributes of fish: A review of recent developments. *Trends in food science & technology*, 83, 259-273. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2018.12.002>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de própolis verde apresentou efeito antimicrobiano e antioxidante promissor e a sua utilização no controle de patógenos e inibição da oxidação lipídica em filés de tambaqui se mostrou eficiente.

O revestimento com alginato de sódio e própolis verde em filés de tambaqui proporciona uma melhor qualidade microbiológica do produto e mantém os parâmetros físico-químicos (oxidação lipídica, pH e bases voláteis) dentro do limite aceitável por mais tempo, além de reduzir a perda de umidade durante o armazenamento. Dessa forma, pode-se afirmar que o extrato de própolis verde aplicado em revestimentos é um método promissor para a conservação de filés de peixes.

A eficiência do revestimento pode ser estudada em outros matrizes alimentares e pesquisas futuras podem ser desenvolvidas associando esse extrato a outros agentes bioativos para verificar o sinergismo e sua eficiência na conservação de produtos alimentícios.

Esta pesquisa traz contribuições relevantes para a sociedade e para a indústria, pois apresenta-se como alternativa viável para preservar a vida útil de filés de tambaqui por um período maior, além desse revestimento ser considerado possível alternativa para substituir o uso de conservantes sintéticos.