

Uso de gelo ozonizado como estratégia sustentável no armazenamento do tambaqui

Use of ozonated ice as a sustainable strategy during the storage of tambaqui

Joel Lima da Silva Junior¹, Antônio José Inhamuns da Silva², José dos Santos Gomes Carvalho Junior³, Pedro de Queiroz Costa Neto⁴, João Paulo Ferreira Rufino⁵

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do gelo ozonizado como uma estratégia sustentável para prolongar a vida útil do tambaqui durante o armazenamento. O arranjo experimental utilizado neste estudo foi completamente ao acaso em esquema fatorial (2x5), onde os fatores foram constituídos por dois tipos de gelo utilizados para armazenar as amostras de tambaqui (gelo ozonizado ou gelo comum) e cinco períodos de armazenamento (7, 14, 21, 28 e 35 dias), com 9 peixes (repetições) cada. As amostras de filé de tambaqui armazenadas usando gelo ozonizado apresentaram maior teor de umidade e proteínas ($p < 0,05$) do que aquelas armazenadas usando gelo comum em todos os tempos de armazenamento avaliados. No entanto, essas amostras também apresentaram menor teor de gorduras e cinzas ($p < 0,05$). As concentrações de mesófilos e coliformes totais foram maiores ($p < 0,05$) nas amostras de tambaqui armazenadas usando gelo ozonizado. Não foi detectada a presença de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp em todas as amostras avaliadas, independentemente do tipo de gelo utilizado ou dos tempos de armazenamento. Os resultados de pH, N-BVT e TBARS foram mais baixos ($p < 0,05$) em amostras de tambaqui armazenadas usando gelo ozonizado em quase todos os tempos de armazenamento avaliados. Os resultados do IQM foram mais baixos ($p < 0,05$) em amostras de tambaqui armazenadas usando gelo ozonizado até 28 dias de armazenamento.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*; Filé de peixe; Ozônio; Processamento de peixe; Qualidade da carne.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the effects of ozonated ice as a sustainable strategy to prolong the shelf life of tambaqui during storage. The experimental design used in this study was completely randomized in factorial scheme (2 x 5) where the factors were constituted by two ice types used to storage the tambaqui samples (ozonated ice or common ice) and five storage periods (7, 14, 21, 28, and 35) with 9 fish (replicates) each. Tambaqui meat samples stored using ozonated ice presented higher ($p < 0.05$) moisture and protein content than those stored using common ice in all storage times evaluated. But these samples also presented lower ($p < 0.05$) fats and ashes content. The concentrations of mesophiles and total coliforms were higher ($p < 0.05$) in tambaqui samples stored using ozonated ice. It was not detected the presence of thermotolerant coliforms, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp in all samples were evaluated, regardless of the ice type used or the storage times. The pH, TVB-N and TBARS results are lower ($p < 0.05$) in tambaqui samples stored using ozonated ice in almost all storage times evaluated. IQM results are lower ($p < 0.05$) in tambaqui samples stored using ozonated ice until 28 days of storage.

Keywords: *Colossoma macropomum*; Fish meat; Fish processing; Meat quality; Ozone.

¹ Doutor em Ciências Pesqueiras nos Trópicos pela Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Docente no Departamento de Produção Animal e Vegetal da Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM, Manaus (AM), Brasil.

² Doutor em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente no Departamento de Ciências Pesqueiras da Faculdade de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus (AM), Brasil.

³ Mestre em Ciências Pesqueiras nos Trópicos pela Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus (AM), Brasil.

⁴ Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Docente no Departamento de Ciências Fundamentais e Desenvolvimento Agrícola da Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM, Manaus (AM), Brasil.

⁵ Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e Universidade do Estado do Amazonas (UEA), e em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros pela UFAM. Docente no Departamento de Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas da UFAM, Manaus (AM), Brasil.

1 INTRODUÇÃO

Diante do cenário atual do mercado aquícola, é essencial buscar melhorias em todos os pontos da cadeia de produção. Estudos sobre práticas de abate, manejo e processamento de peixes, da fazenda à indústria, são muito importantes para entender os possíveis efeitos negativos que podem ocorrer na qualidade da sua carne e, conseqüentemente, suas possíveis implicações econômicas (Rahmanifarah *et al.*, 2011; Oliveira Filho *et al.*, 2021).

Os peixes são produtos perecíveis que requerem refrigeração quando armazenados para preservar sua qualidade e evitar possíveis danos à saúde do consumidor (Silva *et al.*, 2021). O armazenamento inadequado de peixes tende a causar mudanças colorimétricas na carne, perda excessiva de água, aumento da proliferação de microrganismos que produzem compostos voláteis e aumento do pH muscular, ou seja, uma diminuição significativa na vida útil da carne (Erikson; Misimi, 2008; Gatica *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2015; Feitosa *et al.*, 2017; Mendes *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2021).

Entre as diversas espécies de peixes de água doce, destaca-se o tambaqui (*Colossoma macropomum*) como uma escolha promissora para a produção em cultivo. Sua crescente popularidade é impulsionada pelo excelente desempenho na piscicultura, pela reconhecida qualidade de sua carne e pela crescente demanda no mercado (Kubitza *et al.*, 2012). O tambaqui já não se limita mais ao mercado amazônico, tornando-se um alvo desejado em todo o território brasileiro. No entanto, para garantir o contínuo sucesso dessa atividade, é fundamental que os estudos em torno do tambaqui persistam. A busca por protocolos de manejo aprimorados (Santos *et al.*, 2009) e a extensão do tempo de armazenamento, mantendo a integridade e qualidade da carne, são áreas de pesquisa essenciais. Dessa forma, é possível ampliar sua vida útil e otimizar sua presença no mercado (Mendes *et al.*, 2017; Badônia *et al.*, 1988; Sampels, 2014; Tavares *et al.*, 2021; Rumape *et al.*, 2022).

Visando a otimização desse mercado, existem vários métodos para a conservação de pescado que buscam prolongar a sua vida útil e garantir a qualidade dos seus produtos, entre os quais a refrigeração e o congelamento são os métodos mais tradicionais e amplamente utilizados, mantendo os peixes em temperaturas baixas para inibir o crescimento microbiano e a degradação enzimática (Perigreen *et al.*, 1987; Bhattacharya; Choudhuri, 1990; Duarte *et al.*, 2020; Mendes *et al.*, 2023). Outro método eficaz é a utilização de embalagens a vácuo ou em atmosfera modificada utilizando produtos como ozônio, que retardam a oxidação e a proliferação de microrganismos. A aplicação de revestimentos comestíveis à base de biopolímeros também tem sido explorada como uma barreira adicional contra contaminantes e desidratação (Hauzoukim; Mohanty, 2020; Rumape *et al.*, 2022). Além disso, técnicas de irradiação de alimentos, que utilizam radiação ionizante para eliminar patógenos e prolongar a vida útil, e a alta pressão hidrostática, que destrói microrganismos através da aplicação de pressões extremamente altas, são métodos emergentes que mostram grande potencial para a conservação de

pescado, mantendo suas propriedades nutricionais e sensoriais (Brazhnaya *et al.*, 2019; Alice *et al.*, 2020; Rumape *et al.*, 2022).

Entre as tecnologias apontadas como promissoras no controle de microrganismos, o uso de ozônio e tecnologias derivadas tem se destacado como um poderoso agente antimicrobiano, sendo indicado como uma alternativa viável em relação aos sanitizantes convencionais (Gantois *et al.*, 2008; Yüceer *et al.*, 2016). Quimicamente, o ozônio é uma forma alotrópica do oxigênio, formada pela adição de um átomo de oxigênio à molécula diatômica de oxigênio. Em termos de produção de ozônio, o efeito corona consiste na passagem de gás contendo oxigênio puro ou outras misturas de ar através de alta energia em descarga elétrica (Kool; Hrubec, 1986). Segundo Alexandre *et al.* (2011), a utilização de ozônio como agente sanitizante apresenta diversas vantagens em relação a outros procedimentos alternativos, pois age diretamente em células-alvo ou de forma indireta. Sua decomposição ocorre rapidamente em oxigênio, deixando o ambiente livre de quaisquer resíduos tóxicos.

Considerando esses aspectos cruciais, é imperativo atentar para uma série de fatores durante a conservação da carne de tambaqui. A qualidade ambiental, a higiene do local de armazenamento e os produtos utilizados desempenham um papel fundamental, juntamente com a eficácia do sistema de refrigeração. Além disso, a escolha do gelo utilizado e a implementação de um protocolo de manuseio adequado são determinantes para preservar a integridade e a qualidade do produto final (Badonia *et al.*, 1988; Sampels, 2014; Tavares *et al.*, 2021; Rumape *et al.*, 2022). Esses elementos não apenas visam evitar, mas também retardar quaisquer perdas de qualidade que possam comprometer a satisfação do consumidor e, por conseguinte, afetar a viabilidade econômica da cadeia produtiva. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do gelo ozonizado para prolongar a vida útil do tambaqui durante o armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 99 espécimes de tambaqui, apresentando um peso médio de $1,44 \pm 0,41$ kg. Os peixes foram obtidos em uma fazenda de piscicultura localizada no km 48 da rodovia BR-240 (ligando as cidades de Presidente Figueiredo e Balbina), na região metropolitana da cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. Os peixes foram abatidos utilizando o método de choque térmico (Libanori *et al.*, 2020) e embalados em caixas isotérmicas em uma proporção de 1:1 de gelo comum/peixe até a fazenda experimental da Universidade Federal do Amazonas, localizada no km 38 da rodovia BR-174 (ligando Manaus a Presidente Figueiredo). O tempo de transporte foi de cerca de uma hora.

Logo após a chegada, os peixes foram higienizados usando água clorada a 5 ppm e colocados em caixas isotérmicas de 175 litros. A primeira caixa foi nomeada como Tratamento 1 (utilizando gelo ozonizado) e a segunda caixa como Tratamento 2 (utilizando gelo comum), com 45 peixes em cada caixa. Esses tratamentos (caixas) foram analisados durante 35 dias e divididos em cinco períodos de armazenamento (7, 14, 21, 28 e 35 dias). Para o tempo 0, uma amostra de 9 peixes não armazenados foi avaliada imediatamente. Conforme o tempo passava e cada período pré-determinado era alcançado, 9 peixes eram retirados de cada tratamento e avaliados. Assim, o desenho

experimental utilizado neste estudo foi completamente causalizado em esquema fatorial (2x5), onde os fatores foram constituídos por dois tipos de gelo utilizados para armazenar as amostras de tambaqui (gelo ozonizado ou gelo comum) e cinco períodos de armazenamento (7, 14, 21, 28 e 35) com 9 peixes (repetições) cada.

Todas as amostras de peixe coletadas em cada período de armazenamento foram submetidas a análises microbiológicas, físico-químicas, de conteúdo nutricional e sensoriais. Para análises sensoriais, os peixes inteiros foram considerados. Para análises microbiológicas, físico-químicas e do conteúdo nutricional, amostras de filé de cada peixe foram coletadas individualmente, de acordo com o método descrito por Perigreen *et al.* (1979). Essas amostras foram enviadas ao Laboratório de Tecnologia de Pescado da Universidade Federal do Amazonas. Para análise do conteúdo nutricional, as amostras de tambaqui foram descongeladas por 8 horas à temperatura ambiente. O teor nutricional (umidade, gorduras, cinzas e proteínas brutas) foi determinado de acordo com os métodos descritos pela AOAC (2019).

As análises microbiológicas foram realizadas de acordo com os métodos descritos na Instrução Normativa nº 30, publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento em 26 de junho de 2018 (Brasil, 2018). Primeiramente, 25 g da amostra de filé de tambaqui foram adicionados a 225 mL de água peptonada tamponada a 1%, sendo consideradas diluições padrão de 10^{-1} e 10^{-2} . Todos os resultados de contagem foram expressos na base $\times 10^{-4}$.

Para a concentração de mesófilos totais, 1 mL das diluições selecionadas foi inoculado em placas de Petri estéreis contendo Agar de Contagem Padrão previamente fundido a 45 °C. As placas foram homogeneizadas e incubadas a 36 °C por 48 horas. Foram contadas apenas as placas que apresentavam entre 25 e 250 colônias, sendo o resultado multiplicado pela sua média aritmética e respectivo fator de diluição.

Para a concentração de coliformes totais e termotolerantes, 1 mL das diluições selecionadas foi inoculado em tubos de ensaio contendo Sulfato de Lauril Sódico em concentração simples e tubos de Durham invertidos. Os tubos de ensaio foram incubados a 36 °C por 48 horas. Os tubos de ensaio que apresentaram produção de gás nos tubos de Durham (pelo menos 1/10 do volume total) ou efervescência ao serem agitados foram enviados para o próximo teste, onde uma amostra desses tubos de ensaio foi inoculada no caldo de EC e incubada a 45 °C por 48 horas. A presença de coliformes termotolerantes foi atestada nos tubos de ensaio que apresentaram produção de gás nos tubos de Durham (pelo menos 1/10 do volume total) ou efervescência ao serem agitados. Os resultados foram estimados a partir da combinação do número de tubos de ensaio que apresentaram resultados positivos e sua avaliação de acordo com a tabela de número mais provável (NMP).

Para a concentração de *Staphylococcus aureus*, 1 mL das diluições selecionadas foi inoculado em placas de Petri estéreis contendo Agar Baird-Parker (BPA). As placas foram homogeneizadas e incubadas a 36 °C por 48 horas. Foram contadas apenas as placas que apresentaram entre 25 e 250 colônias, sendo o resultado multiplicado pela sua média aritmética e respectivo fator de diluição.

Para a detecção de *Salmonella* spp, 1 mL das diluições selecionadas foi submetido a um pré-enriquecimento, sendo incubado a 36 °C por 16 a 20 horas. Em seguida, os caldos do pré-enriquecimento foram inoculados em caldos seletivos: 0,1 mL em tubos contendo 10 mL de Rappaport Vassiliadis e 1 mL em tubos contendo 10 mL de caldo de cisteína de

selênio. Posteriormente, estes foram incubados em banho-maria com agitação constante a 41 °C por 24 horas. O método de PCR foi utilizado para realizar o diagnóstico e confirmar ou não a presença de cepas de *Salmonella* spp nas amostras (Rahn *et al.*, 1992; Sambrook; Russell, 2001).

Nas análises físico-químicas dos filés de tambaqui, foram mensurados o pH, as Bases Nitrogenadas Voláteis Totais (N-BVT) e a determinação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). As análises de pH e N-BVT foram realizadas de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2019), enquanto as análises de TBARS seguiram os métodos descritos por Vyncke (1970).

Para a análise sensorial, foram utilizados 9 julgadores previamente treinados. Sem conhecimento dos tratamentos experimentais e utilizando apenas o tato, a visão e o olfato, eles avaliaram as seguintes características sensoriais do peixe: aparência geral, olhos, brânquias, cavidade abdominal, pele e nadadeiras. Foram analisadas 48 amostras de peixe (8 de cada tempo de armazenamento, sendo 4 de cada tratamento), onde todos os julgadores analisaram todas as amostras de peixe. Os dados coletados pelos julgadores foram usados para calcular o Índice de Qualidade (IQM) de acordo com os métodos descritos por Araújo *et al.* (2016), variando de 0 (máxima frescura) a 34 (perda total de frescura).

Todos os dados, exceto a detecção de *Salmonella* spp, foram analisados por análise de variância (ANOVA, *two-way*) utilizando o software R (versão 4.1.3). Todos os comandos foram executados de acordo com Logan (2010). O teste de diferença significativa de Tukey foi utilizado para testar as diferenças significativas entre os valores médios, com o nível significativo para as diferenças sendo definido como $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do conteúdo nutricional são apresentados na Tabela 1. As amostras de tambaqui armazenadas com gelo ozonizado apresentaram teores de umidade e proteínas mais elevados ($p < 0,05$) do que aquelas armazenadas com gelo comum em todos os tempos de armazenamento avaliados.

No entanto, essas amostras também apresentaram teores mais baixos ($p < 0,05$) de gorduras e cinzas em todos os tempos de armazenamento avaliados. Vale ressaltar que os teores de umidade e proteínas aumentaram ($p < 0,05$) conforme o tempo de armazenamento das amostras de tambaqui aumentou, independentemente do tipo de gelo utilizado. Inversamente, os teores de gorduras e cinzas diminuíram ($p < 0,05$) conforme o tempo de armazenamento das amostras de tambaqui aumentou, independentemente do tipo de gelo utilizado.

Os resultados das análises microbiológicas estão na Tabela 2. As concentrações de mesófilos e coliformes totais foram maiores ($p < 0,05$) em amostras de tambaqui armazenadas com gelo ozonizado em quase todos os tempos de armazenamento avaliados. Além disso, essas concentrações aumentaram ($p < 0,05$) conforme o tempo de armazenamento aumentou. Também é importante mencionar que a presença de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp não foi detectada em todas as amostras avaliadas, independentemente do tipo de gelo utilizado ou dos tempos de armazenamento.

Tabela 1. Conteúdo nutricional de filés de tambaqui armazenados utilizando gelo ozonizado ou comum por até 35 dias¹

Período de armazenamento (dias)	Umidade (%)		Gordura (%)		Cinzas (%)		Proteínas (%)	
	Gelo ozonizado	Gelo comum	Gelo ozonizado	Gelo comum	Gelo ozonizado	Gelo comum	Gelo ozonizado	Gelo comum
0	76,93±1,99 ^{Aa}	76,93±1,99 ^{Aa}	4,39±1,38 ^{Ac}	4,39±1,38 ^{Ac}	1,08±0,08 ^{Ac}	1,08±0,08 ^{Ac}	16,38±0,46 ^{Aa}	16,38±0,46 ^{Aa}
7	76,01±1,44 ^{Aa}	75,99±1,53 ^{Ba}	5,12±1,02 ^{Bb}	5,36±1,13 ^{Ab}	1,13±0,06 ^{Bc}	1,14±0,05 ^{Ac}	16,12±0,33 ^{Aa}	16,05±0,22 ^{Ba}
14	75,13±1,12 ^{Ab}	75,01±1,46 ^{Ba}	5,61±0,95 ^{Bb}	5,65±1,02 ^{Ab}	1,29±0,04 ^{Bb}	1,36±0,12 ^{Ab}	15,95±0,36 ^{Ab}	15,84±0,13 ^{Bb}
21	74,58±1,74 ^{Ab}	74,05±1,55 ^{Bb}	5,99±0,46 ^{Bb}	6,13±0,96 ^{Ab}	1,35±0,09 ^{Bb}	1,51±0,11 ^{Ab}	15,66±0,36 ^{Ab}	15,44±0,15 ^{Ab}
28	74,12±1,25 ^{Ab}	73,86±1,49 ^{Bc}	6,95±1,15 ^{Ba}	7,44±0,91 ^{Aa}	1,49±0,12 ^{Ba}	1,67±0,17 ^{Ab}	15,25±0,31 ^{Ab}	15,13±0,21 ^{Bb}
35	73,45±1,52 ^{Ac}	72,99±1,23 ^{Bc}	7,22±1,01 ^{Ba}	8,13±0,88 ^{Aa}	1,69±0,15 ^{Aa}	1,82±0,12 ^{Aa}	14,46±0,39 ^{Ac}	13,95±0,22 ^{Bc}
Efeito								
Armazenamento ²	<0,001		<0,001		<0,001		<0,001	
Tipos de gelo ³	<0,001		<0,001		<0,001		<0,001	
Armazen. x Gelo ⁴	<0,001		<0,001		<0,001		<0,001	
CV ⁵ , %	4,32		3,46		4,41		3,33	

¹Todos os dados representam a média de 9 repetições por tratamento.

²Médias seguidas por letras maiúsculas (linhas) indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tipo de gelo utilizado.

³Médias seguidas por letras minúsculas (colunas) indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes tempos avaliados.

⁴O p-valor acima de 0,05 demonstra uma influência direta de um fator sobre o resultado do outro e vice-versa.

⁵CV = Coeficiente de variação.

Tabela 2. Análises microbiológicas de filés de tambaqui armazenados utilizando gelo ozonizado ou comum por até 35 dias¹.

Período de armazenamento (dias)	Mesófilos (x10 ⁻⁴)		Coliformes totais (x10 ⁻⁴)	
	Gelo ozonizado	Gelo comum	Gelo ozonizado	Gelo comum
0	3,48±0,36 ^{Ac}	3,48±0,36 ^{Ac}	0,00±0,00 ^{Ac}	0,00±0,00 ^{Ac}
7	3,35±0,48 ^{Ac}	3,25±1,65 ^{Bc}	0,00±0,00 ^{Ac}	0,00±0,00 ^{Ac}
14	4,84±0,59 ^{Aa}	4,43±1,00 ^{Ba}	1,12±1,17 ^{Abc}	0,86±1,18 ^{Bc}
21	4,15±0,03 ^{Ab}	3,24±0,76 ^{Bc}	1,00±0,00 ^{Ac}	0,52±0,71 ^{Bc}
28	4,04±0,45 ^{Bb}	4,33±2,06 ^{Aa}	2,19±1,26 ^{Bb}	2,51±1,65 ^{Aa}
35	3,90±0,30 ^{Aa}	3,90±0,74 ^{Ab}	3,76±0,53 ^{Aa}	3,20±1,64 ^{Bb}
Efeito				
Armazenamento ²	<0,001		<0,001	
Tipos de gelo ³	<0,001		<0,001	
Armazen. x Gelo ⁴	0,007		<0,001	
CV ⁵ , %	4,32		3,46	

¹ Todos os dados representam a média de 9 repetições por tratamento.

² Médias seguidas por letras maiúsculas (linhas) indicam diferença significativa (p<0,05) entre o tipo de gelo utilizado.

³ Médias seguidas por letras minúsculas (colunas) indicam diferença significativa (p<0,05) entre os diferentes tempos avaliados.

⁴ O p-valor acima de 0,05 demonstra uma influência direta de um fator sobre o resultado do outro e vice-versa.

⁵ CV = Coeficiente de variação.

Os resultados das análises físico-químicas na Tabela 3 apresentam que os valores de pH, N-BVT e TBARS foram mais baixos (p < 0,05) em amostras de tambaqui armazenadas utilizando gelo ozonizado em quase todos os tempos de armazenamento avaliados.

Além disso, esses resultados foram mais altos (p < 0,05) conforme o tempo de armazenamento aumentou.

Os resultados da análise sensorial são apresentados na Tabela 4. Os resultados do IQM foram mais baixos (p < 0,05) em amostras de tambaqui armazenadas utilizando gelo ozonizado até 28 dias de armazenamento. De 28 a 35 dias de armazenamento, as amostras armazenadas com gelo comum apresentaram resultados mais altos (p < 0,05). Além disso, esses resultados foram mais altos (p < 0,05) conforme o tempo de armazenamento aumentou.

Primeiramente, ao analisar os resultados do conteúdo nutricional das amostras de tambaqui, independentemente dos tratamentos, verificou-se que todos os peixes foram classificados como "semi-gordurosos" (Almás, 1981), ou seja, indicaram uma presença significativa de gorduras. De acordo com Sheridan (1988), Benjakul *et al.* (2007) e Rayeni (2016), essa informação é muito importante considerando que o teor lipídico na carcaça do peixe influencia diretamente sua capacidade de manter a qualidade durante o armazenamento. Além disso, esse conteúdo é geralmente atribuído a peixes produzidos em ambientes controlados (produção em escala em viveiros) (Kubitza *et al.*, 2012).

Tabela 3. Análises físico-químicas de filés de tambaqui armazenados utilizando gelo ozonizado ou comum por até 35 dias ¹

Período de armazenamento (dias)	pH		N-BVT		TBARS	
	Gelo ozonizado	Gelo comum	Gelo ozonizado	Gelo comum	Gelo ozonizado	Gelo comum
0	6,432±0,02 ^{Ab}	6,432±0,02 ^{Ab}	9,274±0,63 ^{Ab}	9,274±0,63 ^{Ac}	0,396±0,04 ^{Ab}	0,396±0,04 ^{Ac}
7	6,348±0,02 ^{Bb}	6,344±0,03 ^{Ab}	9,142±0,51 ^{Bb}	12,014±1,69 ^{Ab}	0,148±0,01 ^{Bb}	0,246±0,02 ^{Ac}
14	6,336±0,02 ^{Ab}	6,330±0,01 ^{Bb}	9,196±0,29 ^{Bb}	12,568±0,56 ^{Ab}	0,289±0,01 ^{Bb}	0,384±0,05 ^{Ac}
21	6,432±0,01 ^{Ba}	6,442±0,04 ^{Aa}	9,872±0,19 ^{Bb}	13,598±0,77 ^{Ab}	1,169±0,07 ^{Aa}	0,953±0,12 ^{Bb}
28	6,442±0,03 ^{Ba}	6,473±0,04 ^{Aa}	12,648±1,81 ^{Ba}	13,496±1,57 ^{Ab}	1,520±0,27 ^{Ba}	1,914±0,49 ^{Aab}
35	6,460±0,01 ^{Ba}	6,470±0,02 ^{Aa}	14,256±0,88 ^{Ba}	20,814±4,12 ^{Aa}	1,877±0,53 ^{Ba}	2,514±0,32 ^{Aa}
Efeito						
Armazenamento ²	<0,001		<0,001		<0,001	
Tipos de gelo ³	<0,001		<0,001		<0,001	
Armazen. x Gelo ⁴	<0,001		<0,001		<0,001	
CV ⁵ , %	4,32		3,46		2,56	

¹ Todos os dados representam a média de 9 repetições por tratamento.

² Médias seguidas por letras maiúsculas (linhas) indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tipo de gelo utilizado.

³ Médias seguidas por letras minúsculas (colunas) indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes tempos avaliados.

⁴ O p-valor acima de 0,05 demonstra uma influência direta de um fator sobre o resultado do outro e vice-versa.

⁵ CV = Coeficiente de variação.

Tabela 4. Análise sensorial de amostras de tambaqui armazenadas utilizando gelo ozonizado ou comum por até 35 dias¹

Período de armazenamento (dias)	IQM	
	Gelo ozonizado	Gelo comum
0	0,00±0,00 ^{Ac}	0,00±0,00 ^{Ac}
7	4,64±0,29 ^{Bc}	5,83±0,41 ^{Ac}
14	13,30±2,20 ^{Bb}	15,30±0,24 ^{Ab}
21	17,40±1,96 ^{Bb}	18,62±0,51 ^{Ab}
28	23,45±1,51 ^{Ba}	25,50±0,41 ^{Aa}
35	28,90±1,31 ^{Aa}	26,50±0,41 ^{Ba}
Efeito		
Armazenamento ²	<0,001	
Tipos de gelo ³	<0,001	
Armazen. x Gelo ⁴	<0,001	
CV ⁵ , %	4,49	

¹ Todos os dados representam a média de 9 repetições por tratamento.

² Médias seguidas por letras maiúsculas (linhas) indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre o tipo de gelo utilizado.

³ Médias seguidas por letras minúsculas (colunas) indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os diferentes tempos avaliados.

⁴ O p-valor acima de 0,05 demonstra uma influência direta de um fator sobre o resultado do outro e vice-versa.

⁵ CV = Coeficiente de variação.

Comparando os valores encontrados no conteúdo nutricional das amostras de peixe avaliadas, observou-se que o gelo ozonizado foi mais eficiente do que o gelo comum em manter os níveis de umidade e proteína à medida que o tempo de armazenamento aumentou. Além disso, esses valores encontrados estão dentro dos indicados como ideais por outros estudos que avaliaram o tambaqui armazenado em diferentes períodos (Silva *et al.*, 2018; Cavali *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2022), reforçando essa eficiência do gelo ozonizado. Estudos usando gelo ozonizado afirmam que, devido ao método de processamento, adicionando água ao gás ozônio durante o processo de solidificação (Matsumoto *et al.*, 2013), sua durabilidade tende a ser mais longa do que o gelo comum, o que proporciona uma vida útil mais longa devido à fusão mais lenta, o que, conseqüentemente, fornece mais tempo para a conservação do peixe dentro das câmaras de armazenamento. Outros estudos usando diferentes peixes também observaram bons resultados na conservação de seu conteúdo nutricional usando gelo ozonizado durante o armazenamento (Ravesi *et al.*, 1987; Pastoriza *et al.*, 2008; Gonçalves, 2009; Bono *et al.*, 2017).

Por outro lado, os resultados microbiológicos foram muito semelhantes, não sendo observadas muitas diferenças na concentração de mesófilos e coliformes totais no peixe, independentemente do tipo de gelo utilizado. Além disso, é um ponto positivo que as amostras armazenadas tanto em gelo comum quanto em gelo ozonizado não apresentaram a presença de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp em todos os tempos avaliados, especialmente porque todos esses são problemas muito graves durante o armazenamento de peixes (Badonia *et al.*, 1988; Sivertsvik *et al.*, 2002; Sampels, 2014), causando inúmeras perdas em sua qualidade e

reduzindo sua vida útil (Badonia *et al.*, 1988; Sampels, 2014; Araújo *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2022).

Considerando os tempos avaliados, como esperado, a concentração dos microrganismos detectados aumentou à medida que o tempo de armazenamento também aumentou, o que ocorre devido ao aumento de sua atividade natural e à grande quantidade de substrato disponível (Badonia *et al.*, 1988; Sivertsvik *et al.*, 2002; Sampels, 2014). No entanto, os resultados obtidos neste estudo estão abaixo dos publicados por outros estudos (Ravesi *et al.*, 1987; Pastoriza *et al.*, 2008; Gonçalves, 2009; Araújo *et al.*, 2016; Bono *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2022), o que também é positivo e indica que o armazenamento usando gelo ozonizado foi eficiente, criando um ambiente desfavorável para a ação imediata desses microrganismos.

É interessante notar que os resultados das análises físico-químicas estão relacionados tanto aos resultados encontrados no conteúdo nutricional quanto nas análises microbiológicas porque, em primeiro lugar, o pH mais alto nos peixes armazenados usando gelo comum está diretamente relacionado a uma maior desnaturação ácida das biomoléculas causada pela atividade microbiológica, especialmente anaeróbica (Badonia *et al.*, 1988; Sampels, 2014; Tavares *et al.*, 2021). Além disso, o fato de que o gelo comum derrete mais rápido proporciona um ambiente mais favorável para que esses processos de desnaturação ocorram, o que ajuda a intensificar tanto as reações de desnaturação bioquímica quanto a atividade microbiológica.

Em segundo lugar, isso é muito claro a partir dos resultados obtidos nas análises de TBARS, onde o peixe armazenado usando gelo ozonizado apresentou resultados mais baixos em todos os tempos avaliados, indicando que a maior durabilidade do gelo ozonizado foi fundamental para retardar esses processos de desnaturação de biomoléculas e atividade microbiológica nas amostras de tambaqui do que aquelas armazenadas usando gelo comum. Além disso, os resultados de TBARS estão diretamente relacionados aos resultados de concentração de gorduras encontradas no conteúdo nutricional do peixe porque o aumento da concentração de gorduras livres está justamente relacionado à maior atividade de oxidação de lipídios causada pela maior exposição do alimento ao ambiente e à ação microbiana (Sampels, 2014; Tavares *et al.*, 2021; Rumape *et al.*, 2022).

Finalmente, todos esses são refletidos na qualidade do peixe que será fornecida ao consumidor, afetando consequentemente os resultados de N-BVT e IQM que, agregados a todos os resultados descritos acima, indicaram que o gelo ozonizado foi mais eficiente para manter a qualidade do tambaqui até 35 dias do que o gelo comum. É um fato que o tambaqui armazenado usando gelo ozonizado também perdeu qualidade à medida que o tempo passava, mas essa perda foi a uma taxa muito mais lenta do que as amostras armazenadas em gelo comum, o que também pode ser atribuído à taxa de fusão mais lenta observada no gelo ozonizado conforme descrito pela literatura (Ravesi *et al.*, 1987; Pastoriza *et al.*, 2008; Gonçalves, 2009; Bono *et al.*, 2017), proporcionando assim mais tempo para que o peixe seja protegido da ação dos microrganismos e das perdas resultantes da desnaturação de biomoléculas (Sampels, 2014; Tavares *et al.*, 2021; Rumape *et al.*, 2022).

Além disso, é interessante mencionar que tanto N-BVT quanto IQM, apesar de serem indicadores de qualidade, são dependentes do conteúdo nutricional e da atividade

microbiológica nas amostras (Sampels, 2014; Tavares *et al.*, 2021; Rumape *et al.*, 2022). Front isso, mudanças significativas nessas análises são refletidas diretamente nesses indicadores e apresentam uma estimativa em pontuações de quanto qualidade o peixe está perdendo com esse método durante esse período (Araújo *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2022), como observado neste estudo.

Outro ponto a destacar é o fato do uso de gelo ozonizado para conservação do tambaqui, ou pescado em geral, apresentar diversos impactos ambientais positivos em comparação com outros métodos de conservação (Pandiselvam *et al.*, 2017; De Souza *et al.* 2018; Pandiselvam *et al.*, 2018). Primeiramente, o ozônio é um agente antimicrobiano altamente eficaz que não deixa resíduos tóxicos no ambiente, o que contrasta com alguns produtos químicos utilizados em outros métodos de conservação, como conservantes artificiais, que podem contaminar a água e prejudicar os organismos que habitam o meio aquático (Beltrán *et al.*, 2005a,b; Wu *et al.*, 2007; Pandiselvam; Thirupathi, 2015; De Souza *et al.*, 2018). Além disso, o ozônio é uma forma de oxigênio altamente reativa que, após sua decomposição, volta a ser oxigênio molecular, contribuindo para a melhoria da qualidade da água e do ar (Mohammadi *et al.*, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2017).

Outro impacto positivo é a redução do desperdício de alimentos, uma vez que o gelo ozonizado, por prolongar a vida útil do pescado, permite que mais alimentos cheguem ao consumidor final em condições seguras para o consumo (Fisher *et al.*, 2000; Stephan *et al.*, 2015; De Souza *et al.*, 2018). Isso reduz significativamente o descarte de peixes deteriorados, minimizando o impacto ambiental associado ao desperdício de alimentos, incluindo a diminuição da emissão de gases de efeito estufa resultantes da decomposição orgânica (Pandiselvam; Thirupathi, 2015; Nakamura *et al.*, 2017). Assim, o uso de gelo ozonizado não apenas promove a sustentabilidade ambiental através da redução do uso de produtos químicos nocivos, mas também contribui para a conservação de recursos naturais e a mitigação do desperdício de alimentos (Karaca, 2010; Pandiselvam; Thirupathi, 2015).

Por fim, além dos benefícios mencionados, o uso de gelo ozonizado contribui significativamente para a eficiência energética nas cadeias de armazenamento e distribuição (Khadre *et al.*, 2001; Desvignes *et al.*, 2008). Devido à sua maior durabilidade e menor taxa de fusão comparado ao gelo comum, o gelo ozonizado mantém a temperatura adequada por mais tempo, reduzindo a necessidade de reabastecimento frequente e, conseqüentemente, a energia gasta na produção de gelo (Pandiselvam *et al.*, 2018). Isso resulta em uma menor pegada de carbono associada ao transporte e à produção de gelo adicional. A eficiência energética não só diminui os custos operacionais, mas também reduz a demanda por eletricidade, frequentemente gerada a partir de combustíveis fósseis, contribuindo assim para a redução das emissões de gases de efeito estufa (Pandiselvam; Thirupathi, 2015; Nakamura *et al.*, 2017; Pandiselvam *et al.*, 2018). Portanto, a adoção do gelo ozonizado alinha-se com práticas sustentáveis e ecologicamente responsáveis, promovendo uma cadeia de suprimentos mais verde e eficiente.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicaram que o gelo ozonizado pode ser utilizado para preservar o tambaqui durante o armazenamento, apresentando perdas mais lentas na composição nutricional e características físico-químicas até 35 dias de armazenamento em comparação com o gelo comum. Peixes armazenados usando gelo ozonizado também apresentaram melhor qualidade sensorial até 28 dias de armazenamento. No entanto, as análises microbiológicas não indicaram muitas diferenças na concentração de mesófilos e coliformes totais encontrados nos filés de tambaqui armazenada usando gelo ozonizado ou gelo comum.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDRE, E.M.C.; SANTOS-PEDRO, D.M.; BRANDÃO, T.R.S.; SILVA, C.L.M. Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 1, p. 277-282, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.032>.
- ALICE, E.J.; AMANULLAH, M.; KARIM, M.A.; HOSSAIN, M.A.; ISLAM, M.T. Effects of vacuum and modified atmosphere packaging on the biochemical and microbiological quality of sliced goonch fish (*Bagarius bagarius*) stored at refrigerated condition. **Food Research**, v. 4, n. 6, p. 2256-2264, 2020. [http://dx.doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).287](http://dx.doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).287)
- ARAÚJO, W.S.C.; LIMA, C.L.S.; JOELE, M.R.S.P.; LOURENÇO, L.F.H. Development and application of the Quality Index Method (QIM) for farmed tambaqui (*Colossoma macropomum*) stored under refrigeration. **Journal of Food Safety**, v. 37, n. 1, e12288, 2016. <https://doi.org/10.1111/jfs.12288>
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 21 ed. Rockville: AOAC, 2019.
- BADONIA, R.; RAMACHANDRAN, A.; SANKAR, T. V. Quality problems in fish processing. **JIFA**, v. 18, p. 283-287, 1988.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Estabelece como oficiais os métodos contidos no Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal (IN nº 30, 26 de junho de 2018)**. Brasília, DF: Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, 2018.
- BELTRÁN, D.; SELMA, M. V.; MARIN, A.; GIL, M. I. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5654-5663, 2005a. <https://doi.org/10.1021/jf050359c>

BELTRÁN, D.; SELMAM M.V.; TUDELA, J. A.; GIL, M. I. Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. **Postharvest Biology and Technology**, v. 37, p. 37-46, 2005b. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.02.010>

BENJAKUL, S.; LAOHABANJONG, R.; TANTIKITTI, C. Lipid oxidation of fish meal stored under different storage conditions. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 29, n. 2, p. 501-514, 2007.

BHATTACHARYA, S. K.; CHOUDHURI, D. R. Studies on storage characteristics of *Clarias batrachus* at different temperatures. **Fishery technology**, v. 27, p. 127-129, 1990.

BONO, G.; OKPALA, C. O. R.; VITALE, S.; FERRANTELLI, V.; NOTO, A. D.; COSTA, A.; DI BELLA, C.; MONACO, D. L. Effects of different ozonized slurry-ice treatments and superchilling storage (-1°C) on microbial spoilage of two important pelagic fish species. **Food Sci. Nutr.**, v. 5, n. 6, p. 1049-1056, 2017. <https://doi.org/10.1002/fsn3.486>

BRAZHNAYA, I. E.; TIFANYUK, A. V.; MIKHAYLOVSKAYA, A. V.; SUDAK, S. N.; KULIK, O. M. The use of ultraviolet bactericidal radiation in the technology of manufacturing fish minced semi-finished products from low-profitable raw materials of the Northern Basin. **Vestnik of MSTU**, v. 22, n. 3, 338-348, 2019. <http://dx.doi.org/10.21443/1560-9278-2019-22-3-338-348>

CAVALI, J.; NUNES, C. T.; DANTAS FILHO, J. V.; NÓBREGA, B. A.; PONTUSCHKA, R. B.; ZANELLA, R.; SANTANA, M. C. A.; SOUZA, M. L. R.; PORTO, M. O. Chemical composition of commercial tambaqui (*Colossoma macropomum*) cuts in different body weight classes (Amazon: Brazil). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, e45510313464, 2021. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13464>

DESIGNES, C.; CHAURAND, M.; DUBOIS, M.; SADOUDI, A.; ABECASSIS, J.; LULLIEN-PELLERIN, V. Changes in common wheat grain milling behavior and tissue mechanical properties following ozone treatment. **Journal Cereal Science**, v. 47, p. 245-251, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.04.004>

DUARTE, A. M.; SILVA, F.; PINTO, F.R.; BARROSO, S.; GIL, M. M. Quality assessment of chilled and frozen fish: mini review. **Foods**, v. 9, n. 12, 1739. <http://dx.doi.org/10.3390/foods9121739>

ERIKSON, U.; MISIMI, E. Atlantic salmon skin and fillet color changes as effected by perimortem handling stress, rigor mortis, and ice storage. **Journal Food Science**, v. 73, p. 50-59, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00617.x>

FEITOSA, G. P.; SILVA, G. V. G. M.; LIMA, M.J.F.; SOUSA, G. A. M.; SILVA, I. C. M.; SOUSA, K. N. S. Boas práticas na manipulação de pescado como capacitação para

manipuladores de pescado de Santarém, Pará, Brasil. **REPESCA**, v. 10, n. 1, p. 16-26, 2017. <https://doi.org/10.18817/repesca.v10i2.1285>

FISHER, C. W.; LEE, D.; DODGE, B. A.; HAMMAN, K. M.; ROBBINS, J.B.; MARTIN, S.E. Influence of catalase and superoxide dismutase on ozone inactivation of listeria monocytogenes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 4, p. 1405-1409, 2000. <https://doi.org/10.1128%2Faem.66.4.1405-1409.2000>

GANTOIS, I.; EECKHAUT, V.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. A comparative study on the pathogenesis of egg contamination by different serotypes of *Salmonella*. **Avian Pathology**, v. 37, n. 4, p. 399-406, 2008. <https://doi.org/10.1080/03079450802216611>

GATICA, M. C.; MONTI, G. E.; KNOWLES, T. G.; GALLO, C. B. Effects of crowding on blood constituents and flesh quality variables in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Archivos de medicina veterinaria**, v. 42, p. 187-193, 2010. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2010000300010>

GONÇALVES, A. A. Ozone: an emerging technology for the seafood industry. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 6, p. 1527-1539, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132009000600025>

HAUZOUKIM, S. S.; MOHANTY, B. Modified atmosphere packaging of fish and fishery products: a review. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 8, p. 651-659, 2020.

KARACA, H. Use of ozone in the citrus industry. **Ozone: Science & Engineering**, v. 32, p. 122-129, 2010. <https://doi.org/10.1080/01919510903520605>

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **J. Food Sci.**, v. 66, p. 1242-1252, 2001. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15196.x>

KOOL, H. J.; HRUBEC, J. The influence of an ozone, chlorine and chlorine dioxide treatment on mutagenic activity in (drinking) water. **Ozone: Science & Engineering**, v. 8, n. 3, p. 217-234, 1986. <https://doi.org/10.1080/01919518608552404>

KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L.; ONO, E. A.; ISTCHUK, P. I. Piscicultura no Brasil. Estatísticas, espécies, polo de produção e fatores limitantes a expansão da atividade. **Panorama da Aquicultura**, v. 22, n. 132, 2012.

LIBANORI, M. C. M.; CASADO, R. P.; SOLA, M. C.; MARCUSSO, P.F. Contradictions and challenges of fish slaughter in Brazil. **Veterinária Notícias**, v. 26, n. 2, p. 154-166, 2020. <https://doi.org/10.14393/VTN-v26n2-2020-46732>

LOGAN, M. **Biostatistical design and analysis using R: a practical guide**. New Jersey, US: John Wiley & Sons Ltd, 2010.

MATSUMOTO, K.; SAMESHIMA, K.; TERAOKA, Y.; FURUYA, K.; MURAHASHI, K.; HAYASHI, K.; SHIRAI, D. Formation of ozone ice by freezing water containing ozone micro-bubbles (Investigation into the influence of surfactant on characteristics of ice containing oxygen micro-bubbles). **International Journal of Refrigeration**, v. 36, n. 3, p. 842-851. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2012.10.030>

MENDES, J. M.; INOUE, L. A. K. A.; JESUS, R. S. Influência do estresse causado pelo transporte e método de abate sobre o rigor mortis do tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Braz. J. Food Technol.**, v. 18, n. 2, p. 162-169, 2015. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.1115>.

MENDES, J. M.; DAIRIKI, J. K.; INOUE, L. A. K. A.; JESUS, R.S. Advantages of recovery from pre-slaughter stress in tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1816) agroindustry in the Amazon. **Food Science Technology**, v. 37, p. 383-388, 2017. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.14316>.

MENDES, J. M.; JESUS, R. S.; INOUE, L. A. K. A.; NEVES, J. P. B. Efeitos do estresse pré-abate na qualidade da carne do tambaqui armazenado no gelo. **Rev. em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 16, n. 3, e10717, 2023. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2023v16n3e10717>.

MOHAMMADI, H.; MAZLOOMI, S. M.; ESKANDARI, M. H.; AMINLARI, M.; NIAKOUSARI, M. The effect of ozone on aflatoxin m1, oxidative stability, carotenoid content and the microbial count of milk. **Ozone: Science & Engineering**, v. 39, p. 447-453, 2017. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1329647>

NAKAMURA, H.; OYA, M.; HANAMOTO, T.; NAGASHIO, D. Reviewing the 20 years of operation of ozonation facilities in hanshin water supply authority with respect to water quality improvements. **Ozone: Science & Engineering**, v. 39, p. 397-406. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1352413>.

OLIVEIRA FILHO, P. R. C.; OLIVEIRA, P. J. M. G.; MELO, M. P.; VIEGAS, E. M. M.; NATORI, M. M.; BALDI, S. C. V. Physiological stress and meat quality of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to CO₂ narcosis, hypothermia and electrical stunning. **Aquac. Res.**, v. 52, p. 5034-5043, 2021. <https://doi.org/10.1111/are.15375>.

PANDISELVAM, R.; THIRUPATHI, V. Reaction kinetics of ozone gas in green gram (*Vigna Radiate*). **Ozone: Science & Engineering**, v. 37, p. 309-315, 2015. <https://doi.org/10.1080/01919512.2014.984158>.

PANDISELVAM, R.; CHANDRASEKAR, V.; THIRUPATHI, V. Numerical simulation of ozone concentration profile and flow characteristics in paddy bulks. **Pest Management Science**, v. 73, p. 1698-1702, 2017. <https://doi.org/10.1002/ps.4516>.

PANDISELVAM, R.; THIRUPATHI, V.; CHANDRASEKAR, V.; KOTHAKOTA, A.; ANANDAKUMAR, S. Numerical simulation and validation of mass transfer process of ozone gas in rice grain bulks. **Ozone: Science & Engineering**, v. 40, p. 191-197, 2018. <http://dx.doi.org/10.1080/01919512.2017.1404902>.

PASTORIZA, L.; BERNÁRDEZ, M.; SAMPEDRO, G.; CABO, M. L.; HERRERA, J. J. R. Use of sterile and ozonized water as a strategy to stabilize the quality of stored refrigerated fresh fish. **Food Control**, v. 19, n. 8, p. 772-780, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.08.003>.

PERIGREEN, P. A.; LEKSHMY NAIR, A.; PRABHU, P. V. Filleting of fish and utilization of fillet. **Fishery technology**, v. 16, p. 43-45, 1979.

PERIGREEN, P. A.; JOSEPH, J.; SURENDRAN, P. K.; GOPAKUMAR, K. Studies on Iced Storage of Common Murrel (*Channa striatus*). **Fishery technology**, v. 24, n. 2, p. 99-102, 1987.

RAHMANIFARAH, K.; SHABANPOUR, B.; SATTARI, A. Effects of clove oil on behavior and flesh quality of common carp (*Cyprinus carpio*) in comparison with pre-slaughter CO₂ stunning, chilling and asphyxia. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 11, p. 139-147, 2011. <https://doi.org/10.4194/trjfas.2011.0118>.

RAHN, K.; GRANDIS, S. A.; CLARKE, R. C.; CURTISS, R.; GYLES, C. L. Amplification of an invA gene sequence of *Salmonella Typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. **Molecular and Cellular Probes**, v. 6, p. 271-279, 1992. [https://doi.org/10.1016/0890-8508\(92\)90002-f](https://doi.org/10.1016/0890-8508(92)90002-f).

RAVESI, E. M.; LICCIARDELLO, J. J.; RACICOT, L. D. Ozone treatments of fresh atlantic cod, *Gadus morhua*. **Marine Fisheries Review**, v. 49, n. 4, p. 37-42, 1987.

RAYENI, M. F. Influence of frozen storage of fish on changes in lipids and fatty acids. **International Journal of Multidisciplinary Research and Development**, v. 3, n. 5, p. 77-80, 2016.

RUMAPE, O.; ELVENY, M.; SUKSATAN, W.; HATMI, R. U.; VORONKONVA, O. Y.; BOKOV, D. O.; WANITA, Y. P. Study on the quality of fish products based on different preservation techniques: a review. **Food Science and Technology**, v. 42, e78521, 2022. <https://doi.org/10.1590/fst.78521>

SAMBROOK J. F.; RUSSELL, D.W. **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. 3^a ed. Nova York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

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, 2014. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12337>

SANTOS, G. M.; FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. **Peixes Comerciais de Manaus**. 2^a ed. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2009.

SHERIDAN, M. A. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. **Comparative Biochemistry and Physiology B**, v. 90, n. 4, p. 679-690, 1988. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(88\)90322-7](https://doi.org/10.1016/0305-0491(88)90322-7)

SILVA, M. L. B. P.; LOPES, J. M.; VIEIRA, S. G. A.; ARAUJO, T. D. S.; CALVET, R. M.; PEREIRA, A. M. L.; FOGAÇA, F. H. S. Development of a quality index scheme and shelf-life study for whole tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Acta Amazônica**, v. 48, n. 2, p. 98-108, 2018. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201703441>

SILVA, P. E. S.; RODRIGUES, M. D. N.; PEREIRA, I. E. S.; MENDES, V. R.; CAVALCANTE, M. A.; FECURY, A. A.; DIAS, C. A. G. M. Avaliação dos caracteres sensoriais de tambaqui (*Colossoma macropomum*) fresco vendido em feiras livres de Macapá (Amapá, Brazil) por escore qualiquantitativo. **Biota Amazôn.**, v. 11, n. 1, p. 29-32, 2021.

SILVA, S. M.; RAMIREZ, J. R. B.; SILVA, S. M.; DANTAS FILHO, J. V.; MARMENTINI, R. P.; SCHONS, S. V.; CAVALI, J. Quality assessment of amazonian fish from fish farming stored on ice. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 16, p. 134-140, 2022. <http://dx.doi.org/10.21708/avb.2022.16.2.10492>

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W. K.; ROSNES, J. T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, p. 107-127, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00548.x>

SOUZA, L. P.; FARONI, L. R. D.; HELENO, F. F.; CECON, P. R.; GONÇALVES, T.D.C.; SILVA, G.J.; PRATES, L. H. F. Effects of ozone treatment on post harvest carrot quality. **LWT - Food Science Technology**, v. 90, p. 53-60, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.057>

STEPHAN, R.; ALTHAUS, D.; KIEFER, S.; LEHNER, A.; HATZ, C.; SCHMUTZ, C.; JOST, M.; GERBER, N.; BAUMGARTNER, A.; HÄCHLER, H.; MAUSEZAHN-FEUZ, M. Foodborne transmission of listeria monocytogenes via ready-to-eat salad: a nationwide outbreak in Switzerland, 2013–2014. **Food Control**, v. 57, p. 14-17, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.034>

TAVARES, J.; MARTINS, A.; FIDALGO, L. G.; LIMA, V.; AMARAL, R. A.; PINTO, C. A.; SILVA, A.M.; SARAIVA, J.A. Fresh fish degradation and advances in preservation using

physical emerging technologies. **Foods**, v. 10, n. 4, p. 780, 2021.
<https://doi.org/10.3390/foods10040780>

VYNCKE, B. W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **European Journal of Lipid Science & Technology**, v. 72, n. 12, p. 1084-1087, 1970.
<https://doi.org/10.1002/lipi.19700721218>

YÜCEER, M.; ADAY, M. S.; CANER, C. Ozone treatment of shell eggs to preserve functional quality and enhance shelf life during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 8, p. 2755-2763, 2016. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7440>