



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

QUÉZIA HADASSA MACHADO LEITE

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E
ESTABILIDADE OXIDATIVA DE FILÉS DE TILÁPIA CONGELADOS
DISPONÍVEIS NO VAREJO**

Presidente Prudente - SP
2026



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

QUÉZIA HADASSA MACHADO LEITE

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E
ESTABILIDADE OXIDATIVA DE FILÉS DE TILÁPIA CONGELADOS
DISPONÍVEIS NO VAREJO**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora Prof^a Dr^a Marilice Zundt Astolphi

Presidente Prudente - SP
2026

636.089
L533q

Leite, Quézia Hadassa Machado.

Qualidade microbiológica, composição nutricional e estabilidade oxidativa de filés de tilápia congelados disponíveis no varejo / Quézia Hadassa Machado Leite. – Presidente Prudente, 2026.

48 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2026.

Bibliografia.

Orientador: Prof^a Dr^a Marilice Zundt Astolphi.

1. Filés de tilápia congelados. 2. Composição centesimal. 3. Glaciamento. 4. Microbiologia dos alimentos. 5. Oxidação lipídica. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E ESTABILIDADE OXIDATIVA DE FILÉS DE TILÁPIA CONGELADOS DISPONÍVEIS NO VAREJO”

AUTOR(A): QUÉZIA HADASSA MACHADO LEITE

ORIENTADOR(A): Profa. Dra. MARILICE ZUNDT ASTOLPHI

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE(A) em CIÊNCIA ANIMAL

Área de Concentração FISIOPATOLOGIA ANIMAL, pela Comissão Examinadora:

MARILICE ZUNDT ASTOLPHI (orientadora)

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

RICARDO FIRETTI

APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios / Presidente Prudente (SP)

ROGERIO GIUFFRIDA

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Data da realização: Presidente Prudente, 24 de Março de 2026.

Central de Assinaturas Eletrônicas

Sobre o documento

Assunto: Documento eletrônico
Status do documento: Concluído
Data de criação do documento: 25/03/2026 15:04
Fuso horário: (UTC-03:00) Brasília
Número de assinaturas: 3
Solicitante: KEID RIBEIRO KRUGER (#6470448)

Signatários do documento

MARILICE ZUNDT ASTOLPHI (PROFESSOR)

mari@unoeste.br
Recebido em 25/03/2026 15:04
Assinado em 25/03/2026 15:42
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 177.131.33.2
ID da assinatura: 6490160

RICARDO FIRETTI (SIGNATÁRIO EXTERNO)

rfiretti@outlook.com
Recebido em 25/03/2026 15:04
Assinado em 25/03/2026 15:41
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 177.95.128.205
ID da assinatura: 6490161

ROGERIO GIUFFRIDA (PROFESSOR)

rgiuffrida@unoeste.br
Recebido em 25/03/2026 15:04
Assinado em 26/03/2026 11:03
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 177.131.32.97
ID da assinatura: 6490162

URL do documento: <https://www.unoeste.br/ca/e8f79208>

Assinatura digital do documento: 654acffc61f798eb58fd2ed6be44d5c0394a316ac3e2c68925adff6699d800

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

Mantida pela EPEC - Empresa Prudentina de Educação e Cultura SA

Utilize o QRCode abaixo para conferir a autenticidade deste documento:



AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por ter me concedido saúde, força, fé e perseverança ao longo de toda a trajetória acadêmica, iluminando minhas decisões e fortalecendo-me nos momentos mais desafiadores. Sem sua presença constante, este trabalho não teria sido possível.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Marilice Zundt, expresso meus sinceros agradecimentos pela dedicação, paciência, compromisso e rigor científico. Suas orientações, correções e contribuições foram essenciais para a construção deste projeto, ampliando meu conhecimento e contribuindo significativamente para meu crescimento acadêmico e profissional.

Ao meu marido João Victor, agradeço profundamente pelo amor, apoio incondicional, compreensão e incentivo constante. Sua presença foi fundamental nos momentos de dificuldade, tornando mais leve o caminho percorrido e fortalecendo minha determinação para alcançar este objetivo.

À minha família, agradeço pelo apoio irrestrito, pelas palavras de encorajamento, pela confiança depositada em mim e pela compreensão diante das ausências e dos desafios impostos pela vida acadêmica. O apoio de vocês foi essencial para a conclusão deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste projeto, seja por meio de apoio, incentivo, orientação ou colaboração ao longo desta jornada.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa na modalidade taxa (PROSUP), viabilizando o custeio das mensalidades e o suporte institucional necessário para a realização deste mestrado.

“Não devemos chamar o povo à escola para receber instruções, postulados, receitas, ameaças, repreensões e punições, mas para participar coletivamente da construção de um saber, que vai além do saber de pura experiência feita, que leve em conta as suas necessidades e o torne instrumento de luta, possibilitando-lhe ser sujeito de sua própria história”. (Paulo Freire)

RESUMO

Qualidade microbiológica, composição nutricional e estabilidade oxidativa de filés de tilápia congelados disponíveis no varejo

O consumo mundial de tilápia atingiu aproximadamente 7,1 milhões de toneladas em 2024, com uma taxa de crescimento anual de 5,7%, consolidando a espécie como uma das principais fontes proteicas globais. No entanto, a precariedade na segurança sanitária representa um entrave econômico massivo, com custos anuais em saúde que ultrapassam US\$ 14,1 bilhões e prejuízos por eventos de recall superiores a US\$ 100 milhões para a indústria. Diante desse cenário, o presente estudo avaliou a qualidade físico-química, microbiológica e oxidativa de filés de tilápia congelados comercializados no varejo ao longo do tempo de armazenamento (D0, D3, D7 e D14). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial marca × tempo, com dados submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Observou-se efeito significativo da marca sobre a composição centesimal, com variações nos teores de proteína bruta e extrato etéreo, enquanto umidade e cinzas não apresentaram variações significativas entre marcas e tempos. Embora o percentual de congelamento tenha atendido majoritariamente à legislação, as análises microbiológicas evidenciaram não conformidades críticas em parte das amostras, independentemente do tempo de armazenamento, indicando falhas graves no controle higiênico-sanitário no ponto de venda. A estabilidade oxidativa, avaliada por TBARS, apresentou deterioração progressiva, com aumento significativo dos valores em D7 e D14 e interação significativa marca × tempo ($p < 0,05$). Mais do que uma simples heterogeneidade qualitativa, a presença de patógenos e a instabilidade oxidativa observadas expõem vulnerabilidades que comprometem diretamente a saúde pública e a sustentabilidade econômica do setor. Os resultados reforçam que a conformidade com padrões microbiológicos não é apenas uma exigência legal, mas uma estratégia vital de sobrevivência comercial, exigindo a padronização imediata dos protocolos de boas práticas e a intensificação da fiscalização sanitária na cadeia de frio varejista.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*; Oxidação lipídica; Segurança alimentar; Qualidade microbiológica.

ABSTRACT

Microbiological quality, nutritional composition and oxidative stability of frozen tilapia fillets available in retail

Global tilapia consumption reached approximately 7.1 million tons in 2024, with an annual growth rate of 5.7%, consolidating the species as one of the main global protein sources. However, the precariousness in food safety represents a massive economic barrier, with annual health costs exceeding US\$ 14.1 billion and losses from recall events exceeding US\$ 100 million for the industry. Given this scenario, the present study evaluated the physicochemical, microbiological, and oxidative quality of frozen tilapia fillets commercialized in retail markets over storage time (D0, D3, D7, and D14). The experimental design was completely randomized in a factorial scheme (brand × storage time), with data subjected to analysis of variance (ANOVA) and means compared using Tukey's test ($p < 0.05$). A significant brand effect was observed on proximate composition, with variations in crude protein and extract contents, while moisture and ash showed no significant variations among brands and storage times. Although the glazing percentage predominantly met current legislation, microbiological analyses revealed critical non-conformities in part of the samples, regardless of storage time, indicating serious deficiencies in hygienic-sanitary control at the retail level. Oxidative stability, assessed by TBARS, showed progressive deterioration, with a significant increase in values at D7 and D14 and a significant brand × time interaction ($p < 0.05$). More than simple qualitative heterogeneity, the presence of pathogens and the observed oxidative instability expose vulnerabilities that directly compromise public health and the economic sustainability of the sector. The results reinforce that compliance with microbiological standards is not merely a legal requirement but a vital commercial survival strategy, demanding the immediate standardization of best practice protocols and the intensification of sanitary surveillance in the retail cold chain.

Keywords: *Oreochromis niloticus*; Lipid oxidation; Food safety; Microbiological quality; Retail.

LISTA DE SIGLAS

%G – Percentual de desglaciamento

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios

BHA – Butil-hidroxi-anisol (Butylated Hydroxyanisole)

BPF – Boas Práticas de Fabricação

CAT – Catalase

D0 – Dia zero

D14 – Dia catorze

D3 – Dia três

D7 – Dia sete

DIC – Delineamento inteiramente casualizado

FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FeCl₃ – Cloreto férrico (Ferric chloride)

FRAP – Poder Antioxidante de Redução do Ferro (Ferric Reducing Antioxidant Power)

g – Grama

GPx – Glutathione Peroxidase

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

kg – Quilograma

m/v – Massa por volume

MDA – Malonaldeído (Malondialdehyde)

mL – Mililitro

MM – Matéria Mineral

MS – Matéria Seca

nm – Nanômetro

°C – Graus celsius

PB – Proteína Bruta

Pd – Peso desglaciado

PE – Peso da embalagem

Pg – Peso glaciado

pH – Potencial hidrogeniônico

POP – Procedimentos Operacionais Padronizados

SGP – Sistema Gestor de Pesquisa

SOD – Superóxido dismutase

SP – São Paulo

spp. – Espécies (plural de species)

Σ – Soma

TBA – Ácido tiobarbitúrico (Thiobarbituric Acid)

TBARS – Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (Thiobarbituric Acid Reactive Substances)

TCA – Ácido tricloroacético (Trichloroacetic Acid)

TPTZ – 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina

TSI – Ágar triple sugar iron

UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista

μL – Microlitro

$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ – Micromol de ferro por grama

$\mu\text{mol TE} / \text{g}$ – Micromol equivalente Trolox por grama

SUMÁRIO

	IMPACTO POTENCIAL DESSA PESQUISA.....	12
1	ARTIGO CIENTÍFICO.....	13
	ANEXO 1- NORMAS DA REVISTA INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD SCIENCE	36

IMPACTO POTENCIAL DESSA PESQUISA

Este estudo apresenta elevado impacto científico, social e tecnológico ao avaliar, de forma integrada, parâmetros microbiológicos, físico-químicos e oxidativos de filés de tilápia congelados comercializados no varejo brasileiro, um dos principais produtos aquícolas consumidos no país. Ao analisar simultaneamente conformidade higiênico-sanitária, composição e estabilidade oxidativa, a pesquisa gera evidências robustas para o aprimoramento da qualidade e da segurança do pescado disponível ao consumidor, alinhando-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, especialmente aos ODS 2, 3, 9 e 12.

No âmbito da segurança alimentar (ODS 2), os resultados contribuem para o fortalecimento da cadeia produtiva aquícola ao identificar pontos críticos que impactam a qualidade do produto final. Sob a perspectiva da saúde pública (ODS 3), a detecção de inconformidades microbiológicas relevantes, incluindo *Salmonella* spp., evidencia riscos potenciais ao consumidor e reforça a necessidade de maior rigor nas Boas Práticas de Fabricação e no controle da cadeia de frio.

Do ponto de vista tecnológico e de inovação (ODS 9), a abordagem integrada adotada amplia o conhecimento sobre a heterogeneidade dos produtos no varejo e fornece subsídios para aperfeiçoamento de protocolos industriais, padronização de glaciamento e estratégias de aumento de vida útil. Ao mesmo tempo, ao promover maior transparência e responsabilização na cadeia produtiva (ODS 12), a pesquisa favorece decisões mais conscientes por parte do consumidor e estimula melhorias contínuas nos processos produtivos.

Assim, o estudo consolida-se como instrumento estratégico de apoio à vigilância sanitária, à indústria aquícola e à formulação de políticas públicas, com impacto direto na segurança dos alimentos, na inovação tecnológica do setor e na sustentabilidade da produção de pescado no Brasil.

1 ARTIGO CIENTÍFICO

ARTIGO ESCRITO NAS NORMAS - *International Journal of food Science*

(Citescore 6,7 / Highest percentile 76%/ A2)

Qualidade microbiológica, composição nutricional e estabilidade oxidativa de filés de tilápia congelados disponíveis no varejo

Quezia Leite ¹, Ricardo Firetti ³, Lorraine Pissini Dutra ², Isabella Guartieri da Silva ¹, Marilice Zundt ^{1*}.

1 Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE – Presidente Prudente SP

2 Faculdade de Ciências Agrárias, Graduação em Zootecnia, Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE – Presidente Prudente SP

3 APTA - Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios

***Contato principal**

Marilice Zundt, e-mail: marilicezundt@gmail.com

Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE

Rod Raposo Tavares, km572

Presidente Prudente - SP Cep 19067-175

(18) 3229 3213

ORCID

Quézia Hadassa Machado Leite: 0009-0008-0961-9244

Ricardo Firetti: 0000-0002-1998-253X

Lorraine Pissini Dutra: 0009-0004-2429-8523

Isabella Guartieri da Silva: 0000-0002-5725-7822

Marilice Zundt: 0000-0001-9551-9195

1 INTRODUÇÃO

O consumo de tilápia tem crescido de forma expressiva no Brasil e no mundo, impulsionado pela procura por fontes proteicas saudáveis e pela produção eficiente da espécie *Oreochromis niloticus* em sistemas intensivos. Em 2024, o consumo mundial alcançou cerca de 7,1 milhões de toneladas, refletindo uma tendência de crescimento médio anual de 5,7% [1-3], motivada por mudanças no comportamento alimentar, urbanização e preocupação com a sustentabilidade. Com a produção estimada em 7,3 milhões de toneladas para 2025, a aceitação da espécie consolida-se como uma das principais fontes de proteína animal, refletindo uma transformação global no padrão de consumo de pescados que transcende o mercado brasileiro [4,5].

Contudo, esse crescimento acelerado na produção de tilápia impõe desafios à segurança dos alimentos, exigindo monitoramento rigoroso, uma vez que a complexidade das cadeias de varejo pode elevar o risco de falhas sanitárias e perda da integridade do produto [58]. Tal precariedade representa um entrave financeiro massivo, com fardo econômico anual superior a US\$ 14,1 bilhões em gastos com saúde e perda de produtividade [58]. Para o setor industrial, o impacto de recalls pode superar US\$ 100 milhões por evento [59], evidenciando que o custo de um surto é de 10 a 100 vezes superior ao investimento em medidas preventivas e rigorosos controles de processos [61].

No contexto brasileiro, o rigor técnico para mitigar riscos sanitários é estabelecido pela Instrução Normativa nº 161/2022 (ANVISA) [63], cujos parâmetros de ausência de *Salmonella spp.* em 25 g são fundamentais para evitar descartes e surtos hospitalares no país [60, 62]. A conformidade com essa norma é uma estratégia essencial para a viabilidade econômica da tilápia, comercializada majoritariamente como filés congelados. Entretanto, a qualidade final desses produtos depende rigorosamente das condições de armazenamento, visto que a elevada atividade de água e a riqueza em ácidos graxos insaturados tornam o pescado altamente suscetível a alterações oxidativas e microbiológicas ao longo do tempo [6, 7].

Entre os fatores determinantes da qualidade do pescado, destacam-se as condições higiênico-sanitárias durante as etapas de processamento e comercialização. A atividade microbiana é a principal responsável pela deterioração de peixes e derivados, sendo o controle de temperatura, próximo a 0 °C, essencial para retardar o crescimento microbiano e prolongar a vida útil do produto. Além disso, fatores físico-químicos, como percentual de glaciamento, retenção de água e composição centesimal, influenciam diretamente características como textura, rendimento e valor nutricional dos filés congelados [8,9].

A oxidação lipídica destaca-se como uma das principais causas da perda de qualidade sensorial e nutricional em pescados, promovendo a formação de compostos secundários como o malonaldeído, que gera odores e sabores indesejáveis [10]. Para monitorar essa degradação, utilizou-se o ensaio de TBARS, que quantifica especificamente o grau de oxidação lipídica secundária [58], em conjunto com o método FRAP, que mensura o poder de redução férrica da amostra [57]. A avaliação integrada desses parâmetros é crucial para prever a vida útil do pescado, visto que a correlação entre o aumento de subprodutos oxidativos e a redução da robustez do sistema antioxidante determina a perda de atributos sensoriais e a consequente rejeição do produto no varejo [64].

A legislação brasileira, regida pela RDC nº 724/2022 [45] e pela IN nº 161/2022 [55], estabelece padrões microbiológicos rigorosos para o pescado, exigindo a ausência de *Salmonella spp.* em 25 g e fixando limites aceitáveis (m) e máximos (M) de 10^2 e 10^3 UFC/g para *Escherichia coli* e *Staphylococcus spp.* [55, 56]. O cumprimento desses parâmetros é essencial para a segurança alimentar, uma vez que a presença de patógenos indica falhas graves no controle de qualidade industrial ou varejista. Contudo, variações nos processos de inspeção e falhas no controle de temperatura ao longo da cadeia produtiva podem comprometer essa conformidade, evidenciando a importância de um monitoramento contínuo e de uma fiscalização adequada para assegurar a integridade microbiológica do produto [49].

Diante do exposto, este trabalho objetivou realizar uma caracterização abrangente da qualidade de diferentes marcas de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) congelados, comercializadas no varejo do município de Presidente Prudente, SP. A pesquisa integrou análises microbiológicas, a determinação da composição centesimal e a avaliação da estabilidade oxidativa e potencial antioxidante, visando não apenas verificar a conformidade com a legislação vigente, mas também fornecer um diagnóstico preciso sobre a integridade nutricional e a segurança alimentar desse produto para o consumidor final.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade do Oeste Paulista (Unoeste), Campus II, em Presidente Prudente, SP. O estudo integrou um projeto de pesquisa financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), vinculado à Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA) – Regional de Presidente Prudente. As análises foram realizadas por meio de parceria

institucional, encontrando-se o projeto registrado no Sistema de Gestão de Projetos (SGP) sob o protocolo nº 8612.

2.2 Período experimental e delineamento

O estudo seguiu um delineamento transversal observacional, realizado no segundo semestre de 2025, para a avaliação de 14 marcas de filés de tilápia adquiridas no varejo da região do Oeste Paulista. A unidade experimental foi constituída pelo pacote de filés congelados, sendo adquiridos 5 pacotes por marca (repetições), totalizando 70 unidades amostrais com pesos variando entre 400g e 800g.

No momento da abertura das amostras (D0), realizou-se a caracterização inicial das marcas quanto ao percentual de glaciamento e à composição bromatológica (alíquotas de 120g a 250g). Simultaneamente, procedeu-se à identificação e ao fracionamento das amostras em alíquotas padronizadas (1g para análises microbiológicas, 20g para TBARS e 10g para FRAP) para o acompanhamento temporal.

Para o monitoramento da evolução da qualidade microbiológica, físico-química e oxidativa, o estudo seguiu um esquema fatorial marcas × tempo de armazenamento, com avaliações realizadas nos dias 0, 3, 7 e 14 (D0, D3, D7 e D14) sob refrigeração. Essa organização inicial assegurou a rastreabilidade e a repetibilidade experimental, sendo a distribuição das porções para os diferentes tempos realizada de forma inteiramente casualizada dentro de cada marca.

2.3 Determinação do percentual de glaciamento

O percentual de glaciamento foi determinado conforme metodologia descrita por Neiva *et al.* [11]. Inicialmente, as amostras foram pesadas com a embalagem (peso bruto – Pb). Em seguida, a embalagem limpa foi pesada separadamente (peso da embalagem – PE).

O filé foi imerso em água potável a 20 ± 2 °C, em volume equivalente a dez vezes o peso da amostra, até completa remoção da camada de gelo. Após o desglaciamento, o produto foi escorrido por 60 ± 10 segundos em peneira inclinada entre 15° e 17°, com remoção da água residual por papel absorvente, sem aplicação de pressão mecânica.

O peso do produto desglaciado (Pd) foi registrado, sendo o peso glaciado (Pg) obtido pela subtração: $Pg = Pb - PE$. O percentual de glaciamento (%G) foi calculado pela equação:

$$\%G = ((\Sigma Pg - \Sigma Pd) / \Sigma Pd) \times 100$$

Os valores foram expressos como média aritmética, com uma casa decimal, conforme recomendações da legislação brasileira vigente.

2.4 Análises da composição centesimal

A composição centesimal foi determinada segundo métodos oficiais da AOAC International, incluindo matéria seca (AOAC 950.46), matéria mineral ou cinzas (AOAC 920.152), proteína bruta (AOAC 920.152) e extrato etéreo (AOAC 963.15). Todas as análises foram realizadas em triplicata, visando maior precisão e confiabilidade dos resultados [12].

2.5 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram conduzidas para a pesquisa de *Salmonella* spp. utilizando alíquotas de 25 g de filé, homogeneizadas em 225 mL de Água Peptonada Tamponada (APT) para o pré-enriquecimento não seletivo (37 °C por 18-24h). Na sequência, 500 µL do material foram inoculados nos caldos Rappaport-Vassiliadis e Tetracionato (Himedia®), com posterior plaqueamento e identificação das colônias sugestivas conforme os padrões de identidade da espécie.

Para a contagem de *Staphylococcus* spp., procedeu-se ao plaqueamento direto da amostra, em que alíquotas de 1 g foram maceradas e semeadas em Ágar Baird-Parker (Himedia®). Após incubação a 37 °C por 24-48h, colônias típicas (*Staphylococcus aureus*) foram identificadas pela morfologia característica (negras, brilhantes, convexas, com halo claro) e submetidas ao teste da catalase.

No ágar MacConkey, colônias lactose-positivas foram repicadas em ágar TSI e submetidas a testes bioquímicos para identificação de *Escherichia coli* utilizando kits comerciais (Newprov®). Esta metodologia de identificação apresenta uma probabilidade de identificação correta superior a 90%, conforme especificações do fabricante. A confirmação de coliformes termotolerantes foi realizada por incubação a 45 °C por 24–48 horas.

2.6 Avaliação da oxidação lipídica e atividade antioxidante

2.6.1 Estabilidade Oxidativa (TBARS)

A oxidação lipídica foi determinada pela análise de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), seguindo a metodologia de Vyncke [65]. Alíquotas de 20g de amostra foram submetidas à extração com ácido tricloroacético (TCA). A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 532 nm,

utilizando-se branco (água destilada e reagentes) para calibração. Os resultados foram quantificados por meio de uma curva padrão de malonaldeído (MDA), preparada com 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP), e expressos em mg de MDA por kg de amostra (base úmida).

2.6.2 Potencial Antioxidante (FRAP)

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método do poder antioxidante de redução do ferro (FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power) [66]. Para a análise, foram pesados 10 g de amostra, homogeneizados com tampão fosfato (pH 7,2) e mantidos sob refrigeração. O reagente FRAP foi preparado no momento da análise com tampão acetato, TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina) e FeCl_3 . Após incubação por 1 hora no escuro, a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 593 nm, utilizando-se o branco para calibração. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ de amostra, considerando as devidas correções baseadas no teor de umidade para fins comparativos.

2.7 Análise estatística

Os resultados obtidos nas avaliações de desglaciamento e microbiologia não foram submetidos a testes estatísticos comparando médias ou variâncias. Realizaram-se apenas análises utilizando técnicas descritivas.

A composição centesimal foi submetida a análise de variância (ANOVA), em delineamento inteiramente casualizado, com comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na avaliação da oxidação lipídica e atividade antioxidante, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) obedecendo a um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial, considerando como causas de variação os fatores principais: Marca (14 níveis) e Tempo de Armazenamento (4 níveis: 0, 3, 7 e 14 dias), incluindo a interação entre ambos. Considerou-se a natureza das avaliações temporais realizadas na mesma unidade experimental, sob o pressuposto de medidas repetidas no tempo. Nos casos em que a interação (Marca x Tempo) apresentou significância estatística ($p < 0,05$), realizou-se o desdobramento da interação para isolar os efeitos.

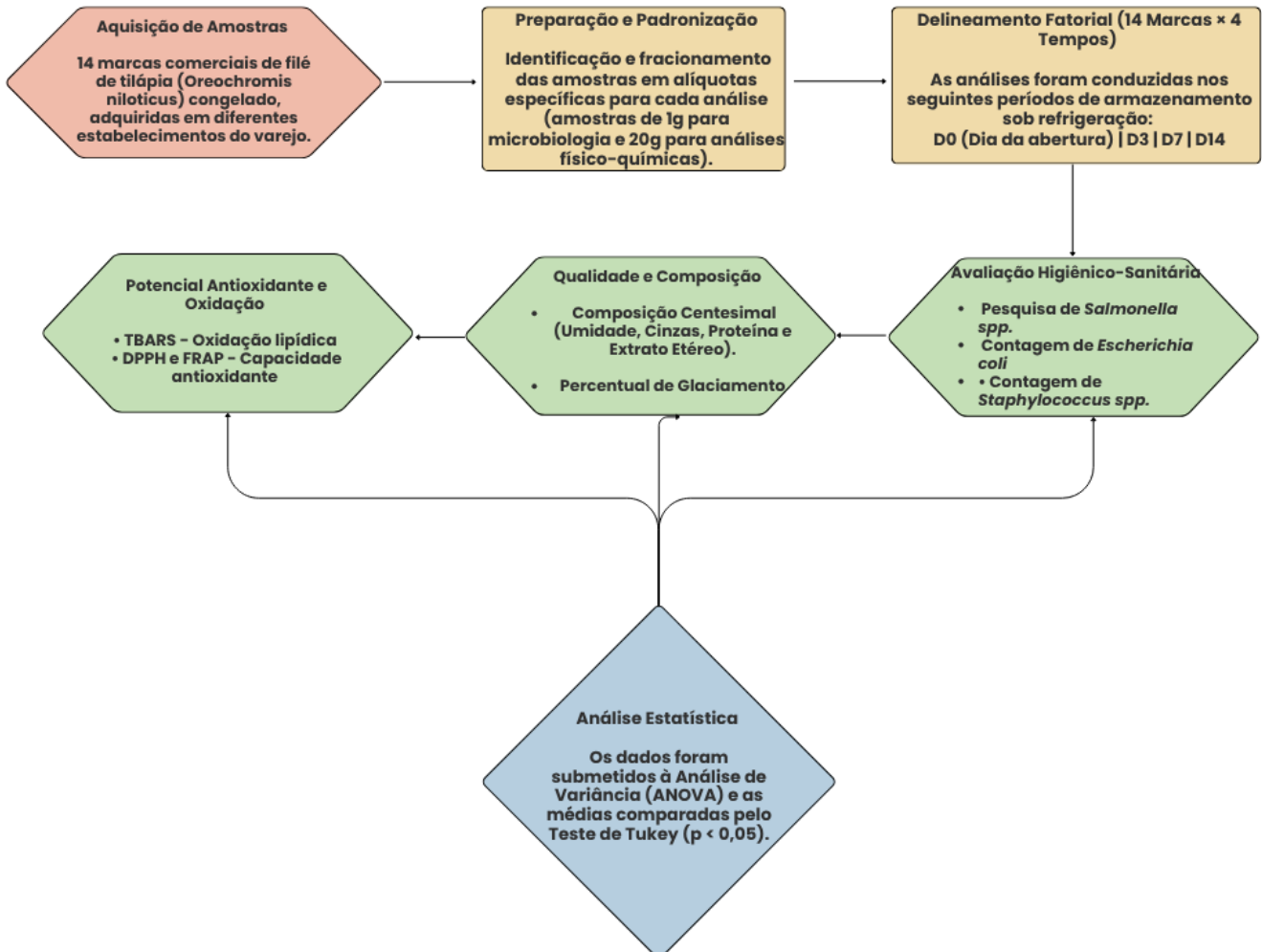
- Efeito do Tempo dentro de cada Marca: para avaliar a estabilidade oxidativa individual de cada produto ao longo do shelf life;

- Efeito da Marca dentro de cada Tempo: para identificar diferenças de performance entre os fabricantes em momentos específicos do armazenamento.

As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, adotando-se o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

As análises estatísticas foram processadas no software RStudio®.

Figura 1. Fluxograma representativo do delineamento experimental e etapas analíticas.



Nota: Cada unidade experimental foi constituída por um pacote de filés congelados (repetição), assegurando a representatividade de cada marca comercial ao longo do armazenamento refrigerado.

Fonte: Autor, 2025.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Desglaciamento

O glaciamento é uma barreira essencial contra a desidratação e oxidação [11], cujos limites protegem o tecido sem configurar fraude econômica (>12%) [13]. No estudo, os valores (1,45% a 5,42%) atenderam à legislação, embora a variação entre marcas (especialmente 9, 5, 3 e 2) reflita a heterogeneidade industrial no varejo [11, 14]. Níveis reduzidos favorecem a exposição ao oxigênio [15], enquanto camadas adequadas mitigam a

rancificação e a perda de umidade [16, 19]. Como este parâmetro influencia o rendimento e a estabilidade nutricional [17, 18], a variabilidade observada reforça a vulnerabilidade do pescado sob condições de comercialização e a necessidade de monitoramento contínuo [16, 20-22].

Tabela 1. Percentual de glaciamento (%G) em filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*) congelados de diferentes marcas comercializadas no varejo no município de Presidente Prudente, SP.

Quartil	Classificação	Marcas Incluídas	Faixa de Valores (%G)
1º Quartil (Q1)	Menor Glaciamento (Melhor conformidade)	Marcas 9, 5 e 1	1,45% a 2,00%
2º Quartil (Q2)	Glaciamento Baixo-Intermediário	Marcas 13, 7 e 14	2,04% a 2,52%
3º Quartil (Q3)	Glaciamento Médio-Intermediário	Marcas 4, 11 e 10	2,77% a 2,81%
4º Quartil (Q4)	Maior Glaciamento (Próximo ao limite legal)	Marcas 12, 6, 2 e 3	2,98% a 5,42%

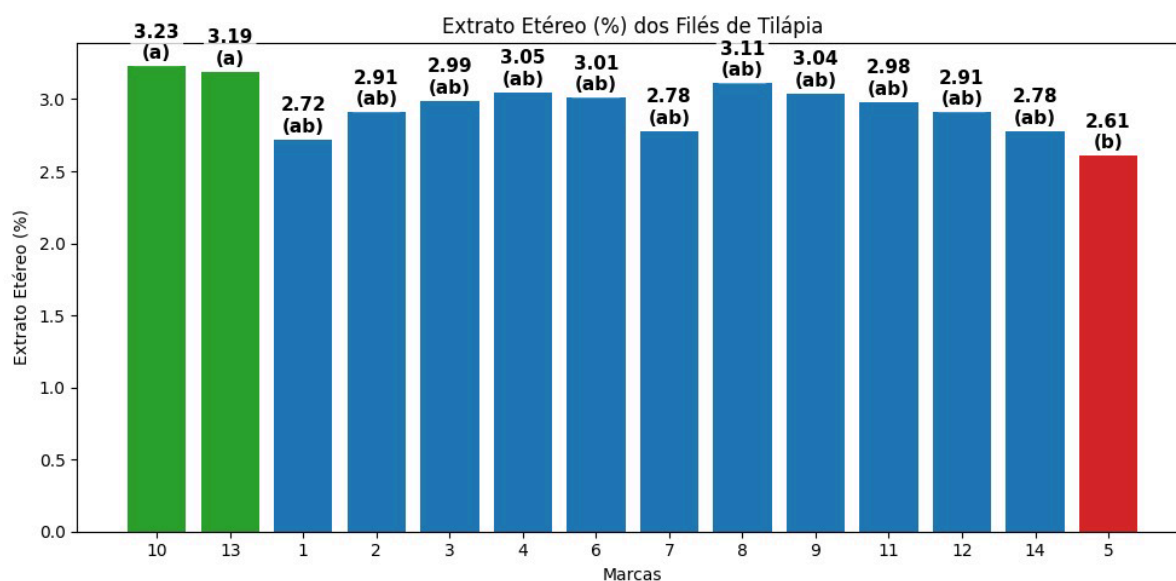
Nota: Valor igual a zero (M8) indica erro analítico, não representando ausência de glaciamento.

Fonte: Autor, 2025

3.2 Análises Bromatológicas

A composição centesimal reflete a qualidade da matéria-prima, sendo que apenas o extrato etéreo (EE) e a proteína bruta apresentaram heterogeneidade ($p < 0.05$), indicando padronização nos demais parâmetros [23, 24]. Com teores de EE entre 2,61% e 3,23%, as amostras classificam-se como "moderadamente gordas" conforme Ackman [28] (Figura 2). Tais variações lipídicas decorrem de diferenças no manejo e alimentação [29, 32] e, embora favoreçam a maciez e o sabor [7, 27], elevam a suscetibilidade à oxidação [33]. Assim, o EE atua como indicador relevante da integridade nutricional e da estabilidade sensorial dos filés [34, 35].

Figura 2. Teor de extrato etéreo (%) de filés de tilápia congelados comercializados no varejo no município de Presidente Prudente, SP.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Fonte: Autor, 2025.

Na figura 2, as cores destacam os extremos do perfil lipídico: colunas verdes sinalizam os maiores teores de extrato etéreo (grupo 'a'), enquanto a vermelha identifica o menor valor observado (grupo 'b'). As demais marcas, em azul, representam os agrupamentos intermediários ('ab'), evidenciando visualmente a heterogeneidade nutricional do produto disponível no varejo.

Os teores de proteína bruta variaram entre 17,99% e 28,52%, revelando uma amplitude superior a 10 pontos percentuais entre os grupos. Marcas com valores acima de 25% apresentam elevada qualidade nutricional [16, 36], enquanto os grupos inferiores aproximam-se dos limites basais descritos para teleósteos [37, 38]. Essa oscilação associa-se a variações no processamento, exsudação e manejo produtivo, como densidade de estocagem e dieta [17, 39, 40]. Menores níveis proteicos podem elevar a proporção de água livre e reduzir o rendimento culinário [37], influenciando a aceitação do consumidor [27, 41]. A variação estatística detalhada é apresentada na Figura 3.

Tabela 2. Composição centesimal (g/100g) em base úmida de filés de tilápia congelados de diferentes marcas comercializadas no varejo no município de Presidente Prudente, SP.

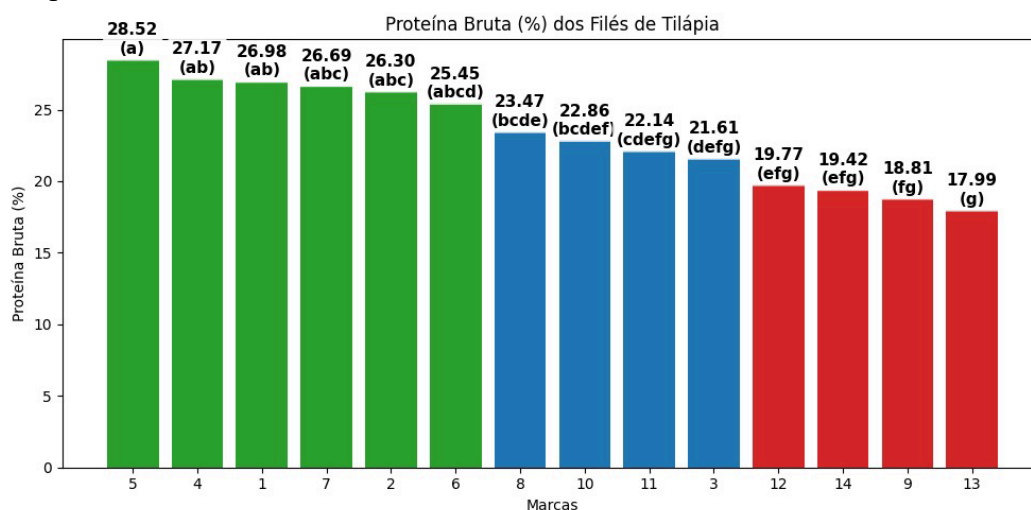
Marca	MS (%)	Umidade (%)	MM (%)	EE (%)	PB (%)
1	24,92	75,08	1,50	2,72ab	26,98 ab
2	24,50	75,50	1,58	2,91ab	26,3 abc
3	23,96	76,04	1,66	2,99ab	21,61 defg
4	27,24	72,76	1,56	3,05ab	27,17 ab
5	27,31	72,69	1,53	2,61b	28,52 a
6	25,14	74,86	1,39	3,01ab	25,45 abcd
7	23,92	76,08	1,63	2,78ab	26,69 abc
8	24,98	75,02	1,56	3,11ab	23,47 bcde
9	26,05	73,95	1,35	3,04ab	18,81 fg
10	24,36	75,64	1,53	3,23a	22,86 bcdef
11	25,46	74,54	1,57	2,98ab	22,14 cdefg
12	27,16	72,84	1,70	2,91ab	19,77 efg
13	25,89	74,11	1,33	3,19a	17,99 g
14	23,82	76,18	1,54	2,78ab	19,42 efg
F	1,88ns	1,88ns	0,91ns	3,65	13,86**
CV	7,81	2,64	16,87	4,42%	8,93

¹ Médias \pm desvio padrão (n=5). Letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

² Siglas: PB (Proteína Bruta); EE (Extrato Etéreo); MM (Matéria Mineral); CV (Coeficiente de Variação); F (Estatística F da ANOVA).

Fonte: Autor, 2025

Figura 3. Teor de proteína bruta (%) de filés de tilápia congelados comercializados no varejo no município de Presidente Prudente, SP.



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Fonte: Autor, 2025.

3.3 Microbiologia

A avaliação microbiológica é fundamental devido à elevada suscetibilidade do pescado à deterioração, sendo o varejo o elo final onde falhas no controle de temperatura e manipulação impactam diretamente a saúde pública [42, 43]. No presente estudo, a detecção de coliformes e *E. coli* (2,86%) sugere deficiências nas boas práticas de fabricação e na higienização ambiental, configurando não conformidades com os padrões rigorosos estabelecidos pela RDC 724/2022 e pela IN 161/2022 [44, 45, 55].

Tabela 3. Avaliação da qualidade microbiológica de filés de tilápia congelados de diferentes marcas adquiridos no varejo em Presidente Prudente, SP.

Porcentagem de amostras positivas e marcas positivas por microrganismo				
Microrganismo	Amostras positivas (n=140)	(%) de amostras positivas	Marcas positivas (n=14)	(%) de marcas positivas
Coliformes fecais	2	1,43%	2	14,29%
Coliformes totais	79	56,43%	14	100,00%
<i>Salmonella spp.</i> (/25g)	9	6,43%	7	50,00%
<i>Coliformes</i> <i>Termotolerantes</i> (<i>E. coli</i>)	4	2,86%	3	21,43%
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	3	2,14%	2	14,29%
<i>Staphylococcus</i> <i>spp</i>	15	10,71%	9	64,29%

¹ Resultados em frequência de ocorrência (%) de amostras positivas.

² Padrões e Indicadores (IN 161/2022): *Salmonella spp.* (ausência/25g); *Staphylococcus spp.* (limite 10^3 UFC/g); Coliformes Totais (higiene ambiental); *E. coli* (contaminação fecal).

Fonte: Autor, 2025.

A ocorrência de *Salmonella* spp. em 6,43% das amostras, com destaque para as três amostras positivas da marca 10, é um achado crítico perante a exigência legal de ausência total do patógeno em 25g [46, 47]. Paralelamente, a presença de *Staphylococcus aureus* (2,14%) indica contaminação por manipuladores ou superfícies mal higienizadas, representando risco potencial pela produção de enterotoxinas termoestáveis [44, 48, 50]. Esses dados revelam uma heterogeneidade sanitária no varejo brasileiro [29, 47-49] e reforçam a urgência de maior rigor na aplicação de programas de BPF e APPCC para garantir a inocuidade do produto [49, 50].

3.4 Oxidação Lipídica

3.4.1 TBARS

Tabela 4. Índice de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), expresso em mg de MDA/kg, em filés de tilápia armazenados sob refrigeração por até 14 dias no município de Presidente Prudente, SP.

Marca	TBARS mg MDA/kg			
	Tempo (Dias)			
	0	3	7	14
1	0,03 Ca	0,55 Bab	1,00 Babcd	3,82 Aa
2	0,41 Ba	0,64 Bab	0,64 Bcd	1,36 Ade
3	0,36 Ca	0,68 Cab	1,45 Ba	2,22 Ab
4	0,13 Ca	0,65 Bab	0,61 BCd	1,51 Acde
5	0,09 Ca	0,62 Bab	0,78 ABbcd	1,27 Ae
6	0,23 Ba	0,68 Bab	1,28 Aabc	1,68 Abcde
7	0,40 Ca	0,84 BCa	1,2 Babcd	1,91 Abcde
8	0,55 Ca	0,78 Ca	1,29 Bab	1,86 Abcde
9	0,37 Ca	0,83 BCa	1,22 Babcd	1,94 Abcd
10	0,54 Ca	0,53 Cab	1,23 Babcd	2,13 Abc
11	0,10 Ca	0,11 Cb	0,65 Bbcd	1,45 Ade
12	0,12 Ca	0,55 BCab	0,62 Bd	1,87 Abcde
13	0,36 Ca	0,64 BCab	1,00 Babcd	1,89 Abcde
14	0,13 Ca	0,68 Bab	0,64 Bcd	3,80 Aa
F	10,19**			
CV	30,85			

¹ Letras minúsculas (tempo) ou maiúsculas (marcas) distintas indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

² ANOVA de Medidas Repetidas (0, 3, 7 e 14 dias; base úmida). Siglas: TBARS (Ácido Tiobarbitúrico); MDA (Malonaldeído); F (Estatística F); CV (Coeficiente de Variação).

Fonte: Autor, 2025.

A análise de TBARS revelou interação significativa ($p < 0,05$) entre os fatores marca e tempo de armazenamento (Tabela 4). No período inicial (D0), a maioria dos produtos avaliados apresentou valores reduzidos e similaridade estatística (representada pelas letras maiúsculas), indicando boa qualidade lipídica inicial da matéria-prima disponível no varejo. Contudo, ao longo dos 14 dias de armazenamento refrigerado, verificou-se um aumento progressivo e significativo nos teores de malonaldeído (MDA) para todas as amostras (evidenciado pelas letras minúsculas na horizontal), comportamento típico da evolução da oxidação lipídica em pescados [6]. A partir de D3, a descompactação das letras maiúsculas demonstrou uma heterogeneidade marcante entre as amostras comercializadas, culminando no D14 com um dos produtos atingindo o maior valor absoluto de oxidação, mostrando-se estatisticamente superior aos demais, enquanto outro lote manteve-se significativamente mais estável. Esse aumento generalizado corrobora o limite de aceitabilidade de 2 mg MDA/kg [55], que acabou sendo superado por parte das amostras ao final do período útil.

3.4.2 FRAP

Os resultados do ensaio FRAP confirmaram a perda progressiva da capacidade redutora do complexo Fe^{3+} - TPTZ para Fe^{2+} ao longo do período experimental (Tabela 5). O desdobramento estatístico demonstrou declínio significativo (letras minúsculas) a partir de D3 para a totalidade das amostras avaliadas, caminhando em estrita consonância com o avanço da oxidação lipídica mensurada pelo TBARS. Ao analisar o efeito do produto comercial dentro de cada tempo (letras maiúsculas), constatou-se que, embora o D0 indicasse relativa uniformidade, o armazenamento sob refrigeração acentuou as disparidades tecnológicas e estruturais entre os filés disponíveis no mercado. Em D7 e D14, a segregação das médias em diferentes grupos estatísticos (letras maiúsculas na vertical) evidenciou que a magnitude da perda da atividade antioxidante é altamente variável no varejo, reforçando a heterogeneidade qualitativa do produto final que é entregue ao consumidor [52, 54].

Tabela 5. Capacidade antioxidante ($\mu\text{mol TE/g}$) de filés de tilápia congelados ao longo do armazenamento refrigerado por até 14 dias no município de Presidente Prudente, SP.

Marca	FRAP $\mu\text{mol TE / g}$.			
	Tempo (Dias)			
	0	3	7	14
1	3,60 Aa	2,29 BCb	2,62 Ba	1,97 Cb
2	3,73 Aa	2,87 Ba	2,86 Ba	1,97 Cb
3	3,50 Aa	2,69 Bab	2,49 Ba	1,81 Cb
4	3,64 Aa	2,72 Bab	2,56 Ba	1,74 Cbc
5	2,78 Ab	2,77 Aa	2,59 Aa	1,88 Bb
6	3,68 Aa	2,88 Ba	1,84 Cb	1,68 Cbc
7	3,51 Aa	2,71 Bab	1,96 Cb	1,73 Cbc
8	3,50 Aa	2,76 Ba	1,97 Cb	1,71 Cbc
9	2,65 Ab	2,67 Aab	1,84 Bb	1,36 Cc
10	2,73 Ab	2,76 Aa	1,70 Bb	1,69 Bbc
11	3,60 Aa	2,78 Ba	2,72 Ba	2,49 Ba
12	3,73 Aa	2,29 Cb	2,77 Ba	2,56 BCa
13	3,50 Aa	2,87 Ba	2,62 Ba	2,59 Ba
14	3,64 Aa	2,69 Bab	2,86 Ba	1,97 Cb
F	10,71**			
CV	7,74			

¹ Letras minúsculas (tempo) e maiúsculas (marcas) distintas indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

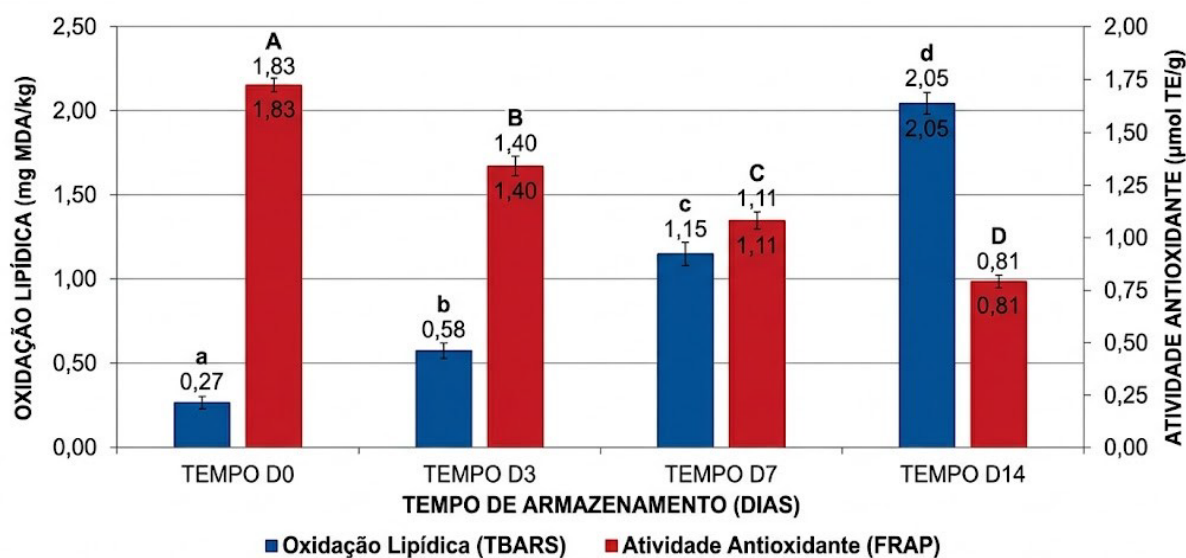
² ANOVA de Medidas Repetidas (0-14 dias; base úmida). Siglas: FRAP (Poder antioxidante redutor do ferro); TE (Equivalente Trolox); F (Estatística F); CV (Coeficiente de Variação).

Fonte: Autor, 2025.

Os resultados apresentados na Figura 4 evidenciam uma relação inversamente proporcional entre o avanço da deterioração oxidativa e a manutenção do potencial antioxidante da matriz muscular. Observou-se um aumento progressivo e significativo ($p < 0,05$) nos valores de TBARS ao longo dos 14 dias, saltando de 0,27 mg MDA/kg para 2,05 mg MDA/kg. Paralelamente, a capacidade antioxidante medida pelo método FRAP apresentou um declínio acentuado. Esse comportamento indica que os compostos antioxidantes naturais presentes no peixe foram consumidos para neutralizar os radicais livres

gerados durante o armazenamento, comprovando que o esgotamento dos mecanismos de defesa do músculo favorece a aceleração da oxidação lipídica [66].

Figura 4. Dinâmica da oxidação lipídica (TBARS) e capacidade antioxidante (FRAP) em filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado.



¹ Colunas: média \pm desvio padrão (n=5). Letras distintas (minúsculas sobre as colunas de TBARS; maiúsculas sobre as colunas de FRAP) indicam diferença estatística significativa ao longo do tempo (Tukey; $p < 0,05$).

² Siglas: TBARS (mg MDA/kg); FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$).

Diante do complexo conjunto de evidências analíticas discutidas, torna-se imperativo estabelecer uma síntese transversal que integre os achados físico-químicos, bromatológicos, oxidativos e microbiológicos observados ao longo dos 14 dias de armazenamento experimental. Essa abordagem holística é fundamental para compreender como a exsudação decorrente do congelamento e as oscilações na composição centesimal interferem diretamente na velocidade da deterioração lipídica e, simultaneamente, como as falhas higiênico-sanitárias detectadas comprometem a integridade global do produto no varejo.

A correlação desses vetores analíticos permite mapear a acentuada heterogeneidade qualitativa existente entre as marcas disponíveis no mercado consumidor. Visando consolidar esse diagnóstico e proporcionar uma visão comparativa, sistemática e multifatorial da performance e da conformidade legal de cada lote avaliado, apresenta-se a seguir um quadro analítico integrado que sumariza as relações de causa e efeito dos parâmetros investigados na presente pesquisa

Quadro 1 – Síntese comparativa dos parâmetros de qualidade avaliados nos filés de tilápia durante o armazenamento refrigerado.

Quadro Analítico Integrado Comparativo		
Parâmetro Analisado	Principais Resultados Encontrados	Influência e Correlação (Causa → Efeito)
1. Desglaciamento (Proteção de Gelo)	<ul style="list-style-type: none"> • Variação: 1,45% a 5,42% • Legalidade: Todas abaixo do limite de 12%. 	<p>↓ Glaciamento ↑ Oxidação</p> <p>O baixo percentual de gelo reduz a barreira física contra o oxigênio. Isso explica por que marcas com menos glaciamento tendem a apresentar maior oxidação lipídica (TBARS) e desidratação superficial.</p>
2. Composição Bromatológica (Nutricional)	<ul style="list-style-type: none"> • Destaque: Variação significativa apenas em Extrato Etéreo (Gordura) e Proteína Bruta. • Umidade: Alta, típica de pescado. 	<p>↑ Gordura → ↑ Potencial Oxidativo</p> <p>Marcas com maior teor de gordura (Extrato Etéreo) possuem mais substrato disponível para sofrer oxidação. Isso potencializa os resultados negativos nos testes de TBARS, especialmente se o glaciamento for falho.</p>
3. Microbiologia (Segurança)	<ul style="list-style-type: none"> • Achados: Presença de <i>Salmonella</i> spp. e falhas higiênicas (Coliformes). • Risco: Variabilidade expressiva entre marcas. 	<p>→ Falha Higiênica ↓ Vida Útil</p> <p>A presença de patógenos indica falhas na cadeia de frio ou no processamento. Bactérias aceleram a degradação do tecido (proteólise), o que pode alterar a textura e aumentar a suscetibilidade à oxidação.</p>
4. Oxidação Lipídica (TBARS)	<p>Evolução: Aumento progressivo e significativo do dia 0 ao dia 14 para todas as marcas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Padrão: Degradação contínua da qualidade (ranço). 	<p>↑ Tempo → ↑ TBARS</p> <p>O aumento de TBARS é a "consequência" química direta da exposição ao oxigênio e ao tempo, sendo exacerbado em amostras com menor proteção antioxidante natural.</p>
5. Capacidade Antioxidante (FRAP)	<ul style="list-style-type: none"> • Evolução: Queda significativa ao longo dos 14 dias. • Significado: Esgotamento das defesas naturais do peixe. 	<p>↓ Antioxidantes ↑ Oxidação</p> <p>Existe uma correlação inversa clara: conforme os antioxidantes naturais (medidos por FRAP) se esgotam combatendo os radicais livres, os subprodutos da oxidação (TBARS) começam a se acumular na matriz muscular.</p>

4 DECLARAÇÃO ÉTICA

Este estudo não envolveu experimentação com animais vivos ou seres humanos, sendo conduzido exclusivamente com produtos alimentícios comercialmente disponíveis adquiridos no varejo. Portanto, não houve necessidade de submissão a Comitê de Ética em Uso de Animais ou Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.

5 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo evidenciam uma acentuada heterogeneidade qualitativa entre as marcas de filés de tilápia congelados comercializadas no varejo, revelando que a conformidade legal não garante, por si só, a padronização do produto. Embora o percentual de congelamento tenha permanecido dentro dos limites regulatórios, a análise por quartis demonstrou discrepâncias nas práticas de congelamento, com marcas situadas em extremos que impactam diretamente a proteção do tecido muscular.

As variações significativas nos teores de proteína bruta, com amplitude superior a 10 pontos percentuais entre grupos, e de extrato etéreo indicam inconsistências no valor nutricional e na integridade das matrizes musculares disponíveis ao consumidor.

A segurança microbiológica revelou-se o ponto mais crítico de vulnerabilidade na cadeia. A detecção de *Salmonella spp.* em 50% das marcas avaliadas e a presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* caracterizam falhas graves de higiene operacional e controle de temperatura no ponto de venda, expondo riscos diretos à saúde pública.

Quanto à estabilidade oxidativa, confirmou-se uma relação inversamente proporcional entre o tempo de armazenamento e a integridade lipídica. O aumento progressivo dos valores de TBARS, que atingiram o pico em D14, está diretamente associado ao esgotamento das defesas antioxidantes naturais (FRAP), demonstrando que a perda do potencial redutor do músculo é o gatilho para a rancificação acelerada sob refrigeração.

Em síntese, os achados reforçam que a qualidade dos filés no varejo é comprometida por limitações tecnológicas e sanitárias. Torna-se imperativa a intensificação da fiscalização na cadeia de frio varejista e a padronização rigorosa dos protocolos de Boas Práticas, assegurando que o pescado mantenha sua integridade nutricional e segurança higiênica até o momento do consumo.

Disponibilidade de Dados

Todos os dados gerados ou analisados durante este estudo estão incluídos nesta dissertação. Dados adicionais podem ser disponibilizados mediante solicitação ao autor correspondente.

Conflito de Interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses em relação à publicação deste trabalho.

Financiamento

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2022/14453-6. O presente trabalho foi realizado também com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradecimentos

A pesquisa que origina as informações disponibilizadas neste documento recebeu o financiamento da FAPESP (processo 2022/14453-6).

Declaração de Responsabilidade Ética

Os autores assumem total responsabilidade pela integridade dos dados apresentados e afirmam que o manuscrito não foi submetido simultaneamente a outro periódico.

6 REFERÊNCIAS

- [1] Cai, J. “Tilapia as an Aquaculture Species.” *In Tilapia: Aquaculture, Biology and Health Management*, 26–60. GB: CABI, 2025. <https://doi.org/10.1079/9781800629455.0002>.
- [2] De Queiroga, A. P. R. *Florfenicol em tilápia-do-Nilo (Oreochromis niloticus): Uma compreensão do perfil metabólico em águas tropicais*. PhD diss., Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2025.
- [3] Murray, F. “Certification in Tilapia Health Management.” *In Tilapia: Aquaculture, Biology and Health Management*, 779–845. GB: CABI, 2025. <https://doi.org/10.1079/9781800629455.0017>.
- [4] Somayaji, C. *Aquaculture Data: Analysis and Insights*. Educohack Press, 2025.
- [5] Shamsuddoha, M. “System Dynamics Modeling for Sustainable Tilapia Fish Production: Enhancing Quality Meat Production.” *In System Dynamics for Sustainable Agriculture and Resilient Supply Chains*, 134–160. Edward Elgar Publishing, 2025. <https://doi.org/10.4337/9781035357338.00014>.
- [6] Jiang, Q., et al. “Physicochemical and Microstructural Mechanisms for Quality Changes in Lightly Salted Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fillets During Frozen Storage.” *Journal of the*

Science of Food and Agriculture 103, no. 1 (2023): 308–316. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12142>.

[7] Xie, X., et al. “Effects of Frozen Storage on Texture, Chemical Quality Indices and Sensory Properties of Crisp Nile Tilapia Fillets.” *Aquaculture and Fisheries* 8, no. 6 (2023): 626–633. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.11.007>.

[8] Tavares, J., et al. “Fresh Fish Degradation and Advances in Preservation Using Physical Emerging Technologies.” *Foods* 10, no. 4 (2021): 780. <https://doi.org/10.3390/foods10040780>.

[9] Ali, A., et al. “Research Progress on Nutritional Value, Preservation and Processing of Fish: A Review.” *Foods* 11, no. 22 (2022): 3669. <https://doi.org/10.3390/foods11223669>.

[10] Aracati, M. F., et al. “Astaxanthin Improves the Shelf-Life of Tilapia Fillets Stored Under Refrigeration.” *Journal of the Science of Food and Agriculture* 102, no. 10 (2022): 4287–4295. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11780>.

[11] Neiva, C. R. P., et al. “Glaciamento em Filé de Peixe Congelado: Revisão dos Métodos para Determinação de Peso do Produto.” *Boletim do Instituto de Pesca* 41, no. 4 (2015): 899–906.

[12] AOAC International. *Official Methods of Analysis*. 20th ed. Gaithersburg: AOAC, 2016.

[13] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. “Instrução Normativa nº 21, de 31 de maio de 2017.” *Diário Oficial da União*, 2017.

[14] Da Silva, N., and M. K. Alves. “Avaliação da Conformidade de Rótulos de Pescado Comercializado em Caxias do Sul.” *Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde* 24, no. 2 (2020): 100–104. <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2020v24n2p100-104>.

[15] Strateva, M., and G. Penchev. “Histological, Physicochemical and Microbiological Changes in Fresh and Frozen/Thawed Fish.” *Trakia Journal of Sciences* 18, no. 1 (2020): 69. <https://doi.org/10.15547/tjs.2020.01.012>.

[16] Souza, J. T., et al. “Comparação Físico-Química e Sensorial de Filés Congelados de *Oreochromis niloticus* e *Pangasius hypophthalmus*.” *Research, Society and Development* 9, no. 10 (2020): e3489108583. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i10.8583>.

[17] Morais, C. A. R. S., et al. “Effect of Slaughter Weight on the Quality of Nile Tilapia Fillets.” *Aquaculture* 520 (2020): 734941. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734941>.

[18] Rabaioli, A., et al. “O Processo de Glaciamento Associado a Antioxidantes Naturais Melhora a Conservação de Filés de Tilápia do Nilo.” *Research, Society and Development* 11, no. 1 (2022): e1411124136. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i1.24136>.

[19] Popelka, P., et al. “The Effect of Glaze and Storage Temperature on the Quality of Frozen Mackerel Fillets.” *Acta Veterinaria Brno* 81, no. 4 (2013): 397–402. <https://doi.org/10.2754/avb201281040397>.

- [20] James, S. J., and C. J. F. R. James. “The Food Cold-Chain and Climate Change.” *Food Research International* 43, no. 7 (2010): 1944–1956. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.001>.
- [21] Secci, G., and G. Parisi. “Farm to Fork: Lipid Oxidation in Fish Products: A Review.” *Italian Journal of Animal Science* 15, no. 1 (2016): 124–136. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2015.1128687>.
- [22] Baptiston, L. F., et al. “Comportamento do Consumidor Paulista de Pescado.” *Organizações Rurais & Agroindustriais* 21 (2019): 161–172. <https://doi.org/10.48142/2238-68902019v21n1-3p161172>.
- [23] Kourany, M. S., et al. “Assessing the Quality of Tilapia Fillets (*Oreochromis niloticus*) and the Impact of Frozen Storage Periods on Their Chemical Composition.” *Mediterranean Aquaculture Journal* 11, no. 2 (2024): 36–42. <https://doi.org/10.21608/maj.2024.411264>
- [24] Mota, L. F., and M. P. Rodrigues. “Revisão de Literatura: Desglaciamento em Pescados.” *Revista OWL – Revista Interdisciplinar de Ensino e Educação* 1, no. 3 (2023): 367–372. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10157490>.
- [25] Cowburn, G., and L. Stockley. “Consumer Understanding and Use of Nutrition Labelling: A Systematic Review.” *Public Health Nutrition* 8, no. 1 (2005): 21–28. <https://doi.org/10.1079/PHN2004666>.
- [26] Grunert, K. G., et al. “Nutrition Knowledge, and Use and Understanding of Nutrition Information on Food Labels among Consumers in the UK.” *Appetite* 55, no. 2 (2010): 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.05.045>.
- [27] Stone, H., R. N. Bleibaum, and H. A. Thomas. *Sensory Evaluation Practices*. Academic Press, 2020.
- [28] Ackman, R. G. “Nutritional Composition of Fats in Seafoods.” *Progress in Food & Nutrition Science* 13 (1989): 161–241.
- [29] Huss, H. H., et al., eds. *Quality and Quality Changes in Fresh Fish*. Rome: FAO, 1995.
- [30] Desta, D. T., et al. “Proximate Analysis of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fish Fillet Harvested from Farmers Pond and Lake Hawassa, Southern Ethiopia.” *International Journal for Research and Development in Technology* 11, no. 1 (2019): 94–99. ISSN 2349-3585.
- [31] Chu, H. S. S., S. F. O’Keefe, and D. D. Kuhn. “Evaluation of Lipid Quality and Fatty Acid Composition of Tilapia Fillets Available in US Supermarkets.” *ACS Food Science & Technology* 1, no. 11 (2021): 2069–2075. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00291>.
- [32] Pyz-Łukasik, R., A. Chałabis-Mazurek, and M. Gondek. “Basic and Functional Nutrients in the Muscles of Fish: A Review.” *International Journal of Food Properties* 23, no. 1 (2020): 1941–1950. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1828457>.

- [33] Wu, H., M. P. Richards, and I. Undeland. “Lipid Oxidation and Antioxidant Delivery Systems in Muscle Food.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 21, no. 2 (2022): 1275–1299. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12890>.
- [34] De Oliveira Sartori, A. G., and R. D. Amancio. “Pescado: Importância Nutricional e Consumo no Brasil.” *Segurança Alimentar e Nutricional* 19, no. 2 (2012): 83–93. <https://doi.org/10.20396/san.v19i2.8634613>.
- [35] Hematyar, N., et al. “Relationship Between Lipid and Protein Oxidation in Fish.” *Aquaculture Research* 50, no. 5 (2019): 1393–1403. <https://doi.org/10.1111/are.14012>.
- [36] De Godoi, B. L. I., et al. “Efeito do Tempo Pós-Processamento sobre Características Físicas e Químicas de Filés de Tilápia do Nilo.” *Ciência Animal* 34, no. 2 (2024): 39–51.
- [37] Ogawa, M., and E. L. Maia. *Manual de Pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado*. São Paulo: Varela, 1999.
- [38] FAO. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2012*. Rome: FAO, 2012.
- [39] Costa, Â., et al. “Influência da Densidade de Criação sobre o Desempenho de Crescimento e Bem-Estar de Tilápias Juvenis em Gaiolas.” *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 69 (2017): 243–251. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8939>.
- [40] Meurer, F., J. Novodworski, and R. A. Bombardelli. “Protein Requirements in Nile Tilapia During Production and Reproduction Phases.” *Aquaculture and Fisheries* 10, no. 2 (2025): 171–182. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2024.03.004>.
- [41] Chan, S. S., et al. “Water Holding Properties of Atlantic Salmon.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 21, no. 1 (2022): 477–498. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12871>.
- [42] Gram, L., and P. Dalgaard. “Fish Spoilage Bacteria—Problems and Solutions.” *Current Opinion in Biotechnology* 13, no. 3 (2002): 262–266. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00309-9](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00309-9).
- [43] Cavalcante, H. T. M., B. B. Gomes, E. D. Freitas, R. T. Oliveira, A. B. C. Ferreira, and V. B. Silva. “Aspectos Microbiológicos de Pescados Comercializados em Feiras Livres: Uma Revisão de Literatura.” In *Ciência e Tecnologia do Pescado: Tópicos Atuais em Pesquisa*, 22–32. Guarujá: Ciência Digital, 2023. <https://doi.org/10.37885/230513168>.
- [44] Franco, B. D. G. M., and M. Landgraf. *Microbiologia dos Alimentos*. 3rd ed. São Paulo: Atheneu, 2023.
- [45] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 724, de 1º de julho de 2022. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 01 jul. 2022.
- [46] Da Silva, N., et al. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. 5th ed. São Paulo: Varela, 2017.

[47] Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. “Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019.” Diário Oficial da União, 26 dez. 2019.

[48] ICMSF. *Microorganisms in Foods 8: Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance*. New York: Springer, 2011.

[49] Soares, K. M. P., A. A. Gonçalves, and L. B. Souza. “Qualidade Microbiológica de Filés de Tilápia do Nilo Durante o Armazenamento em Gelo.” *Ciência Rural* 44, no. 12 (2014): 2273–2278. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131065>.

[50] Moura, C. M. C., et al. “Avaliação da Qualidade Microbiológica de Filés de Tilápia-do-Nilo e do Gelo Após Armazenagem.” *Medicina Veterinária (UFRPE)* 12, no. 1 (2018): 10–16. <https://doi.org/10.26605/medvet-v12n1-2137>

[51] Van Baelen, M., et al. “Food Quality Shapes Gradual Phenotypic Plasticity in Ectotherms Facing Temperature Variability.” *Ecology* 105, no. 4 (2024): e4263. <https://doi.org/10.1002/ecy.4263>.

[52] Liu, X., et al. “Research Progress on Antioxidant Peptides from Fish By-Products.” *Metabolites* 14, no. 10 (2024): 561. <https://doi.org/10.3390/metabo14100561>.

[53] Yu, M.-M., et al. “Effects of Antioxidants on the Texture and Protein Quality of Ready-to-Eat Abalone Muscles During Storage.” *Journal of Food Composition and Analysis* 108 (2022): 104456. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104456>.

[54] Yu, Y., et al. “Recent Advances in the Effects of Protein Oxidation on Aquatic Products Quality.” *International Journal of Food Science and Technology* 59, no. 3 (2024): 1968–1978. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16620>.

[55] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa - IN nº 161, de 1º de julho de 2022. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 01 jul. 2022.

[56] FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da segurança dos alimentos*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

[57] NASSAU, S. C. O. et al. Métodos para determinação de capacidade antioxidante. Brasília, DF: EduCapes, 2021. Disponível em: <https://educapes.capes.gov.br/bitstream/capes/721277/1/metodos-para-determinacao-de-capacidade-antioxidante.pdf>. Acesso em: 17 abr. 2026.

[58] HOFFMANN, S.; MACULLOCH, B.; BATZ, M. *Estimating the Economic Burden of Foodborne Consumption in the US*. Washington, DC: USDA-ERS, 2012. (É o seu primeiro artigo citado).

[59] GUMINA/DELOITTE. *Capturing Recall Costs: Measuring and Managing the Financial Outcomes*. Grocery Manufacturers Association (GMA), 2011. (É o estudo da Deloitte sobre o impacto financeiro de recalls).

[60] CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Foodborne Outbreaks: 5-Year Surveillance Report. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, 2018. (É o relatório de 5 anos do CDC que você pediu).

[61] NASTASIEVIC, I. et al. Economic evaluation of food safety interventions in food industry. *Trends in Food Science & Technology*, v. 53, p. 64-73, 2016. (É o artigo da Trends in Food Science sobre o valor econômico da segurança alimentar).

[62] ROCHA, A. P. S.; SIQUEIRA, N. S. Custos de Surto de Doenças Transmitidas por Alimentos: Uma Revisão. In: ANAIS DO SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR. São Paulo: USP, 2017. (Este é o que usamos para os dados nacionais de Salmonella e surtos no Brasil).

[63] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2022. (A fonte regulatória da ANVISA que define os limites legais).

[64] PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

[65] VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v. 72, n. 12, p. 1084-1087, 1970.

[66] BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, n. 1, p. 70-76, 1996.

[67] CONNELL, J. J. **Control of fish quality**. 3. ed. Oxford: Fishing News Books, 1990. 240 p.

ANEXO 1 – NORMAS DA REVISTA INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD SCIENCE

(Citescore 6,7 / Highest percentile 76%/ A2)

For authors

Join our community of authors and benefit from:

- An easy-to-use manuscript submission system, without manuscript formatting requirements
- Dedicated editors who are active in their specific communities
- High editorial standards, ensuring all published manuscripts undergo an in-depth peer review process
- Quick, efficient publication with full transparency on all publishing metrics and turnaround times
- Greater impact, reach, and visibility of your research through open access
- Retention of all ownership and copyright of your published research
-

Language editing and author services

Wiley Editing Services offers expert help with article preparation, including English Language Editing, translation, manuscript formatting, figure illustration, figure formatting, and graphical abstract design - so you can submit your manuscript with confidence.

Submission

At submission you will need to register for a Wiley Researcher ID if you do not already have one (no need to create a new account if you have previously submitted to a Wiley journal or used Wiley Online Library). You will be asked to upload your manuscript file which will automatically be scanned and displayed for you to verify and confirm before submitting. Please note that author details and emails for all co-authors are required at the point of submission. Your manuscript will then be sent on for editorial evaluation and peer review. For technical help, please contact submissionhelp@wiley.com.

Terms of submission

Manuscripts must be submitted on the understanding that they are not published, in press, or submitted elsewhere (with the exception that articles are permitted to be submitted to preprint servers) The submitting author is responsible for ensuring that the article's publication has been approved by all the other co-authors. It is also the submitting author's

responsibility to ensure that the article has all necessary institutional approvals. Only an acknowledgment from the editorial office officially establishes the date of receipt. Further correspondence and proofs will be sent to the author(s) before publication, unless otherwise indicated. It is a condition of submission that the authors permit editing of the manuscript for readability. All submissions are bound by the publisher's terms of service.

Peer review

The journal follows a single-anonymized peer review model, for applicable article types. Information on the Peer Review model can be found [here](#).

Wiley's policy on the confidentiality of the review process is available [here](#).

All submitted articles are subject to assessment and peer review to ensure editorial appropriateness and technical correctness.

Research published in the journal must be:

- Scientifically valid - adhering to accepted community standards of research.
- Technically accurate in its methods and results.
- Representative of a specific advance, or replication, or null/negative result, which is worthy of publication.
- As reproducible as possible - sharing underlying data, code, and supporting materials wherever able.
- Ethically sound and transparent - adhering to best practice with respect to animal and human studies, consent to publish, and clear declaration of potential conflicts of interests, both real and perceived.

In the spirit of sharing findings through our open science mission, emphasis is not placed on novelty, interest, or perceived impact. Replication studies, particularly of research published in this journal, are encouraged.

In order for an article to be accepted for publication, the assigned editor will first consider if the manuscript meets the minimum editorial standards and fits within the scope of the journal. If an article is considered suitable for the journal, the editor will ideally solicit at least two external peer reviewers (who will remain anonymous to the authors unless they choose to disclose their identity by signing the review report) to assess the article before confirming a decision to accept. Decisions to reject are at the discretion of the editor.

Our research integrity team will occasionally seek advice outside standard peer review, for example, on submissions with serious ethical, security, biosecurity, or societal implications. We may consult experts and the editor before deciding on appropriate actions, including but

not limited to: recruiting reviewers with specific expertise, assessment by additional editors, and declining to further consider a submission.

Special Issues

Special Issues are subject to extensive review, during which journal Editors or Editorial Board input is solicited for each proposal. Our approval process includes an assessment of the rationale and scope of the proposed topic(s), and the expertise of Guest Editors, if any are involved. Special Issue articles must follow the same policies as described in the journal's Author Guidelines.

Editor/Editorial Board papers

Papers authored by Editors or Editorial Board members of the title are sent to Editors that are unaffiliated with the author or institution and monitored carefully to ensure there is no peer review bias.

Concurrent submissions

In order to ensure sufficient diversity within the authorship of the journal, authors will be limited to having three manuscripts under review at any point in time. If an author already has three manuscripts under review in the journal, they will need to wait until the review process of at least one of these manuscripts is complete before submitting another manuscript for consideration. This policy does not apply to editorials or other non-peer-reviewed manuscript types.

Article processing charges

The journal is open access. Article processing charges (APCs) allow the publisher to make articles immediately available online to anyone to read and reuse upon publication.

Preprints

The journal accepts articles previously published on preprint servers, and does not consider this to compromise the novelty of the results. Articles based on content previously made public only on a preprint server, institutional repository, or in a thesis will be considered. The preprint should be cited.

Clinical Trials

When publishing clinical trials, the journal aims to comply with the **recommendations** of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) on trial registration. Therefore, authors are requested to register the clinical trial presented in the manuscript in a public trial registry and include the trial registration number at the end of the abstract. Trials should be registered prospectively before patient recruitment has begun.

Where this has not happened, the study must be registered retrospectively, and the date of registration should be clearly stated in the manuscript.

Preregistration of studies

Authors are encouraged to indicate whether the conducted research was preregistered in an independent, institutional registry (e.g., <http://clinicaltrials.gov/>, <https://www.socialscienceregistry.org/>, <http://osf.io/>, <https://egap.org/registry/>, <http://ridie.3ieimpact.org/>). Preregistration of studies involves registering the study design, variables, and treatment conditions prior to conducting the research.

Preregistration of analysis plans

Authors are encouraged to indicate whether or not the conducted research was preregistered with an analysis plan in an independent, institutional registry (e.g., <http://clinicaltrials.gov/>, <https://www.socialscienceregistry.org/>, <http://osf.io/>, <https://egap.org/registry/>, <http://ridie.3ieimpact.org/>). Preregistration of studies involves registering the study design, variables, and treatment conditions. Including an analysis plan involves specification of sequence of analyses or the statistical model that will be reported.

ORCID

At submission, an ORCID iD must be provided for the submitting author(s). If you already have an ORCID iD, you will be asked to provide it.

Article types

The journal will consider the following article types:

Research articles

Research articles should present the results of an original research study. These manuscripts should describe how the research project was conducted and provide a thorough analysis of the results of the project. Systematic reviews may be submitted as research articles.

Reviews

A review article provides an overview of the published literature in a particular subject area.

Formatting

The manuscript should be an editable doc./docx file including text and tables. Please provide figures in the highest resolution possible, whether this means they are embedded or provided separately.

Note: If the manuscript, figures, or tables are difficult for you to read, they will also be difficult for the editors and reviewers, and the editorial office will send them back for revision.

If submitting your manuscript file in LaTeX format via Research Exchange, select the file designation “Main Document – LaTeX .text File” on upload. When submitting a LaTeX Main Document, you must also provide a PDF version of the manuscript for Peer Review. Please upload this file as “Main Document - LaTeX PDF.” All supporting files that are referred to in the LaTeX Main Document should be uploaded as a “LaTeX Supplementary File.” We recommend reviewing the [**New Journal Design LaTeX template**](#).

We recommend that all manuscripts include line numbers and follow the structure below:

Title and authorship information

The following information should be included:

- Manuscript title
- Full author names
- Full institutional mailing addresses
- Email addresses

Affiliations.

The publisher remains neutral with regard to jurisdictional claims in institutional affiliations. Responsibility for affiliations ultimately rests with the author, although the publisher may request changes be made to countries listed in affiliations to ensure consistency across published output (for indexing and discovery reasons).

Abstract

The manuscript should contain an abstract. The abstract should be self-contained, citation-free, and should not exceed 300 words.

Introduction

This section should be succinct, with no subheadings.

Materials and methods

The methods section should provide enough detail for others to be able to replicate the study. If you have more than one method, use subsections with relevant headings, e.g. different models, in vitro and in vivo studies, statistics, materials and reagents, etc.

The journal has no space restriction on methods. Detailed descriptions of the methods (including protocols or project descriptions) and algorithms may also be uploaded as supplementary information or a previous publication that gives more details may be cited. If

the method from a previous article is used then this article must be cited and discussed. If wording is reused from a published article then this must be noted, e.g. This study uses the method of Smith *et al.* and the methods description partly reproduces their wording [1].

If a method or tool is introduced in the study, including software, questionnaires, and scales, the license this is available under and any requirement for permission for use should be stated. If an existing method or tool is used in the research, the authors are responsible for checking the license and obtaining any necessary permission. If permission was required, a statement confirming permission was granted should be included in the materials and methods section.

Publishing protocols.

We encourage authors describing any methodology, in particular laboratory-based experiments in the life sciences but also computational and bioinformatics protocols, to upload details of their methods to [protocols.io](https://www.protocols.io). This is an open access website that allows researchers to record their methods in a structured way, obtain a DOI to allow easy citation of the protocol, collaborate with selected colleagues, share their protocol privately for journal peer review, and choose to make it publicly available. Once published, the protocol can be updated and cited in other articles.

You can make your protocol public before publication of your article if you choose, which will not harm the peer review process of your article and may allow you to get comments about your methods to adapt or improve them before you submit your article (see also the protocols.io [FAQ page](#)).

Results and discussion

This section may be divided into subsections or may be combined.

Main text (review only)

This section may be divided into subsections or may be combined.

Conclusions

This should clearly explain the main conclusions of the article, highlighting its importance and relevance.

Data availability

Authors must include a data availability statement with their submission.

When submitting a manuscript, submitting authors will be asked to select from several pre-written statements or use the text editor to tell us about data availability with regard to their submission. Review our [Data Sharing Policy](#) to understand which data availability statement is right for your submission.

Conflicts of interest

Authors must declare all relevant interests that could be perceived as conflicting. Authors should explain why each interest may represent a conflict. If no conflicts exist, the authors should state this. Submitting authors are responsible for co-authors declaring their interests.

Conflicts of interest (COIs, also known as 'competing interests') occur when issues outside research could be reasonably perceived to affect the neutrality or objectivity of the work or its assessment. For more information, see our **publication ethics policy**. Authors must declare all potential interests - whether or not they actually had an influence - in the conflicts of interest section, which should explain why the interest may be a conflict. If there are none, the authors should state: "The author(s) declare(s) that there is no conflict of interest regarding the publication of this article". Submitting authors are responsible for co-authors declaring their interests. Declared conflicts of interest will be considered by the editor and reviewers, and included in the published article.

Authors must declare current or recent funding (including for article processing charges) and other payments, goods or services that might influence the work. All funding, whether a conflict or not, must be declared in the funding statement. The involvement of anyone other than the authors who: i) has an interest in the outcome of the work; ii) is affiliated to an organization with such an interest; or iii) was employed or paid by a funder, in the commissioning, conception, planning, design, conduct, or analysis of the work, the preparation or editing of the manuscript, or the decision to publish must be declared.

You may be asked to make certain changes to your manuscript as a result of your declaration. These requests are not an accusation of impropriety. The editor or reviewer is helping you to protect your work against potential criticisms.

If you are in any doubt about declaring a potential conflict, remember that if it is revealed later - especially after publication - it could cause more problems than simply declaring it at the time of submission. Undeclared conflicts of interest could lead to a corrigendum or, in the most serious cases, a retraction.

Funding statement

Authors must state how the research and publication of their article was funded, by naming financially supporting body(s) (written out in full) followed by associated grant number(s) in square brackets (if applicable), for example: "This work was supported by the Engineering and Physical Sciences Research Council [grant numbers xxxx, yyyy]; the

National Science Foundation [grant number zzzz]; and a Leverhulme Trust Research Project Grant".

If the research did not receive specific funding, but was performed as part of the employment of the authors, please name this employer. If the funder was involved in the manuscript writing, editing, approval, or decision to publish, please declare this.

Acknowledgments

All acknowledgments (if any) should be included at the very end of the manuscript before the references. Anyone who made a contribution to the research or manuscript, but who is not a listed author, should be acknowledged (with their permission).

References

Authors may submit their references in any style. If accepted, these will be reformatted in Chicago style by the publisher. Authors are responsible for ensuring that the information in each reference is complete and accurate. All references should be numbered consecutively in the order of their first citation. Citations of references in the text should be identified using numbers in square brackets e.g., "as discussed by Smith [9]"; "as discussed elsewhere [9, 10]". All references should be cited within the text and uncited references will be removed.

Citation standards.

All data, program code, and other methods should be appropriately cited. Such materials should be recognized as original intellectual contributions and afforded recognition through citation.

Date formatting

Dates should be written out fully to avoid confusion with different all-numeral date styles. For example, 11/10/2018 could be 10 November 2018 or 11 October 2018 depending on the reader, therefore, the date should be written out in full. For example, the date September 1, 2018 should be used rather than 01/09/2018 or 09/01/2018.

Units of measurement

Units of measurement should be presented simply and concisely using the International System of Units (SI).

Preparation of figures

Upon submission of an article, authors should include all figures and tables in the file of the manuscript. If the article is accepted, authors will be asked to provide the source files of the figures. Each figure should be supplied in a separate electronic file. All figures should be cited in the manuscript in a consecutive order. Figures should be supplied in either vector art formats (Illustrator, EPS, WMF, FreeHand, CorelDraw, PowerPoint, Excel, etc.) or bitmap

formats (Photoshop, TIFF, GIF, JPEG, etc.). Bitmap images should be of 300 dpi resolution at least unless the resolution is intentionally set to a lower level for scientific reasons. If a bitmap image has labels, the image and labels should be embedded in separate layers.

Maps.

The publisher remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps. For reasons of consistency, authors are requested to use accepted standard maps as the basis for map figure drawing, for example using the latest standard base-map of Map Press. Responsibility for maps rests with the author and it is their responsibility to also provide any copyright or licence information when using maps that are not owned or created by the author (e.g. Google Maps, etc.)

Preparation of tables

Tables should be cited consecutively in the text. Every table must have a descriptive title and if numerical measurements are given, the units should be included in the column heading. Vertical rules should not be used.

Supplementary materials are the additional parts to a manuscript, such as audio files, video clips, or datasets that might be of interest to readers. A section titled supplementary material should be included before the references list with a concise description for each supplementary material file. Supplementary materials are not modified by our production team. Authors are responsible for providing the final supplementary material files that will be published along with the article.

Proofs

Corrected proofs must be returned to the publisher within two to three days of receipt. The publisher will do everything possible to ensure prompt publication.

Copyright and permissions

Authors retain the copyright of their manuscripts, and all open access articles are distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided that the original work is properly cited.

The use of general descriptive names, trade names, trademarks, and so forth in this publication, even if not specifically identified, does not imply that these names are not protected by the relevant laws and regulations. The submitting author is responsible for securing any permissions needed for the reuse of copyrighted materials included in the manuscript.

While the advice and information in this journal are believed to be true and accurate on the date of its going to press, neither the authors, the editors, nor the publisher can accept any legal responsibility for any errors or omissions that may be made. The publisher makes no warranty, express or implied, with respect to the material contained herein.