

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS – UFGD
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA - FACET**

MARIA JOYCE DOS SANTOS SILVA

**DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DE FILÉS DE TILÁPIA *Oreochromis
niloticus* COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE DOURADOS/MS:
UTILIZAÇÃO DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA NA
BUSCA POR UMA METODOLOGIA ALTERNATIVA DE ANÁLISE RÁPIDA NA
IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES PATOGÊNICAS**

MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

DOURADOS– MS

2019

MARIA JOYCE DOS SANTOS SILVA

ORIENTADORA: Prof^ª. Dr^ª. Kelly Cristina da Silva Brabes.

**DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DE FILÉS DE TILÁPIA *Oreochromis niloticus* COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE DOURADOS/MS:
UTILIZAÇÃO DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA NA
BUSCA POR UMA METODOLOGIA ALTERNATIVA DE ANÁLISE RÁPIDA NA
IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES PATOGÊNICAS.**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental na Área de Concentração em Ciência Ambiental.

DOURADOS– MS

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586d Silva, Maria Joyce Dos Santos

Determinação da qualidade de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializados no município de Dourados/MS: Utilização da técnica de Espectroscopia de Fluorescência na busca por uma metodologia alternativa de análise rápida na identificação de espécies patogênicas.:

Determinação da qualidade de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus*: Utilização da técnica de Espectroscopia de Fluorescência. [recurso eletrônico] / Maria Joyce Dos Santos Silva. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Kelly Cristina da Silva Brabes.

Coorientador: Juliana Rosa Carrijo Mauad.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. filé de Tilápia. 2. qualidade. 3. pescado. 4. espectroscopia. I. Brabes, Kelly Cristina Da Silva. II. Mauad, Juliana Rosa Carrijo. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA PELA ALUNA MARIA JOYCE DOS SANTOS SILVA, DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "CIÊNCIA AMBIENTAL".

Aos 22 dias do mês de março de dois mil e dezenove, às 9h, em sessão pública, realizou-se, nas dependências da Universidade Federal da Grande Dourados, a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "Determinação da qualidade de filés de tilápia *Oreochromis niloticus* comercializados no município de Dourados/MS: utilização da técnica de espectroscopia de fluorescência na busca por uma metodologia alternativa de análise rápida na identificação de espécies patogênicas", apresentada pela mestranda Maria Joyce dos Santos Silva, do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, à Banca Examinadora constituída pelos professores Dr.^a Kelly Cristina da Silva Brabes/UFGD (presidente/orientadora), Dr.^a Fernanda Rosan Fortunato Seixas/UFGD (membro titular), Dr. Heberth Juliano Vieira/UFGD (membro titular). Iniciados os trabalhos, a presidência deu a conhecer a candidata e aos integrantes da banca as normas a serem observadas na apresentação da Dissertação. Após a candidata ter apresentado a sua Dissertação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições, que foram intercaladas pela defesa da candidata. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo sido a candidata considerada APROVADA, fazendo *jus* ao título de **MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL**. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Dourados, 22 de março de 2019.

Prof.^a Dr.^a Kelly Cristina da Silva Brabes

Prof.^a Dr.^a Fernanda Rosan Fortunato Seixas

Prof. Dr. Heberth Juliano Vieira

ATA HOMOLOGADA EM: ___/___/___, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA/UFGD.

Peço, Entrego, Confio, Aceito e Agradeço.

*“Aquilo que escuto eu esqueço,
Aquilo que vejo eu lembro,
Aquilo que faço eu aprendo.”*

(Confúcio)

*A Deus, por ter me guiado até aqui, em
todos os momentos de minha vida.*

Dedico.

*Aos meus pais, Valdirene e José, pelo
apoio incondicional.*

Ofereço.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado até aqui, em todos os momentos de minha vida. Por me amparar e me proteger no meu caminhar sempre. Tua mão me sustentou.

Aos meus pais, pelos valores e ensinamentos dedicados. Agradeço por estarem ao meu lado sempre, por não me deixarem desistir diante dos obstáculos e estarem sempre acreditarem na minha capacidade.

Gratidão a mim mesma, por nunca ter pensado em desistir, pelas incontáveis horas de experimento e escrita onde sempre me mantive firme, apesar de todo estresse, cansaço físico e psicológico, altos e baixos, choros e risos sempre acreditei na minha capacidade e força. Eu fui, sou e sempre serei capaz, porque as coisas acontecem paralelamente a importância que damos a elas. Eu acreditei neste sonho.

Ao meu namorado Carlos Henrique, melhor amigo e companheiro, pelo carinho, amor e paciência. Meu porto seguro, alicerce e refúgio. Eu amo amar você.

A minha sobrinha amada Estela Gongora por me trazer momentos maravilhosos nos finais de semana de descanso e assim ter força para seguir a jornada.

A minha futura sogra Rosimary Gongora por todo apoio, palavras de ajuda e orações, gratidão por ter você em minha vida. Minha segunda mãe e grande amiga.

Aqueles que não mais presentes nesta vida, mas que fizeram parte da minha história, meus avôs maternos Euclides Alves e Irene Lima e meus grandes amigos Pedro Lucas e Ivan Andrade, que vocês estejam com Deus! Em Paz!

A minha família, Tios e Tias, Primos e Primas pelas palavras de apoio e incentivo que sempre me motivaram a seguir!

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados, pela oportunidade da realização deste curso e pelo aprendizado.

A secretaria da Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados, pela ajuda com todos os documentos facilitando toda parte burocrática do mestrado.

A Prof. Dra. Kelly Cristina da Silva Brabes, com muita gratidão, por ter me recebido e acreditado na minha capacidade. Pela amizade, paciência e todo conhecimento transmitido. Obrigada por ter confiado em mim! Xu, você mora no meu coração.

A Prof. Dra. Juliana Rosa Carrijo Mauad, por acreditado nos meus sonhos. Pela parceria e todo conhecimento transmitido. Gratidão.

A Doutora Mayara Sabedot por toda ajuda com a estatística, May você foi essencial nesta reta final. Se Deus quiser seremos muito parceiras no meu Doutorado, muitos planos e projetos virão.

O Prof. Dr. Rafael Goes pela ajuda com a tabulação dos resultados. Meu agradecimento também a sua filha Giovana Brabes Goes por todos os momentos de distração e muitos risos. Gigi você mora no meu coração.

Aos colegas e amigos de laboratório, Dalice, Lucas, Luiz, Nayara, Adriana, Chaiane, Emilly, Thiago, Paulo, Manoel e Pedro pela troca de conhecimento, apoio mútuo e momentos compartilhados.

A todas as técnicas da Faculdade de Ciências da Saúde. Sentirei, imensamente, saudade de cada um de vocês.

A todos os colegas do LPCS pela parceria no horário de almoço, nos momentos de descontração e nas rodas de tereré, momentos como estes foram fundamentais nos dias cansativos de análises.

Ao técnico William Falco, pela paciência e toda ajuda com as análises de fluorescência e absorção de UV-Vis. Meu muito obrigada.

As técnicas do Laboratório de Nutrição Animal Gisa e Faena por toda ajuda nos Análises de Composição Proximal, foi de grande aprendizado as três semanas que passamos juntas! Grata!

A todas as pessoas que, de alguma forma, nos momentos serenos e apreensivos, fizeram parte dessa trajetória. Agradeço de coração. Que sejam recompensados a altura.

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists International</i>
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ATCC	American Type Culture Collection
AVC's	Acidentes vasculares cerebrais
BPF	Práticas de Fabricao e Produo
BVT	Bases voláteis totais
DIPOA	Departamento de Inspeo de Produtos de Origem Animal
DTA	Doenças transmitidas por Alimentos
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
MAPA	Ministério da Agricultura e do Abastecimento
N	número amostral
NMP	Número Mais Provável
pH	Potencial Hidrogeniônico
POP	Procedimentos Operacionais Padronizados
RDC	Resoluo da Diretoria Colegiada
SIF	Serviço de Inspeo Federal
UFC	Unidade formadora de colnia

LISTA DE QUADRO E TABELAS

Quadro 1: Leis sobre os padrões a serem seguidos por fabricantes, comerciantes e consumidores de pescado..... 20

Tabela 1: Resultados das análises de três repetições obtidas através da média e desvio padrão de triplicatas de Coliformes a 45°C (C – 45°), *Staphylococcus* coagulase (+) (S.C), Contagem Padrão de Mesófilos e Psicotróficos Aeróbios (C.P.M e P), Presença/Ausência de *Salmonella* sp (S) e confirmação de *Escherichia coli* (E.C) em 25g de amostra de filés de Tilápia (*Oreochromis niloticus*), adquiridas em estabelecimentos de Dourados – MS, marcas (A, B, C) conforme RDC nº 12 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).....43

Tabela 2. Resultados das Contagens de Coliformes a 45° (C – 45°), Contagem Padrão de Mesófilos e Psicotróficos Aeróbios (C.P.M e P) e S. coagulase (+) (S.C), das marcas A, B, C em amostras de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializadas no município de Dourados – MS.....43

Tabela 3: Média e desvio-padrão das triplicatas dos resultados das análises de Composição Proximal de amostras de filé de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) das marcas A, B, C em amostras de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializadas no município de Dourados – MS.....49

Tabela 4: Média e desvio-padrão das triplicatas dos resultados das análises de pH, temperatura interna (T.I) e temperatura externa (T.E) das marcas A, B, C em amostras de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializadas no município de Dourados – MS.....50

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Diferentes diluições/concentrações da amostra inicial *Salmonella ssp* (Isolada) + Água Milli-Q e o Branco (Água Milli-Q extra pura) analisados na Espectroscópicas de Absorção UVVis.....58

Gráfico 2: Tratamento dos resultados com o método estatístico (PCA) de amostras de *Salmonella ssp.* analisadas pela técnica de Espectroscopia de Fluorescência. Valores abaixo da curva, indicando um comprimento de onda semelhante em todas as amostras no momento máximodopico.....60

Gráfico 3: Tratamento dos resultados com o método estatístico (PCA) de amostras de *sp.* analisadas pela técnica de Espectroscopia de Fluorescência: Os resultados mostram o pico do meio (pico máximo) das amostras estão próximos da linha de tendência, com uma confiabilidade de 70% confirmando. E o agrupamento dos valores de início de pico, pico máximo e pico final, além da área abaixo da curva evidenciando a semelhança das característicasdasamostrasanalisadas.....60

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a qualidade microbiológica, parasitológica e físico-química de amostras de filés de tilápia *Oreochromis niloticus* comercializados em diferentes estabelecimentos do município de Dourados/MS Brasil. Além disso avaliou-se a técnica de Espectroscopia de Fluorescência e Absorção de UV-Vis como alternativa no controle de qualidade microbiológica de filés com a presença do gênero patogênico *Salmonella* spp. As 32 amostras analisadas foram coletadas em 8 estabelecimentos distintos e pertenciam a três marcas mais encontradas no ponto de venda. Para a qualidade microbiológica utilizou-se os padrões estipulados pela RDC nº 12 de 2001 para ausência de *Salmonella* sp., enumeração de limites de tolerância para contagem de *coliformes* a 45°C e *Staphylococcus* coagulase positiva; contagem padrão de micro-organismos mesófilos e psicotróficos além da confirmação de *Escherichia coli*. Quanto à pesquisa de coliformes a 45 °C, os resultados variaram de 4,7 a 6,6 UFC/log para amostras frescas e de 4,4 a 6,6 UFC/log para amostras congeladas. Na pesquisa de *Staphylococcus* spp., os resultados variam de 3,0 a 3,6 UFC/log em amostras fresca e de 2,7 a 3,2 UFC/log para amostras congeladas. Observa-se que nas três marcas analisadas, não houve a presença de *Salmonella* sp. Os resultados obtidos para *Escherichia coli* em todas as amostras mostram-se insatisfatório quanto à qualidade microbiológica do alimento. Na pesquisa de mesófilos, os resultados variaram de 2,8 a 3,7 UFC/log para amostras frescas e de 2,8 a 5,7 UFC/log para amostras congeladas. Por fim os resultados de psicrotróficos variaram de 3,6 a 3,8 UFC/log para amostras frescas e de 3,5 a 5,2 UFC/log para amostras congeladas. Os resultados parasitológicos demonstraram ausência de parasitos dos filés estudados. Os valores de pH estavam dentro do estabelecido pela legislação, variaram de 6,2 a 6,7 para amostras congeladas e de 6,1 a 6,4 para amostras frescas. Os valores de temperatura interna dos congelados variaram de -1,2 a -2,5 °C e dos frescos de -2,9 a -4,4 °C e temperatura externa variam de 1,3 a 3,8 °C os congelados e 3,0 a 4,7 °C os frescos, mostrando-se dentro dos valores estipulados pela legislação. Os resultados obtidos na pesquisa em que utilizou a Técnica Espectroscopia de Absorção UV-Vis foram satisfatórios, pois apresentaram o reconhecimento de semelhanças e diferenças nos comprimentos de ondas das bactérias analisadas, bem como a confirmação da água ultra-pura como controle. Os resultados obtidos na Espectroscopia de Fluorescência e Espectroscopia de UV-vis demonstram uma proximidade dos valores das modulações dentre as espécies de *Salmonella* sp nos 20 ensaios com 2 amostras cada analisadas. O comprimento utilizado foi o de 280 nm. Para o tratamento dos resultados obtidos utilizou-se o método estatístico PCA (Análise das Componentes Principais).

Palavras-chave: filé de Tilápia; qualidade; pescado;

SUMMARY

The objective of this work was to determine the microbiological, parasitological and physicochemical quality of samples of *Oreochromis niloticus* tilapia fillets marketed in different establishments in the city of Dourados / ms Brazil. In addition, the UV-Vis Fluorescence and Absorption Spectroscopy technique was evaluated as an alternative in the microbiological quality control of fillets with the presence of the pathogenic genus *Salmonella* spp. The 32 analyzed samples were collected in 8 different establishments and belonged to three brands most found at the point of sale. For the microbiological quality, the standards stipulated by RDC No. 12 of 2001 were used for absence of *Salmonella* sp., Enumeration of tolerance limits for counting of coliforms at 45°C and *Staphylococcus* coagulase positive; standard counts of mesophilic and psychotrophic microorganisms in addition to the confirmation of *E.coli*. Regarding the coliform research at 45 °C, the results ranged from 4.7 and 6.6 CFU / log for fresh samples and from 4.4 to 6.6 CFU / log for frozen samples. In the *Staphylococcus* spp, Survey, the results range from 3.0 to 3.6 CFU / log in fresh samples and from 2.7 to 3.2 CFU / log for frozen samples. It is observed that the three brands analyzed, there was no presence of *Salmonella* sp. The results obtained for *Escherichia coli* in all the samples are unsatisfactory regarding the microbiological quality of the food. In the mesophile survey, the results ranged from 2.8 to 3.7 UFC / log for fresh samples and from 2.8 to 5.7 UFC / log for frozen samples. Finally the results of psychotrophic ranged from 3.6 to 3.8 CFU / log for fresh samples and from 3.5 to 5.2 CFU / log for frozen samples. The parasitological results showed absence of parasites of the studied fillets. The pH values were within the established by the legislation, ranged from 6.2 to 6.7 for frozen samples and from 6.1 to 6.4 for fresh samples. The internal temperature values of the frozen ones ranged from -1.2 to -2.5 °C and the fresh ones of -2.9 to -4.4 °C and external temperature varied from 1.3 to 3.8 °C the frozen and 3 , 0 to 4,7 °C the fresh ones, being shown within the values stipulated by the legislation. The results obtained in the research using the UV-Vis Absorption Spectroscopy Technique were satisfactory, since they showed the recognition of similarities and differences in the wavelengths of the analyzed bacteria, as well as the confirmation of ultra-pure water as a control. The results obtained in Fluorescence Spectroscopy and UV-Vis Spectroscopy show a proximity of the modulation values among the species of *Salmonella* sp in the 20 trials with 2 samples each analyzed. The length used was 280 nm. For the treatment of the obtained results the statistical method PCA (Principal Components Analysis) was used.

Key words: Tilapia fillet; quality; fish;

SUMÁRIO

1 Introdução.....	12
2 Objetivos.....	14
2.1 Objetivo Geral.....	14
2.2 Ojetivos Específicos.....	14
3 Revisão.....	15
3.1 Legislações em vigor referetes à Peixe.....	20
3.2 Tilápia-do-nilo, <i>Oreochromis niloticus</i>	23
3.3 Contaminação microbiológicas em filés de Tilápia <i>Oreochromis niloticus</i>	24
3.4 Contaminação parasitológicas em filés de Tilápia <i>Oreochromis niloticus</i>	27
3.5 Composição Proximal e Físico-química em filés de Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) comercializados em Dourados/MS.....	28
3.6 Espectroscopias de Fluorescência e Absorção na região do UV-Vis de filés de Tilápia <i>Oreochromis niloticus</i>	29
4 Referências Bibliográficas.....	Erro! Indicador não definido. 1
5 Artigo Científico.....	40
Capítulo I.....	40
Capítulo II.....	54
6 Considerações Finais.....	65

1 Introdução

O processo de urbanização e industrialização, assim como o envelhecimento da população, o desenvolvimento da agroindústria e mudanças nos hábitos e costumes das populações, induzem a grandes mudanças de comportamento, particularmente nos hábitos alimentares dos brasileiros. Tendo em vista a necessidade por uma alimentação balanceada, o pescado torna-se uma das principais opções disponíveis (SANTIAGO et al., 2013).

Conforme atribuído pelo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RISPOA), o termo “pescado” se refere a todos os organismos aquáticos como peixes, crustáceos, moluscos, quelônios, anfíbios, répteis e algas, destinados à alimentação humana. Rica fonte de proteína e elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda um consumo per capita de 12 kg/hab/ano de carne de pescados. O brasileiro consome 14,50 kg o que ultrapassa o consumo mínimo recomendado. Para aumentar ainda mais o consumo nacional, o governo anunciou incentivos com o objetivo de aumentar a produção de pescado, de forma que o Brasil alcance 3 milhões de toneladas/ano, até 2020 (FAO, 2017).

O consumo de peixe faz parte da dieta alimentar do homem, constituindo a principal fonte de proteína de origem alimentar em vários países. A carne de peixe por ser um alimento de fácil digestibilidade, rico em aminoácidos essenciais e com altos níveis proteicos, tornou-se uma ótima fonte de ácidos graxos insaturados como ômega 3 e ômega 6 e com baixo teor de colesterol (GUIMARÃES et al, 2017).

O pescado é um alimento suscetível a autólise (destruição de tecido vivo ou morte por enzimas e células do próprio organismo), a oxidação de gorduras, apresenta uma complexa composição química, oxidação de lipídios, pH próximo a neutralidade e uma elevada atividade de água (Aa), fatores que o tornam um alimento de fácil deterioração e ação bacteriana. A qualidade sensorial, microbiológica e vida útil dos produtos pesqueiros podem ser afetadas devido à grande variedade de bactérias deteriorantes e patogênicas que podem estar presentes desde o momento da pesca, manuseio, processamento, distribuição e comercialização deste alimento (LIMA et al., 2011).

São muitos os fatores que influenciam a escolha do alimento, como por exemplo o valor nutricional do produto, situações ambientais, preço e questões pessoais, sociais e culturais do consumidor. Dentre estes fatores questões pessoais tem um peso maior refletindo nas necessidades e preferências decorrentes de características fisiológicas e

psicológicas de cada indivíduo, isso modela as escolhas, desejos e preferência por determinados tipos de alimentos (THONG et al., 2017).

Segundo Santos et al. (2017) o hábito de consumir peixe tem passado por grandes mudanças, visto que o consumidor procura informações sobre os valores nutricionais, segurança alimentar, e falhas na manipulação e higiene de equipamentos.

Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* é uma espécie adaptada ao clima tropical, onívora e com grande espaço de criação no país, devido a ótima relação custo/benefício para os consumidores, sua alta qualidade de carne, sabor agradável, cor branca e textura firme além da capacidade de cultivo em cativeiro, apresenta resistência a doenças, tolerância ao cultivo em altas densidades e em ambientes adversos e estressantes, o que o tornou rapidamente a espécie preferida pela piscicultura brasileira (SILVA et al., 2015).

Alguns estudos propuseram o uso de fluorescência espectros para uma rápida identificação bacteriana, o uso de espectroscopia de fluorescência seria de grande utilidade na microbiologia, permitindo a seleção do melhor comprimento de onda de excitação e, conseqüentemente, a excitação seletiva da grupos moleculares, para melhor identificação de espécies bacterianas (GIANA et al., 2003).

Considerando a importância do consumo de alimentos com elevados valores nutricionais, fica evidenciado a necessidade de avaliar as características físico-químicas, bem como a qualidade microbiológica e parasitológica de filés da espécie Tilápia *Oreochromis niloticus*. Além de investigar a utilização da técnica de espectroscopia de fluorescência, na busca por uma metodologia alternativa de análise rápida na identificação da espécie patogênica *Salmonella* sp.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Determinar a qualidade de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializadas em Dourados-MS. Isolar e identificar espécie patogênica por técnica padrão e por espectroscopia de fluorescência.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinação da qualidade microbiológica de filés de peixe congelados comercializados no município de Dourados/MS;
- Determinação da qualidade parasitológica de filés de peixe congelados comercializados no município de Dourados/MS
- Análise proximal e físico-química dos filés de Tilápia;
- Utilização da Escala de Mac Farland para determinar a melhor diluição da população microbiana da espécie patogênica estudada;
- Utilização da técnica de Espectroscopia de UV-Vis procedida da técnica de Espectroscopia de Fluorescência para determinação das faixas de comprimentos de ondas específicos da espécie patogênica estudada.

3 Revisão

Devido à composição de aminoácidos essenciais, ideais para suprir as necessidades do organismo humano, a proteína do peixe tem sido muito requerida. O peixe é um alimento com baixo teor de gordura e rico em ácido graxo, ômega 3, além de ter fácil digestão. Pesquisas recentes sobre a composição da carne de peixe mostram que o consumo de peixe é considerado um auxiliador no controle de doenças cardiovasculares e na redução do colesterol e triglicérides (SCHULTER et al., 2017).

Os peixes destacam-se nutricionalmente de outros alimentos de origem animal, por apresentarem grandes quantidades de vitaminas lipossolúveis, como vitaminas A e D e minerais como cálcio, fósforo, ferro, cobre e selênio. A carne do pescado é um alimento fonte de minerais, proteínas e ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados (NOLETO et al., 2017).

O peixe representa 6,5% da ingestão de proteína animal no mundo, não possuem elevado teor de gordura saturada, são ricos em ácidos graxos essenciais, estes de cadeia longa desempenham importantes funções para o metabolismo humano, sua ingestão tem sido relacionada com diversos benefícios à saúde, principalmente a prevenção de doenças cardiovasculares (SUEMITSU, 2018).

Estas características expostas acima tornam ou fazem o peixe ser uma fonte de proteína animal mundialmente requerida, considerando a necessidade de consumo de alimentos que não apenas forneçam nutrientes, mas, que tragam benefícios à saúde da população. O Brasil segue uma tendência mundial, e nos últimos anos a cadeia produtiva de pescado, especialmente a produção de peixes de água doce tem sido incentivada através de alguns incentivos propostos pelo governo federal, estadual e municipal, onde tem-se a preocupação em disponibilizar à população uma carne mais saudável e que mantenha o alto valor proteico (RIBEIRO et al., 2011).

Observa-se que o consumo de pescado aumentou no mundo, dentre as hipóteses que justifique este aumento estão a conscientização do consumidor em relação ao consumo de alimentos mais saudáveis bem como a busca por diversidade e alternância entre os alimentos (Dutra, 2014).

Segundo Carlucci et al (2015) autoridades de saúde pública tem um grande interesse em dar impulso ao consumo de pescado para uma melhoria na saúde pública, com isso torna-

se importante o conhecimento dos consumidores com relação aos fatores que influenciam o consumo em grande escala de peixe.

Com esse crescente aumento do consumo, houve um aumento nas avaliações da qualidade da mesma, desde a forma como o pescado é manuseado no momento da captura podem influenciar sua qualidade, o manuseio exige um cuidado absoluto e procedimentos padrões que assegurem a qualidade final do produto (SOARES et al., 2012).

Quando comparado com outras carnes a deterioração do pescado ocorre mais rápida, isso pode ser explicado pelo maior estresse antes do abate do que em outros animais, com isso há uma maior liberação de enzimas autolíticas em seus tecidos musculares intensificando a deterioração enzimática pós o abate, o pH neutro dos músculos de peixes são fatores que auxiliam no crescimento microbiano e intensifica a deterioração (SUEMITSU, 2018).

Os produtos da pesca são muito perecíveis quando comparados com outros produtos de origem animal, este fato pode ser explicado não só pelas características intrínsecas, mas também pelo habitat natural dos peixes. O tipo de proteínas, a presença de elevada quantidade de água, bem como o baixo teor de tecido conjuntivo e a natureza psicrófila da microbiota bacteriana, determinam a ocorrência de um conjunto de alterações que ligeiramente contribuem para a rejeição/desvalorização do produto (SOARES et al., 2012).

Segundo a RDC ANVISA nº12/01, as DTA's (Doenças Transmitidas por Alimentos) são causadas pela ingestão de alimentos contaminados por agentes infecciosos específicos ou pela ingestão da toxina por eles formada (BRASIL, 2001).

Pelo fato da carne de peixe apresentar uma alta susceptibilidade ao processo de contaminação, torna-se fundamental a obtenção do pescado sob condições higiênico-sanitárias satisfatórias, adotando-se as Boas Práticas de Fabricação (BPF), bem como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), além dos produtos estarem em baixas temperaturas para sua conservação (DAMASCENO, 2009).

A qualidade do peixe comercializado é determinada pela presença de algumas espécies patogênicas como *Salmonella* sp ou pela quantidade em log de micro-organismos na carne como *Staphylococcus* sp, juntamente com a intensidade da ação enzimática, evidenciando a importância de serem aplicadas as BPF e a manutenção de baixas temperaturas logo após a captura ou despesca. Contudo, sempre necessário controlar a temperatura de estocagem para que não ocorra grandes oscilações e atentar-se quanto á

temperatura onde o produto é mantido no varejo, bem como no transporte pelo consumidor (DAMASCENO, 2009).

Tópicos como a segurança e a qualidade dos produtos alimentares se tornaram importantes na atualidade, evidenciando que devido ao crescente número de leis que exigem a qualidade dos alimentos nas várias etapas da cadeia de produção, tornou-se rigorosa as avaliações durante todos os processos. Em grande parte, a qualidade dos produtos da pesca é determinada pelo grau de frescor (SOARES et al., 2014).

Por meio da ingestão de água e alimentos contaminados que podem ocorrer surtos de DTA's aos consumidores, contaminação esta que pode ser desencadeada por uma vasta quantidade de micro-organismos (SCAPIN, 2011).

Segundo Miguel et al (2017) a qualidade do pescado pode ser influenciada por diversos fatores dentre eles: superfícies contaminadas, equipamentos e utensílios não higienizados podendo ocasionar um ambiente úmido, com acúmulo de água, permitindo a formação de várias populações de micro-organismos que podem contaminar direta ou indiretamente a carne do peixe. Levando em conta os inúmeros surtos de doenças veiculadas por alimentos, fica evidenciada a necessidade de investimentos em qualidade higiênico-sanitária de produtos alimentícios. Qualidade esta que pode ser influenciada de forma direta através do transporte, manipulação e armazenamento inadequados (JUNIOR et al., 2017).

Segundo Arbex et al., (2017) é de extrema importância conhecer a disponibilidade dos recursos locais, principalmente quando se refere a alimentos regionais e padrões culturais para compreender como se dá os padrões de consumo e hábitos alimentares dos consumidores. Entretanto, aspectos econômicos e culturais como por exemplo renda do consumidor, oferta do pescado e preço podem interferir diretamente no consumo (FORNARI et al., 2017).

O aumento das DTA's tornou-se um importante interesse da saúde pública, principalmente porque a epidemiologia dessas doenças tem mudado, não somente devido ao aumento na suscetibilidade dos seres humanos, mas também pela mudança nos hábitos alimentares da população (BRASIL, 2011). Segundo Pereira et al., (2016) um dos fatores que podem justificar o crescente número de pessoas com doenças causadas pela ingestão de alimentos com algum tipo de inadequação é a falta de conhecimento e interesse por parte dos envolvidos.

Levando em consideração a gravidade do problema e o número de pessoas imunodeficientes ou imunocomprometidas, que são as mais suscetíveis a essas doenças, há

uma preocupação em relação à qualidade dos alimentos e, principalmente, ao conhecimento das condições higiênico-sanitárias durante sua produção (FERREIRA et al., 2014).

Segundo Miguel et al. (2017) o controle de qualidade é um sistema de proteção importante ao produto e ao consumidor. Tem como objetivo principal assegurar a fabricação de alimento de qualidade, propiciando ao consumidor, produtos em condições de consumo. Dentre os itens das diligências de inspeção estão a água de utilização da fábrica, os equipamentos da linha de produção, a matéria-prima, os sistemas de higiene, limpeza e sanitização e o controle do produto final.

Desde o processamento até a comercialização do peixe a manipulação é fundamental na garantia da qualidade dos mesmos, determinando a intensidade com que se desenvolvem as alterações, que obedecem a três causas principais: enzimática, oxidativa e bacteriana. O tempo com que se desenvolvem cada uma dessas alterações depende de como foram aplicados os princípios básicos da conservação, assim como os métodos de captura e da espécie (SOARES et al., 2012).

A resolução RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004 delimita locais de contaminação indicando o uso do anexo II da RDC nº 275 de 21 de outubro de 2002 para diversos procedimentos de BPF para produtores de alimentos a fim de garantir as condições higiênicas sanitárias do alimento produzido (BRASIL, 2002).

Manipuladores, muitas vezes carecem de informações básicas. Alimentos artesanais são amplamente consumidos, algumas ações poderão auxiliar na manutenção da qualidade, evitando disseminação de DTA's (SCAPIN, 2011). Essa tendência de se consolidar um mercado consumidor mais exigente na escolha por produtos ou serviços, induz as empresas a adotarem novas estratégias com finalidade do cumprimento de todas as normas e regras que visam a qualidade do produto em todas as fases de processamento e comercialização (MANGAS et al., 2016).

O pescado pode ser adquirido em diversos tipos de estabelecimentos comerciais. Mercados são os principais pontos de vendas de pescado, contudo, possui maior susceptibilidade em comercializar produtos deteriorados, muitas vezes o pescado é mantido em condições totalmente desfavoráveis impossibilitando a segurança efetiva e comprometendo totalmente a qualidade da carne (MOURA, 2017).

Mato Grosso do Sul está situado em uma das maiores bacias hidrográficas do Brasil, a Bacia Hidrográfica do Paraná, aqui a piscicultura tornou-se uma das alternativas para a diversificação econômica dos produtores rurais, isso se deu pelo fato do estado estar situado

em uma área rica em recursos hídricos e o crescente cultivo de peixes em cativeiro (TORRES et al., 2017). Em 2018, a aquicultura continuou produzindo nacionalmente, com um valor de produção de 485,25 mil toneladas, a produção de Tilápia *Oreochromis niloticus* tem aumentado quando comparada aos outros anos, com um valor de 283,25 mil toneladas no ano, cerca de 58,4% da piscicultura nacional (IBGE, 2018).

Vale ressaltar que diversos fatores como os socioeconômicos, os padrões de consumo alimentar, características pessoais e estado de saúde podem influenciar o consumo de pescado (SARTORI et al., 2012).

Os peixes de maior procura e, conseqüentemente, consumo em Dourados são o pacu *Piaractus mesopotamicus* e o pintado *Pseudoplatystoma corruscans*, com 19,9% e 19,0%, respectivamente. Na escala de preferência dos consumidores douradenses, a Tilápia se apresenta em terceiro lugar 16,6%. Na região de Dourados a produção de peixe abrange um número considerável de produtores e com isso, tem se destacado entre as pesquisas e estudos elaborados no meio acadêmico. A comercialização de peixe se desenvolve, principalmente, em peixarias, hipermercados, supermercados e pesque-pague. Quanto aos comerciantes varejistas, ainda não há um grande volume de venda do pescado, isso pode ser explicado pelos altos custos na produção e demais fatores que torna o produto caro para o mercado local. Em Dourados ainda se preserva hábitos muito específicos, como a resistência no consumo, devido à falta de costume e a preocupação por não encontrar peixes de qualidade no que diz respeito ao consumo da carne e derivados do peixe (DUTRA, 2014).

3.1 Legislações em vigor Referentes à Peixe

Levando em consideração a legislação que rege sobre os fabricantes e comerciantes de peixe, o quadro a seguir traz algumas leis, suas descrições e referências sobre os padrões que devem ser seguidos no que diz as características, condições, controle, verificação, avaliação e critérios para comercialização e consumo do peixe.

Quadro 1: Leis sobre os padrões a serem seguidos por fabricantes, comerciantes e consumidores de pescado. Fonte: o autor.

LEGISLAÇÃO	DESCRIÇÃO	REFERÊNCIA
Portaria nº 185, de 13 de maio de 1997, o Ministério da Agricultura e do Abastecimento – MAPA	Define-se por peixe fresco, o produto obtido de espécimes saudáveis e de qualidade adequada ao consumo humano, convenientemente lavado e que seja conservado somente pelo resfriamento a uma temperatura próxima à do ponto de fusão do gelo. Quando examinado, segundo os métodos adequados de colheita de amostras e análise, o produto deverá estar isento de micro-organismos patogênicos e parasitos que possam representar perigo para a saúde do consumidor.	(BRASIL, 1997).
Portaria nº 368 de 04 de setembro de 1997, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento	Aprova o Regulamento Técnico sobre as condições Higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos	(BRASIL, 1997).
Portaria nº 46, de 10 de Fevereiro de 1998, o Ministro de Estado da	Esse sistema é uma abordagem científica e sistemática para o controle do processo, elaborado para prevenir a	(BRASIL, 1998).

<p>Agricultura, Pecuária e Abastecimento, institui o Sistema de Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle – APPCC a ser implantado pelas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal – SIF</p>	<p>ocorrência de problemas, assegurando que os controles são aplicados em determinadas etapas no sistema de produção de alimentos, assegurando que os produtos sejam elaborados sem perigos à Saúde Pública, tenham padrões uniformes de identidade e qualidade e atendam as legislações.</p>	
<p>O Diretor do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA estabelece através do Ofício Circular GAB/DIPOA 25, de 13 de novembro de 2009</p>	<p>Procedimentos de verificação dos Programas de Autocontrole em estabelecimentos de Pescados e derivados. Esses programas de Autocontroles estão fundamentados na inspeção contínua e sistemática de todos os fatores que de alguma forma, podem interferir na qualidade higiênico-sanitária dos produtos expostos ao consumo da população.</p>	<p>(BRASIL, 2009).</p>
<p>RDC nº 175, de 08 de julho de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA</p>	<p>Aprova o Regulamento Técnico de Avaliação de Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana em Alimentos Embalados, definindo os parasitas como umas das matérias prejudiciais à saúde humana. A presença de matéria prejudicial à saúde humana detectada macroscopicamente torna o produto/lote avaliado impróprio para o consumo humano e dispensa a determinação microscópica. Para avaliação de matérias macroscópicas e microscópicas podem ser utilizadas a</p>	<p>(BRASIL, 2003).</p>

	<p>observação direta e/ou observação com auxílio de instrumentos ópticos, devendo ser utilizados os métodos de análise adotados e/ou recomendados pela <i>Food and Drug Administration</i> (FDA), pela <i>Association of Official Analytical Chemists International</i> (AOAC), pela <i>International Organization for Standardization</i> (ISO), pelo Instituto Adolfo Lutz e pela Comissão do <i>Codex Alimentarius</i> e seus comitês específicos.</p>	
<p>A <u>RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001</u>, determina os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos e os critérios para a Conclusão e Interpretação dos Resultados das Análises Microbiológicas de Alimentos Destinados ao Consumo Humano</p>	<p>Leva em consideração a definição de critérios e padrões microbiológicos para alimentos, indispensáveis para a avaliação das Boas Práticas de Produção de Alimentos e Prestação de Serviços, da <u>aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle</u> (APPCC/HACCP) e da qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, incluindo a elucidação de <u>Doenças Transmitidas por Alimentos</u> (DTA)</p>	<p>(BRASIL, 2001).</p>

3.2 Tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*

Segundo a Pesquisa Pecuária Municipal do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística o (IBGE), a espécie mais cultivada em todo o mundo repete a hegemonia no Brasil. A tilápia correspondeu em 2017 a 58,4% de todas as espécies cultivadas na piscicultura brasileira, o que equivale a 283,2 mil toneladas, um aumento de 18% em relação às 239 mil toneladas de 2016. De acordo com o IBGE, Aparecida do Taboado localizada no Mato Grosso do Sul (MS) está dentre os cinco maiores municípios no ranking de despesca da espécie (IBGE, 2017).

É a espécie mais produzida no Brasil atualmente, por apresentar características genéticas, reprodutivas e, principalmente, mercadológicas, que faz com o a espécie seja encontrada em todo o território nacional. É um peixe que apresenta elevado valor nutritivo, constituído por proteínas de valor significativo (MONTEIRO et al., 2012).

A tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, é uma espécie bem apreciada pelos consumidores, pois apresenta textura firme, sabor agradável, carne branca e possui “espinha em Y”, podendo ser utilizada fresca, em filés ou no preparo de vários produtos semiprontos. É uma espécie de hábito alimentar fitoplanctófago, que aceita também alimentos artificiais, alimentam-se dos níveis primários da cadeia trófica, consomem uma variedade significativa de alimentos e respondem com a mesma eficiência à ingestão de proteínas tanto de origem animal como vegetal, características que conferem vantagens produtivas à espécie. O file é o principal produto de sua industrialização, com uma ótima aceitação no mercado por ser uma carne de primoroso sabor e qualidade (DUARTE et al., 2017).

3.3 Contaminação microbiológicas em filés de Tilápia *Oreochromis niloticus*

A carne de peixe apresenta um alto valor nutritivo e uma excelente fonte de proteína, porém, possui alta perecibilidade, características que torna necessária condições sanitárias ideais durante toda a produção para que o produto final disponibilizado ao consumidor seja um produto de boa qualidade e seguro (JUNIOR et al., 2017).

Dentre as condições ideais para a deterioração do pescado estão: pH próximo à neutralidade, elevada quantidade de atividade de água, rápida ação destrutiva das enzimas endógenas e exógenas, alto teor de nutrientes, elevado teor de ácidos graxos polinsaturados, estrutura muscular com menor barreira física de proteção, baixa quantidade de tecido conjuntivo e estresse significativo no momento da captura (SOARES, 2014).

A (RDC) Resolução da Diretoria Colegiada nº 12, de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina que pescados *in natura* resfriados ou congelados não consumidos cru devem apresentar os seguintes padrões microbiológicos: ausência de *Salmonella* em 25g e tolerância de até 10^3 NMP (Técnica do Número Mais Provável) de estafilococos coagulase positiva/grama de alimento e Coliformes a 45°C/g em até 10^2 chegando até a confirmação do maior representante *Escherichia coli*.

a fim de que sejam considerados próprios para o consumo (BRASIL, 2001).

Os peixes possuem uma microbiota natural, derivados dos micro-organismos presentes no ambiente em que vivem. A quantidade e diversidade de bactérias presentes no ambiente influenciam diretamente na decomposição do pescado, micro-organismos deterioradores que apresentam habilidades quantitativas e qualitativas. A qualidade sanitária da matéria-prima é muito importante para a indústria e para o consumidor em virtude da possibilidade de contaminações durante seu processamento. Impedir a multiplicação desses micro-organismos na matéria-prima é de extrema importância, visto que são importantes causadores de DTA's (MOURA, 2017)

Levando em consideração a legislação vigente RDC ANVISA nº12/01, que estabelece quais espécies de bactérias são consideradas patogênicas ao ser humano quando presente no alimento e suas respectivas concentrações no pescado foram analisadas as seguintes espécies:

Salmonella sp, bactéria entérica, com formato bastonetes, gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, móveis em sua grande maioria (flagelos peritríquios) e apresentam bom crescimento a uma temperatura que varia entre 5°C e 46°C. Muitas vezes sendo responsável por infecções alimentares graves advindas da ingestão de alimentos contaminados. Muito irradiada, está presente no ar, no solo, na água, nos animais, nos seres humanos, nos alimentos e nas fezes. Seu habitat natural é o trato intestinal dos seres humanos, entre outros mamíferos. Apresenta grande capacidade de contaminação de alimentos que possuem proteínas e carboidratos e um alto teor de umidade. A maioria dos sorotipos de *Salmonella* sp são patogênicas para o homem (FERREIRA et al., 2016).

Escherichia coli é considerada a representante do grupo dos coliformes fecais, bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, não esporulada, fermentativa, em sua maioria móvel (flagelos peritríquios) e apresentam um bom crescimento a uma temperatura de 18°C a 44°C. A espécie metaboliza uma grande variedade de substâncias como lipídios, carboidratos, proteínas, aminoácidos e ácidos orgânicos. Suas colônias podem apresentar aspecto grosseiro e com contornos irregulares, aspecto liso com colônias lisas, convexas, brilhantes e com bordos regulares. *E. coli* tem como habitat principal o trato intestinal dos seres humanos e de outros animais homeotérmicos (MELO, 2015).

Staphylococcus sp apresentam células esféricas, gram-positivas, são imóveis e não esporuladas, anaeróbias facultativas, quimiorganotróficas com metabolismos fermentativo e respiratório. São encontradas isoladas, aos pares ou em agrupamentos irregulares, e apresentam um bom crescimento a uma temperatura que varia entre 30°C e 37°C. Dentre as espécies patogênicas para o ser humano e outros animais está *Staphylococcus aureus*, por produzirem toxinas extracelulares. Seu habitat é amplo tornando sua presença largamente distribuída na natureza, onde sobrevive muito bem. Entretanto, a espécie é também integrante da microbiota da superfície e da mucosa humana, por isto a contaminação pela bactéria em alimentos muitas vezes está relacionada com a manipulação humana. Surto de intoxicação de origem alimentar muitas vezes têm como responsável a *S. aureus*, pois a mesma produz enterotoxinas que são liberadas durante sua multiplicação no alimento, tornando-se um risco para a saúde pública (MELO, 2015).

Bactérias Mesófilas são micro-organismos que apresentam um bom crescimento em temperatura que varia entre 30°C e 45°C. Sua quantificação demonstra a qualidade higiênica e sanitária na qual esse alimento foi processado, estando relacionada com a avaliação da segurança e qualidade microbiológica dos alimentos. A contagem elevada pode indicar a deterioração e, conseqüentemente, reduzir a vida de prateleira do alimento (MOURA et al., 2017).

Bactérias Psicotróficas são micro-organismos que são capazes de crescer a 7°C ou temperaturas inferiores. Utilizar temperaturas baixas como método de conservação de alimentos faz com que ocorra o retardamento do crescimento microbiano, pois o fator temperatura influencia diretamente nas taxas de catálise, contudo, esse grupo de bactérias tornou-se extremamente importantes na cadeia de processamento do pescado, pois permitem seletivo crescimento de micro-organismos psicotróficos (MOURA et al., 2017).

3.4 Contaminação parasitológicas em filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializados em Dourados/MS

Dentre as preocupações por parte da vigilância sanitária, uma delas está na ocorrência de parasitos na carne de peixe, os mesmos podem ter potencial zoonótico e com isso causar grande repugnância ao consumidor sendo condenados pela fiscalização sanitária, ocasionando perdas econômicas significativas para a cadeia do peixe. Contudo, fica evidenciado a necessidade sobre o conhecimento dos parasitos que podem estar presentes no pescado no momento de inspeção, uma vez que a ingestão de peixe cru, principalmente, é a principal forma de entrada e sobrevivência dos parasitos e consequentemente o desenvolvimento de diferentes patogenias nos seres humanos, as quais ocorrem por ação espoliativa, tóxica ou mecânica (GUIMARÃES et al, 2017).

No âmbito federal, estadual e municipal a inspeção de pescado visa a segurança do consumidor. Nos últimos anos tem sido reforçada a importância da inspeção sanitária dos pescados para a saúde pública devido relatos de parasitos com potencial zoonótico infectando pescados comerciais (TAIRA, 2011).

Não obstante, o artigo 445 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) define como impróprio para consumo o pescado que apresente infestação muscular maciça por parasitos que possam prejudicar ou não a saúde do consumidor (BRASIL, 1952). Dentre os parasitos de peixes mais comuns estão: anisakiase, a eustrongilidose, a fagicolose, a clonorquiose e a adifilobotriose entre outras. Os parasitos causadores destas zoonoses podem ser encontrados em diferentes formas desde introduzidos na musculatura do peixe, até a forma de metacercárias infectantes ou larvas plerocercóides (SOUZA et al., 2012).

Os mesmos podem ser extremamente patogênicos aos peixes, pois costumam invadir diversos órgãos como fígado, gônadas e musculatura corporal, sua patologia pode ser extensa quando há um grande número de parasitos presentes (RODRIGUES et al., 2017).

3.5 Composição Proximal e Físico-química em filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializados em Dourados/MS

A carne de peixe se destaca entre outros alimentos por suas características nutricionais, logo está associada com a qualidade de vida, isso induz cada vez mais a valorização do pescado em todo mundo (ARBEX et al, 2017).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), existem várias provas físico-químicas para avaliar o frescor e a qualidade do pescado resfriado, dentre elas, a mensuração da temperatura, a determinação de pH, amônia, gás sulfídrico, (BVT) bases voláteis totais, bases voláteis terciárias e histamina (BRASIL, 1952).

O pescado é um alimento altamente perecível, ou seja, deteriora-se rapidamente se estocado, processado ou distribuído inadequadamente, tornando-se muitas vezes inseguro para o consumidor devido ao crescimento microbiano, que pode alterar as características sensoriais do filé reduzindo assim seu tempo de prateleira (FERREIRA et al., 2014).

Segundo Souza (2017) a composição química do pescado pode ser altamente variável de espécie para espécie, principalmente, o baixo conteúdo de gordura e a elevada quantidade de proteínas. A água pode representar uma média de 80% da porção comestível do pescado, sendo o constituinte que apresenta as maiores variações, podendo ser encontrada na forma livre ou ligada a proteínas e carboidratos.

Com o grande aumento do consumo de pescado *in natura* pela população tem causado preocupações com relação à qualidade inicial, as etapas de preparo, e em especial a atenção das autoridades sanitárias para garantir a qualidade do produto final (RODRIGUES et al, 2012).

A porção mais importante e comestível do peixe é a carne, constituída de tecido muscular, tecido conectivo e gordura. Sua composição química é de extrema importância quando se fala de qualidade sensorial, capacidade de armazenamento, propriedades químicas e valor nutritivo. Idade, sexo, habitat, estado nutricional, maturidade sexual, época do ano e tipo de músculo amostrado são fatores que podem variar a composição química de uma espécie de peixe (SOUZA, 2017).

3.6 Espectroscopias de Fluorescência e Absorção na região do UV-Vis de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus*

Define-se espectroscopia como o estudo da interação de qualquer tipo de radiação eletromagnética com a matéria, em função do comprimento de onda ou frequência (FIGUEIRÓ, 2016).

É crescente a demanda por alta qualidade e segurança na produção de alimentos, contudo, exige padrões elevados para controle de qualidade e processo, que por sua vez requer ferramentas analíticas apropriadas para investigar alimentos. A espectroscopia é uma técnica analítica cuja teoria e metodologia têm sido amplamente exploradas para estudos, a mesma tornou-se bastante popular como uma ferramenta em ciência relacionada à tecnologia de alimentos (KAROUI et al, 2017).

Segundo Michels et al, 2017 dentre a diversidade de técnicas ópticas, a espectroscopia de fluorescência vem se destacando para fim de monitorar on-line e in situ pois a mesma pode fornecer informações rápidas, precisas e baixo custo.

Muitas técnicas e métodos para avaliação e detecção da qualidade e segurança dos alimentos são considerados tradicionais, demorados, tediosos e trabalhosos. As técnicas espectroscópicas superaram algumas destas desvantagens, podendo suplementá-las ou substituí-la. Características como alta especificidade, custo-efetivo, não invasivo, conveniência, não destrutivo e resposta rápida explicam o crescente interesse por técnicas espectroscópicas que vem mostrando grande potencial para a detecção de patógenos, contaminação externa, alterações na estrutura proteica e oxidação lipídica, e para monitoramento de deterioração em peixes, a fim de confirmar a segurança para consumo e comércio (CHENG et al, 2013).

A fluorescência ocorre em uma molécula após a incidência de luz, onde a energia luminosa é absorvida pela estrutura eletrônica elevando assim a energia dos elétrons da molécula a estados quânticos menos estáveis e excitados, o mesmo ao retornar ao nível fundamental de energia gera a emissão de uma radiação eletromagnética de acordo com as características da molécula (MAZZUCATO, 2013).

A espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível UV-Vis é uma análise baseada na medida de absorbância ou transmitância de soluções contidas em células transparentes com caminho óptico de comprimento específico, da ordem de cm. Quando um feixe (monocromático) de radiação com intensidade incide sobre a cubeta

contendo uma determinada solução, alguns fenômenos podem ocorrer, como reflexão, ou mesmo o espalhamento pelas paredes da cubeta (caso o meio não seja transparente e homogêneo). Porém, o efeito mais significativo ocorre quando parte da radiação é absorvida pelo meio que está sendo analisado (FIGUEIRÓ, 2016).

4. Referências Bibliográficas

ALVES, A.X.; DIAS, B.C.B.; SANTOS, J.C.M.; FONTES, V.B.; CORDEIRO, C.A.M. **Análise descritiva das condições Higiênico-Sanitárias na comercialização de pescados no município de Castanhal-Pará.** Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia CONTECC'2017. Belém – PA, 2017.

ARBEX, E.A.S.; MACIEL, E.S.; PÉREZ, J.L.R.; SAVAY-DA-SILVA, L.K. **Perfil de consumidores de pescado em comunidades universitárias da região metropolitana de Cuiabá-MT.** Proceedings do VII SIMCOPE. Instituto de Pesca - Secretaria de Agricultura e Pesca do Estado de São Paulo. São Paulo – SP, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 175, de 08 de julho de 2003. **Aprova o Regulamento Técnico de Avaliação de Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana em Alimentos Embalados.** Diário Oficial da União. Brasília - DF, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação.** Diário Oficial da União. Brasília - DF, 2004.

275 de 21 de outubro de 2002. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Produtores e Industrializadores de Alimentos.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2002. Disponível em: <fooddesign@fooddesign.com.br>. Acesso em: 13 set. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Seção 1, p. 45-53. Brasília _ DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde, RDC nº275 de 21 de outubro de 2002. **Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Produtores e**

Industrializadores de Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília - DF, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Ofício circular GAB/DIPOA 25, de 13 de novembro de 2009.** Procedimentos de verificação dos programas de autocontrole em estabelecimentos de pescados e derivados, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 185, de 13 de maio 1997. **Aprova o regulamento técnico de Identidade e Qualidade de Peixe fresco (inteiro e eviscerado).** Diário Oficial da União. Brasília - DF, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 46, de 10 de fevereiro de 1998. **Instituir o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC a ser implantado, gradativamente, nas indústrias de produtos de origem animal sob o regime do Serviço de Inspeção Federal – SIF,** de acordo com o Manual genérico de procedimentos. Diário Oficial da União. Brasília - DF, 1998.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria 368, de 04 de setembro de 1997. **Regulamento técnico sobre as condições Higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos elaboradores / Industrializadores de Alimentos.** Diário Oficial da União. Brasília - DF, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952. **Aprova o novo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA).** Diário Oficial da União. Brasília -DF, 1952.

CARLUCCI, D.; NOCELAA, G.; DEVITIIS, B.D.; VISCECCHIA, R.; BIMDO, F.; NARDONE, G. **Consumer purchasing behaviour towards fish and seafood products. Patterns and insights from a sample of international studies.** Editora Elsevier. Appetite. p 212–227. Amesterdã – Holamda, 2015.

CARVALHO, S.J.E.J.; MORI, E. **A importância das boas práticas de manipulação dos alimentos em restaurantes: Revisão integrativa da literatura.** Revista e ciência, v.5, n.2, p.108-115. Juazeiro do Norte – CE, 2017.

CHENG, J.H.; DAI, Q.; SUN, D.W.; ZEG, X.A.; LIU, D.; PU, H.B. **Applications of non-destructive spectroscopic techniques for fish quality and safety evaluation and inspection.** Trends in Food Science & Technology, 34 p18-31. Dublin- China, 2013.

DAMASCENO, A. **Qualidade (sensorial, microbiológica, físico-química e parasitológica) de salmão (*Salmo salar*, Linnaeus, 1778) resfriado, comercializado em Belo Horizonte – MG.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte – MG, 2009.

DUARTE, C.V.; VIEIRA, R.V.; GHERARDI, S.R.M. **Fishburguers de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) com e sem adição de fumaça líquida.** Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial. v. 11, n. 02, p. 2382-2396. Ponta Grossa – PR, 2017.

DUTRA, F.M. **Análise da estrutura, conduta e desempenho da cadeia do peixe no município de Dourados/MS.** Dissertação (Mestrado em Agronegócio) - FACE- Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MS, 2014.

FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations.** Disponível em: <http://www.fao.org/home/en/>. Quebec – Canadá, 2017.

FERREIRA, E.M.; LOPES, I.S.; PEREIRA, D.M.; RODRIGUES, L.C.; COSTA, F.N. **Qualidade microbiológica do peixe serra (*Scomberomerus brasiliensis*) e do gelo utilizado na sua conservação.** Centro de Ciências Agrárias - (UEMA) – Instituto de Biologia. v.81, n.1, p. 49-54. São Luís - MA, 2014.

FERREIRA, C.C.; GREGÓRIO, E.L.; COSTA, J.D.; PAULA, R.B.O.; NETA, H.A.G.A.; FONTES, M.D. **Análise de coliformes termotolerantes e *Salmonella* sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte- MG.** HU Revista. v.42, n.4, p.307-313. Juiz de Fora – MG, 2016.

FIGUEIRÓ, C.S.M.; **Utilização de técnicas espectroscópicas na avaliação da qualidade de água em piscicultura.** Dissertação - Ciências e Tecnologia Ambiental – FACET- Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MS, 2016.

FORNARI, C.A.C.; COSTA, R.P.B.; PIRES, C.R.F.; KATO, H.C.A.; SOUSA, D.N. **Estudos sobre os hábitos de consumo de pescado da população de Palmas (TO).** **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins.** v.04, n.04. Palmas – TO, 2017.

GIANA, H. E., JUNIOR, L. S., ZÂNGARO, R. A., PACHECO M. T. T. **Rapid Identification of Bacterial Species by Fluorescence Spectroscopy and Classification Through Principal Components Analysis.** *Journal of Fluorescence*, v.13, n.6, 2003.

GOMES, P.B.; **Caracterização de materiais: uma abordagem das possibilidades de algumas técnicas instrumentais.** – Trabalho de conclusão de curso - Universidade Federal de São João del-Rei – UFSJ. São João del-Rei – MG, 2015.

GUIMARÃES, T.S.; FERREIRA, M.F.; DONATELE, D.M.; LUCINDO, M.B. **Qualidade parasitológica da pescada branca no litoral sul do Espírito Santo.** **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.11, n.2 p. 190 –197. Alegre –ES, 2017.

IBGE, **Produção da Pecuária Municipal.** Diretoria de Pesquisa. GEPEC/COAGRO. 2018.

IBGE, **Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa de Pecuária Municipal.** GEPEC/COAGRO. 2017.

JACOBS, S.; SIOEND, I.; MARQUESD, A.; VERBEKEA, W. **Consumer response to health and environmental sustainability information regarding seafood consumption.** Editora Elsevier. *Environmental Research*. p 492-504. Amesterdã – Holanda, 2018.

JUNIOR, A.C.S.S.; FERREIRA, L.R.; FRAZÃO, A.S. **Avaliação da condição higiênico-sanitária na comercialização de pescado da feira do produtor rural do Buritizal, Macapá-Amapá.** Centro Universitário Adventista de São Paulo – Unasp. São Paulo – SP, 2017.

KAROUI, R.; HASSOUN, A.; ETHUIN, P. **Front face fluorescence spectroscopy enables rapid differentiation of fresh and frozen-thawed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets.** Journal of Food Engineering. p. 89 e 98. Lens – França, 2017.

LIMA, M.M.; LIMA, A.M.; MUJICA, P.I.C. **Avaliação da qualidade microbiológica de peixes comercializados em peixarias de Palmas – TO.** Artigo Científico. Curso de Engenharia de Alimentos - Universidade Federal do Tocantins. Palmas –TO, 2011.

LOPES, I.G.; OLIVEIRA, R.G.; RAMOS, F.M. **Perfil do consumo de peixes pela população brasileira.** Revista Biota Amazônia. v.6, n.2, p.62-65. Macapá – AP, 2016.

MACIEL, E.S.; GALVÃO, J.A.; OETTERER, M. **A complexa avaliação do consumo de pescado.** Revista Visão Agrícola. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Recife – PE, 2012.

MANGAS, F.P.; REBELLO, F.K.; SANTOS, M.A.S.; MARTINS, C.M. **Caracterização do perfil dos consumidores de peixes no município de Belém, Estado do Pará, Brasil.** Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, v.9, n. 4, p. 839-857. Belém – PR, 2016.

MAZZUCATO, C.; **Caracterização do potencial de filmes de PVC dopado com óleo essencial de alecrim para o controle microambiental em embalagens de alimentos.** Dissertação - Ciências e Tecnologia Ambiental – FACET- Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados – MS, 2013.

MELO, R.R.; **Análise da qualidade microbiológica do peixe (*Eugerres brasilianus*, Curvier 1830) e das águas do Estuário do Rio Itanhaém, SP, Brasil.** Dissertação - Instituto de Biociências do campus de Rio Claro - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP. Rio Claro – SP, 2015.

MICHELS, F.S.; TRINDADE, M.A.G.; FALCÃO, E.A.; A.; GRUIMARÃES, R.C.A. B.; OLIVEIRA, S.L.; CAIRES, A.R.L. **The effect of the excitation light intensity during on-line monitoring of biodiesel by fluorescence spectroscopy.** Editora Elsevier. Combustíveis. p 395–400. Amesterdã – Holamda, 2017.

MIGUEL, J.S.C.; FERREIRA, H.M.; MIGUEL, B.G.C TARDIVO, R.; RODRIGUES, J.M.; POIATTI, M.L. **Características Microbiológicas e Físico-Químicas de Pescados Comercializados em Dracena E Região.** Revista Colloquium Agrariae. vol.13, n. Especial, p. 216-221. Presidente Prudente – SP, 2017.

MONTEIRO, M.L.G.; MÁRSICO, E.T.; TEIXEIRA, C.E.; MANO, S.B.; JÚNIOR, C.A.C.; VITAL, H.C. **Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados.** Revista de Ciência Rural. vol. 42, n 4, p.737-743. Santa Maria – RS, 2012.

MOURA, C.M.C. **Avaliação da Qualidade Microbiológica de Filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e do gelo durante a armazenagem.** Dissertação (Ciência Animal) - Universidade Federal do Piauí. Teresina – PI, 2017.

NOLETO, K.S.; SILVA, L.T.S.; LOPES, L.M.F.; PAULO, I.G.P.; COSTA, C.M.S.; NUNES, L.R.; SANTOS, E.C.B. **Desenvolvimento e caracterização de biscoitos enriquecidos com proteínas de peixe.** Revista Brasileira de Engenharia de Pesca v.10, n2, p. 69-77. São Luiz – MA, 2017.

PEREIRA, W.A.S.; SILVA, J.F.B. VIEIRA, P.P.F. **Gestão da qualidade: Aplicabilidade de boas práticas de fabricação nas feiras livres e mercados públicos do município de João Pessoa.** Revista Applied Tourism. v.1, n.3. Vale do Itajaí – SC, 2016.

PROCHMANN, Â.M.; TREDEZINI, C.A. O. **A piscicultura em Mato Grosso do Sul, como instrumento de geração de emprego e renda na pequena propriedade.** Estudo

das cadeias produtivas de Mato Grosso do Sul: Piscicultura. Fundação Cândido Rondon – UFMS. Campo Grande - MS, 2003.

RESPLANDES, E. E. V.; SOCOLOSKI, S. N. G.; KEMPER, R. T.; MOREIRA, P. S. A. ANJOS, T. R.; FORTUNA, J. L. F.; VIEIRA T. B. **Microbiological and parasitological quality of “Panga fish” (*Pangasius spp.*)** Scientific Electronic Archives. Vol. 10 (6). 2017.

RIBEIRO, A.L.M.S.; OLIVEIRA, G.M.; FERREIRA, V.M.; PEREIRA, M.M.D.; SILVA, P.P.O. **Avaliação microbiológica da qualidade do pescado processado, importado no estado do Rio de Janeiro.** Revista Brasileira Ciência e Veterinária, v.16, n.3, p.109-112, Seropédica – RJ, 2011.

RODRIGUES, B, L.; SANTOS, L.R.; MÁRSICO, E.T.; CAMARINHA, C.C.; MANO, S.B.; JUNIOR, C.A.C. **Qualidade físico-química do pescado utilizado na elaboração de sushis e sashimis de atum e salmão comercializados no município do Rio de Janeiro, Brasil.** Ciências Agrárias, v.33, n.5, p.1847-1854. Londrina – PR, 2012.

RODRIGUES, L.C.; SANTOS, A.C.G.; FERREIRA, E.M.; TEÓFILOS, T.S.; PEREIRA, D.M.; COSTA, F.N. **Parasitologic aspects of traíra (*Hoplias malabaricus*) from the São Bento city, MA.** Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia v.69, n.1, p.264-268. São Luiz – MA, 2017.

SANTOS, T.; SIMÕES, R.; ROCHA, H.; MATEUS, T.L. **Riscos e benefícios do consume de peixe selvagem – a percepção do consumidor.** ResearchGate. Berlim – Alemanha, 2017.

SANTIAGO, J.A.S.; ARAÚJO, P.F.R.; SANTIAGO, A.P.; CARVALHO, F.C.T.; VIEIRA, R.H.S.F. **Bactérias patogênicas relacionadas a ingestão de pescados.** Artigo de revisão. Ciência Marítima. Fortaleza – CE, 2013.

SARTORI, A.G.O.; AMACIO, R.D. **Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil**. Revista de Segurança Alimentar e Nutricional, 19(2): 83-93. Campinas - SP, 2012.

SCAPIN, D. **Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos antes e após a implementação em agroindústrias da região extremo oeste catarinense**. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Industrial e de Alimentos - Universidade do Oeste de Santa Catarina– UNOESC. São Miguel do Oeste - SC, 2011.

SILVA, G. F., MACIEL, L. M., DALMASS, M. V., GONÇALVES M. T. **Tilápia-do-Nilo: Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná**. Portal do Livro. Curitiba – PR, 2015.

SOARES, K.M.P.; GONÇALVES, A.A. **Qualidade e segurança do pescado**. Revista do Instituto Adolfo Lutz. 71(1):1-10. São Paulo – SP, 2012.

SOARES, K.M.P.; GONÇALVES, A.A. SOUZA, L.B.; **Qualidade microbiológica de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o armazenamento em gelo**. Departamento de Ciências Animais, (UFERSA) Ciência Rural, v.44, n.12, p.2273-2278, Santa Maria – RS, 2014.

SUEMITSU, L.Y.; **Efeitos do processamento à alta pressão isostática em filés de Tilápia *Oreochromis niloticus***. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - Universidade Estadual de Campinas – Unicamp. Campinas – SP, 2018.

SCHULTER, E.P.; FILHO, J.E.R.V. **Evolução da Piscicultura no Brasil: Diagnóstico e Desenvolvimento da cadeia produtiva da Tilápia**. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada – Texto para discussão. Rio de Janeiro –RJ, 2017.

SOARES, K.M.P.; GONÇALVES, A.A. SOUZA, L.B.; **Qualidade microbiológica de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o armazenamento em gelo**.

Departamento de Ciências Animais, (UFERSA) Ciência Rural, v.44, n.12, p.2273-2278. Santa Maria – RS, 2014.

SOARES, K.M.P.; GONÇALVES, A.A. **Qualidade e segurança do pescado.** Revista do Instituto Adolfo Lutz. 71(1):1-10. São Paulo – SP, 2012.

SOUZA, A.T.S.; LIZAMA, M.A.P.; TAKEMOTO, M.R. **Patologia e Sanidade de Organismos Aquáticos.** 1º edição. Associação Brasileira de patologia de Organismos aquáticos, Abrapoa. 126-133p. Maringa – PR, 2012.

SOUZA, J.D.C. **Avaliação Físico-Química do Nuggets de Peixe Voador (Hirundichthys affinis) durante armazenamento sob congelamento.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal – RN, 2017.

TAIRA, K.K.; **Principais Parasitas com Potencial Zoonótico Trasmítidos Pelo Consumo de Pescado no Brasil.** Monografia apresentada no Curso de Especialização em Gestão em Defesa Agropecuária. Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná – UFP. Curitiba – PR, 2011.

TORRES, S.M.; PEREIRA, F.A.R.; SOUZA, C.C.; FERREIRA, M.B. **Análise da eficiência da produção da piscicultura na região de Dourados – MS.** Revista Espacios.v.38, nº 52, Pág. 26, Ponta Grossa – PR, 2017.

THONG, N.T.; SOLGAAR, H. S. **Consumer's food motives and seafood consumption.** Editora Elsevier. Food Quality and Preference. p 181–188. Amesterdã – Holamda, 2017.

Capítulo I

DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA, PARASITOLÓGICA, COMPOSIÇÃO PROXIMAL E FÍSICO-QUÍMICA DE FILÉS DE TILÁPIA *OREOCHOMIS NILOTICUS* COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE DOURADOS/MS

DETERMINATION OF MICROBIOLOGICAL, PARASITOLOGICAL QUALITY AND PROXIMAL COMPOSITION OF TILÁPIA *OREOCHOMIS NILOTICUS* PULPES MARKETED IN THE MUNICIPALITY OF DOURADOS / MS

Maria Joyce dos Santos Silva¹
Kelly Cristina da Silva Brabes.²

¹ Faculdade de Ciência Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, MS, Brasil.

² Faculdade de Engenharia, Universidade Federal da Grande Dourados, MS, Brasil.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade de Filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializados no município de Dourados/MS Brasil, quanto à qualidade microbiológica, parasitológica, a composição proximal e físico-química dos filés, baseadas em metodologias padrões. Os resultados obtidos revelaram que algumas das amostras analisadas foram consideradas impróprias para o consumo quanto à qualidade microbiológica, pois alguns resultados ultrapassaram os valores estabelecidos pela legislação vigente. Quanto à pesquisa de coliformes a 45°C, os resultados variaram de 4,4 a 6,6 UFC/log nas marcas analisadas. Na pesquisa de *Staphylococcus* spp., os resultados variam de 2,7 a 3,6 UFC/log nas marcas analisadas. As três marcas analisadas, não houve ocorrência de *Escherichia coli*, e *Salmonella* sp, mostram-se insatisfatório quanto à qualidade microbiológica do alimento. Na pesquisa de mesófilos, os resultados variaram de 2,8 a 5,7 UFC/log nas amostras analisadas. Por fim os resultados de Psicotróficos variaram de 3,5 a 5,2 UFC/log. Os resultados parasitológicos demonstraram ausência de parasitos dos filés estudados. Os valores de pH variaram de 6,28 a 6,55. Os valores de temperatura interna dos congelados variaram de -1,11°C a -2,90°C e temperatura externa variam de 1,61 a 4,08°C. As amostras analisadas foram classificadas como impróprias para o consumo quanto a qualidade Microbiológica.

Palavras-chave: pescado; contaminação; higiene.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the quality of Fillets of Tilapia *Oreochromis niloticus* commercialized in the city of Dourados / MS Brazil, regarding the microbiological, parasitological, proximal and physicochemical quality of the fillets, based on standard methodologies. The results showed that some of the analyzed samples were considered unfit for consumption in terms of microbiological quality, since some

results exceeded the values established by current legislation. Regarding the research of coliforms at 45°C, the results ranged from 4.4 to 6.6 UFC / log in the analyzed brands. In the study of *Staphylococcus* spp., The results ranged from 2.7 to 3.6 CFU / log in the analyzed brands. The three analyzed brands, there was no occurrence of *Escherichia coli*, and *Salmonella* sp, are unsatisfactory regarding the microbiological quality of the food. In the mesophilic survey, the results ranged from 2.8 to 5.7 UFC / log in the analyzed samples. Finally the results of Psrotrotrophic ranged from 3.5 to 5.2 UFC / log. The parasitological results showed absence of parasites of the studied fillets. The pH values ranged from 6.28 to 6.55. The internal temperature values of the frozen ones ranged from -1.11 ° C to -2.90 ° C and external temperature ranged from 1.61 to 4.08 ° C. The analyzed samples were classified as unfit for consumption as Microbiological quality.

Keywords: fish; contamination; hygiene.

1.0 Introdução

O consumo de carne de peixe atingiu um recorde no mundo, cerca de 18,6 kg per capita/ano. Contudo, apesar do consumo de peixe ter aumentado, ainda existe uma insuficiência no que diz respeito às informações necessárias por parte dos consumidores quanto a qualidade dos produtos e sua importância nutricional [16].

A carne do peixe é altamente perecível, justificado pelas propriedades intrínsecas do produto e atividade microbiana que é formada por diversos fatores, como temperaturas inadequadas de armazenamento, contaminação microbiana inicial e condições de embalagem. O crescimento e metabolismo microbiano são as principais causas da deterioração do pescado, levando a uma qualidade inaceitável do produto [20].

Fonte de ácidos graxos poli-insaturados, rico em proteínas de baixo valor calórico, faz com que a carne de peixe esteja em pesquisas/estudos que associam seu consumo com a redução de enfermidades como, por exemplo,

doenças inflamatórias e doenças cardiovasculares aumentando ainda mais a procura do alimento [24].

O controle de pH e temperatura são essenciais para obtenção de água da criação destes animais que, conseqüentemente, estão ligados com a manutenção do equilíbrio sanitário dos mesmos. Há uma grande variedade de espécies de peixes, logo, existe também uma enorme quantidade de patógenos que englobam vírus, bactérias, parasitos e fungos. Peixes são organismos extremamente parasitados por entrarem no ciclo de alguns patógenos tanto como hospedeiros definitivos quanto como hospedeiros intermediários [27].

Levando em consideração o aumento significativo do consumo da carne de peixe, a grande quantidade de patógenos que fazem dos peixes organismos significativamente parasitados e a insuficiência de estudos quanto a qualidade microbiológica, parasitológicas, e avaliação dos valores nutricionais de filés comercializados no município de Dourados/MS esta

pesquisa teve por objetivo informar o consumidor quanto a qualidade dos filés

2.0 Metodologia

A pesquisa foi realizada em oito estabelecimentos, sendo duas peixarias, quatro supermercados e dois atacadistas no município de Dourados/MS. Coletaram-se três amostras de três marcas distintas em três repetições totalizando vinte e sete amostras. Foram analisadas também cinco amostras de três marcas que não se repetiam nos locais de comercialização, totalizando 32 amostras de filés de peixes da espécie *Oreochromis niloticus*, popularmente conhecidos como Tilápia.

As amostras embaladas foram adquiridas inteiras, mantidas dentro da própria embalagem como recomenda a RDC nº12 de janeiro de 2001, acondicionadas dentro de uma caixa isotérmica com gelo eutético e transportadas até a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). Para realização das análises microbiológicas, parasitológicas e físico-químicas as amostras foram levadas até o Laboratório de Pesquisa em Ciência da Saúde (LPCS) da UFGD.

Para as análises microbiológicas utilizou-se Metodologia Padronizada conforme apresentado no [3]. A qualidade microbiológica foi avaliada pela análise da presença/ausência de *Salmonella* spp. enumeração de coliformes a 45°C e *Escherichia coli*, quantificação de *Staphylococcus* spp., contagem padrão de mesófilos e

e alertar sobre possíveis riscos a saúde pública.

psicotróficos aeróbios, de acordo com as recomendações da Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003). Como controle uma placa aberta contendo Ágar Mueller Hinton era mantida sobre a bancada durante todo o experimento e depois levada para estufa a 37° por 24 horas para análise da pureza do ambiente.

Nas análises parasitológicas, foram realizados cortes finos, e através de uma inspeção macroscópica com auxílio de lupa manual os filés foram analisados [25]. As estruturas com morfologia combinante com formas parasitárias foram analisadas em microscópio óptico e/ou lupa para esclarecimento [24].

Para as análises de Composição proximal utilizou-se a [4,19]. A temperatura do peixe foi aferida após coleta das amostras utilizando o Digital Thermometer, introduzido na musculatura do pescado e a temperatura externa com termômetro infravermelho mira laser. Para a determinação do pH (potencial hidrogeniônico) devidamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0, foi utilizado o equipamento da marca Hannainstruments®, pH/temperature meter.

Foi feito um tratamento dos resultados obtidos com o método estatístico PCA (Análise das Componentes Principais).

3.0 Resultados e Discussão

Na coleta das amostras houve uma dificuldade significativa quanto a padronização das repetições com relação a marcas e aos locais de comercialização, seguindo assim a disponibilidade de oferta do produto para o mercado consumidor que se baseia em

sazonalidade e valores de comercialização. Após a análises dos dados de *Salmonella sp* as amostras foram classificadas em conforme e não conforme segundo a legislação brasileira, RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 (Tabela 1).

Tabela 1: Resultados das análises de três repetições obtidas da média e desvio padrão de triplicatas de Coliformes a 45°C (C – 45°), *Staphylococcus coagulase* (+) (S.C), Contagem Padrão de Mesófilos e Psicotróficos Aeróbios (C.P.M e P), Presença/Ausência de *Salmonella sp* (S) e confirmação de *Escherichia coli* (E.C) em 25g de amostra de filés de tilápia (*Oreochromis niloticus*), adquiridas em estabelecimentos de Dourados – MS, marcas (A, B, C) conforme RDC nº 12 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Repetições das marcas		S*	E.C *	C - 45°	S.C	C.P.M	C.P. P
1	A	---	-+-	4,4 ± 3,6	3,1 ± 1,1	4 ± 2,4	3,6 ± 3,7
	B	---	++-	4,7 ± 1,1	3,6 ± 0,1	3,7 ± 0,9	3,8 ± 0,4
	C	---	+++	5,9 ± 0,1	2,7 ± 1,1	3,9 ± 1,7	3,9 ± 1,1
2	A	---+	+++	5,4 ± 1,1	2,7 ± 1,5	4 ± 1,7	3,5 ± 1,5
	B	---	-++	6,6 ± 3,7	3,5 ± 0,3	3,3 ± 3	3,6 ± 3,
	C	-++	-++	4,7 ± 1,5	2,9 ± 3,3	5,7 ± 3,2	5,2 ± 3,8
3	A	+++	-++	5,8 ± 0,1	3,2 ± 1,0	6 ± 0,5	4,8 ± 1,6
	B	-+-	+++	5,4 ± 2,1	3,0 ± 1,5	2,8 ± 1,4	3,6 ± 1,1
	C	+++	+++	6,6 ± 0,5	3,2 ± 0,8	5,0 ± 0,2	5,0 ± 0,7

* Valores expressos – ausência, + presença obtidas em três amostras por locais de comercialização.

Tabela 2. Resultados das Contagens de Coliformes a 45° (C – 45°), Contagem Padrão de Mesófilos e Psicotróficos Aeróbios (C.P.M e P) e S. coagulase (+) (S.C), das marcas A, B, C em amostras de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializadas no município de Dourados – MS.

	A	B	C	EPM	P
C – 45°	5,1333	5,6033	5,9722	0,2684	NS
C.P.M.	4,7277A	3,2444B	5,3388A	0,2705	0,01254
C.P.P	4,2555AB	3,2611B	4,9778	0,2638	0,04435
S.C	4,0111	3,3277	4,1556	0,2701	NS

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. (EPM = Erro Padrão da Média P <0.05).

Observa-se na tabela 1 que as três marcas analisadas, não apresentaram predominância da ocorrência de *Salmonella sp*, comprovando que a

presença desta espécie de bactéria patogênica depende das condições de manuseio higiênico do abate e/ou, das condições higiênico-sanitárias da

comercialização, tendo o fator temperatura como limitante do controle da multiplicação. Entretanto, a ocorrência foi observada nas repetições 2 e 3, mas como dito anteriormente, independe de um padrão de ocorrência. A confirmação da presença de *Salmonella sp* em 25g de amostra analisada, segue conforme indicação analítica da Resolução vigente [6].

A tabela 2 traz as médias dos resultados da análise microbiológica das marcas A,B e C, onde através do teste de Tukey 5%, ficou evidenciado a diferenciação dos resultados obtidos. Porém a presença de *Salmonella sp* em algumas repetições torna o alimento impróprio para comercialização.

Segundo [24] a presença de *Salmonella sp* em pescado pode estar relacionada com a contaminação cruzada, destacando águas poluídas, ou pelas mãos dos manipuladores assintomáticos infectados previamente com a bactéria, bem como por contato fezes de animais, insetos e ou aves.

Ao estudarem Enterobacteriaceae, [5] avaliaram *Salmonella sp* também em amostras de água de cultivo (n = 20), tegumento e trato gastrointestinal (n = 20) e filés frescos de tilápias (n = 20) coletados em um sistema de produção aquícola de água doce localizado em

Lavras, Minas Gerais, Brasil, porém não houve a presença de *Salmonella sp* nas amostras. Neste experimento, porém houve a confirmação de pelo menos 1 amostra dentro das 3 repetições realizadas. O mesmo ocorreu com [28], num estudo envolvendo a comercialização do mesmo alimento, avaliando 10 estabelecimentos e 30 amostras frescas e congeladas.

[17] estudando saladas e demais alimentos, detectou a presença de *salmonella sp* na salada de atum, incluindo a possibilidade de ocorrência do microrganismo no pescado avaliado, mas também podendo ter como fonte de contaminação a manipulação durante a elaboração do alimento, assim descreve que a fonte de contaminação do microrganismo deve-se não somente pela contaminação da matéria prima, mas também da contaminação cruzada que ocorre durante a elaboração dos pratos. O autor destaca que independente da fonte de contaminação, a simples confirmação do microrganismo classifica-o como impróprio para o consumo em amostra indicativa, avaliada de 25 gramas. Os autores avaliaram também a resistência do micro-organismo aos agentes antibióticos usados comumente em surtos envolvendo essa espécie

Salmonella spp, e encontrou resistência aos seguintes antibióticos, penicilina (69%), erythromycina (38%), gentamicina (36%), tetracyclina (36%) neomycina (33%), ampicillina (33%), amikacina (33%), vancomycina (33%), streptomycina (29%) cefotaxima (9%) and oxacilicina (9%). Além do alerta quanto à patogenicidade, os autores enfatizaram que surtos envolvendo a espécie podem ser de difícil tratamento devido à elevadas taxas de resistência aos medicamentos disponíveis, e realciona o risco do consumo dos peixes sem sofrerem cocção.

A [14] está cordenando ações e esforços internacionais além de ajudar os estados membros afim de uma detecção e respostas rápidas aos surtos de DTA através da rede de autoridades dos estados membros, para diminuir os impactos na saúde pública causado por microrganismos com resistência antimicrobiana, destacando a preocupação com a *Salmonella* sp [31].

As amostras de coliformes termotolerantes foram avaliadas com relação ao valor máximo permitido pela legislação vigente que é de 3 NMP/g (valor expresso em Log NMP/g). Os resultados desta pesquisa apresentaram todos os valores em inconformidade com o limite permitido pela legislação.

Este trabalho corrobora com [12] que em algumas de suas amostras analisadas apresentaram inconformidade com o padrão de coliformes termotolerantes segundo a RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 [9]. Dentre as possíveis causas desta contaminação estão à contaminação cruzada, falhas nas boas práticas de manipulação ou temperatura inadequada durante o transporte, processamento ou armazenamento no supermercado.

Os resultados obtidos para *Escherichia coli* mostram-se insatisfatório em todas as amostras quanto à qualidade microbiológica do alimento como mostra a tabela 1. Dentre os micro-organismos indicadores de contaminação fecal a maior representante é *Escherichia coli*, a presença da espécie indica que em alguma fase do processamento desse alimento (captura ou manipulação) as condições higiênicas estavam inadequadas com alto índice de contaminação bacteriana.

Diferente de [22] que ao analisar a microbiologia de filés comercializados em Dracena e região 100% das amostras analisadas para a presença de coliformes totais e termotolerantes estavam de acordo com o padrão estabelecido pela legislação e a ausência de *E. coli*, isso

indica uma manipulação correta no alimento além da aplicação de boas práticas de fabricação. A legislação não apresenta, muito menos estipula limites para *Escherichia coli* em alimentos, esta análise está diretamente relacionada a indicação de contaminação de origem fecal e à qualidade higiênica.

Segundo [1] há muito tempo a *Escherichia coli* vem sendo associada a DTA e surtos em todo o mundo, isso representa um risco à segurança alimentar mundial e à saúde pública. *E. coli* comumente associadas a doença entre diferentes faixas etárias e localizações geográficas incluem enteropatogênica (EPEC), enterotoxigênica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EAEC), difusamente aderente (DAEC) e enteroinvasivos (EIEC).

A forma de desenvolvimento da microbiota contaminante se dá sob a superfície do alimento, logo, a abundância de indivíduos ali presente se torna significativa e com isso a capacidade de contaminação só aumenta paralelamente ao desenvolvimento microbiano. Bactérias quando organizadas em estruturas de biofilmes apresentam uma capacidade

significativa de resistência antimicrobiana.

Em pesquisa sobre Biofilmes de uma e várias espécies por *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp isolado de peixe cru e uma unidade de processamento de peixe [13] mostrou que *E. coli* apresentaram a melhor capacidade de formação de biofilme isolada dos alimentos podendo ser uma grande fonte de contaminação, isso mostra que fato da mesma não se adaptar ao ambiente de superfície não significa que elas não possam formar biofilmes rapidamente, com este resultado fica evidenciado a importância das práticas de higiene.

O valor limite estabelecido pela legislação vigente é de 2,7 UFC/g (valor expresso em log) para pescado refrigerado ou congelado para *Staphylococcus* coagulase positiva [8]. Das amostras avaliadas para a quantificação de *Staphylococcus* coagulase negativa sete médias apresentaram valores superiores ao padrão estabelecido por legislação. A legislação [6] classifica apenas para *Staphylococcus* coagulase positiva como patogênico, porém sabe-se que *Staphylococcus* coagulase negativa também é patogênico e o mesmo não será negligenciado neste trabalho.

Segundo [24] a contaminação por *Staphylococcus* coagulase negativa pode ser oriunda do local onde o produto é comercializado, falha na manipulação e/ou estocagem incorreta e/ou contaminação cruzada, visto que esta bactéria habita com frequência a nasofaringe do ser humano. Segundo a legislação a enumeração de estafilococos coagulase positiva tem por objetivo substituir a determinação de *Staphylococcus*. A determinação da capacidade de produção de termonuclease e quando necessária à de toxina estafilocócica das cepas isoladas podem ser realizadas a fim de se obter dados de interesse à saúde pública [7].

O *Staphylococcus* é um dos gêneros mais pesquisados na microbiologia alimentar, a intoxicação alimentar estafilocócica, gastroenterite com emese, muitas vezes acompanhada de diarreia, com curto período de incubação (de 2 a 4 hrs), decorrente da ingestão de enterotoxinas pré-formadas, nem todas espécies sintetizam as enterotoxinas, porém sabe-se que a maioria é secretora [10].

Patogênicos resistentes a antimicrobianos tornou-se um grande problema mundial. Dentre os fatores que justificam o mecanismo de resistência estão as mudanças na permeabilidade da

parede e modificações enzimáticas do fármaco ou remoção de antimicrobianos dependente de energia via bombas de efluxo ligadas à membrana, em pesquisa sobre a resistência antimicrobiana do *Staphylococcus* o mesmo se apresentou resistência ou alta resistência a uma grande variedade de antibióticos tornando mais difícil a erradicação e aumentando a incidência. *Staphylococcus* é atualmente classificado com o terceiro agente causador de DTA na atualidade por consumo de peixe ou seus derivados [23].

Intoxicação alimentar estafilocócica apresenta seus sintomas duas horas depois do consumo do alimento contaminado. Acredita-se que o número de casos registrado de intoxicação causada pelo *Staphylococcus* seja muito maior do que a quantidade de registrado, visto que muitos casos são descritos erroneamente. A ingestão de enterotoxinas estafilocócicas (SEs) pré-formadas no alimento por espécies patogênicas envolve um risco significativo a saúde [26].

A presença de *Staphylococcus* em peixe indica que em alguma fase pós-abate houve uma contaminação decorrente da ausência de boas práticas de fabricação, *Staphylococcus* não faz

parte da microbiota natural do peixe, com isso sua presença sempre estará fora dos padrões. Dentre as toxinas produzidas pelo Gênero *Staphylococcus* estão as enterotoxinas, toxina da síndrome do choque tóxico, toxinas esfoliativas e leucocidina de Panton-Valentine [30].

Análises de Mesófilos e Psicotróficos consistem numa enumeração total da microbiota presente na amostra estudada, não tem como objetivo identificar espécie. Os valores encontrados abaixo trazem uma visão geral da microbiota presente nas amostras analisadas. Com a atualização da Portaria N° 185 de 97, para RDC n° 12 de 2001 a análise de mesófilos e psicotróficos deixaram de ser obrigatórias, substituídas por análises de micro-organismos patogênicos.

Segundo [28] a legislação brasileira não estabelece limites máximos toleráveis para esse grupo de micro-organismos, porém foram utilizados os valores estabelecidos pela [18].

Existe uma microbiota específica que resiste a baixas temperaturas e são capazes de se multiplicar nesta condição, as baixas temperaturas retardam, mas não eliminam determinados micro-organismos. Análise de psicotróficos foi

feita levando em consideração o fato de o alimento estudado ser mantido em refrigeração/congelamento durante a etapa de comercialização, temperaturas estas em que este grupo de micro-organismos apresentam alta taxa metabólica e reprodutiva.

A análise parasitológica não apresentou nenhuma estrutura característica de parasito nas amostras analisadas. Com isso do âmbito parasitológico os filés analisados são considerados próprios para consumo, de acordo com a legislação vigente, que traz como impróprio para consumo o pescado portador de lesões ou doenças microbianas que apresente infestação muscular maciça por parasitos que possam prejudicar ou não a saúde do consumidor, entre outras especificações [7].

A grande maioria dos resultados obtidos nas pesquisas sobre físico-química de carne de pescado traz como base a comparação dos valores baseados na diversidade, variedade e comparação com relação a alimentação fornecida aos peixes, dieta na forma de ração. Comparar composição proximal da carne de peixe sem relacionar a dieta fornecida ao animal torna-a desnecessária neste contexto.

Neste estudo da análise proximal teve como finalidade analisar os valores nutricionais com a justificativa de que estes são fatores que influenciam diretamente no desenvolvimento microbiológico, ou seja, são condições ideais para uma contaminação microbiológica do alimento.

Segundo [15] a variação em qualquer um dos parâmetros pode ocorrer de acordo com a fase fisiológica, hábito alimentar, época do ano e também sobre alimentos que são disponibilizados para esses animais.

Quanto os resultados de proteínas observam-se que os valores estão bem próximos aos valores da

literatura apresentados por [11] onde relata que os valores de sua pesquisa quanto a médias de proteína ficaram entre 18,83 e 20,63%.

Os valores de lipídios variaram de 16,0% a 13,92% resultado próximo ao encontrado por [29] que encontrou para Tilápia o valor de 13,60% de lipídios.

Quanto aos valores de cinza, os mesmos apresentaram uma variação na média de 0,96% a 0,99% [2] ao pesquisar a composição centesimal de Tambaqui *Colossoma macropomum* encontrou valores de cinzas próximo a este estudo 0,95%. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Média e desvio-padrão das triplicatas dos resultados das análises de Composição Proximal de amostras de filé de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) das marcas A,B, C em amostras de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializadas no município de Dourados – MS.

	A	B	C	média	Erro padrão	P>F
Cinzas	0,96a	0,97a	0,99a	0,97	0,0089	0,0013
Proteína	18,98a	15,98b	18,46a	18,00	0,4377	0,0132
Umidade	76,01a	77,43a	78,02a	77,32	0,6370	0,2280
Lipídeos	1,60a	1,39a	1,31a	1,41	0,5650	0,1680

*Composição bromatológica (g/100g) do filé de pescado de acordo com as marcas comerciais/As médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O limite de pH estabelecido pela legislação vigente para aceitação do pescado para consumo humano é de no máximo 7,0 [9]. As amostras analisadas apresentaram valores considerados próximos aos resultados trazidos pelas literaturas buscadas. Com os valores de

temperatura aferidas neste trabalho foram consideradas frescas e refrigeradas. São considerados frescos aqueles pescados que não sofreram qualquer processo de conservação, ou somente o uso de gelo, refrigerado é aquele pescado que é acondicionado em

gelo e mantido a temperaturas compreendidas entre -0,2 e -0,5 °C é por fim o pescado congelado é tratado por

processos de congelamento em temperatura não superior a -25°C [8]. Os resultados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Média e desvio-padrão das triplicatas dos resultados das análises de pH, temperatura interna (T.I) e temperatura externa (T.E) das marcas A,B, C em amostras de filés de Tilápia *Oreochromis niloticus* comercializadas no município de Dourados – MS.

	A	B	C	EPM	P
pH	6,55	6,28	6,37	0,0570	0,1325
T.I	-2,90b	-1,11a	-2,12ab	0,3031	0,0473
T.E	3,22a	4,08a	1,61b	0,3337	0,0436

*letras minúsculas na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.0 Conclusão

As amostras analisadas de filés de Tilápia comercializadas em estabelecimentos no município de Dourados/MS foram consideradas impróprias para o consumo quanto a

qualidade microbiológica, pois em pelo menos um dos fatores exigidos apresentou inconformidade com os padrões estabelecidos pela legislação vigente.

5.0 Referências

AIJUKAA, M.; SANTIAGO, A.E.; GIRÓN, J.A.; NATAROB, J.P.; BUYS, E.M. **Enteroaggregative Escherichia coli is the predominant diarrheagenic E. coli pathotype among irrigation water and food sources in South Africa.** Editora Elsevier. International Journal of Food Microbiology. p. 44-51. Amsterdã – Holamda, 2018.

AMARAL, N.P.F. **Análise Centesimal de Filé de Tambabaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1816).** Monografia - apresentada - Graduação em Farmácia - Faculdade de Educação e

Meio Ambiente, FAEMA. Ariquemes – RO, 2013.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** Washington, 2001.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of analysis** of AOAC International. 18. ed. Washington: AOAC, 2005.

BOARI, C.A.; PEREIRA, G.I.; VALERIANO, C.; SILVA, B.C.;

MORAIS, V.M.; FIGUEIREDO, H.C.P.; PICCOLI, R.H. **Ecologia bacteriana de filés frescos de tilápia e de pontos capazes de influenciar a sua qualidade microbiológica.** Revista ciência e tecnologia de alimentos. n° 28 v.4 p. 863-867. Campinas – SP, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC n° 12 de 2 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, 2001.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília – DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n.1255 de 25 de junho de 1962. **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal.** Brasília – DF, 1962.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n°. 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília - DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria N° 185 de 13/05/97. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (inteiro e eviscerado).** Diário Oficial da União, Brasília - DF, 1997.

CASTRO, A.; MEIRELES, C.S.; SILVA, H.J.; TEIXEIRA, P. **Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community.** Science Direct. Editora Elsevier. Journal of Infection and Public Health. p 153-160. Amesterdã – Holamda, 2016.

CORRÊA, F.C.; SANTOS, L.P.; SILVA, F.E.R.; BARBOSA, I.C.C.; SANTA ROSA, R.M.S. **Avaliação físico-química e composição centesimal de filés de peixe comercializados em Belém do Pará, Brasil.** Scientia. Plena v.12, n°12. Sergipe – SE, 2016.

FERREIRA, C.C.; GREGÓRIO, E.L.; COSTA, J.D.; PAULA, R.B.O.; NETA, H.A.G.A.; FONTES, M.D. **Análise de coliformes termotolerantes e *Salmonella* sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte-MG.** HU Revista. v.42, n.4, p.307-313. Juiz de Fora – MG, 2016.

FROZI, J.B.; ESPER, L.M.R.; FRANCO, R.M. **Single- and Multispecies Biofilms by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. Isolated from Raw Fish and a Fish Processing Unit.** Revista Ciência Rural, v.47, n°10, Santa Maria – RS, 2017.

Global Meat News.com [FAO passa a regra das salmonelas para criar padrões globais de carne.](https://www.globalmeatnews.com/Article/2016/07/07/FAO-passes-salmonella-rule-to-create-global-meat-standards, 2016) Matéria disponível em: [https://www.globalmeatnews.com/Article/2016/07/07/FAO-passes-salmonella-rule-to-create-global-meat-standards, 2016.](https://www.globalmeatnews.com/Article/2016/07/07/FAO-passes-salmonella-rule-to-create-global-meat-standards, 2016)

GOES, E.S.R.; FEIDEN, A.; NEU, D.H.; GOES, M.D.; BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A. **Rendimentos do Processamento e Composição Centesimal de Filés de Jundiá *Rhamdia voulezi*.** Revista Ciência Animal Brasileira. v.16, n.4, p. 481-490. Goiânia – GO, 2015.

GONÇALVES, R.M.; MONTANHER, P.F.; CARBONERA, F.; PETENUCCI, M.E.; SILVEIRA, R.S.; VISENTAINER, J.V. **Quantification of**

fatty acids in salmon fillets conserved by diferente methods. Acta Scientiarum. v.39, n.4, p.403-407. Maringa – PR, 2017.

GURLER, Z.; PAMUK, S.; YILDIRIM, Y.; ERTAS, N. **The microbiological quality of ready-to-eat salads in Turkey: A focus on Salmonella spp. and Listeria monocytogenes.** Editora Elsevier. Revista Internacional de Microbiologia de Alimentos p. 79-83. Amesterdã – Holamda, 2015.

International Comission Microbiological Specications for Foods. (ICMSF). Disponível em < <http://www.icmsf.org/>> acesso em 04/10/2018.

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4 edição. p 1020. 1º edição digital. São Paulo – SP, 2008.

KULIALA, L.; HAGE, Y.A.; IOANNIDIS, A.G.; SADER, M.; KERCKHOF, F.M.; VANDERROOST, M.; BOON, M.; BAETS, B.; MEULENAER, B.; RAGAERT, P.; DEVLIEGHERE, F. **Microbiological, chemical and sensory spoilage analysis of raw Atlantic cod (Gadus morhua) stored under modified atmospheres.** Editora Elsevier. Microbiologia de Alimentos. p. 232-244. Amesterdã – Holamda, 2018.

MANGAS, F.P.; REBELLO, F.K.; SANTOS, M.A.S.; MARTINS, C.M. **Caracterização do perfil dos consumidores de peixes no município de Belém, Estado do Pará, Brasil.** Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, v.9, n. 4, p. 839-857. Belém – PR. 2016.

MIGUEL, J.S.C.; FERREIRA, H.M.; MIGUEL, B.G.C TARDIVO, R.; RODRIGUES, J.M.; POIATTI, M.L. **Características Microbiológicas e**

Físico-Químicas de Pescados Comercializados em Dracena E Região. Revista Colloquium Agrariae. vol. 13, n. Especial, p. 216-221. Presidente Prudente – SP, 2017.

ONMAZ, N.E.; ABAY, S.; KARADAL, F.; HIZLISOY, H.; TELLI, N.; SERHAT, A. **Occurence and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus and Salmonella spp. in retail fish samples in Turkey.** Editora Elsevier. Marine Pollution Bulletin. p 242–246. Amesterdã – Holamda, 2015.

RESPLANDES, E. E. V.; SOCOLOSKI, S. N. G.; KEMPER, R. T.; MOREIRA, P. S. A. ANJOS, T. R.; FORTUNA, J. L. F.; VIEIRA T. B. **Microbiological and parasitological quality of “Panga fish” (Pangasius spp.)** Scientific Electronic Archives. Vol. 10 (6). 2017.

RODRIGUES, L.C.; SANTOS, A.C.G.; FERREIRA, E.M.; TEÓFILOS, T.S.; PEREIRA, D.M.; COSTA, F.N. **Parasitologic aspects of traíra (Hoplias malabaricus) from the São Bento city, MA.** Revista Brasileira de Medicina Veterinária e Zootecnia v.69, n.1, p.264-268, São Luiz – MA, 2017.

SÁNCHEZ, D.V.; CABO, M.L.; IBUSQUIZA, P.S.; HERRERA, J.JR. **Incidence and characterization of Staphylococcus aureus in fishery products marketed in Galicia (Northwest Spain).** Editora Elsevier. International Journal of Food Microbiology. p 286–296. Amesterdã – Holamda, 2012.

SHIOSI, R.K.; TOSIN, J.P.; ANTONUCCI, A.M. **Atuação do médico veterinário na piscicultura brasileira – revisão de literatura.** Revista científica de medicina veterinária. Relato de Caso. Garça – SP, 2017.

SILVA, R.X.; ABRANTES, M.R.; NASCIMENTO, J.P.A.; PINHEIRO, C.G.M.E.; FILGUEIRA, C.L.P.; SILVA, J.B.A. **Qualidade higiênico-sanitária da Tilápia (*Oreochromis spp.*) fresca e congelada em mercados públicos.** Revista de Ciência Animal brasileira, v.17, n.4, p. 574-580, Goiânia - GO, 2016.

SIMÕES, M.R.; RIBEIRO, A.; FÁTIMA, C.; CONCEIÇÃO, S.; JIN, P.K.; ELIZABETH, X.M.F. **Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*).** Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.27, n.3 pp. 608-613, Campinas – SP, 2007.

SONG, M.; BAI, Y.; XU, J.; CARTER, M.Q.; SHI, C.; SHI, X. **Genetic diversity and virulence potential of *Staphylococcus aureus* isolates from raw and processed food commodities in Shanghai.** Editora Elsevier. International Journal of Food Microbiology. p 1–8. Amesterdã – Holamda, 2015.

WHO, World Health Organization. **Salmonella (não tifoide).** Matéria disponível em: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-%28non-typhoidal%29>, 2018.

Capítulo II

Uso da Técnica de Espectroscopia de UV-vis e de Fluorescência para *Salmonella* sp isoladas e identificadas de origem hospitalar.

Use of UV-vis spectroscopy and Fluorescence for analysis of *Salmonella* sp isolated and identified from hospital origin.

Maria Joyce dos Santos Silva¹
Kelly Cristina da Silva Brabes²

¹ Faculdade de Ciência Exatas e Tecnologia, Universidade Federal da Grande Dourados, MS, Brasil.

² Faculdade de Engenharia, Universidade Federal da Grande Dourados, MS, Brasil.

Resumo

A busca por metodologias mais rápidas, econômicas e de alta especialidade tem feito pesquisadores buscar na fluorescência uma hipótese. Este trabalho teve como objetivo encontrar na espectroscopia de fluorescência uma metodologia alternativa de análise rápida na identificação de espécies patogênicas. Os resultados partiram de uma diluição exata encontrada através da Escala de Mac Farland. E por fim as análises de Espectroscopia de UV-Vis e de Fluorescência. Os resultados obtidos na Espectroscopia de Fluorescência e Espectroscopia de UV-vis demonstram uma proximidade dos valores das modulações dentre as espécies de *Salmonella* sp nos 20 ensaios com 2 amostras cada analisadas. O comprimento utilizado foi o de 280 nm. Para o tratamento dos resultados obtidos utilizou-se o método estatístico PCA (Análise das Componentes Principais).

Palavras-chave: Espectroscopia de Fluorescência; Espectroscopia de UV-Vis; Identificação Bacteriana; Método rápido;

Summary

The search for faster, economical and high specialty methodologies has made researchers seek fluorescence a hypothesis. This work aimed to find in the fluorescence spectroscopy an alternative methodology of rapid analysis in the identification of pathogenic species. The results were based on an exact dilution found through the Mac Farland Scale. And finally the analyzes of UV-Vis Spectroscopy and Fluorescence. The results obtained in Fluorescence Spectroscopy and UV-Vis Spectroscopy show a proximity of the modulation values among the species of *Salmonella* sp in the 20 trials with 2 samples each analyzed. The length used was 280 nm. For the treatment of the obtained results the statistical method PCA (Principal Components Analysis) was used.

Keywords: Fluorescence Spectroscopy; UV-Vis spectroscopy; Bacterial Identification; Fast method;

1.0 Introdução

O peixe e seus produtos oriundos são compostos de proteínas, gorduras e água. A segurança e qualidade do produto final são influenciadas por processos diretamente ligados ao tempo, temperatura e formas de armazenamento. Mudanças no sabor, cor, suculência e propriedades bioquímicas são fatores importantíssimos que comprometem a avaliação sensorial do consumidor quanto à qualidade e aceitação do produto [5].

As buscas por novas metodologias de processamento de imagens resultam em grandes aplicações nos aspectos da tecnologia e da ciência. O processamento dessas imagens são ferramentas de recursos específicos que podem ser usados para fins de classificação e de identificação de espécies rapidamente e sem custo [19].

Na atualidade existem várias técnicas e tipos de espectroscopia, cada uma com suas compatibilidades em aplicações e amostras específicas. Processos espectroscópicos são basicamente a incidência de feixes de ondas eletromagnéticas variando a frequência sobre a amostra em análise, que absorvem a energia em alguns

comprimentos de ondas específicos, caracterizando pelo espectro de transmissão e absorção gerada por ela [11,8].

Há diferentes formas de se avaliar a qualidade dos alimentos e envolvem em sua metodologia, conceitos em física, identificação bioquímica, sensoriais, químicas e microbiológicas, no entanto estas são técnicas caras, muitas vezes demoradas e desgastantes. Métodos alternativos envolvendo diferentes tecnologias estão em constante desenvolvimento. Técnicas envolvendo Espectroscopia de Fluorescência estão em constante aprimoramento e com aplicabilidade na identificação e na enumeração de espécies microbianas nas mais diversas amostras, e com alta correlação estatísticas com técnicas convencionais como as Bioquímicas e principalmente as Moleculares, destacando ainda como justificativa o tempo rápido de resposta e por não serem invasivas, além de não afetar ou destruir as amostras. Historicamente as técnicas podem incluir desde as Microscopias [14], ATP Bioluminescência [4] ou alguns métodos de detecção, incluindo Técnicas Imunológicas e Técnicas Moleculares (ELISA, PCR, etc.) [8].

Segundo [1] desde a captura até a comercialização, a carne de peixe é exposta a uma série de fatores que comprometem a sua integridade como alimento. Para garantir a manutenção da qualidade é essencial um monitoramento rigoroso durante todos os processos. Contudo para a manutenção da segurança e de boa qualidade na produção e comercialização do pescado e seus derivados é necessário o desenvolvimento de novas técnicas de inspeção e avaliação da sua qualidade [5].

Análises microbiológicas são muito importantes na avaliação da qualidade dos alimentos, ela fornece informação espectral relevante para os atributos microbianos, a tecnologia espectroscópica foi introduzida e aplicada para avaliar a qualidade microbiológica de produtos alimentícios de maneira rápida, não invasiva e não destrutiva. Analisando diferentes dados espectrais, alguns importantes indicadores de qualidade microbiana podem ser potencialmente avaliados e quantificados. Embora a tecnologia de espectroscopia mostre seu potencial, alguns desafios em termos de calibração de modelos pré-processamento de espectros e desenvolvimento de

instrumentos ainda são necessários para serem enfrentados. Com isso fica evidenciado que mais trabalhos ainda são necessários para melhorar a estabilidade e adequação da espectroscopia antes da implementação na indústria de alimentos [7].

A bactéria *Salmonella* sp., é titulada atualmente como principal agente de doenças de origem alimentar em várias partes do mundo, inclusive no Brasil [12]. Pertencente à família Enterobacteriaceae (Filo Proteobacteria, Ordem Proteobacteriales), agente gram negativo, produtor de sulfeto de hidrogênio (H₂S), anaeróbico facultativo, não fermentador de lactose e apresenta mobilidade pela presença de flagelos e fímbrias. Encontrado em grande amplitude (solo, água, alimentos, carne, vísceras de animais e matéria vegetal) [6]. Classificada também como uma bactéria entérica, sua presença em alimentos é um relevante problema de saúde pública. É de extrema importância ressaltar que a maioria dos sorotipos desse gênero são patogênicos ao homem, apresentando diferenças de sintomatologia decorrentes da variação no mecanismo de patogenicidade, além da idade e da resposta imune do hospedeiro [18].

2.0 Metodologia

As amostras de *Salmonella ssp* foram obtidas do Hospital Universitário da Grande Dourados oriunda de pacientes da região com sintomas de vômitos e diarreias. Após o isolamento e

2.1 Preparo da amostra

As Bactérias isoladas foram suspendidas em caldo BHI dupla concentração em uma temperatura de 37°C por 24 horas. Depois retirou-se 1 ml do caldo com crescimento (turvação) e pela técnica de espalhamento em superfície (spread-plate) espalhadas em placas com o meio Agar Salmonela

2

2.2 Análises Espectroscópicas: Fluorescência e Absorção UV-Vis [16].

As análises espectroscópicas de fluorescência e absorção no UV-Vis foram realizadas em ambiente refrigerado, com um tempo de no máximo 2 horas após a obtenção das colônias.

Para a análise espectroscópica de absorção no UV-Vis foi utilizado o

confirmação do gênero, alguns exemplares foram levados para o Laboratório de Pesquisa em Ciências da Saúde (LPCS), localizado na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) campus II, para análises moleculares/microbiológicas.

Shiguela em uma temperatura de 37°C por 24 horas [3].

Para coletar as colônias formadas, foi pipetado 1 ml de água ultra-pura (Mili-Q) e com uma pipeta uma amostra inicial foi coletada (UFC + Água Mili-Q). Utilizou-se a escala de Mac Farland como parâmetro para analisar os níveis de turvação da amostra inicial, utilizou-se a menor diluição da escala ($0,5 \times 10^8$).

espectrofotômetro Cary 50 (Varian). A análise compreendeu a região espectral entre 200 a 1000 nm. As amostras foram medidas utilizando uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico de 4 fases polidas. Utilizou-se a água ultra-pura (Mili Q) como controle (branco).

Foi utilizado o Espectrofluorímetro Cary Eclipse (Varian) para obtenção dos espectros de fluorescência. O espectrofluorímetro é

composto por uma fonte de excitação uma lâmpada pulsada de xenônio (80 Hz), e potência de pico equivalente a 75 kW, dois monocromadores, um para a seleção do comprimento de onda de excitação e outro para a seleção do comprimento de onda emitido pela amostra.

A detecção da radiação emitida é realizada por um tubo fotomultiplicador (R928). Para a realização de todas as medidas utilizou-se uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico de

4 faces polidas. Após as análises de absorção no UV-Vis a amostra foi analisada no espectrofotômetro de fluorescência. A excitação para *Salmonella ssp.*, foi no comprimento de onda de 280 nm.

A abertura da fenda de excitação e emissão para a passagem de radiação eletromagnética foi ajustada em 10/10 nm respectivamente, e os filtros de excitação/emissão foram no aberto/aberto. Utilizou-se a água ultra-pura (Mili Q) como branco.

3.0 Resultados e Discussão

Foram realizados 20 ensaios com 2 amostras de Bactérias do Gênero *Salmonella ssp.* A primeira análise foi realizada na Espectroscópic de Absorção UV-Vis, na busca por uma

determinada faixa de comprimento de onda na qual houvesse a formação de bandas (resposta) da amostra analisada quando comparada com o controle (branco). Conforme o gráfico 1.

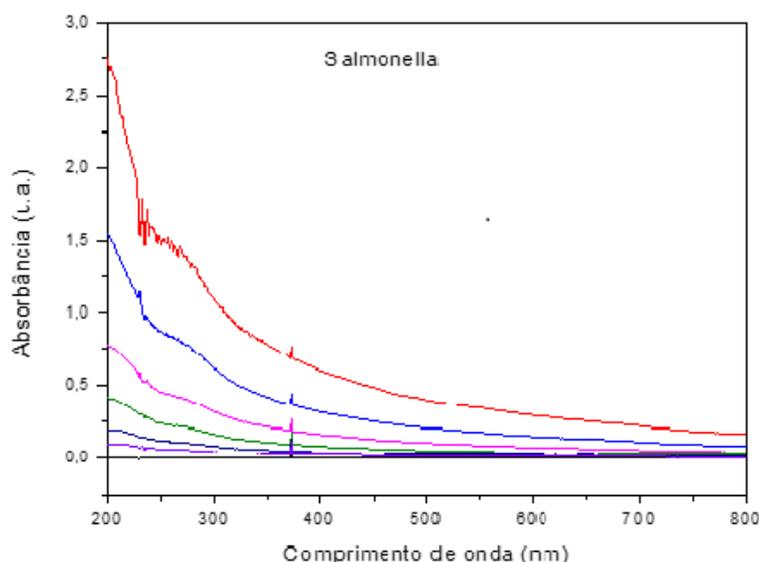


Gráfico 1: Diferentes diluições da amostra inicial *Salmonella sp* (Isolada) + Água Milli-Q e o Branco (Água Milli-Q extra pura) analisados na Espectroscópic de Absorção UV-Vis.

Os resultados obtidos na análise de Espectroscopia de Absorção UV-Vis foram significativamente úteis, pois o reconhecimento de semelhanças e diferenças nos comprimentos de ondas das bactérias analisadas, bem como a confirmação da água ultra-pura (Mili Q) como branco (controle).

Quando a região espectral usada é a do UV-Vis são necessários componentes óticos de quartzo e detectores altamente sensíveis capazes de detectar radiações nessa extensa faixa espectral em que atua o instrumento. Os espectrofotômetros, em geral, contêm cinco componentes principais: fontes de radiação, monocromador, recipientes para conter as soluções, detectores e indicadores de sinal. A absorção da radiação nas regiões visível e ultravioleta depende, em primeiro lugar, do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Como consequência, o pico de absorção pode ser correlacionado com o tipo de ligação que existe na espécie que está sendo estudada. Espectrofotômetros são instrumentos com capacidade de registrar dados de absorbância ou transmitância em função do

comprimento de onda, chamados de espectro de absorção ou espectro de transmissão, se o dado registrado for de absorbância ou transmitância, respectivamente [15].

Segundo [5] técnicas espectroscópicas foram desenvolvidas significativamente na última década, são técnicas consideradas não invasivas e não destrutivas, e tem sido amplamente utilizada em diversas análises de características e componentes do pescado que possam indicar qualidade e segurança. Pesquisas como estas tem como objetivo a busca por uma nova técnica com sensibilidade e rapidez.

Após a Espectroscopia de Absorção UV-Vis as amostras foram analisadas na Espectroscopia de Fluorescência no comprimento de onda de 280 nm por apresentarem as modulações entre os comprimentos de ondas 200 e 300 nm. Visando comparar os espectros de cada bactéria entre si e com o controle (branco). Foi feito um tratamento dos resultados obtidos com o método estatístico PCA (Análise das Componentes Principais), conforme os gráficos abaixo.

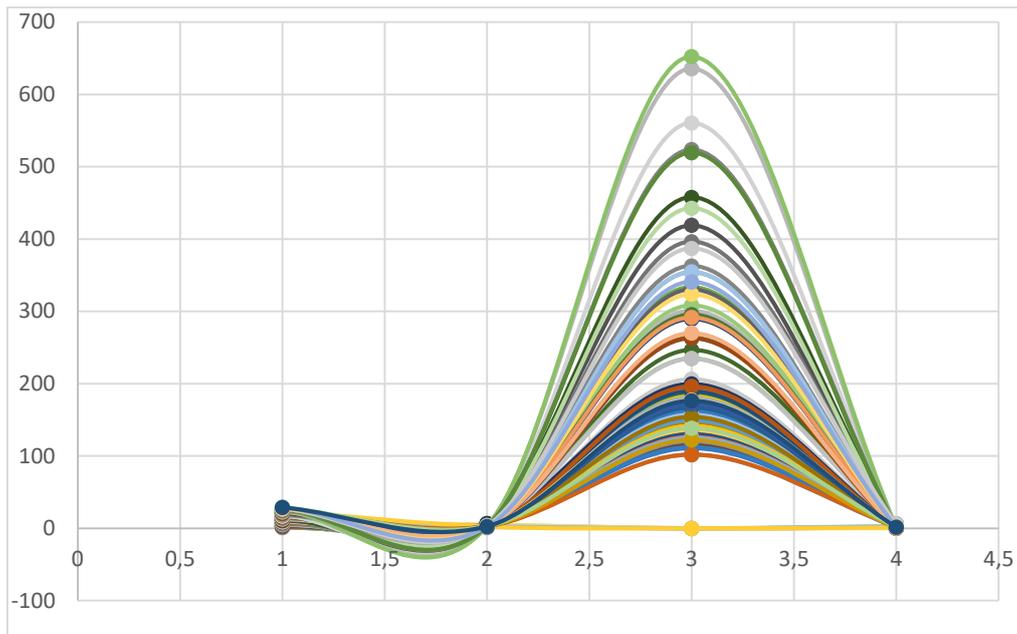


Gráfico 2: Tratamento dos resultados com o método estatístico (PCA) de amostras de *Salmonella sp.* analisadas pela técnica de Espectroscopia de Fluorescência. Valores abaixo da curva, indicando uma modulação semelhante em todas as amostras no momento máximo do pico.

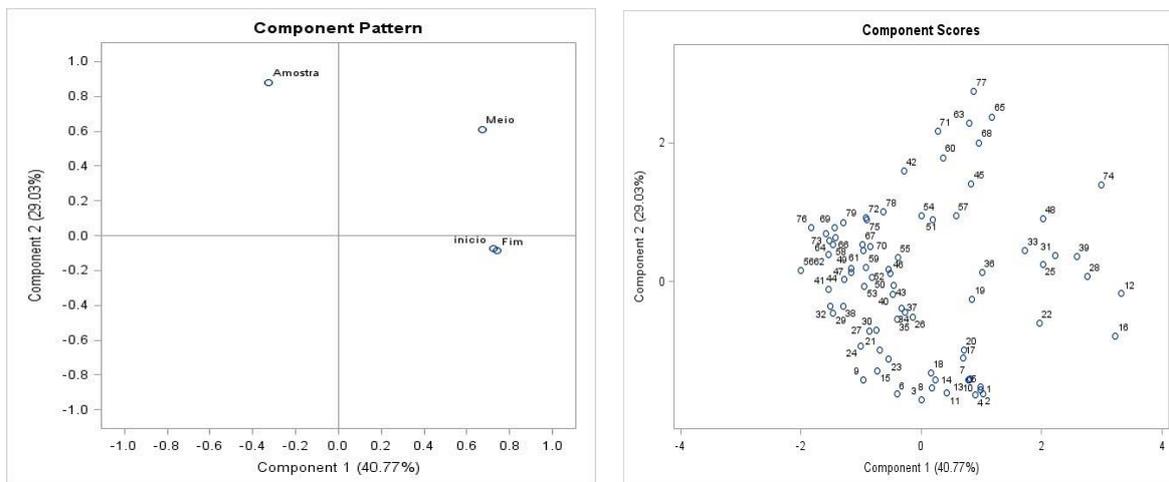


Gráfico 3: Tratamento dos resultados com o método estatístico (PCA) de amostras de *Salmonella sp.* analisadas pela técnica de Espectroscopia de Fluorescência: Os resultados mostram o pico do meio (pico máximo) das amostras estão próximos da linha de tendência, com uma confiabilidade de 70% confirmando. E o agrupamento dos valores de início de pico, pico máximo e pico final, além da área abaixo da curva evidenciando a semelhança das características das amostras analisadas.

Os resultados das análises de Espectroscopia de Fluorescência para identificação de *Salmonella ssp* demonstram uma proximidade dos valores das modulações dentre as espécies nos 20 ensaios com 2 amostras cada analisadas. O comprimento utilizado foi o de 280 nm. Para o tratamento dos resultados obtidos utilizou-se o método estatístico PCA (Análise das Componentes Principais). Estes resultados estão sendo pioneiros na possível utilização da Espectroscopia de Fluorescência como identificação de espécies patogênicas.

Essa proximidade nos valores obtidos possibilita a afirmação de que as bactérias analisadas apresentam características análogas. Porém ainda não se sabe o que ou quem exatamente expressa estes caracteres fluorescentes, Novas análises serão essenciais, buscando analisar diferentes espécies bem como maior número amostral afim de compará-las e buscar semelhanças e diferenças.

A Espectroscopia de Fluorescência tem demonstrado oferta direta, rápida, simples, de baixo custo e ferramenta confiável para a identificação de bactérias, a técnica foi aplicada com sucesso neste trabalho com uma espécie de bactéria associada ao alimento e o

tratamento estatístico provou a proximidade dos valores com base nas semelhanças das modulações.

A Espectroscopia de fluorescência tem sido significativamente explorada para estudos de estrutura, composição e característica molecular. Bactérias possuem moléculas que reagem e produzem energia. Os caracteres fluorescentes dessas moléculas apresentam comprimentos de onda, de excitação e emissão específicos tornando-os caminhos muito atraentes para detecção e caracterização biológica das amostras.

A enorme extensão dos bancos de dados espectrais, as altas correlações ocorrendo entre os comprimentos de onda e a similaridade de espectros bacterianos tornam muito difícil analisar dados. Um dos métodos quimiométricos que é aplicado em espectroscopia de fluorescência para análises de dados é a Análise de Componentes Principais (PCA). O PCA permite transformar o grande número de fatores potencialmente correlacionados em um número menor de fatores não correlacionados (isto é, componentes principais), e assim reduzindo o tamanho do conjunto de dados. Este tratamento multivariado permite traçar gráficos de

pontuação das amostras que representam os padrões espectrais [2].

Os dados desta pesquisa podem ser confrontados com os apresentados por Santos et al., 2008 que pesquisou sobre metodologia de identificação de cepas bacterianas por Espectroscopia de Fluorescência, o mesmo concluiu que trabalhos como este é o início de uma grande pesquisa no campo da análise

4.0 Conclusão

Os resultados obtidos na pesquisa em que utilizou as Técnicas de Espectroscopia de Fluorescência e a Espectroscopia de Absorção UV-Vis foram significativamente úteis, pois demonstram uma proximidade dos valores das modulações dentre as espécies de *Salmonella sp* nos 20 ensaios com 2 amostras cada analisadas. Estes resultados estão sendo pioneiros na possível utilização da Espectroscopia de

laboratorial através de espectroscopia de fluorescência [9].

[5] conclui que técnicas espectroscópicas foram desenvolvidas significativamente na última década, são técnicas consideradas não invasivas e não destrutivas, e tem sido amplamente utilizada em diversas análises de características e componentes do peixe que possam indicar qualidade e segurança.

Fluorescência como identificação de espécies patogênica.

A busca por uma metodologia alternativa de análise rápida na identificação de espécies patogênicas ficou evidenciada que a Espectroscopia é uma metodologia possível, os resultados iniciais mostram uma proximidade nos valores obtidos onde evidencia que as bactérias analisadas apresentam características análogas.

6.0 Referências

[1] ALVES, A.X.; DIAS, B.C.B.; SANTOS, J.C.M.; FONTES, V.B.; CORDEIRO, C.A.M. **Análise descritiva das condições Higiênico-Sanitárias na comercialização de pescados no município de Castanhal-Pará.** Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia CONTECC'2017. Belém – PA, 2017.

[2] AMMOR, S.; ARGYRI, A.; NYCHAS, G.J.E. **Rapid monitoring of the spoilage of minced beef stored under conventionally and active packaging conditions using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics.** Editora Elsevier. Meat Science. p. 507–514. Amesterdã – Holamda, 2007.

- [3] AMMOR, S.; YAAKOUBI, K.; CHEVALLIER, I.; DUFOUR, E. **Identification by fluorescence spectroscopy of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages.** Editora Elsevier. Journal of Microbiological Methods. p. 271– 281. Amesterdã – Holamda, 2004.
- [4] CHAMPIAT, D.; MATAS, N.; MONFORT, B.; FRAASS, H. **Applications of biochemiluminescence to HACCP.** Original Research. Luminescence. p. 193 – 198. France, 2001.
- [5] CHENG, J.H.; DAI, Q.; SUN, D.W.; ZEG, X.A.; LIU, D.; PU, H.B. **Applications of non-destructive spectroscopic techniques for fish quality and safety evaluation and inspection.** Trends in Food Science & Technology, 34 p18-31. Dublin- China, 2013.
- [6] GONÇALVES, G.A.M. **Diagnóstico para *Salmonella enterica* na clínica de aves de estimação.** Boletim técnico Abravas. Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens. Guarulhos - SP, 2016.
- [7] HONG JU HE.; DA WEN SUN. **Microbial evaluation of raw and processed food products by Visible/Infrared, Raman and Fluorescence spectroscopy.** Editora Elsevier. Trends in Food Science & Technology. p. 199-210. Amesterdã – Holamda, 2015.
- [8] KAROUI, R.; HASSOUNn, A.; ETHUIN, P. **Front face fluorescence spectroscopy enables rapid differentiation of fresh and frozen-thawed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) filets.** Journal of Food Engineering. p 89 e 98. Lens – França, 2017.
- [9] LEBLANC, L.; DUFOUR, R. **Monitoring the identity of bacteria using their intrinsic fluorescence.** Editora Elsevier. FEMS Microbiology Letters. p. 147-153. Amesterdã – Holamda, 2002.
- [10] LIN, M.; HOLY, M.A.; HESARY, M.M.; QADIRI, H.A.; CAVINATO, A.G.; RASCO, B.A. **Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage in chicken meat by diffuse reflectance spectroscopy (600–1100 nm).** Letters in Applied Microbiology. p. 148–155. Washington - 2004.
- [11] MERICI, T.A. **Metodologias de Identificação de Bactérias do Solo da Restinga de Massambaba, localizada no município de Arraial do Cabo/RJ, utilizando técnicas que atuam na região visível do espectro eletromagnético.** Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Engenharia Ambiental). Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Fluminense. Cabo Frio – Rio de Janeiro, 2014.
- [12] MORAES, A.R.; MIRANDA, V.H.; OTTO, W.G.; DELWING, A.B.; PELISSER, M.R.; SANTOS, K.R.S. **Pesquisa de risco de contaminação por *Salmonella* em maionese e hambúrgueres não industriais do Bairro Bela Vista Gaspar/SC detecta *Burkholderia pseudomallei*.** Artigo Científico. Scientia prima. v. 05, n° 05. São Paulo - SP, 2017.
- [13] NAUMANN, D.; FIJALA, V.; LABISCHINSKI, H.; GIESBRECHT, P. **The Rapid Differentiation and Identification of Pathogenic Bacteria Using Fourier Transform Infrared Spectroscopic and Multivariate Statistical Analysis.** Editora Elsevier. Journal of Molecular Structure. p.)165-17. Amesterdã – Holamda, 1988.

- [14] PYLE, B.H.; BROADAWAY, S.C.; FETERS, G.A. **Sensitive Detection of Escherichia coli O157:H7 in Food and Water by Immunomagnetic Separation and Solid-Phase Laser Cytometry.** American Society for Microbiology. Applied and Environmental Microbiology. v.65. n°5. p. 1966–1972. *Bozeman* – 1999.
- [15] ROCHA, C.S. **Aplicação de análise estatística multivariada no estudo de propriedades da própolis.** T.C.C - Curso de Farmácia - Universidade Federal de Ouro Preto – Ouro Preto – MG, 2019.
- [16] SAHAR, A.; DUFOUR, B. T. **Synchronous front-face fluorescence spectroscopy as a promising tool for the rapid determination of spoilage bacteria on chicken breast fillet.** Editora Elsevier. Food Research International. p. 471–480, 2018.
- [17] SANTOS, P.M.; GIANA, H.E.; JÚNIOR, L.S.; ZANGARO, R.A.; PACHECO, M.T.T. **Metodologia de Identificação de Cepas Bacterianas por Espectroscopia de Fluorescência.** VIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IV Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba. Vale do Paraíba – SP, 2008.
- [18] SHINOHARA, N.K.S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E.C.L.; DUTRA, R.A.F.; FILHO, J.L.L. **Salmonella spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos.** Revista Ciência & Saúde Coletiva, v. 13, n°5, p.1675-1683, Rio de Janeiro - RJ, 2008.
- [19] WOZNIAKA, M.; POLAPA, D.; KOSMIBERD, L.; CLAPA, T. **Automated fluorescence microscopy image analysis of Pseudomonasaeruginosa bacteria in alive and dead stadium.** Engineering Applications of Artificial Intelligence jornal. Poznań – Polónia, 2018.

6.0 Considerações Finais

Das três marcas analisadas, não houve predominância da ocorrência da *Salmonella* sp. Os resultados desta pesquisa para o grupo dos Coliformes Termotolerantes apresentaram todos os valores em inconformidade com o limite de tolerância para alimentos próprio ao consumo estabelecido pela legislação. A maior representante do grande grupo dos Coliformes Termotolerantes está *Escherichia coli*. Das amostras analisadas neste experimento obtivemos a confirmação de valores acima do preconizado pela legislação, bem como a confirmação da espécie. Para as espécies de *Staphylococcus* coagulase positiva, os valores também foram superiores ao padrão estabelecido por legislação e com relação a confirmação da prova de coagulase, todas apresentaram-se negativas quanto a produção da enzima, enfatizando o risco de se ignorar a presença deste grupo como produtores de enterotoxinas, o que serve como alerta de saúde pública. Análises de Mesófilos e Psicotróficos consistiu numa enumeração total da microbiota presente na amostra estudada, não teve como objetivo identificar espécie. A análise parasitológica não apresentou nenhuma estrutura característica de parasito nas amostras analisadas. Neste estudo da análise proximal teve como finalidade analisar os valores nutricionais com a justificativa de que estes são fatores que influenciam diretamente no desenvolvimento microbiológico, ou seja, são condições ideais para uma contaminação microbiológica do alimento. Quanto ao parâmetro pH, as amostras apresentaram valores dentro do limite estipulado legislação. Com os valores de temperatura aferidas neste trabalho as amostras foram consideradas frescas e refrigeradas. Os resultados obtidos na pesquisa em que utilizou a Técnica Espectroscopia de Absorção UV-Vis foram significativamente úteis, pois apresentaram o reconhecimento de semelhanças e diferenças nos comprimentos de ondas das bactérias analisadas, bem como a confirmação da água ultra-pura (Mili Q) como branco (controle). A busca por uma metodologia alternativa de análise rápida na identificação de espécies patogênicas ficou evidenciada que as técnicas de Espectroscopia de Fluorescência e a Espectroscopia de Absorção UV-Vis foram significativamente úteis, pois demonstram uma proximidade dos valores das modulações dentre as espécies de *Salmonella* sp nos 20 ensaios com 2 amostras cada analisadas.