

SEGURANÇA ALIMENTAR: UM ESTUDO MULTIDISCIPLINAR DA QUALIDADE DO FILÉ DE TILÁPIA COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE TOLEDO-PR

Fabiane Regina Librelato¹
Sonia Aparecida Reis Lopes Shikida²

RESUMO: Esta pesquisa teve como temática avaliar a qualidade do filé de tilápia comercializado em supermercados de Toledo/PR, já que o peixe está entre os produtos de origem animal mais susceptíveis ao processo de deterioração, devido ao pH próximo à neutralidade, à elevada atividade de água nos tecidos e ao elevado teor de nutrientes. Foram analisadas duas marcas de filé de tilápia (A e B) de lotes distintos. Realizou-se a análise microbiológica de aeróbios mesófilos, aeróbios psicrotrófilos, coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli*. Os resultados obtidos foram: quanto à contagem total de mesófilos revelou-se que somente uma amostra do lote 2 não apresentou contagem, ao passo que a contagem de aeróbios psicrotrófilos mostrou-se presente nas duas amostras. Quanto à pesquisa de coliformes totais, todas as amostras o apresentaram, não havendo detecção de coliformes fecais e *E. coli*. Os resultados permitiram concluir que, das duas marcas analisadas, a marca B mostrou-se superior em termos de qualidade microbiológica. De modo macro, o filé de tilápia comercializado em Toledo/PR encontra-se em boas condições de consumo, contudo, os valores encontrados para contagem padrão em placas e coliformes totais evidenciaram que a condição higiênico-sanitária do filé deve ser feita de forma mais criteriosa.

PALAVRAS-CHAVE: qualidade, pescado, microbiologia, higiene.

FOOD SAFETY: A MULTIDISCIPLINARY STUDY ABOUT THE QUALITY OF THE FILET OF TILÁPIAS IN TOLEDO CITY (PR)

ABSTRACT: This research had as thematic to evaluate the quality of the filet of tilápia marketed in supermarkets in Toledo/PR, because the fish is one of the products of animal origin of easy deterioration process, due to the pH close to the neutrality, to the high activity of water in the fabrics and to the high text of nutritious. Two marks of the filet of tilápia were analyzed (A and B) of different lots. It accomplished an analysis microbiological of aerobios mesofilos, aerobios psicrotrofilos, total coliformes, fecal coliformes and *Escherichia coli*. The results were: with relationship to the total score of mesofilos, only a sample of the lot 2 didn't present score, the score of aerobios psicrotrofilos it was in the two samples. With relationship to the research of total coliformes, in all the samples total coliformes was verified, but not having detection of fecal coliformes and *E. coli*. The results allow to say that, of the two marks analyzed, the mark B was superior in terms of quality microbiological. In a global way, the filet of tilápia marketed in Toledo (PR) is in good consumption conditions, however, the values found for standard score in plates and total coliformes evidenced that the hygienic-sanitary condition of the filet should be made in way more critical.

KEY-WORDS: quality, fish, microbiology, hygiene.

¹ Bióloga pela UNIPAR/Toledo. Av. Parigot de Souza, 3636. Jardim Prada. CEP: 85903-170. Toledo, PR.

² Professora Doutora da Universidade Paranaense – UNIPAR/Toledo, Departamento de Ciências Biológicas. Av. Parigot de Souza, 3636. Jardim Prada. CEP: 85903-170. Toledo, PR. *E-mail:* perysonia@uol.com.br.

1 INTRODUÇÃO

Um dos temas mais frequentemente discutidos mundialmente refere-se à segurança alimentar, em que o produto deve ser seguro para quem produz, consome e para o meio ambiente (SPERS, 2000). Neste ínterim, o consumidor assume um papel decisório e ativo sobre a aquisição ou não do produto, levando em conta o seu padrão de qualidade (JUNQUEIRA, 1999).

Os peixes são, desde outrora, uma fonte de alimento para a humanidade, sendo a pesca uma atividade promotora de benefícios econômicos e sociais para as populações (LIRA *et al.*, 2001).

O pescado é uma excelente fonte de proteínas de alto valor biológico e de aminoácidos essenciais, sendo especialmente rico em lisina, um aminoácido limitante em cereais como arroz, milho e farinha de trigo (FILHO *et al.*, 2002).

O Brasil é o 25º maior produtor mundial de pescado. Somente nas seis maiores barragens do país o potencial produtivo é de 17 mil toneladas/ano (FRITSCH, 2004). Um fato que reforça esse potencial é que a capacidade de produção do setor pesqueiro finalmente chegou ao total de 120 mil toneladas/ano, sendo que a quatro anos o total produzido no país estava estagnado em 45 mil toneladas/ano (FOOD, 2003).

Nas últimas décadas a preocupação tem se voltado para a crescente degradação ambiental de florestas, rios e mares. Nestes, são despejados uma série de compostos orgânicos e inorgânicos que podem causar danos à saúde de quem consome alimentos retirados desses ecossistemas. No caso de ambientes aquáticos, os peixes são os mais afetados (FILHO *et al.*, 2002).

A microbiota normal do peixe é uniforme e influenciada pela natureza do habitat e variação da temperatura. Patógenos ou indicadores de poluição fecal são raramente encontrados no pescado recém-capturado. Após a captura, a microbiota inicial é alterada pelo transporte, manipulação, contato com o gelo, superfície e equipamentos, estocagem e comercialização (CARDOSO, ANDRÉ e SERAFINI, 2003).

No habitat natural, os peixes são contaminados por determinados patógenos como *Salmonella spp*, *Escherichia coli* (*E. coli*), dentre outros organismos mesófilos (FILHO *et al.*, 2002).

A maioria das bactérias da microbiota do peixe é psicrotrófica do gênero *Alteromonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Micrococcus* e *Staphylococcus* (CARDOSO, ANDRÉ, SERAFINI, 2003).

Tendo em vista estas informações, aliado à recente introdução de peixes crus, na forma de sashimi e sushi, no cardápio dos estabelecimentos de alimentos, anteriormente restritos a regiões onde predominavam imigrantes asiáticos, e ainda por ser um alimento de origem animal muito susceptível ao processo de deterioração, torna-se importante a avaliação microbiológica do filé de Tilápia, comercializado na cidade de Toledo (Paraná)³, a fim de que se conheça as condições higiênico-sanitárias do produto em questão.

Isto posto, este artigo está organizado em seis seções, incluindo esta introdução. A segunda seção apresenta uma breve revisão bibliográfica. A terceira seção apresenta o

³ De acordo com Martins (2004, p.46), Toledo está situado na mesorregião Oeste Paranaense, sendo um importante agregado do setor agroindustrial do estado. Possui uma área de 1.140,75 km², com população de aproximadamente 100.000 habitantes, com crescimento anual de 2,08% e com densidade demográfica de 87,67 hab/km². Sua população é constituída de 86% de moradores na área urbana e 14% de moradores na área rural. O município é um dos principais produtores de soja (produtividade média de 3.200 kg/ha), trigo (produtividade média de 2.200 kg/ha), aves de corte (20.000.000 cabeças/ano), suínos (200.000 cabeças/ano) e pecuária leiteira (38.000.000 litros/ano) do estado paranaense e com grande destaque nacional. Também possui indústrias dominantes nos setores têxtil, química, vestuário, calçados e tecidos, produtos alimentares, couros, peles e produtos similares.

material e métodos e, na seguinte, são evidenciados os resultados e discussão. As considerações finais sumarizam a presente pesquisa.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Para Spers (2003), a garantia da qualidade dos alimentos é um dos grandes objetivos dos governos, das companhias e dos agentes de padronização e certificação do comércio internacional. Neste sentido, cada vez mais esforços são direcionados para maximizar a percepção do consumidor quanto aos muitos atributos de um produto alimentar, com especial atenção àqueles vinculados com a nutrição e segurança.

A definição de qualidade, segundo a *International Standard Organization* (ISO, 2005), entidade reguladora e fiscalizadora mundialmente reconhecida, refere-se à totalidade das características de um produto ou serviço que suportam a sua capacidade para satisfazer necessidades especificadas ou implícitas.

De acordo com Chaves *et al.* (2004, p. 97):

Todo produto possui uma série de atributos característicos, mas é a qualidade destes que definirá o sucesso ou insucesso na comercialização dos produtos. Esta qualidade é observada principalmente por dois aspectos fundamentais: o primeiro deles diz respeito ao consumidor que busca características desejáveis, seja do ponto de vista econômico, nutricional, estético, etc; e o segundo aspecto se refere à legalidade, em que o produto passa por uma série de análises laboratoriais e é classificado dentro de padrões preestabelecidos e sua qualidade final é atestada.

Na cadeia produtiva do pescado tal realidade não é diferente. Com a abertura de mercado e a crescente tecnificação dos produtores, o número de opções disponíveis para o consumidor, bem como o volume ofertado de pescado vem aumentando consideravelmente. Tal aumento e diversificação de produtos e marcas estão gerando uma forte pressão para a melhoria da qualidade dos produtos. Para acompanhar essas vicissitudes, a análise microbiológica vem se tornando importante instrumental para a certificação da qualidade deste e de outros produtos.

Com efeito, o pescado é o animal aquático obtido de água doce ou salgada, por diferentes processos de captura ou pesca, para fins alimentares. Dele se utiliza, principalmente, a carne, ovos e preparam-se derivados (ORNELLAS, 2001).

Os peixes desempenham na economia de muitos países um importante papel, como consequência de sua abundância e de sua excelente composição nutricional (FILHO *et al.*, 2002).

A indústria brasileira, em termos de potencial de produção de pescado, vem passando por um processo difícil. Em comparação com seus vizinhos sul-americanos, o Brasil tem sido ultrapassado nos últimos anos, em termos de produção e constitui um dos grandes importadores de pescado no mercado internacional (GERMANO *et al.*, 2004).

O Brasil tem hoje uma produção anual de pescado de 120 mil toneladas. Este resultado o classifica como o 25º maior produtor mundial de pescado, muito superior ao registrado há quatro anos, em que se produzia apenas 45 mil toneladas/ano. Este aumento se deve, em parte, à criação da Secretaria Nacional de Pesca e Aquicultura, que fornece aos pescadores maiores conhecimentos no que diz respeito ao aproveitamento de toda a cadeia produtiva, além de elaborar campanhas de incentivo ao pescado (FOOD, 2003).

2.1 Produção nacional de tilápias

Superadas em produção apenas pelas carpas, as tilápias ocupam posição de destaque entre as espécies de água doce cultivadas. No Brasil a produção anual de tilápia cultivada está próxima de 30 a 40 mil toneladas, representando 38% da produção de pescado no Brasil. Estes números colocam o Brasil como um dos principais produtores de tilápia da América Latina, atrás apenas do México (KUBITZA, 2000).

Durante os últimos cinco anos, o cultivo de tilápias vem crescendo sensivelmente, principalmente na região Sul que corresponde por 70% da produção nacional (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2004).

O maior estado produtor de tilápias é o Paraná, no entanto, no período do inverno, as baixas temperaturas comprometem a produtividade e colocam em risco os estoques, onerando demasiadamente a produção (KUBITZA, 2000).

O cultivo de tilápias em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul não se desenvolveu tanto quanto no Paraná; devido a condições climáticas as principais espécies cultivadas ainda são as carpas. Nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo a produtividade chega a 30 toneladas/ha/ano. Acredita-se que a produção de tilápia cultivada nos estados do Sudeste esteja próxima a 5000 toneladas anuais, enquanto que nos estados do Norte e Nordeste a estimativa chega a 3000 toneladas/ano (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2004).

2.2 Importância do consumo de peixe e valor nutricional

Apesar da extensa costa marítima e da abundância de bacias hidrográficas que recortam o território nacional, apenas 10% da população incorpora o pescado em sua alimentação. O hábito de ingerir pescado varia de região para região, oscilando entre 21% no norte e nordeste, e 2% na região sul (GERMANO *et al.*, 2004). No Estado de São Paulo, por exemplo, são comercializados ao mês 5 mil toneladas de pescado, aumentando, no mês da semana santa em 40% (FOOD, 2003).

Em geral, a exemplo de outras carnes, leite, ovos, o músculo esquelético de peixes é rico em proteínas, lipídios e sais minerais (FILHO *et al.*, 2002). As proteínas apresentam alto valor biológico com balanceamento de aminoácidos essenciais, sendo principalmente rico em lisina, aminoácido limitante em cereais. Os lipídios são ricos em ácidos graxos polinsaturados, como por exemplo, o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), conhecidos como ácidos graxos da família ômega 3. Estes ácidos graxos polinsaturados são extremamente desejáveis na dieta dos seres humanos. A ingestão regular de EPA auxilia na redução da taxa de triglicerídeos sangüíneo e na manutenção da flexibilidade das paredes das artérias coronárias, reduzindo os problemas cardíacos. O DHA reduz a ocorrência de arritmia cardíaca e exerce importante papel na formação de tecido nervoso (AGNESE *et al.*, 2001).

Dentre as principais espécies de peixe cultivadas, as tilápias se destacam pela carne de excelente qualidade. Nos Estados Unidos, um painel formado por 10 degustadores profissionais colocou o filé de tilápia cultivada no topo de uma lista, de acordo com o critério de satisfação geral, seguido de filé do salmão Coho, da truta arco-íris, do bagre-do-canal, do híbrido "striped bass", do "bargemouth bass" e da carpa-capim. Descreveram o filé de tilápia como uma carne sem espinho, de cor branca, textura firme, aspecto fibroso e succulento. Todas estas características fazem da tilápia um peixe que se ajusta aos mais diferentes tipos de temperos e formas de preparo e apresentação (KUBITZA, 2000).

Devido à quantidade mínima de tecido conjuntivo, os peixes são de alta digestibilidade, a qual apresenta relação inversa com o teor de gordura, ou seja, os peixes considerados como magros são mais digeríveis. Nos peixes com teores de gordura acima de

15%, são encontrados níveis elevados de vitaminas A e D na musculatura, nos demais, a concentração é elevada no fígado. Apesar da carne conter quantidades apreciáveis de vitamina B1, apenas nos peixes muito frescos é possível aproveitá-la, pois a tiaminase, transforma rapidamente B1 em piridina e em tiazol (GERMANO *et al.*, 2004).

O filé de tilápia possui em média 75% de água, entre 3,4% a 8,5% de lipídios, 20% de proteínas e 2% de minerais. A composição em ácidos graxos reflete o perfil de ácidos graxos na dieta. Cada 100 gramas de filé contém 31 mg de colesterol, 18 mg de cálcio, 35 mg de sódio (a quantidade de sódio não difere entre as espécies de peixe de água doce e salgada), 169 mg de fósforo, 324 mg de potássio entre outros nutrientes (KUBITZA, 2000). Quando comparadas a carne de boi com a de peixe, fica evidente que a carne de peixe é menos calórica, já que esta contém 80 calorias, enquanto que a outra representa 111 calorias (FRANCO, 2001).

2.3 Pré-processamento e qualidade do pescado

Qualquer ser marinho vivo no meio ambiente aquático, livre de poluição, apresenta-se em condições ótimas de consumo, por muito tempo, até que ele seja atingido pela morte natural, doenças, pesca ou predadores. Quando não é possível consumir o pescado assim que ele morre, é necessário aplicar algum processo de conservação, fazendo com que o mesmo se mantenha em condições apropriadas de consumo por um período mais longo, após sua morte (OCEANUS, 2004).

Imediatamente após a morte do pescado, a entrada de oxigênio cessa e os produtos metabólicos não oxidados no sangue e nos músculos paralisam o sistema nervoso, fazendo com que ocorra hiperemia e a liberação do muco. Neste momento o peixe está em pré-rigor, que dura de 1 a 2 horas. O glicogênio e o Adenosina Trifosfato (ATP) estão combinados com a miosina, conferindo ao peixe uma carne macia com pH médio de 7,0 (OLIVEIRA, 2004).

Depois de 1 a 2 horas da morte do peixe, tem início um processo denominado rigor-mortis, caracterizado pelo progressivo enrijecimento do corpo do peixe devido à redução nos níveis de ATP na musculatura. A duração do rigor-mortis é variável e depende do manejo, da captura, da higiene e da temperatura do ambiente. Segundo estudos, peixes abatidos logo após a captura concluíram o rigor-mortis após 20 a 65 horas, comparados a 72 a 96 horas para peixes submetidos a um descanso antes do abate (KUBITZA, 2000).

De acordo com alguns estudos, neste momento o pescado se encontra no seu mais alto grau de frescor ou qualidade. Isto ocorre devido ao pH ácido, que atenua a ação microbiana e controla a ação enzimática (OCEANUS, 2004).

O pós-rigor instala-se no momento em que a actiomiosina é degradada por enzimas proteolíticas, como a catepsina. Há o amolecimento da carne e, devido à hidrólise protéica, vão surgindo peptídeos, aminoácidos livres e aminas. Nesta fase há ação rápida dos microrganismos endógenos e exógenos, aparecendo substâncias nitrogenadas voláteis e redutoras voláteis e o pH sobe para 6,8 (OLIVEIRA, 2004).

Os peixes submetidos a um intenso estresse pré-abate entram e saem do estado de rigor-mortis mais rapidamente. Isto porque sob condições de estresse ocorre uma redução nas reservas de glicogênio dos peixes e menor acúmulo de ácido láctico na musculatura, fazendo com que o pH da carne fique próximo da neutralidade, acelerando a ação de enzimas musculares, o desenvolvimento de bactérias e a conseqüente degradação da carne. Então, quanto mais tarde ocorrer, e maior for a duração do período de rigor-mortis, mais lentas serão as alterações nas características da carne e maior será a longevidade do produto após o processamento (KUBITZA, 2000).

Logo após a morte do peixe, iniciam-se os processos de deterioração. As alterações mais comuns são enzimática, microbiológica e não-enzimática. Na deterioração enzimática ocorre a degradação dos nucleotídeos, através de enzimas, desdobrando o ATP até Hipoxantina (Hx), marcada pelo odor azedo do pescado em deterioração (AGRIDATA, 2004).

A deterioração microbiana é realizada por microrganismos presentes na pele e nas vísceras do pescado. Os microrganismos e suas enzimas invadem e usam a mistura de substâncias naturais para se multiplicar. A ação das enzimas microbianas resulta no surgimento de uma série de compostos odoríferos. Inicialmente são formados compostos com notas cítricas, frutais ou azedas, mais tarde surgem os de odores amargo e de odor de sulfito, e finalmente chega ao estado pútrido com odores amoniacal e fecal. Já a deterioração não-enzimática ocorre quando os ácidos graxos interagem com o oxigênio do ar, provocando a oxidação desses lipídios, ou seja, ocorre a rancidez oxidativa que confere sabor e odor estranhos em carnes processadas (OLIVEIRA, 2004).

A redução do estresse e um melhor condicionamento das tilápias pré-abate são fundamentais para assegurar a qualidade do filé após o processamento. A captura nas unidades de produção deve ser rápida. Os peixes não devem permanecer por muito tempo adensados na rede. O abate deve ser feito por choque térmico em água limpa com gelo. O gelo deve ser suficiente para manter a temperatura da água no abate ao redor de 4 a 6°C (KUBITZA, 2000). Para tanto, o gelo deve ser de boa procedência, pois, se o gelo for fabricado com água de má qualidade irá contaminar o pescado (OCEANUS, 2004).

2.4 Processamento da tilápia

Após a depuração e o abate por choque térmico, o processamento pode ser iniciado. Os peixes abatidos com choque térmico vão diretamente para a descamação, corte da cabeça e remoção das vísceras. Este processo pode ser manual ou mecanizado. O rendimento da carcaça varia de 51 a 56% (KUBITZA, 2000).

A próxima etapa é a filetagem. Para filetar o peixe, deve-se fazer uma incisão no dorso da cauda à cabeça, passando a faca bem rente a espinha e remover a carne de um lado ao outro. Na filetagem muitos fatores podem influenciar o rendimento do filé. Entre eles estão: o tamanho do peixe; o método de filetagem; a condição corporal do peixe; o ângulo de corte da cabeça; a firmeza da carne; a apresentação do filé exigida pelo cliente; a qualidade do corte das facas; e principalmente a habilidade e técnica do filetador (ORNELLAS, 2001).

Após a filetagem é realizada a retirada da pele. Esta operação pode ser feita com a faca, cortando entre a pele e o filé, ou com o uso de máquinas especiais que retiram a pele. Depois de retirada a pele, o filé vai para uma linha de acerto final ("toilet"), na qual é feita a retirada, com um corte em "V", dos pequenos espinhos da porção centro-anterior do filé. Os filés prontos são acondicionados em embalagens a vácuo, ou caixas térmicas, alternados com camadas de gelo convencional ou artificial do tipo "gel-pack" (KUBITZA, 2000).

Durante o processamento da tilápia para a produção de filés, deve-se tomar cuidado com as condições gerais de higiene nas instalações, os funcionários devem usar máscara, avental, toucas e luvas de proteção anti-corte. Durante todo o fluxo, os peixes devem ser mantidos sob baixa temperatura e a sala deve ser refrigerada, os resíduos da escamação e evisceração não devem entrar em contato com as fases seguintes do processo. Os funcionários devem receber treinamento contínuo, não apenas no que diz respeito às noções de higiene pessoal, mas também no ambiente de trabalho. O monitoramento da qualidade sensorial e microbiológica dos filés produzidos deve ser uma rotina dos frigoríficos (KUBITZA, 2000).

O congelamento é um importante método de conservação, pois inibe parcial ou totalmente a ação prejudicial dos microrganismos e das enzimas. O processo de congelamento

deve ser rápido, indo de 0°C a 5°C em menos de 2 horas e continuar até atingir -20°C, ou menos. Temperaturas de armazenamento ao redor de -30°C a -40°C podem causar alterações marcantes no sabor e na cor do peixe. É importante lembrar que mesmo a melhor condição de armazenamento ainda resulta em perda invariável da qualidade (OLIVEIRA, 2004).

2.5 Manipulação e preparo do filé de tilápia

O pescado é altamente perecível, exigindo cuidados especiais na sua manipulação e preparo, em especial, em termo de cozinhas de refeições coletivas, industriais ou comerciais (GERMANO *et al.*, 2004).

A primeira operação, dentro de uma cozinha, diz respeito ao recebimento da matéria-prima *in natura* e seu imediato armazenamento a temperaturas de -12°C a -18°C (ORNELLAS, 2001).

O tempo adequado, relacionado ao preparo, manipulação, tempero e consumo, não deve ultrapassar 24 horas, a fim de impedir a decomposição e, principalmente, diminuir a possibilidade de contaminação cruzada. A temperatura de cocção é extremamente importante, devendo atingir 74°C por 3 minutos (GERMANO *et al.*, 2004).

A preparação de pratos a base de peixe envolve etapas críticas como o descongelamento. Nesta etapa os filés devem ser mantidos a uma temperatura de 4°C, sob refrigeração ou, em condições controladas, nunca à temperatura ambiente *overnight* (AGÊNCIA NACIONAL DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA, 1999).

Uma vez descongelados, para a etapa de temperos, deve-se retirar do refrigerador pequenas quantidades de filé, de modo que a matéria-prima fique exposta o menor tempo possível à temperatura ambiente. Depois de temperados devem voltar ao refrigerador, podendo ali ficar no máximo 24 horas. Deve-se retirar do refrigerador os filés temperados, sempre em pequenas porções e levar rapidamente à cocção. Os filés preparados devem ser servidos dentro de 15 minutos pós-cocção, ou mantidos em estufa ou *pass through*, a 60°C por 30 minutos, após este tempo, inicia-se a multiplicação de microrganismos e produção de toxina (GERMANO *et al.*, 2004).

Nos restaurantes comerciais não se deve armazenar as sobras da refeição, mas quando isto acontece deve-se ter muito cuidado com o reaquecimento. O binômio tempo/temperatura deve propiciar o aquecimento da massa interna do alimento. O grande inconveniente deste processo, se tratando de filé de tilápia, é que o reaquecimento a 74°C por 3 minutos pode prejudicar a qualidade do alimento, podendo provocar o amolecimento, ou seu ressecamento. No caso de preparações que contenham o filé de peixe *in natura*, o controle da temperatura deve ser mais rigoroso, pois a carne de peixe favorece uma rápida multiplicação microbiana, devido a sua composição química. Portanto, este deve ser servido em uma temperatura máxima de 10°C por até 4 horas. Ultrapassando este período o filé deve ser desprezado (ANVISA, 1999).

2.6 Microrganismos importantes em pescado

O peixe é um dos alimentos mais suscetíveis à deterioração devido à atividade de água elevada, composição química, teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, sobretudo, ao pH próximo da neutralidade (FRANCO e LAMDGRAF, 2003).

Nas últimas décadas, a preocupação tem se voltado para a crescente degradação ambiental de florestas, rios e mares. Nestes são despejados uma série de compostos orgânicos

e inorgânicos que colocam em risco a saúde de quem consome alimentos desses ecossistemas (FILHO *et al.*, 2002).

A microbiota do pescado é influenciada pelo seu habitat, sendo um dos principais fatores de seleção a temperatura, uma vez que raramente ultrapassa 20°C ao longo do ano. Por isso, as condições são mais favoráveis ao desenvolvimento de uma microbiota psicrófila do que a uma estritamente mesófila (FRANCO e LAMDGRAF, 2003). Especificamente na região de Toledo (PR), oeste do estado, a tilápia é criada no período compreendido entre a primavera e outono, quando a temperatura da água é superior a 20°C.

Após a captura, a microbiota inicial é alterada pelo transporte, manipulação, contato com o gelo, superfícies, equipamentos, estocagem e comercialização. Aliado a este fator existe a falta de medidas que priorizem a qualidade do pescado por parte de pescadores e empresários, que negligenciam o aspecto higiênico de produção e comercialização (CARDOSO, ANDRÉ e SERAFINI, 2003).

Entre os gêneros que fazem parte da microbiota natural do pescado podem ser citados *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Vibrio* e *Micrococcus*. Os mais importantes deteriorantes são os gêneros *Pseudomonas* e *Shewanella*, principais responsáveis pelas alterações organolépticas do pescado devido à formação de trimetilamina, ésteres, substâncias voláteis redutoras e outros compostos. Esses gêneros são importantes não só por serem de natureza psicrófila, mas principalmente pela capacidade que tem de utilizar para o seu desenvolvimento substâncias nitrogenadas não-protéicas (FRANCO e LAMDGRAF, 2003).

Merecem destaque as bactérias do gênero *Salmonella*, tanto de origem humana, quanto de origem animal, bem como a *Shigella* spp, todas encontradas em águas poluídas por esgotos. Inúmeros agentes bacterianos podem, ainda, contaminar o pescado e causar danos à saúde. Assim, cepas psicrófilas de *Bacillus cereus* produzem enterotoxina nos preparados de peixe, sobretudo em pH superior a 6,0, acarretando surtos por diarreia. Outros como o *Clostridium perfringens*, *Klebsyella* sp, *E. coli* e coliformes fecais podem ser encontrados nos peixes frescos ou congelados e nos produtos industrializados (GERMANO *et al.*, 2004).

Os microrganismos são os agentes de deterioração mais importantes no pescado *in natura*, por conseguinte, o controle da deterioração é, em grande parte, o controle dos mesmos (OLIVEIRA, 2004).

Na Holanda os peixes foram responsáveis por 5,5% dos surtos de toxinfecção alimentar em 1979; 10,5% nos Estados Unidos entre 1978 e 1987 e 31% na Croácia de 1986 e 1992 (CARDOSO, ANDRÉ e SERAFINI, 2003). No Brasil, existem poucos relatos sobre as enfermidades de origem alimentar, mas, algumas publicações sugerem que os casos de toxinfecção veiculadas por pescado são frequentes (LIRA *et al.*, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado com utilização de 2 amostras de filé de tilápia, produto comercializado no município de Toledo - PR. Essas amostras de marcas distintas foram designadas neste estudo de amostras A e B.

As amostras foram coletadas durante duas semanas no mês de julho de 2004, em supermercados da cidade já citada. As amostras foram obtidas em diferentes dias e lotes de fabricação, tomando cuidado para que todas as embalagens estivessem dentro do prazo de validade.

Os produtos adquiridos para análise encontravam-se armazenados nos estabelecimentos comerciais congeladas a uma temperatura de -18°C, temperatura observada

no visor do freezer. Ao serem retiradas do freezer, foram imediatamente acondicionadas em caixas de polímeros expandidos isotérmicos (isopor) contendo cubos de gelo e transportadas para o laboratório de microbiologia da Universidade Paranaense (UNIPAR - Campus Toledo), onde foram efetuadas as análises microbiológicas de contagem total de bactérias aeróbios psicrotrófilos, aeróbios mesófilos, número mais provável de coliformes totais, número mais provável de coliformes fecais e número mais provável de *Escherichia coli*.

No laboratório as embalagens foram limpas externamente com álcool etanol 70% para remoção dos contaminantes presentes, e todos os instrumentos e utensílios utilizados na abertura das embalagens foram previamente esterilizados em autoclave.

Como unidades experimentais foram adquiridos pacotes de 400 gramas de filé de tilápia, do qual se retiraram alíquotas para análise.

A unidade analítica (25g) foi retirada assepticamente das amostras e transferidas para um frasco erlenmeyer previamente esterilizado, contendo 225 ml de água peptonada 0,1% e um outro frasco erlenmeyer contendo 225 ml de água salina peptonada, ambas diluição 10^{-1} .

3.1 Análises microbiológicas

A partir da diluição de 10^{-1} procedeu-se a diluição decimal seriada, até a diluição 10^{-3} .

Com o auxílio de uma pipeta foram inoculadas uma série de três tubos de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) por diluição adicionando 1,0 ml da diluição por tubo com 9,0 ml de LST.

Após a incubação por 48 horas a 35°C , observou-se o crescimento e a produção de gás.

3.1.1 Contagem de Coliformes Totais

Utilizou-se a técnica de tubos múltiplos, utilizando-se diluição decimal (10^{-1} a 10^{-3}).

Dos tubos de LST com produção de gás, transferiu-se uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos contendo Caldo Bile Lactosado Verde Brilhante com tubos de Durhan invertidos.

Em seguida foram incubados a uma temperatura de 35°C por 48 horas. Os tubos que apresentaram produção de gás e crescimento foram anotados e o número mais provável (NMP) por grama de peixe foi determinado, utilizando a tabela NMP apropriada às diluições (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

3.1.2 Contagem de Coliformes Fecais

Dos tubos de LST com produção de gás, transferiu-se uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de caldo *E. coli*.

Os meio foram incubados em banho-maria a $44,5^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. Após este período foi observado se houve ou não crescimento com produção de gás.

3.1.3 Contagem de *E. coli*

De cada tubo de *E. coli* com produção de gás em 24 ou 48 horas foi estriada uma alçada da cultura em placas de Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB).

As placas foram incubadas a uma temperatura de 35°C por 24 horas. Após a incubação foi observado se houve desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli*. Havendo colônias típicas, foram transferidas duas colônias bem isoladas de cada placa para tubos de Ágar Padrão para Contagem (PCA) inclinados e incubou-se os tubos a 35°C por 24 horas.

A partir das culturas puras em PCA foi realizada a coloração de Gram e estas foram inoculadas nos meios de indol, VM, VP e citrato (provas bioquímicas) (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

3.1.4 Teste de citrato

Foi transferido um inóculo da cultura para a rampa dos tubos de Ágar Citrato de Simmons e incubou-se a 35°C por 48 horas. O crescimento com viragem alcalina, alterando a cor do meio de verde para azul, é indicativo de teste positivo (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

3.1.5 Teste de vermelho de Metila e Voges - Proskauer (caldo VM - VP)

Foi inoculado uma alçada com inóculo leve da cultura, sendo incubado a 35°C por 48 horas.

Para o teste de VP, transferiu-se 1,0 ml da cultura para um tubo de ensaio, adicionando 0,6 ml de solução de α - naftol 5% e agitou-se. Foi adicionado em seguida 0,2 ml de solução de KOH 40%, este foi agitado e adicionou-se uma pitada leve de cristais de creatina.

Deixou-se descansar e observou-se, por até 1 hora, o desenvolvimento de uma cor vermelha ou rósea no meio de cultura (teste positivo). As cepas de *E. coli* são VP negativas.

As culturas remanescentes foram incubadas no caldo VM-VP por 48 horas adicionais e realizou-se o teste de VM com 96 horas de incubação.

Para realização do teste, foi adicionado, a cada 2,5 ml da cultura, 5 gotas da solução de vermelho de metila, observando se o meio adquire uma coloração vermelha (teste positivo) ou amarela (teste negativo). As cepas de *E. coli* são VM positivas (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

3.1.6 Enumeração de Bactérias Aeróbios Mesófilos

Utilizou-se o meio Ágar Padrão para Contagem, com diluições de 10^{-1} a 10^{-3} em placas de petri estéreis.

Inoculou-se 0,1 ml de cada diluição na superfície das placas, onde, com o auxílio de uma alça de Drigalski, espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio, até que todo o excesso de líquido fosse absorvido.

A incubação foi feita a uma temperatura de 35°C por 48 horas. Após, procedeu-se a contagem das colônias, sendo calculado o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de peixe (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

3.1.7 Enumeração de Bactérias Aeróbios Psicrófilos

Seguiu-se a mesma metodologia empregada no item anterior. A temperatura de incubação foi de 25°C por 48 horas.

Após procedeu-se a contagem das colônias. Foram contadas apenas as placas de petri que continham mais de 25 colônias. Em seguida, foi calculado o número de unidades formadoras de colônias por grama de peixe (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para um estudo preliminar, tomaram-se algumas amostras aleatoriamente para avaliação das condições higiênico-sanitárias. Esta avaliação foi realizada através de análises microbiológicas procedidas em filé de tilápia comercializado em Toledo/PR. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 1.

Tabela 1 – Resultados das análises microbiológicas efetuadas em duas amostras de lotes distintos e de dois fabricantes de filé de tilápia, comercializadas na cidade de Toledo-PR

Marcas	Mesófilos UFC/g		Psicrotrófilos UFC/g		Col. Totais NMP/g		Col. Fecais NMP/g		<i>E. coli</i> NMP/g	
	Lotes		Lotes		Lotes		Lotes		Lotes	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
A	1,5x10 ⁴	1,3x10 ⁴	8,0x10 ⁴	2,9x10 ⁵	15	2,3	0	0	0	0
B	0,7x10 ²	0	1,5x10 ⁴	1,8x10 ⁴	2,3	0,4	0	0	0	0
*Padrão aceitável	-	-	-	-	-	-	10 ²	-	-	Aus.
**Referencial teórico	10 ⁶	-	-	-	50 a 100	-	-	-	-	-

Fonte: Dados de pesquisa

*Padrão microbiológico para alimentos (Portaria n° 451, 22/09/1997) – sendo a Resolução n° 12 da ANVISA a mais atual.

**Valores descritos por Agnese *et al.* (2001).

Como observado na tabela 1, das duas amostras de filé de tilápia analisadas, somente uma amostra do lote 2 não apresentou valores para a determinação de microrganismos mesófilos.

A Legislação Brasileira (BRASIL, 1997) não prevê limites para contagem em placas de bactérias aeróbias mesófilas em pescado. Sendo assim, os valores encontrados não podem ser comparados a um padrão. Talvez na Legislação Brasileira não se tenha estabelecido um limite para este grupo de microrganismos, porque muitas vezes os resultados encontrados são inconsistentes. Agnese *et al.* (2001), por exemplo, relata que valores de microrganismos mesófilos superiores a 10⁶ UFC/g de carne de peixe são considerados críticos com relação ao grau de frescor. Entretanto, Lira *et al.* (2001) observa que alguns pescados que apresentaram número superior a 10⁶ UFC/g não estavam com seus caracteres sensoriais alterados, enquanto que outros com número inferior, na análise sensorial, eram desclassificados.

Portanto, de acordo com o resultado referente à análise de microrganismos mesófilos, evidenciou-se uma boa qualidade higiênico-sanitária, por estarem presentes em níveis inferiores 10⁶ UFC/g de peixe. As bactérias mesófilas são consideradas como índice de sanidade, e sua ausência indica que a manipulação e as condições de conservação foram adequadas (LIRA *et al.*, 2001).

Quanto à determinação de microrganismos psicrotrófilos (que tem grande influência sobre os caracteres organolépticos do pescado – visto que são organismos degeneradores em alimentos de origem animal), as duas amostras analisadas mostraram contagem para microrganismos psicrotrófilos em níveis superiores aos mesófilos. Este resultado não pode ser

comparado a nenhum padrão, pois a Legislação Brasileira não prevê limites para contagem padrão em placas.

Em estudo realizado por Cardoso, André e Serafini (2003), foi encontrado uma variação de $1,6 \times 10^3$ a $2,3 \times 10^7$ UFC/g de microrganismos psicrotróficos, em filés de peixe embalados e congelados. Já, Filho *et al.* (2002), ao analisar pescado *in natura*, obteve média de $5,2 \times 10^5$ e $7,7 \times 10^7$ UFC/g de microrganismos psicrotróficos. Valores superiores aos obtidos neste trabalho, que foram de $8,0 \times 10^4$ a $2,9 \times 10^5$ UFC/g de peixe.

Os resultados, observados na tabela 1, para contagem de microrganismos psicrotrófilos podem sugerir falhas de caráter higiênico-sanitário, já que as condições de armazenamento permitiram o desenvolvimento desta microbiota.

Quanto ao grupo dos coliformes totais, a Legislação não indica limites em pescado, mas, é importante analisar a presença deste grupo de microrganismos em alimentos, por estarem relacionados a sua qualidade higiênico-sanitária. Segundo Agnese *et al.* (2001), valores de coliformes totais acima de 50 a 100 NMP por grama de carne de pescado, é motivo suficiente para realizar um controle mais rígido relacionado à higiene de elaboração e comercialização deste produto nos estabelecimentos comerciais. Já para coliformes fecais o máximo permitido pela Legislação é de 10^2 NMP/g de peixe. Sua presença em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós-processo, evidenciando práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos.

Os resultados encontrados para coliformes totais, nas duas amostras de filé de tilápia, mostraram número inferior a 15 NMP/g de peixe. Destas amostras, nenhuma apresentou confirmação para coliformes fecais e, conseqüentemente, para *E. coli*.

Em estudos realizados por Gonçalves e Hernandez (1998), e ainda por Simões *et al.* (1998), verificam-se resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho, em que, ao analisar a qualidade microbiológica de pescado *in natura*, o mesmo não apresentou confirmação de coliformes fecais, tendo sido encontrado apenas coliformes totais.

Os resultados obtidos no presente trabalho são, *a fortiori*, satisfatórios, por se apresentarem dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente, sugerindo que tais produtos encontram-se apropriados para o consumo humano.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme citado por Spers (2003, p.xiv),

[...] a garantia da qualidade está ganhando em proeminência porque os atributos de qualidade estão sendo melhor monitorados por governantes, consumidores e companhias. Essa melhor avaliação sugere o aparecimento de garantias de qualidade voluntárias proporcionadas por companhias e de regulação pelo governo.

Foi neste contexto que esta pesquisa procurou avaliar a qualidade microbiológica do filé de tilápia comercializado em supermercados de Toledo/PR, haja vista que o peixe está entre os produtos de origem animal mais susceptível ao processo de deterioração, devido ao pH próximo a neutralidade, à elevada atividade de água nos tecidos e ao elevado teor de nutrientes. A questão foi, portanto, existe qualidade neste produto?

Como corolário, na realização da contagem padrão em placas apenas uma amostra da marca B não se mostrou contaminada por microrganismos mesófilos, enquanto que as bactérias aeróbias psicrotrófilas mostraram-se predominantes nas amostras A e B.

Todas as amostras apresentaram coliformes totais, sendo que nenhuma se mostrou positiva para coliformes fecais e *Escherichia coli* (*E. coli*).

Destaca-se que a marca B possui procedimentos industriais que atentam para a qualidade dos seus produtos na questão microbiológica, uma vez que não foram detectadas contaminações relevantes. Já a marca A mostrou índices de contaminação maiores.

Portanto, os resultados obtidos para as amostras avaliadas nos permitem concluir que as amostras de filé de tilápia analisadas encontravam-se em condições de consumo favoráveis, haja vista a não detecção da presença de coliformes fecais, apresentando-se, assim, dentro dos limites aceitáveis pela legislação vigente. Entretanto, é importante ressaltar que o manuseio do pescado (condição higiênico-sanitária) deve ser feito de forma criteriosa, o que exige cuidados, principalmente os relacionados com a obtenção, manipulação e conservação a frio por consumidores e companhias. Isto certamente contribuirá para a melhor qualidade deste produto, que deve ser seguro para quem produz, consome e para o meio ambiente, conforme ressalta Spers (2000).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNESE, A. P. *et al.* Contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e enumeração de coliformes totais e fecais, em peixes frescos comercializados no município de Seropédica – RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n 88, p. 67-70, set. 2001

AGRIDATA. **Alterações pós-morte do pescado.** 2004. Disponível em: <<http://www.agridata.mg.gov.br>>. Acesso em: 28 jul. 2004.

ANVISA – **Agência Nacional da Vigilância Sanitária.** Portaria CVS - 6/99, de 10/03/99. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 15 maio 1999.

BRASIL, Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria n° 451. **Diário Oficial da União.** Brasília, 22 set. 1997.

CARDOSO, N. L. C.; ANDRÉ, M. C. D. P. B.; SERAFINI, A. B. Avaliação microbiológica de carne de peixe comercializada em supermercados da cidade de Goiânia, GO. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n 109, p. 81-87, jun. 2003.

CHAVES, G. de L. D.; VILAS BOAS, É. B.; ESSER, J. V.; ALVES, P.; SHIKIDA, P. F. A. Notas sobre a qualidade da produção leiteira: um estudo de caso sobre a Coopavel. **Revista de Economia e Agronegócio**, Viçosa (MG), v. 2, n. 1, p. 93-113, jan./mar. 2004.

FILHO, E. S. A. *et al.* Características microbiológicas de "pintado" (*pseudoplatystona Fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre, no município de Cuiabá - MT. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 99 p. 84-88, ago. 2002.

FOOD. Pescado. In: **Revista Food Ingredients.** n. 25, p. 39, 2003.

FRANCO, B. D. G. M; LAMDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2003.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2001.

FRITSCH, J. **A hora e a vez do peixe.** Disponível em: <<http://www.higienealimentar.com.br>>. Acesso em: 08 jun. 2004.

GERMANO, P. M. L. *et al.* **Aspecto de qualidade do pescado de relevância em saúde pública.** Disponível em: <<http://www.bichonline.com.br>>. Acesso em: 08 jun. 2004.

GONÇALVES, A.; HERNANDEZ, C. P. Defumação líquida da anchova (*pomatus saltatrix*) efeito do processamento nas propriedades químicas e microbiológicas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol. 18, p. 438, 1998.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial.** Jundiaí: F. Kubitza, 2000.

INTERNATIONAL STANDARD ORGANIZATION. **Iso Management Systems.** Disponível em: <www.iso.ch/iso/en/ISOOnline.openpage>. Acesso em: 13 abr. 2005.

JUNQUEIRA, A. H. Tendências e desafios da distribuição de produtos hortícolas no Brasil. **Revista Preços Agrícolas**, Piracicaba: Esalq, v. 151, p. 05-11, maio 1999.

LIRA, G. M. *et al.* Avaliação da qualidade de peixes comercializados na cidade de Maceió - Al. **Revista Higiene Alimentar**, v. 15, n. 84, p. 67-74, maio 2001.

MARTINS, J. P. **Capacidades tecnológicas da Fiasul Indústria de Fios Ltda (Toledo-PR).** Toledo, 2004. 98 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Agronegócio) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2004.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Produção brasileira.** Disponível em: <<http://www.mercadodapesca.com.br>>. Acesso em: 01 ago. 2004.

OCEANUS. **Conservação do pescado e resfriamento.** Disponível em: <<http://www.oceanus.eng.br>>. Acesso em: 10 jun. 2004.

OLIVEIRA, E. R. N. **Deterioração do frescor.** Apostila da disciplina de Qualidade do pescado. Toledo, 2004.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2001.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 1997.

SIMÕES, D. R. S., *et al.* Hambúrgeres formulados com base protéica de pescado. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v. 18, p. 414, 1998.

SPERS, E. E. Qualidade e segurança em alimentos. In: **Economia e gestão dos negócios agroalimentares.** ZYLBERSZTAJN, D.; NEVES, M. F. (Orgs.). São Paulo: Pioneira, 2000. p. 283-321.

SPERS, E. E. Mecanismos da regulação da qualidade e segurança em alimentos. São Paulo, 2003. 136f. Tese (Doutorado) – FEA/USP, 2003.