

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Coordenação de Engenharia Química/CCET

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC



NEUZIVETTE CAMARA ABECASSIS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PEIXE-PEDRA
GENYATREMUS LUTEUS CONSERVADO EM GELO.**

São Luís

2021

NEUZIVETTE CAMARA ABECASSIS

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PEIXE-PEDRA
GENYATREMUS LUTEUS CONSERVADO EM GELO.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado de Curso da Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do diploma de Graduação em Engenharia Química.

Orientador: Prof^º Dr^ª Maria da Glória Almeida Bandeira

São Luís

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Abecassis, Neuzivette Camara. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO PEIXE-PEDRA GENYATREMUS LUTEUS CONSERVADO EM GELO / Neuzivette Camara Abecassis. - 2021. 61 f. Orientador(a): Maria da Glória Almeida Bandeira. Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021. 1. Bactérias. 2. Frescor. 3. Genyatremus Luteus. 4. Qualidade. I. Bandeira, Maria da Glória Almeida. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO**BANCA EXAMINADORA:**

Prof^ª. Dr^ª. MARIA DA GLÓRIA ALMEIDA BANDEIRA
Orientador – DETEQ/CCET/UFMA

Prof. Dr. HARVEY ALEXANDER VILLA VELEZ
DEEQ/CCET/UFMA

Prof. Dr^ª. DIANA MARIA CANO HIGUITA
DEEQ/CCET/UFMA

01 de março de 2021

DADOS CURRICULARES**Neuzivette Camara Abecassis**

NASCIMENTO 20/07/1993 – SÃO LUÍS / MA

FILIAÇÃO Moysés Ibiapina Abecassis
Ivandecy de Assunção Cutrim Camara

2014/2021 Curso de Graduação
Engenharia Química - Universidade Federal do Maranhão

*Dedico este trabalho a minha mãe por sempre investir na
minha educação e acreditar no meu potencial.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pela vida que Ele me concedeu e por todo o amor que Ele me proporciona todos os dias.

Agradeço a minha mãe Ivandecy de Assunção Cutrim Camara (Vanda) por todo o esforço investido na minha educação e conselhos durante essa jornada, sem seu apoio e insistência na minha educação eu nunca teria conseguido! Te amo, mãe. Obrigada por nunca desistir de mim.

Ao meu falecido pai Moyses Ibiapina Abecassis, que não me deixou lembranças ruins, apenas momentos maravilhosos.

A minha orientadora Maria da Glória pelas valiosas contribuições dadas durante esse trabalho, pelo incentivo e dedicação do seu escasso tempo.

Ao meu marido Lucas Weba por todo apoio, amor e compreensão a minha dedicação ao projeto de pesquisa.

Aos amigos que a graduação me proporcionou e me ajudaram de forma excepcional durante essa jornada, Jardel, Alinne, Layrton, Nathália Lima, Emílio, Julles, Marcos Paulo, Saulo, Yuri Brandão, Vinicius, Ronaldo, Levi, Gabriella, Ruth e Adones.

Em especial ao meu amigo Luís Germano (in memoriam) que nunca se recusou a tirar dúvidas durante a nossa graduação, e foi meu companheiro em vários cafés da manhã no “cabanhas”.

Aos amigos que a vida me proporcionou, Dennis, Jeovan, Murillo, Matheus Nicolau, Bruno João, Matheus Gusmão, Nicolas e Richards.

Ao grupo IDX por me proporcionar um ambiente de confiança, amizade e amigos que eu posso contar para qualquer momento da vida.

Ao grupo Alquimistas onde eu sempre posso encontrar palavras de incentivo e abriga amigos maravilhosos

“Levante a cabeça e prossiga com a sua vida, você tem suas próprias pernas para poder andar, então use-as!”

Edward Elric – Fullmetal Alchemist

ABECASSIS, NEUZIVETTE CAMARA. **Avaliação microbiológico do Peixe-Pedra *Genyatremus Luteus***. 2020. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

RESUMO

A conservação em gelo destaca-se como um dos mais econômicos, simples e adequados meios para manter o frescor do pescado. O estudo avaliou as alterações microbiológicas do *Genyatremus luteus*, eviscerado e não eviscerado, através das análises organolépticas pelo Método de Índice de Qualidade (MIQ) e presença de coliformes totais, termotolerantes e bactérias psicrófilas. Para a realização das análises microbiológicas, foram coletadas 18 amostras do peixe, sendo 9 evisceradas e 9 não evisceradas oriundas de três feiras livres do município de São Luís, durante os meses de outubro e novembro de 2019. Foram realizadas análises nos dias um, quatro e sete com o objetivo de avaliar o potencial do gelo em manter o frescor do pescado. O peixe não eviscerado apresentou o maior índice de microrganismos e bactérias psicrófilas, onde a feira B se destacou pelos valores mais elevados, sendo a quantidade inicial de coliformes totais do primeiro ao sétimo dia de 15,0 NMP/g, 240NMP/g e $1,1 \times 10^3$ NMP/g. Para os microrganismos termotolerantes iniciou-se com 15NMP/g, 460NMP/g e 460NMP/g. As bacterias psicrófilas também formaram um maior número de colônias no peixe não eviscerado, sendo $1,68 \times 10^5$ UFC/g na diluição de 10^{-2} e $4,92 \times 10^5$ UFC/g na diluição 10^{-3} no primeiro dia e no quarto dia $2,47 \times 10^5$ UFC/g a 10^{-2} e $1,48 \times 10^6$ UFC/g a 10^{-7} a análise da placa do sétimo dia foram consideradas “incontáveis”. Com o estudo observamos que o peixe com o melhor estado de conservação em gelo foi o eviscerado, mantendo sua qualidade microbiológica própria para o consumo até o quarto dia.

Palavras-chave: *Genyatremus Luteus*, Bactérias, Qualidade, Frescor

ABECASSIS, NEUZIVETTE CAMARA. **Microbiological Avaluation of Stone-Fish *Genyatremus Luteus***. 2020. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso de Engenharia Química do Centro de Ciências Exatas e Tecnologia da Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019.

ABSTRACT

Ice conservation stands out as one of the most economical, simple and suitable ways to maintain the freshness of the fish. The study evaluated the microbiological alterations of the eviscerated and uneviscerated *Genyatremus luteus*, stored in ice, through organoleptic analyzes by the Quality Index Method (MIQ) and the presence of total, thermotolerant coliforms and psychrotrophic bacteria. For the microbiological analysis, 18 fish samples were collected, 9 eviscerated and 9 uneviscerated from three free markets of São Luís, during October and November 2019. Analyzes were performed on days one, four and seven to evaluate the potential of ice to maintain the freshness of the fish. The uneviscerated fish presented the highest index of microorganisms and psychotropic bacteria, where the fair B stood out for the highest values, and the initial number of total coliforms from the first to the seventh day were 15.0 NMP/g, 240 NMP/g and 1×10^3 NMP/g. For thermotolerant microorganisms it started with 15NMP/g, 460 NMP/g and 460 NMP/g. psychrophilic bacteria also formed a larger number of colonies in uneviscerated fish, with 1.68×10^5 CFU / g at 10^{-2} dilution and 4.92×10^5 CFU / g at 10^{-3} dilution on day one and day 4.47×10^5 CFU/g at 10^{-2} and 1.48×10^6 UFC/g at 10^{-7} the seventh-day plaque analysis was considered “untold”. With the study we observed that the fish preserved in ice, gutted, maintained its microbiological quality suitable for consumption until the seventh day and the proper freshness also for seven days.

Keywords: *Genyatremus Luteus*, Bacteria, Quality, Freshness

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Carapau em diferentes dias de conservação no gelo. Fonte: Nunes, Batista e Cardoso (2007).	11
Figura 2 - Esquema para avaliação do carapau. Nunes, Batista e Cardoso (2007)	11
Figura 3 - Peixe-Pedra <i>Genyatremus Luteus</i>	14
Figura 4 - Amostras de <i>Genyatrmus Luteus</i> (Peixe Pedra) adquiridas em feiras livres de São 15	
Figura 5 – <i>Genyatremus Luteus</i> armazenado em caixa isotérmica na proporção de 1:1.....	16
Figura 6- Caldo caldo lauril após o processo de fermentação.....	17
Figura 7 – Caldo Verde Brillhante.....	18
Figura 8 - Caldo EC fermentado.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição Nutricional do Peixe-pedra <i>Genyatremus luteus</i> Eviscerado Conservado em Gelo	6
Tabela 2 - Número mais provável por grama (NMP/g) para 3 tubos com os inóculos de 0,1, 0,01 e 0,001 ml e os respectivos intervalos de confiança a 95% em Oliveira 2016.....	19
Tabela 3 - – Método de Índice de Qualidade (MIQ).	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 Objetivo geral	4
2.2 Objetivos específicos	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 A pesca artesanal no Estado do Maranhão	5
3.1 O Pescado	5
3.1.2 Composição química e valor nutricional do pescado	5
3.1.2 Microbiologia do Pescado	7
3.2 Métodos de Controle de Qualidade do Pescado	8
3.2.1 Micro-organismos indicadores	8
3.2.2 Coliformes Totais	8
3.2.3 Coliformes Termotolerantes	9
3.2.4 Método do Índice de Qualidade.....	10
3.3 Contaminação de peixes por microrganismos de origem fecal	12
3.4 A importância da qualidade do gelo na conservação do pescado.....	13
3.5 Transmissão de doenças pelo consumo de pescado	13
3.7 Peixe-Pedra, <i>Genyatremus Luteus</i> (BLOCH, 1790).....	14
4 MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 Coleta das Amostras	15
4.2 Análises microbiológicas em peixes eviscerado e não eviscerado.....	16
4.3 Preparo da amostra para análise microbiológica	16
4.4 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes.	16
4.5 Contagem total de microrganismos psicrófilos em placas	19
4.6 Análise organoléptica	20
(ARTIGO PUBLICADO)	22
5 CONCLUSÃO	45
6 REFERÊNCIAS	45

1 INTRODUÇÃO

Há muito tempo o pescado faz parte da dieta alimentar do brasileiro, sendo uma rica fonte de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais. Além de apresentar baixo teor de colesterol (SANTOS ET AL, 2019). O Peixe-pedra *Genyatremus luteus* é uma das principais espécies comercializadas no Maranhão, sendo bastante apreciado pela população servindo como fonte de renda e alimento.

A pesca no litoral do Maranhão destaca-se pela dominância da categoria artesanal e de subsistência, RAMOS (2008) diz que esse tipo de prática contribui de forma significativa para incrementar a economia local, com a identidade e o fortalecimento social no sistema de crenças e valores agregados na atividade pesqueira. Nas pescas artesanais realizadas na Bahia de São Marcos destacam-se várias espécies de importância econômica. A espécie *Genyatremus Luteus*, sobressai-se devido a sua grande abundância e apreciação pela população (ALMEIDA,2005).

O pescado é um alimento diferenciado dos outros por inúmeras razões. Uma delas é por rapidamente perder suas características sensoriais, pois apresenta pH próximo da neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, alto teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos microrganismos, acentuado teor de fosfolipídios e rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e nas vísceras do peixe (SOARES E GONÇALVES, 2012). Se forem acrescidos a essas modificações fatores externos como: captura do pescado em águas poluídas, qualidade da cadeia do frio, manuseio e transporte inadequados, menor será o tempo de conservação do pescado. Dessa forma surge a necessidade da observação do trinômio tempo x higiene x temperatura para que o crescimento microbológico seja retardado (VIEIRA,2004).

A vida útil dos produtos alimentícios refere-se ao intervalo de tempo em que o produto pode ser conservado em determinadas condições de temperatura, umidade relativa, luminosidade, oxigênio etc., de forma a garantir seus atributos sensoriais e nutricionais. No entanto, durante esse período ocorrem reações de deterioração da qualidade (GONÇALVES,2011). No intervalo decorrido da captura até o processamento ou comercialização, o pescado fica sujeito a perdas de qualidade (físico-química, sensorial e microbiológica) devido às condições de armazenamento a bordo e à natureza da sua composição, podendo haver alterações que resultam em alterações sensoriais (SOARES E GONÇALVES, 2012).

Existe uma preocupação em relação à qualidade dos alimentos e ao conhecimento das condições higiênico-sanitárias durante a sua produção, dessa forma para garantir a segurança do consumidor, medidas de prevenção e controle devem ser adotadas em todas as etapas de sua cadeia produtiva (SEIXAS et al., 2008). Como a pesca do peixe pedra é bastante difundida no Maranhão é necessário que haja estudos que abordem as características higiênico-sanitárias desse produto após desembarque.

A percepção sensorial é um método consagrado pelo tempo e de grande confiabilidade para a avaliação do frescor do pescado. As informações colhidas pela análise sensorial devem ser acrescidas aos dados obtidos pelas análises físico químicas e microbiológicas, a fim de fornecer os dados completos sobre a qualidade do produto (GONÇALVES, 2012). Para o consumidor os principais fatores determinantes da qualidade do pescado, referem-se à aparência e ao frescor que possibilitam visualizar o grau de deterioração.

O gelo possui grande poder refrigerante, conserva o brilho e a umidade dos animais e evita a desidratação, que ocorreria se fosse utilizado ar frio por isso se destaca como o meio mais comum, simples e conveniente para o resfriamento do pescado (MACHADO, 1984; MADRID & PHILIPS, 2000). Durante a estocagem do pescado em gelo o produto deve ser manipulado o mínimo possível. A média de duração em gelo fica em torno de sete dias (TONINI, 2011). De acordo com OETTERER (2002) a vida útil média de um peixe a 0°C é de oito dias, a 22°C de um dia e a 38°C de 12 horas.

Dessa forma, para assegurar que um alimento seja preparado de modo a garantir a segurança do consumidor, medidas de prevenção e controle devem ser adotadas em todas as etapas de sua cadeia produtiva (Seixas et al., 2008).

O gelo utilizado para conservação de alimentos pode ser um importante veículo de contaminação microbiana para o pescado, sendo que, no Brasil, já se observou a baixa qualidade do gelo utilizado na refrigeração, devido à presença de grandes quantidades de microrganismos (PIMENTEL, 2001).

Diante do risco potencial da transmissão de doenças de veiculação hídrica através do consumo de gelo contaminado, a diretoria do Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria da Saúde preconiza que todo gelo destinado ao consumo humano ou que entre em contato com alimentos deverá ser fabricado a partir de água que atenda ao padrão de potabilidade estabelecido, sendo cloro residual livre entre 0,5 e 2,0 ppm; pH de 6,0 a 9,5; turbidez menor que 2,0 NTU; contagem de mesófilos de no máximo $5,0 \times 10^2$ UFC/mL e ausência de coliformes/100 mL de água analisada (BRASIL, 2004).

Segundo SCHERER et al. (2004), o uso do gelo clorado é efetivo na redução da

contagem de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos na carne, ampliando em aproximadamente três dias a vida de prateleira de pescados armazenados inteiros sob refrigeração. Porém, nem sempre o gelo utilizado na conservação de alimentos apresenta qualidade satisfatória, como pode ser verificado em diversos trabalhos descritos na literatura científica (NICHOLS et al., 2000; LATEEF et al., 2006).

Devido a existência de uma relação direta entre a diminuição do frescor e o aumento da deterioração é que se faz relevante realizar uma avaliação da qualidade microbiológica dos produtos oriundos da pesca e do seu meio de conservação, a fim de obter parâmetros qualitativos, possibilitando uma análise correta do frescor do alimento. (SYKES et al., 2009; BORGES et al., 2014)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar as alterações bacteriológicas do peixe-pedra (*Genyatremus Luteus*) eviscerado e não eviscerado conservado em gelo.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a contagem padrão em placas (CPP) de bactérias psicrófilas através do método pour plate;
- Realizar a contagem de coliformes totais e fecais (termotolerantes) através do número mais provável (NMP);
- Avaliar as características organolépticas como: cor, odor, textura, guelras, olhos, segundo o Método MIQ.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A pesca artesanal no Estado do Maranhão

A pesca no litoral do estado do Maranhão é artesanal, com uma produção pesqueira média anual de 54.000 toneladas no período de 1950 a 2010. O Estado é considerado um dos principais produtores de pescado das regiões Norte/Nordeste do Brasil (MPA, 2010).

A linha de costa a sudoeste da foz do Amazonas apresenta uma grande quantidade de reentrâncias formando baías e estuários ligados por canais. Essas reentrâncias estendem-se até o Maranhão, onde se encontram extensas áreas de praias e manguezais. Essas características naturais facilitam o aparecimento de uma maior diversidade de peixes, caracterizando esses locais como estratégicos para a prática da atividade pesqueira, que na região é basicamente artesanal. (Santos, et al 2010).

Esse tipo de pescaria fornece alimento e emprego para um grande número de pessoas, especialmente nos países tropicais e/ou em desenvolvimento, contribuindo em até 60% da produção pesqueira marinha do Brasil e 95% da produção maranhense (Begossi, 2004, Almeida et. al., 2006).

No Estado do Maranhão mais de 47 mil pescadores vivem exclusivamente da pesca artesanal, que é uma atividade limitada quando comparada à pesca industrial, mas que tem papel fundamental na geração mão-de-obra e de renda para milhares de famílias maranhenses. (Santos, et al (2010)

3.1 O Pescado

3.1.2 Composição química e valor nutricional do pescado

O consumo de carne de peixe tem tido um crescimento considerável nos últimos anos, isso se deve aos inúmeros benefícios à saúde humana. Segundo Okada (1999), a proporção da parte comestível do pescado varia, amplamente com as espécies. Os valores médios para peixes, crustáceos e moluscos variam entre 70 a 85% de água, 20 a 25% de proteínas, 1,0 a 10% de gordura, 0,1 a 1,0 % de carboidratos e 1,0 a 1,5% de minerais.

A caracterização da composição química do pescado é uma ferramenta importante para a determinação de sua vida útil, garantindo seu consumo seguro (ALBUQUERQUE et al., 2004; SOCCOL et al., 2005). Inúmeros fatores podem influenciar a composição química do peixe:

fatores genéticos, morfológicos (tamanho e forma), fisiológico (migração e desenvolvimento gonadal), climas, estação dos anos, abundância e tipo de alimentação.

Os profissionais da saúde têm recomendado a inclusão do peixe na dieta das pessoas pelo fato da gordura do pescado ser rica em ácidos graxos poli-insaturados, de grande importância para prevenção de desordens cardiovasculares (BEIRÃO et al, 2004); e outras, como psoríase, artrite e câncer (VISENTAINER et al, 2003).

O músculo do pescado pode conter 60 a 85% de umidade, aproximadamente 1 a 2% de cinzas, 0,3 a 1% de carboidratos e 0,6 a 36% de lipídeos. e acordo com (MUR et al, 2007), o valor calórico dos peixes como alimento depende do teor de gordura; assim, tem-se: peixes magros, com menos de 1% de gordura: bacalhau (0,14%), carpa (0,5%), pescada (0,6%), truta (0,7%), linguado (0,8%) e outros; peixes meio gordos, com 7% a 8% de gordura: salmão, arenque, cavala, congrio e outros; peixes gordos, com mais de 15% de gordura: atum, enguia e outros. Segundo Sara (2018) o peixe-pedra é caracterizado por ser um peixe magro variando de 1,78% a 1,11% de gordura (tabela 1).

Tabela 1 - Composição Nutricional do Peixe-pedra *Genyatremus luteus* Eviscerado Conservado em Gelo

PARÂMETROS	DIA 1	DIA 7	DIA 14
UMIDADE	76,33±1,6	83,78±1,0	88,03±1,3
RMF	1,78±0,2	1,67±0,2	1,29±0,08
LIPÍDIOS	1,78±0,2	1,56±0,03	1,11±0,3
PROTEÍNAS	19,18±0,5	11,81±0,3	8,41±0,8
CARBOIDRATOS	1,13±0,3	1,18±0,5	1,16±0,3
VALOR ENERGÉTICO	96,86±0,9	66,00±1,1	48,35±0,9

±Desvio-padrão calculado para as amostras calculadas em triplicata.

Fonte: Santos (2018)

Os alimentos marinhos se constituem em uma rica fonte de micronutrientes, minerais, ácidos graxos essenciais e, em especial, proteínas (FAO, 2007). A proteína do pescado é muito semelhante à proteína de animais de sangue quente, do ponto de vista qualitativo, com balanceamento de aminoácidos essenciais comparável à proteína padrão da FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, sendo especialmente rica em lisina (BEIRÃO et al, 2004).

O consumo de peixes é recomendado pelos médicos desde longa data pela sua alta digestibilidade e alto valor nutricional. Um peixe leva mais ou menos 2 horas apenas para ser digerido. Eles estimulam mais a secreção gástrica do que a carne bovina. Tem baixo teor de tecido conectivo o que facilita a mastigação. A digestibilidade média é de 96%, sendo para aves 90% e para bovinos 87%. Os aminoácidos isoleucina e lisina iniciam a digestão. Em dietas pobres nestes aminoácidos os peixes exercem especial significância (OETTERER, 1998 b).

3.1.2 Microbiologia do Pescado

O pescado pode albergar agentes microbianos e ser contaminado ou ter multiplicado a flora microbiana inicial, em qualquer um dos segmentos da cadeia produtiva. (FARIAS, 2008). O peixe como qualquer outro alimento, tem sua microbiota própria e sofrerá alterações, dependendo de alguns fatores externos, tais como a contaminação de seu habitat, seja ele estuário, lacustre ou marinho, através de esgotos e cursos de água poluída. Algumas bactérias são típicas de ambientes de água doce e outras de água salgada (VIEIRA et al., 2004; FRANCO E LANDGRAF, 2004; JAY, 1996; FRAZIER E WESTHOFF, 1993).

As reações enzimáticas que ocorrem nos tecidos dos pescados após a sua morte produzem várias substâncias nitrogenadas não-proteicas (aminoácidos livres, creatina, ureia e óxido de trimetilamina), que serão utilizadas pelas bactérias (FRANCO & LANDGRAF, 2004; JAY, 1996; FRAZIER & WESTHOFF, 1993).

Logo após ser capturado o pescado sofre uma série de modificações bioquímicas, as quais poderão favorecer o crescimento e a multiplicação das bactérias, naturalmente presentes na sua microbiota. Se forem acrescidos a essas modificações fatores externos tais como: captura do pescado em águas poluídas, falta de condições ideais de refrigeração, manuseio e transporte, menor será o tempo de conservação do pescado (VIEIRA *et al.*, 2004; BANDEIRA, 1994).

No Brasil, a Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, define os critérios e padrões microbiológicos para alimentos expostos à venda e a exportação. As bactérias sobre as quais a Legislação estabelece limites quase sempre não alteram a aparência do pescado, pois a razão de suas limitações decorre destas serem patogênicas ao homem e não deterioradoras do produto (BANDEIRA, 2009)

3.2 Métodos de Controle de Qualidade do Pescado

3.2.1 Micro-organismos indicadores

A poluição hídrica é um dos grandes problemas ambientais da atualidade, e está comumente associada com a descarga de efluentes domésticos, industriais ou agrícolas (MASON, 1996). Microrganismos indicadores de contaminação tem sido utilizado há décadas para avaliar, monitorar e controlar a qualidade da água, e este monitoramento é um procedimento importante na proteção dos ecossistemas aquáticos.

A utilização de microrganismos indicadores é extremamente útil, principalmente para a avaliação de impactos ambientais decorrentes de descargas pontuais dos diferentes tipos de efluentes, sendo possível monitorar as estações de amostragem a montante, no local do lançamento e a jusante da fonte poluidora (CALLISTO ET AL., 2003).

A presença de microrganismos patogênicos na água, geralmente está relacionada à poluição dos corpos hídricos por fezes humanas e de animais, provenientes de águas residuárias urbanas e rurais. Sendo assim, o uso de indicadores de contaminação fecal torna-se o melhor para avaliar a qualidade microbiológica da água (GONZALEZ ET AL., 1982).

As bactérias do grupo dos coliformes são comumente utilizadas como indicadores microbiológicos da presença de fezes no ambiente, sendo a contagem de coliformes termotolerantes ou *Escherichia coli* comumente utilizada para monitorar a qualidade das águas recreativas ou potáveis (Brasil, 2005). Outro grupo de bactérias, como *Enterococcus* sp., também é utilizado para avaliar a qualidade das águas marinhas e salobras, pois a ausência de *E.coli* não significa que não possam existir outros grupos de patógenos de origem fecal (CETESB, 2001).

3.2.2 Coliformes Totais

O grupo de coliformes totais inclui todas as bactérias na forma de bastonetes gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. (HITCHINS Et al., 1996).

O grupo inclui cerca de 20 espécies, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas, como *Serratia* e *Aeromonas*, por exemplo. Devido a isso, sua enumeração em água e alimentos é menos representativa, como

indicação de contaminação fecal, do que a enumeração de coliformes fecais ou E.coli. No entanto, sua presença em alimentos processados é considerada uma indicação útil de contaminação pós-sanitização ou pós processo, evidenciando práticas de higiene e sanificação fora dos padrões requeridos para o processamento de alimentos. (SILVA E JUNQUEIRA, 1995).

Os Coliformes Totais, sem dúvida alguma, não são e nem devem ser, definitivamente, usados como parâmetro único ou essencial de avaliação das condições sanitárias de ambientes aquáticos, embora, devido à sua simplicidade de processamento e larga documentação de uso essa variável deverá ainda continuar sendo aplicada, indicando parâmetros em avaliações dos processos de tratamento e da integridade das unidades de distribuição dos sistemas de abastecimento. A contagem dos chamados coliformes totais corresponde ao total de microrganismos "gram negativos" encontrados em uma amostra (RIBEIRO, 2004).

3.2.3 Coliformes Termotolerantes

Sua definição é a mesma de coliformes totais, porém, restringe-se aos membros capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24h a 44,5-45,5°C. Esta definição objetivou, em princípio, selecionar apenas os coliformes originários do trato gastrointestinal. Atualmente, sabe-se, entretanto, que o grupo de coliformes fecais inclui pelo menos três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*.

A presença de coliformes indica contaminação por interferência externa do alimento, principalmente pelo microrganismo *Escherichia coli*, componente natural da flora intestinal humana. É a mais conhecida e a mais facilmente diferenciada dos microrganismos não fecais, sendo o melhor indicador de contaminação fecal conhecido (SILVA JÚNIOR, 2001). OLIVEIRA E COLABORADORES (2003), enfatizam que a pesquisa realizada com manipuladores de alimentos, que as condições higiênico-sanitárias do ambiente, qualidade da água, bem com a maneira de manipulação, influenciam diretamente na qualidade microbiológica do alimento.

3.2.4 Método do Índice de Qualidade

Os métodos físicos, químicos, bioquímicos e microbiológicos têm sido muito usados e são muito confiáveis pela sua objetividade. No entanto costumam ser demorados, destrutivos e dispendiosos, e nem sempre traduzem as alterações do pescado tal como são percebidas. Desse modo, tem sido comum recorrer cada vez mais a métodos sensoriais dada a facilidade e rapidez.

O método do índice de qualidade, cuja a sigla é (QMI) procura ultrapassar as dificuldades surgidas na aplicação das tabelas europeias. Esse método foi desenvolvido em meados de 1980 na Tasmanian Food Research Unit (GERMANO 2008).

O MIQ é baseado em características bem definidas de odor, aparência e textura que mudam com o tempo de armazenamento. Para avaliação do grau de frescor do peixe inteiro, a partir de um determinado lote homogêneo, sendo no mínimo 3 amostras. Onde as alterações que ocorrem no pescado como a forma dos folhos, pele e cor das guelras, serão atribuídos pontos de 0 a 3 para cada atributo de qualidade. Os resultados geram uma pontuação global final, o Índice de Qualidade. Neste sistema não é dada maior importância a nenhum aspecto em particular, e, portanto, a avaliação não é baseada em apenas um atributo (MARTINSDÓTTIR et al., 2001).

Os principais atributos avaliados são:

- Aspecto Geral: relacionado à integridade e ao aspecto da pele, como brilho e cor.
- Textura da carne: avaliada pressionando com o dedo a parte dorsal do músculo
- Olhos: relacionado à cor e o formato
- Brânquias: levantando o opérculo, são avaliados odor, cor e aspecto do muco.
- Abdômen: relacionado à cor e o odor da carne no interior.

Como exemplo as figuras 1 e 2 que demonstram o estado de conservação e o esquema descrito por Nunes, Batista e Cardoso (2007) para carapau (*Trachurus trachurus*) conservado em gelo.



Figura 1 – Carapau em diferentes dias de conservação no gelo.

Fonte: Nunes, Batista e Cardoso (2007).

Critérios		Descritores	Pontos de Demérito
Aspecto Geral	Pigmentação	- Iridiscente, brilhante	0 <input type="checkbox"/>
		- Menos viva e brilhante	1 <input type="checkbox"/>
- Baça e ligeiramente amarelada		2 <input type="checkbox"/>	
Firmeza da carne	Firmeza da carne	- Muito firme, rígida	0 <input type="checkbox"/>
		- Firme, elástica	1 <input type="checkbox"/>
		- Ligeiramente mole	2 <input type="checkbox"/>
Olhos	Cor da pupila	- Preta-azulada viva	0 <input type="checkbox"/>
		- Preta enevoadada	1 <input type="checkbox"/>
		- Cinzenta, leitosa	2 <input type="checkbox"/>
	Forma	- Convexa	0 <input type="checkbox"/>
- Achatada, plana		1 <input type="checkbox"/>	
- Côncava, encovada		2 <input type="checkbox"/>	
Brânquias	Cor	- Vermelha púrpura	0 <input type="checkbox"/>
		- Vermelha acastanhada	1 <input type="checkbox"/>
		- Acastanhada	2 <input type="checkbox"/>
		- Castanha-descolorada	3 <input type="checkbox"/>
	Cheiro	- Algas, fresco	0 <input type="checkbox"/>
- Algas pouco intenso, metálico		1 <input type="checkbox"/>	
- Retva ou ligeiramente azedo		2 <input type="checkbox"/>	
- Azedo, rançoso	3 <input type="checkbox"/>		
Abdómen	Parede abdominal	- Firme, intacta	0 <input type="checkbox"/>
		- Pouco firme, mas ainda intacta	1 <input type="checkbox"/>
		- Mole, enrugada, ruptura	2 <input type="checkbox"/>
Índice de Qualidade (pontos de demérito)			0-16

Figura 2 - Esquema para avaliação do carapau. Nunes, Batista e Cardoso (2007)

Alguns fatores importantes podem influenciar no tempo de conservação do peixe, como: manuseio, qualidade da cadeia do frio após a captura, tipos de pesca, os métodos de evisceração e de sangria e também a época do ano e o local de captura. O tempo de vida útil de cada espécie pode ser estimado através da pontuação adquirida durante a análise do MIQ. Para isto, devem ser assumidas condições ótimas de armazenamento em gelo sem flutuações de temperatura (EMBRAPA 2011).

3.3 Contaminação de peixes por microrganismos de origem fecal

A penetração e estabelecimento de microrganismos nos diferentes tecidos e órgãos dos peixes, tais como tubo digestivo, brânquias, músculo, rim, fígado e bexiga natatória está diretamente relacionada à microbiota da água onde ele vive (MOLLERKE et al., 2002). Assim, peixes capturados em ambientes poluídos por esgotos, dejetos e fezes, podem albergar microrganismos patogênicos existentes nestes tipos de poluentes (GUZMÁN et al., 2004).

Durante o beneficiamento, o peixe pode ser eviscerado, preparado em filés e postas, onde pode ocorrer contaminação se não forem adotadas boas práticas de manipulação, higienização e sanitização (HUSS et al., 2000). A água em contato com os alimentos de origem animal, inclusive a usada para higienização de equipamentos e indústrias, deve ter o mesmo padrão microbiológico e de potabilidade da água para consumo humano. As normas legais exigem que a água usada pelas indústrias apresente ausência de coliformes termotolerantes (Brasil, 2003).

Silva (2016), relaciona o grau de contaminação do rio Bacanga em São Luís (MA) com a qualidade microbiológica dos peixes e sururus capturados no local, e verificaram que os altos valores de coliformes totais e termotolerantes encontrados no estudo indicaram a presença de uma fonte poluidora constante no local e o perigo dos peixes provocarem infecções ou intoxicações ao consumidor. Sendo assim, os produtos de pesca oriundos de sistemas poluídos passam a ser importantes veículos de grande número de microrganismos, entre eles os patogênicos ao ser humano, sendo necessário o constante monitoramento destas áreas, bem como sua preservação em padrões aceitáveis de qualidade.

3.4 A importância da qualidade do gelo na conservação do pescado

O gelo empregado na conservação deve ser, preferencialmente, finamente triturado. O tamanho das escamas de gelo devem ser proporcionais ao tamanho das espécies que serão empregados para o resfriamento. Pois o gelo grosseiro poderá danificar o pescado, dilacerando os tecidos e possibilitando uma invasão bacteriana acelerada, além de possuir uma menor superfície de contato que poderá alterar a eficiência do resfriamento, facilitando a proliferação das bactérias e conseqüentemente a rápida deterioração (VIEIRA, 2003). A distribuição do gelo deve ser feita de forma uniforme, com camadas no fundo e nas laterais do recipiente. No caso de peixes eviscerados, o gelo deve também ser colocado na cavidade abdominal.

Segundo VIEIRA (2013) o gelo utilizado na conservação, deve ser de boa qualidade em relação ao aspecto bacteriológico, pois sua qualidade afetará diretamente a do pescado. Sua produção, armazenamento e utilização deverão ser feitos a modo de minimizar uma possível contaminação. Ainda segunda a autora, a água proveniente da fusão do gelo servirá para conservar úmida a parte externa do peixe e para lixiviar algumas bactérias, no entanto, essa água tornar-se-á contaminada, devendo ser drenada o mais rápido possível.

3.5 Transmissão de doenças pelo consumo de pescado

O número de bactérias do muco e pele de peixes marinhos varia de 100 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) e vários milhões/cm². O fluido intestinal pode conter de 10³ a 10⁸ UFC/mL e as guelras podem abrigar de 10³ a 10⁶ UFG/g. Esses números poderão ser reduzidos se o pescado for lavado. (GONÇALVES, 2012).

Os organismos responsáveis por alterações no pescado são considerados aqueles que produzem maus odores quando crescem em culturas puras no músculo estéril do peixe ou no seu suco prensado. As principais bactérias causadoras de deterioração no pescado são respectivas aos gêneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Micrococcus* e *Bacillus*. Outras bactérias presentes no pescado podem estar associadas ao aparecimento de doenças e são conhecidas como micro-organismos patogênicos. Pertencem a este grupo os coliformes, sendo a *Escherichia coli* a principal representante, os estafilococos, a salmonela e o vibrio causador da cólera (VIEIRA, 2003)

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) constituem um dos problemas de saúde pública mais frequentes do mundo contemporâneo. A DTA é causada por agentes biológicos,

químicos e físicos. Bactérias, vírus e parasitas são os agentes patogênicos biológicos. (SANTOS, 2010).

De acordo com Franco e Landgraf (2005) os microrganismos indicadores quando presente em alimentos fornecem informações sobre prováveis contaminações de origem fecal de presença de patógenos ou ainda sobre o potencial de deterioração do produto, além de indicarem se as condições sanitárias foram inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento, como principal indicador tem- se bactérias do grupo coliformes.

Considerando o aumento da oferta de pescado, é necessário verificar se a fiscalização sanitária acompanha o crescimento do número de estabelecimentos de comercialização do produto, pois segundo Silva et al. (2008), a falta de cuidados e controle durante o manuseio e conservação do pescado aumenta o risco do consumidor de adquirir uma doença transmitida por alimento.

A contagem de microrganismos indicadores é usada para avaliar a qualidade e inocuidade dos alimentos, sendo as contagens de coliformes totais e termotolerantes os indicadores mais utilizados para avaliar a contaminação fecal ou a qualidade higiênico-sanitária (FRANCO E LANDGRAF, 2003).

3.7 Peixe-Pedra, *Genyatremus Luteus* (BLOCH, 1790)

A família Haemulidae, anteriormente conhecida como Pomadasyidae, pertence à ordem Perciformes e inclui 17 gêneros e cerca de 145 espécies (Nelson, 2006). Entre elas o *genyatremus luteus* (figura 3). O Peixe-pedra possui distribuição que abrange desde abaixo das Antilhas passando pela costa norte da América do Sul da porção leste da Colômbia para o Brasil, habitando águas costeiras, especialmente estuários e lagunas, sobre fundos de lama, areia e pedras (Cervigón, 1966), sendo essa a origem do nome “Peixe-pedra”.

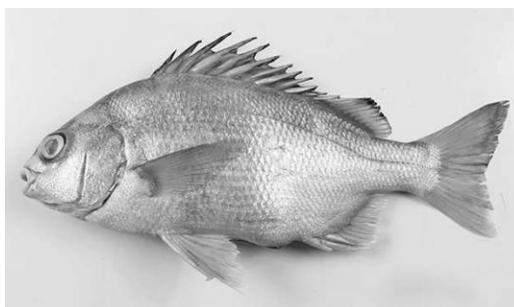


Figura 3 - Peixe-Pedra *Genyatremus Luteus*

FONTE: fishbase (2019)

É a única espécie do gênero *Genyatremus* encontrada (ou registrada) no Brasil (TAVERA et al., 2011). A comercialização ocorre principalmente nos estados do Pará e Maranhão, com uma renda estimada de R\$ 7 milhões. Gerada exclusivamente pela pesca artesanal, sendo a 5ª espécie de maior rendimento para o Estado. (SANTOS, 2010)

É caracterizada como uma espécie eurifágica e oportunista, ou seja, se alimenta por uma grande variedade de alimentos, sendo assim, sua alimentação é composta dos itens mais abundantes no ambiente (ALMEIDA, et al 2005). O peixe-pedra é uma importante fonte de alimento e renda, entretanto, mesmo sendo um recurso em potencial, poucos estudos foram desenvolvidos sobre as características da espécie.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta das Amostras

As amostras do peixe foram adquiridas em feiras livres do Município de São Luís, onde o critério de seleção para análise foi o frescor, com bom estado de conservação e sob presença de gelo (figura 4).

Após a coleta armazenou-se separadamente, peixe eviscerado e inteiro, em caixas isotérmicas entre camadas de gelo na proporção de 1:1, para então serem transportadas até o Laboratório de Tecnologia de Pescado, localizado no Pavilhão Tecnológico do Campus da Universidade Federal do Maranhão. (PCQA-UFMA)



Figura 4 - Amostras de *Genyatrmus Luteus* (Peixe Pedra) adquiridas em feiras livres de São Luís.

FONTE: Autor (2019)

4.2 Análises microbiológicas em peixes eviscerado e não eviscerado

O peixe pedra (*Genyatrmus Luteus*) foi armazenado em caixa isotérmica (figura 5), onde as análises foram realizadas nos dias 1, 4 e 7. A metodologia utilizada foi a de Silva et al (1995).



Figura 5 – *Genyatremus Luteus* armazenado em caixa isotérmica na proporção de 1:1

4.3 Preparo da amostra para análise microbiológica

Pesou-se 25g da amostra em 225 ml de água contendo 0,85% de Cloreto de Sódio (NaCl) e peptonada 0,1% (p/v) estéril. Homogenizou-se por 20 minutos, obtendo-se a primeira diluição 10^{-1} e a partir desta realizaram-se as demais 10^{-2} e 10^{-3} .

As análises microbiológicas realizadas foram: contagem total das bactérias psicrófilas, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes para o peixe inteiro e eviscerado. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados em gráficos e tabelas.

4.4 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes.

A técnica de Número Mais Provável (NMP) é um método que estima a densidade de micro-organismos viáveis presentes em uma amostra. A determinação do NMP de microrganismos é baseada no princípio de que, numa amostra líquida as bactérias podem ser separadas por agitação, resultando numa suspensão em que as células estejam uniformemente distribuídas. A comparação de tubos com crescimento positivo ou negativo, após a incubação,

permite estimar, por cálculo de probabilidade, a densidade original dos microrganismos na amostra (FENG et al., 2002).

a) Preparação das amostras e diluições seriadas

Para a determinação do NMP de coliformes, inoculou-se 1 ml de cada diluição em uma série de 3 tubos de ensaio contendo caldo lauril e tubos de Durham invertido, incubando-se durante 24 horas caso houvesse fermentação (figura 6) se não até 48 horas à 37°C. Após a incubação foi verificado os tubos positivos (com turvação e produção de gás nos tubos de Durham) e estes foram considerados prova presuntiva positiva para coliformes totais (FENG et al., 2002).



Figura 6- Caldo lauril após o processo de fermentação

FONTE: Autor

b) Inoculação

Alíquotas dos tubos positivos no caldo lauril foram transferidas, simultaneamente, para caldo verde brilhante (figura 7) a fim de confirmar a presença de coliformes totais e para caldo EC (figura 8) para a confirmação de coliformes termotolerantes. Os tubos contendo caldo verde

brilhante e tubos de Durham invertidos foram incubados a 37°C por 48 horas. A presença de gás indicou prova confirmatória positiva para coliformes totais. Os tubos contendo caldo *Escherichia coli* e tubos de Durham invertidos foram incubados em banho-maria a 45°C por 24 horas. A presença de gás indicou prova confirmatória positiva para coliformes termotolerantes. Através da Tabela 2 foi obtido o NMP de coliformes totais e de coliformes termotolerantes por grama da amostra (NMP/g) (FENG et al., 2002).



Figura 7 – Caldo Verde Brillante

FONTE: Autor



Figura 8 - Caldo EC fermentado

FONTE: Autor

Tabela 2 - Número mais provável por grama (NMP/g) para 3 tubos com os inóculos de 0,1, 0,01 e 0,001 ml e os respectivos intervalos de confiança a 95% em Oliveira 2016

Tabela para 3 tubos, cada um com inóculo de 0.1, 0.01 e 0.001 ml, os NMPs por grama e os intervalos de confiança a 95%.											
Tubos positivos			NMP/g	Limite de confiança		Tubos positivos			NMP/g	Limite de confiança	
0.10	0.01	0.001		Baixo	Alto	0.10	0.01	0.001		Baixo	Alto
0	0	0	<3.0	-	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	-

FONTE: Oliveira (2016)

4.5 Contagem total de microrganismos psicrófilos em placas

O método de contagem de microrganismos em placas é um método geral, que pode ser utilizado para a contagem de grandes grupos microbianos. Essa versatilidade é decorrente do princípio do método, que se baseia na premissa de que cada célula microbiana presente em uma amostra irá formar, quando fixada em um meio de cultura sólido adequado uma colônia visível e isolada. Variando o tipo de meio (meio de enriquecimento, meio seletivo, meio seletivo diferencial) e as condições de incubação (temperatura e atmosfera), é possível selecionar o grupo, gênero ou espécie que se deseja contar. Como as células microbianas muitas vezes ocorrem em agrupamentos, não é possível estabelecer uma relação direta entre o número de colônias e o número de células. A relação correta é feita entre o número de colônias e o número

de unidades formadoras de colônias (UFC), que podem ser tanto células individuais como agrupamentos característicos de certos microrganismos. (Silva et al, 1995).

a) Preparação das amostras e diluições seriadas

Seguiu-se o mesmo procedimento descrito no item 4.4

b) Inoculação

Para contagem total de bactérias psicrófilas inoculou-se 0,1 ml das diluições 10^{-2} e 10^{-3} , na superfície das placas contendo o meio de cultivo Agar Padrão para Contagem expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de amostra (UFC/g). A diluição 10^{-1} foi excluída dessa análise, devido a que em pescados esta tende a apresentar uma quantidade muito alta de colônias.

O inóculo fora depositado fora do centro da placa, a fim de facilitar a mistura com o meio de cultura.

c) Contagem das colônias e cálculo dos resultados

Com auxílio de uma lupa foi possível contar as colônias, em um contador de colônias. Calculou-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama da amostra multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada.

4.6 Análise organoléptica

As amostras foram submetidas a análises do frescor do peixe semanalmente, através da adaptação do Método de Índice de Qualizuneidade (MIQ), onde foram analisados em termos de aparência, odor e textura, através dos sentidos de visão, olfato e tato, conforme a Tabela 3

Tabela 3 - Método de Índice de Qualidade (MIQ).

Critérios		Pontos de Demérito	Descritores
Aparência Geral	Pele/Escamas	0	Brilhante, resplandecente
		1	Brilhante
		2	Opaca
	Textura/Dureza	0	Mole, em pré-rigor
		1	Duro, em rigor mortis
		2	Elástico
		3	Firme
	Elasticidade	4	Suave
		0	Não Marcado pela pressão
		1	Marcado pela pressão
		Odor	0
	1		Leve presença de "off-flavour"
2	Presença de "off-flavour"		
Olhos	Transparência	0	Claros
		1	Opacos
	Forma	0	Normal
		1	Planos
	2	Fundos	
Brânquias	Cor	0	Vermelho Característico
		1	Pálida, descolorida, marrom
	Odor	0	Fresca
		1	Neutro
		2	Ligeiramente Azedo
		3	Azedo
Índice de Qualidade (Pontos de Demérito)		0 - 16	

FONTE: Oliveira (2016)

(ARTIGO PUBLICADO)

Avaliação microbiológica do peixe-pedra *Genyatremus Luteus* conservado em gelo
Microbiological evaluation of the stone fish *Genyatremus Luteus* preserved in ice
Evaluación microbiológica del pescado piedra *Genyatremus Luteus* conservado en hielo

Recebido: 29/11/2020 | Revisado: 06/12/2020 | Aceito: 21/12/2020 | Publicado: 26/12/2020

Neuzivette Camara Abecassis

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1387-3180>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: neuzi.c@hotmail.com

Maria da Glória Almeida Bandeira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3083-4463>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: mgban10@yahoo.com.br

Resumo

A conservação em gelo destaca-se como um dos mais econômicos, simples e adequados meios para manter o frescor do pescado. O estudo avaliou as alterações microbiológicas do *Genyatremus luteus*, eviscerado e não eviscerado, através das análises organolépticas pelo Método de Índice de Qualidade (MIQ) e presença de coliformes totais, termotolerantes e bactérias psicrófilas. Para a realização das análises microbiológicas, foram coletadas 18 amostras do peixe, sendo 9 evisceradas e 9 não evisceradas oriundas de três feiras livres do município de São Luís, durante os meses de outubro e novembro de 2019. Foram realizadas análises nos dias um, quatro e sete com o objetivo de avaliar o potencial do gelo em manter o frescor do pescado. O peixe não eviscerado apresentou o maior índice de microrganismos e bactérias psicrófilas, onde a feira B se destacou pelos valores mais elevados, sendo a quantidade inicial de coliformes totais do primeiro ao sétimo dia de 15,0 NMP/g, 240NMP/g e 1,1x10³NMP/g. Para os microrganismos termotolerantes iniciou-se com 15NMP/g, 460NMP/g e 460NMP/g. As bacterias psicrófilas também formaram um maior número de colônias no peixe não eviscerado, sendo 1,68x10⁵ UFC/g na diluição de 10⁻² e 4,92x10⁵ UFC/g na diluição 10⁻³ no primeiro dia e no quarto dia 2,47x10⁵ UFC/g a 10⁻² e 1,48x10⁶ UFC/g a 10⁻⁷ e no sétimo dia foram consideradas “incontáveis”. Com o estudo observamos que o peixe com o melhor

estado de conservação em gelo foi o eviscerado, mantendo sua qualidade microbiológica própria para o consumo até o quarto dia.

Palavras-chave: Bactérias; Frescor; *Genyatremus Luteus*; Qualidade

Abstract

Ice conservation stands out as one of the most economical, simple and suitable ways to maintain the freshness of the fish. The study evaluated the microbiological alterations of the eviscerated and uneviscerated *Genyatremus luteus*, stored in ice, through organoleptic analyzes by the Quality Index Method (MIQ) and the presence of total, thermotolerant coliforms and psychrotrophic bacteria. For the microbiological analysis, 18 fish samples were collected, 9 eviscerated and 9 uneviscerated from three free markets of São Luís, during October and November 2019. Analyzes were performed on days one, four and seven to evaluate the potential of ice to maintain the freshness of the fish. The uneviscerated fish presented the highest index of microorganisms and psychotropic bacteria, where the fair B stood out for the highest values, and the initial number of total coliforms from the first to the seventh day were 15.0 NMP/g, 240 NMP/g and 1×10^3 NMP/g. For thermotolerant microorganisms it started with 15NMP/g, 460 NMP/g and 460 NMP/g. psychrophilic bacteria also formed a larger number of colonies in uneviscerated fish, with 1.68×10^5 CFU / g at 10-2 dilution and 4.92×10^5 CFU / g at 10-3 dilution on day one and day 4.47×10^5 CFU/g at 10-2 and 1.48×10^6 UFC/g at 10-7 the seventh-day plaque analysis was considered “untold”. With the study we observed that the fish preserved in ice, gutted, maintained its microbiological quality suitable for consumption until the seventh day and the proper freshness also for seven days.

Keywords: Bacteria; Freshness; *Genyatremus Luteus*; Quality

Resumen

La conservación del hielo se destaca como uno de los medios más económicos, sencillos y adecuados para mantener la frescura del pescado. El estudio evaluó los cambios microbiológicos de *Genyatremus luteus*, eviscerado y no eviscerado, mediante análisis organolépticos utilizando el Método del Índice de Calidad (MIQ) y la presencia de coliformes totales, termotolerantes y bacterias psicrófilas. Para realizar los análisis microbiológicos, se recolectaron 18 muestras de pescado, 9 de las cuales fueron evisceradas y 9 no evisceradas de tres mercados abiertos en el municipio de São Luís, durante los meses de octubre y noviembre de 2019. Los análisis se realizaron los días uno, cuatro y siete con el objetivo de evaluar el potencial del hielo para mantener la frescura del pescado. El pescado no eviscerado mostró el mayor índice de microorganismos y bacterias psicrófilas, donde la B justa se destacó por los valores más altos, con la cantidad inicial de coliformes totales del primer al séptimo día de 15.0 NMP / g, 240NMP / g, 1×10^3 NMP / g. Para los microorganismos termotolerantes, comenzó con 15NMP / g, 460NMP / gy 460NMP / g. Las bacterias psicrófilas también formaron un mayor número de colonias en el pescado no

eviscerado, con $1,68 \times 10^5$ UFC / g en la dilución 10-2 y $4,92 \times 10^5$ UFC / g en la dilución 10-3 el primer día y el cuarto día $2,47 \times 10^5$ UFC / ga 10-2 y $1,48 \times 10^6$ UFC / ga 10-7, el análisis de la placa del séptimo día se consideró “incontable”. Con el estudio observamos que el pescado con mejor estado de conservación en hielo fue el destripado, manteniendo su calidad microbiológica apta para el consumo hasta el cuarto día.

Palabras clave: Bacteria; Calidad; Frescura; *Genyatremus Luteus*

1. Introdução

Há muito tempo o pescado faz parte da dieta alimentar do brasileiro, sendo uma rica fonte de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais. Além de apresentar baixo teor de colesterol (Santos Et al, 2019). O Peixe-pedra *Genyatremus luteus* é uma das principais espécies comercializadas no Maranhão, sendo bastante apreciado pela população servindo como fonte de renda e alimento.

A pesca no litoral do Maranhão destaca-se pela dominância da categoria artesanal e de subsistência, Ramos (2008) diz que esse tipo de prática contribui de forma significativa para incrementar a economia local, com a identidade e o fortalecimento social no sistema de crenças e valores agregados na atividade pesqueira. Nas pescas artesanais realizadas na Bahia de São Marcos destacam-se várias espécies de importância econômica. A espécie *Genyatremus Luteus*, sobressai-se devido a sua grande abundância e apreciação pela população (Almeida,2005).

O pescado é um alimento diferenciado dos outros por inúmeras razões. Uma delas é por rapidamente perder suas características sensoriais, pois apresenta pH próximo da neutralidade, elevada atividade de água nos tecidos, alto teor de nutrientes facilmente utilizáveis pelos microrganismos, acentuado teor de fosfolipídios e rápida ação destrutiva das enzimas presentes nos tecidos e nas vísceras do peixe (Soares e Gonçalves, 2012). Se forem acrescidos a essas modificações fatores externos como: captura do pescado em águas poluídas, qualidade da cadeia do frio, manuseio e transporte inadequados, menor será o tempo de conservação do pescado. Dessa forma surge a necessidade da observação do trinômio tempo x higiene x temperatura para que o crescimento microbiológico seja retardado (Vieira,2004).

A vida útil dos produtos alimentícios refere-se ao intervalo de tempo em que o produto pode ser conservado em determinadas condições de temperatura, umidade relativa, luminosidade, oxigênio etc., de forma a garantir seus atributos sensoriais e nutricionais. No entanto, durante esse período ocorrem reações de deterioração da qualidade (Gonçalves,2011). No intervalo decorrido da captura até o processamento ou comercialização, o pescado fica

sujeito a perdas de qualidade (físico-química, sensorial e microbiológica) devido às condições de armazenamento a bordo e à natureza da sua composição, podendo haver alterações que resultam em alterações sensoriais (Soares e Gonçalves, 2012).

É necessário que haja uma importância em relação à qualidade dos alimentos e ao conhecimento das condições higiênicas durante a sua produção, a fim de viabilizar e garantir segurança do consumidor, é necessário que sejam implementadas medidas de prevenção e controle em todas as etapas de sua cadeia produtiva (Seixas et al., 2008). Como a pesca do peixe pedra é bastante difundida no Maranhão é necessário que haja estudos que abordem as características microbiológicas que interferem na qualidade sanitária desse pescado.

A percepção sensorial é um método consagrado pelo tempo e de grande confiabilidade para a avaliação do frescor do pescado. As informações colhidas pela análise sensorial devem ser acrescidas aos dados obtidos pelas análises físico química e microbiológicas, a fim de fornecer os dados completos sobre a qualidade do produto (Gonçalves, 2012). Para o consumidor os principais fatores determinantes da qualidade do pescado, referem-se à aparência e ao frescor que possibilitam visualizar o grau de deterioração.

O gelo possui grande poder refrigerante, conserva o brilho e a umidade dos animais e evita a desidratação, que ocorreria se fosse utilizado ar frio por isso se destaca como o meio mais comum, simples e conveniente para o resfriamento do pescado (Machado, 1984; Madrid & Philips, 2000). Durante a estocagem do pescado em gelo o produto deve ser manipulado o mínimo possível. A média de duração em gelo fica em torno de sete dias (Tonini, 2011). De acordo com Oetterer (2002) a vida útil média de um peixe a 0°C é de oito dias, a 22°C de um dia e a 38°C de 12 horas.

O gelo utilizado para conservação de alimentos pode ser um importante veículo de contaminação microbiana para o pescado, sendo que, no Brasil, já se observou a baixa qualidade do gelo utilizado na refrigeração, devido à presença de grandes quantidades de microrganismos (Pimentel, 2001).

Diante do risco potencial da transmissão de doenças de veiculação hídrica através do consumo de gelo contaminado, a diretoria do Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria da Saúde preconiza que todo gelo destinado ao consumo humano ou que entre em contato com alimentos deverá ser fabricado a partir de água que atenda ao padrão de potabilidade estabelecido, sendo cloro residual livre entre 0,5 e 2,0 ppm; pH de 6,0 a 9,5; turbidez menor que 2,0 NTU; contagem de mesófilos de no máximo $5,0 \times 10^2$ UFC/mL e ausência de coliformes/100 mL de água analisada (Brasil, 2004).

Segundo Scherer et al. (2004), o uso do gelo clorado é efetivo na redução da contagem

de microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos na carne, ampliando em aproximadamente três dias a vida de prateleira de pescados armazenados inteiros sob refrigeração. Porém, nem sempre o gelo utilizado na conservação de alimentos apresenta qualidade satisfatória, como pode ser verificado em diversos trabalhos descritos na literatura científica (Nichols et al., 2000; Lateef et al., 2006).

Devido a existência de uma relação direta entre a diminuição do frescor e o aumento da deterioração é que se faz relevante realizar uma avaliação da qualidade microbiológica dos produtos oriundos da pesca e do seu meio de conservação, a fim de obter parâmetros qualitativos, possibilitando uma análise correta do frescor do alimento. (Sykes et al., 2009; Borges et al., 2014).

2. Metodologia

2.1. Coleta de Amostras

As amostras do peixe foram adquiridas em feiras livres do Município de São Luís, onde o critério de seleção para análise foi o frescor, com bom estado de conservação e sob presença de gelo (figura 1).

Após a coleta armazenou-se separadamente, peixe eviscerado e inteiro, em caixas isotérmicas entre camadas de gelo na proporção de 1:1, para então serem transportadas até o Laboratório de Tecnologia de Pescado, localizado no Pavilhão Tecnológico do Campus da Universidade Federal do Maranhão. (PCQ-UFMA)

Figura 9-*Genyatremus Luteus* (Peixe-Pedra) Eviscerado e Inteiro



Fonte: Autores

2.2. Análises microbiológicas em peixes eviscerado e não eviscerado.

O peixe pedra (*Genyatrmus Luteus*) foi armazenado em caixa isotérmica (figura 2), onde as análises foram realizadas nos dias 1, 4 e 7. A metodologia utilizada foi a de APHA (2001).

Figura 10-*Genyatremus Luteus* conservado em gelo



Fonte: Autores

2.3. Preparo da amostra para análise microbiológica

Pesou-se 25g da amostra em 225 ml de água contendo 0,85% de Cloreto de Sódio (NaCl) e peptonada 0,1% (p/v) estéril. Homogenizou-se por 20 minutos, obtendo-se a primeira diluição 10^{-1} e a partir desta realizaram-se as demais 10^{-2} e 10^{-3} .

As análises microbiológicas realizadas foram: contagem total das bactérias psicrófilas, determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de coliformes termotolerantes para o peixe inteiro e eviscerado. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados em gráficos e tabelas.

2.4. Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes

A técnica de Número Mais Provável (NMP) estima a densidade de microrganismos presentes na amostra. Essa técnica se baseia no conceito de que em uma amostra líquida as bactérias após sofrerem agitação, podem ser separadas, ficando suspensas e distribuídas de maneira uniforme. (Feng et al., 2002).

2.4.1. Preparação das amostras e diluições seriadas

Nos coliformes foi inoculado 1 ml de cada diluição em uma série de 3 tubos de ensaio contendo caldo lauril e tubos de Durham invertido, incubando-se durante 24 horas caso houvesse fermentação (figura 3) se não até 48 horas à 37°C. Após esse período foi contatou-se tubos positivos (com turvação e produção de gás nos tubos de Durham), onde estes foram considerados prova presuntiva positiva para coliformes totais (Feng et al., 2002).

Figura 11-Caldo Lauril após o processo de fermentação



Fonte: Autores

2.4.2. Inoculação

Alíquotas dos tubos com resultado positivo no caldo Lauril foram transferidas para caldo verde brilhante (figura 4) a fim de confirmar a presença de coliformes totais. Da mesma forma, transferiu-se alíquotas para o caldo EC a fim de constatar a presença de coliformes termotolerantes (figura 8). Os tubos contendo caldo verde brilhante e tubos de Durham invertidos foram incubados a 37°C por 48 horas. A presença de gás indicou prova confirmatória positiva para coliformes totais. Os tubos contendo caldo Escherichia coli e tubos de Durham invertidos foram incubados em banho-maria a 45°C por 24 horas. (Feng et al., 2002).

Figura 12-Caldo Verde Brilhante após fermentação



Fonte: Autores

Figura 13- Caldo EC após fermentação



Fonte: Autores

2.5. Contagem de microrganismos totais em placa

O método de contagem de microrganismos em placas é um método geral, que pode ser utilizado para a contagem de grandes grupos microbianos. Essa versatilidade é decorrente do princípio do método, que se baseia na premissa de que cada célula microbiana presente em uma amostra irá formar, quando fixada em um meio de cultura sólido adequado uma colônia visível e isolada. Variando o tipo de meio (meio de enriquecimento, meio seletivo, meio seletivo diferencial) e as condições de incubação (temperatura e atmosfera), é possível selecionar o grupo, gênero ou espécie que se deseja contar. Como as células microbianas muitas vezes ocorrem em agrupamentos, não é possível estabelecer uma relação direta entre o número de colônias e o número de células. A relação correta é feita entre o número de colônias e o número de unidades formadoras de colônias (UFC), que podem ser tanto células individuais como agrupamentos característicos de certos microrganismos. (Silva et al, 1995).

2.5.1. Preparação das amostras e diluições seriadas

Seguiu-se o mesmo procedimento descrito no item 2.4

2.5.2. Inoculação

Para contagem total de bactérias psicrófilas inoculou-se 0,1 ml das diluições 10^{-2} e 10^{-3} , na superfície das placas contendo o meio de cultivo Agar Padrão para Contagem expressando o resultado em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por grama de amostra (UFC/g). A diluição 10^{-1} foi excluída dessa análise, devido a que em pescados esta tende a apresentar uma quantidade muito alta de colônias.

O inóculo fora depositado fora do centro da placa, a fim de facilitar a mistura com o meio de cultura

2.5.3. Contagem das colônias e cálculo dos resultados

Com auxílio de uma lupa foi possível contar as colônias, em um contador de colônias. Calculou-se o número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama da amostra multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada.

2.6. Análise organoléptica

As amostras foram submetidas a análises do frescor do peixe semanalmente, através da adaptação do Método de Índice de Qualidade (MIQ), onde foram analisados em termos de aparência, odor e textura, através dos sentidos de visão, olfato e tato, conforme a Tabela 1.

Tabela 4- Método do Índice de Qualidade

Critérios		Pontos de Demérito	Descritores
Aparência Geral	Pele/Escamas	0	Brilhante, resplandecente
		1	Brilhante
		2	Opaca
	Textura/Dureza	0	Mole, em pré-rigor
		1	Duro, em rigor mortis
		2	Elástico
		3	Firme
		4	Suave
	Elasticidade	0	Não Marcado pela pressão
		1	Marcado pela pressão
	Odor	0	Ausência total de "off-flavour"
		1	Leve presença de "off-flavour"
2		Presença de "off-flavour"	
Olhos	Transparência	0	Claros
		1	Opacos
	Forma	0	Normal
		1	Planos
	2	Fundos	
Brânquias	Cor	0	Vermelho Característico
		1	Pálida, descolorida, marrom
	Odor	0	Fresca
		1	Neutro
		2	Ligeiramente Azedo
	3	Azedo	
Índice de Qualidade (Pontos de Demérito)		0 - 16	

Fonte: Oliveira (2016)

3. Resultados e Discussão

3.1. Análise do Frescor

A figura 6 apresenta o *Genyatremus Luteus* eviscerado e não eviscerado, armazenado em gelo e realizada durante o primeiro dia de estocagem, para obter a avaliação do frescor.

Figura 14- *Genyatremus Luteus* não eviscerado (A) e eviscerado (B)



Fonte: Autores

As Tabelas 2 e 3 apresentam o resultado das alterações do frescor através do Método de Índice de Qualidade (MIQ), em que são atribuídos valores correspondentes aos aspectos da amostra do peixe-pedra (*Genyatremus luteus*).

Tabela 2 - Análise Organoléptica do *Genyatremus luteus* Eviscerado Conservado em Gelo

Dia de Estocagem	Aparência Geral	Olhos	Descrição	Total
1	2	0	Brilhante resplandecente, duro em rigor mortis, não marcado pela pressão, leve presença de "off flavour"	2
4	6	1	Brilhante, elástico, não marcado pela pressão, leve presença de off flavour, opacos, fundo.	7
7	7	3	Opaca, elástico, marcado pela pressão, presença de "off flavour", opaco, fundo	10

Fonte: Autores

Gonçalves (2011) expõe que no momento da captura, o pescado possui pontuação zero ou próxima de zero. A medida em que vai se deteriorando, os atributos vão obtendo pontuações mais elevadas, acumulando pontos de demérito, onde seu valor máximo varia de acordo com o protocolo desenvolvida para a espécie específica. Dessa forma, além da avaliação da qualidade do pescado em questão, é possível estimar o prazo de vida comercial da espécie estudada (Sveinsdottir et al., 2002).

No primeiro dia de estocagem ambas as amostras apresentaram o conceito mais elevado, devido ao seu excelente estado de frescor. Já no quarto dia, o *Genyatremus Luteus* ainda contava com ausência de off flavour, no entanto os olhos já estavam opacos e as escamas soltando-se com maior facilidade. O dia 7 o pescado já apresentou um forte odor, musculatura firme, e a qualquer toque as escamas soltavam-se. Sendo assim, a validade que se pode determinar para o *Genyatremu Luteus* conservado em gelo com base no método MIQ é de 4 dias.

Tabela 3- Análise Organoléptica do *Genyatremus luteus* não Eviscerado Conservado em Gelo

Tabela 5

Dia de Estocagem	Aparência Geral	Olhos	Guelras	Descrição	Total
1	2	0	0	Brilha resplandescente, duro em rigor mortis, não marcado pela pressão, leve presença de "off flavour". Claros, normal, vermelho característico, fresca.	2
4	6	1	0	Brilhante, elástico, não marcado pela pressão, presença de "off flavour", opacos, normal, vermelho característico, fresca.	7
7	6	1	4	Opaca, elástico, não marcado pela pressão, presença de "off flavour", opaco, plano, neutro	11

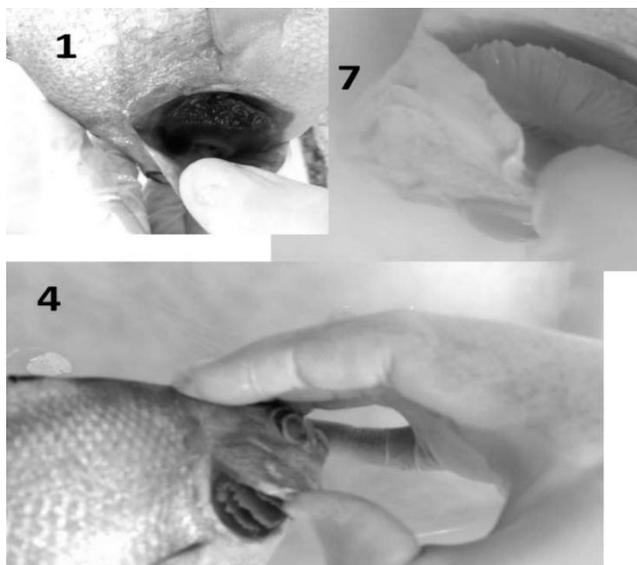
Fonte: Autores

O Peixe-Pedra (*Genyatremus Luteus*) não eviscerado sua parte mais suscetível a ação bacteriana é a região das brânquias. Os primeiros sinais de deterioração podem ser notados quando estas estruturas começarem a exalar odor desagradável. Após, se o pescado não for eviscerado imediatamente, as bactérias do intestino vão logo para as paredes e cavidades intestinais (Jay, 2005). Outras regiões suscetíveis a intensa deterioração bacteriana são os

intestinos e o limo superficial.

Com esses fatores sua degradação ocorre de forma mais acentuada. No primeiro dia sua conservação era semelhante ao eviscerado. Já no quarto dia as brânquias já apresentaram uma coloração menos acentuada, e ausência de odor, no entanto sua musculatura estava mais rija que a do peixe eviscerado. Já no sétimo dia o odor pútrido era facilmente sentido, e suas guelras estavam sem coloração, como é possível observar na figura 7.

Figura 15- Decomposição das brânquias do *Genyatremus Luteus* ao decorrer de 1 semana nos dias 1,4 e 7



Fonte: Autores

Barreto et al; (2012) destaca que o peixe e seus derivados exigem cuidados especiais no seu processamento para venda e comercialização, visto que se trata de um produto altamente perecível e suscetível a proliferação microbiana. Com o estudo observamos que o peixe conservado em gelo, eviscerado, manteve suas características química e frescor adequado para consumo humano cerca de quatro dias tanto para o peixe eviscerado como não eviscerado, o que demonstra uma boa eficácia do gelo como método de conservação.

3.2. Coliformes Totais e Termotolerantes

A quantidade de microrganismos aceitáveis para amostra indicativa para coliformes a

45°C.g-1 é de 10^2 . Embora não exista padrão estabelecido para coliformes totais na legislação vigente, valores elevados indicam condições higiênicas sanitárias deficientes (Brasil, 2001).

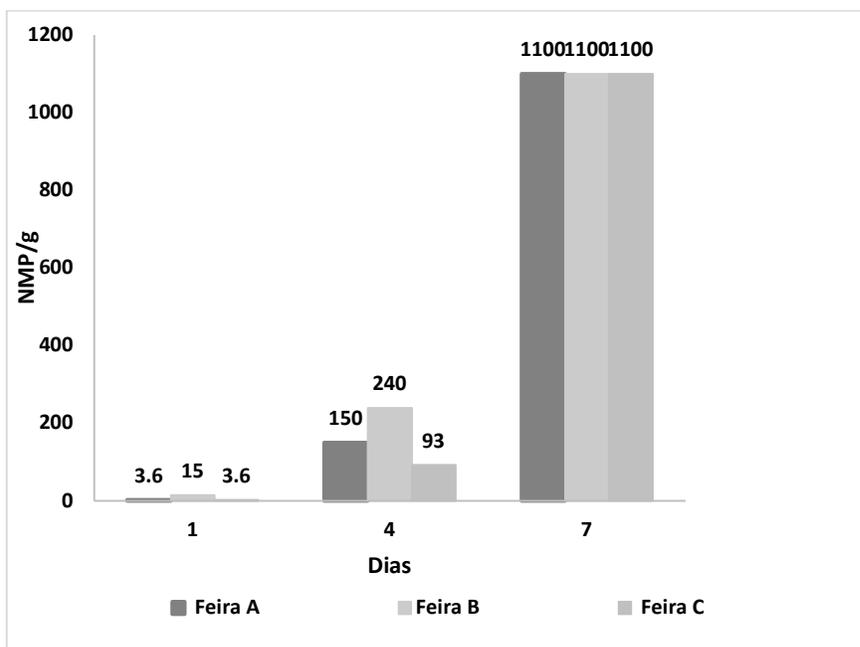
A contaminação do pescado pode estar relacionada ao método de captura, como também à microbiota natural do peixe, principalmente do intestino, brânquias e muco superficial, contribuindo com a decomposição rápida e dificultando a conservação. (Ghaly et al., 2010). Sendo assim, uma boa mão de obra e cuidados sanitários são necessários durante a obtenção do pescado. (Souza et al., 2015).

A Secretaria de Vigilância em Saúde informa que entre 2007 e 2016 houveram 6632 surtos de doenças transmitidas por alimentos, onde o pescado ocupou a 11ª posição entre os alimentos causadores dos surtos, dos quais os principais agentes são *Salmonella sp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Brasil, 2016).

3.2.1. Peixe Eviscerado

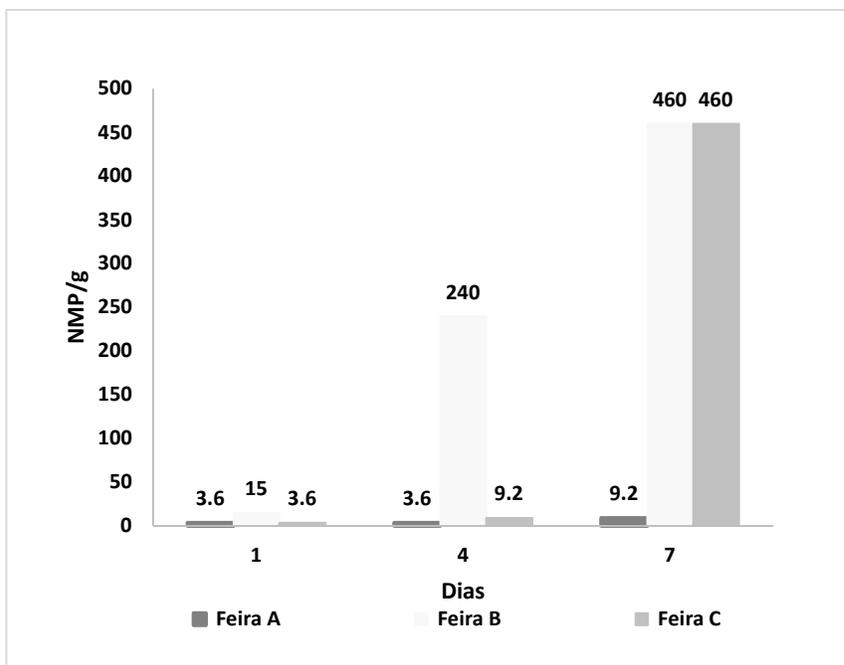
Para cada sequência de análise de 1 semana foram utilizadas 3 amostras de peixe eviscerado. Os resultados obtidos em NMP/g de coliformes totais e termotolerantes podem ser observados nas figuras 8 e 9.

Figura 16 – NMP/g de Coliformes totais presentes na amostra



Fonte: Autores

Figura 17 –NMP/g de Coliformes Termotolerantes



Fonte: Autores

A partir dos resultados obtidos nesse trabalho, todas as amostras apresentaram uma carga inicial de microrganismos aceitável inferiores a 10^2 NMP/g no 1º dia de armazenamento.

Apenas a feira B apresentou uma quantidade superior a 10^2 NMP/g no 4º dia de conservação, nessa feira o pescado foi eviscerado em superfície de madeira (tábua) que segundo Borges et al. (2008), é um material de difícil limpeza, principalmente quando trata-se de resíduos de proteínas e gorduras Nascimento et al. (2020).

A manutenção de baixas temperaturas torna-se um fator importante para a durabilidade do pescado. Quando estocado em gelo, o pescado deve ser manipulado o mínimo possível e a qualidade do gelo utilizado influencia diretamente na qualidade da conservação podendo acarretar em contaminação cruzada, sendo assim uma análise microbiológica e físico química do gelo utilizado tanto pelos feirantes como o da pesquisa é interessante que seja feita.

A evisceração é outro ponto crítico no processamento do peixe, pois durante esse procedimento os feirantes utilizam água da torneira para a lavagem do pescado podendo resultar em contaminação cruzada.

A ação de conservar o pescado em gelo promove uma durabilidade variável entre espécies: algumas resistem em média sete dias, outras não resistem 48 horas, e o Peixe-Pedra

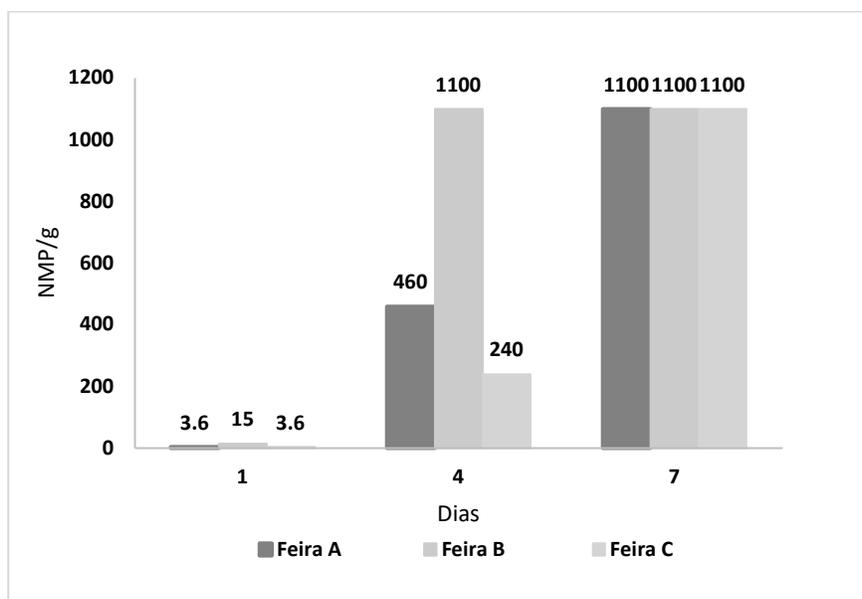
(*Genyatremus Luteus*), apresentou durabilidade de 4 dias.

As baixas contagens de coliformes a 45 °C observadas refletem, possivelmente, um habitat de captura do Peixe-Pedra (*Genyatremus Luteus*) pouco contaminado por dejetos e a elevada concentração de NaCl no ambiente aquático. Os coliformes têm pouca tolerância à salinidade das águas do mar, portanto, sendo o sal tóxico para esses microrganismos, ocorre a eliminação de 90% da população de *E. coli* em poucas horas ou em minutos, quando esta entra em contato com águas marinhas. (Hagler, 1988).

3.2.2. Peixe não eviscerado

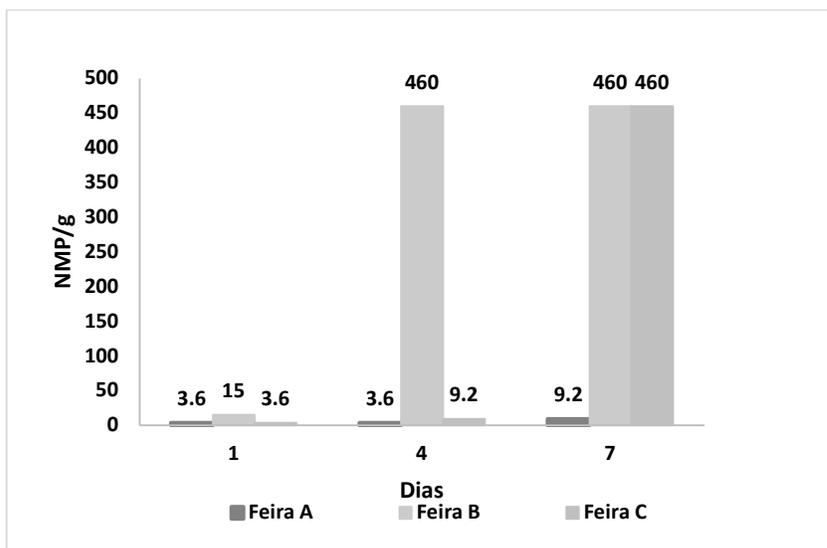
O peixe pedra não eviscerado apresentou as quantidades de microrganismos semelhantes no dia 1, no entanto a partir da avaliação no dia 4 a quantidade de coliformes totais aumentou de forma considerável e na feira B no 4º dia de armazenamento a quantidade de coliformes termotolerantes foi superior a 10^2 como é possível observar nas figuras 11 e 12.

Figura 18 – Quantidade em NMP/g de coliformes totais



Fonte: Autores

Figura 19 – Quantidade em NMP/g de coliformes termotolerantes



Fonte: Autores

A contaminação do pescado pode estar relacionada ao método de captura, como também à microbiota natural do peixe, principalmente a do intestino, brânquias e muco superficial, contribuindo com a decomposição rápida e dificultando a conservação (Ghaly et al., 2010).

Notou-se que a quantidade inicial de microrganismos de todas as amostras está dentro do limite permitido durante o primeiro dia. A feira B no 4º dia de armazenamento apresentou uma quantidade superior de coliformes termotolerantes do que é permitido por lei.

A presença de coliformes totais é maior em comparação ao eviscerado devido a presença dos microrganismos no trato intestinal do pescado e brânquias, que foram retirados durante a evisceração. No entanto, os baixos valores iniciais caracterizam a boa qualidade do peixe pedra (*Genyatremus Luteus*), mostrando que desde sua captura ao armazenamento o mesmo fora tratado dentro dos padrões de qualidade exigidos e que a tendência do aumento das bactérias termotolerantes tenha vindo a ocorrer por contaminação cruzada do gelo utilizado durante a conservação.

3.3. Bactérias Psicrófilas

A legislação brasileira não prevê limites para a contagem em placa de bactérias psicrófilas e mesófilas em pescado in natura, onde a maioria dos alimentos apresentam alterações sensoriais detectáveis com número superior a 10^6 UFC/g (MONTEIRO 2011; BARRETO et al. 2012).

A contagem total de bactérias em placas é usada como um indicador de condições higiênico-sanitárias nos alimentos. A contagem elevada desses microrganismos pode indicar deterioração do alimento e conseqüente diminuição da sua vida de prateleira (Franco e Landgraf, 2008). Segundo a Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos - ICMSF (2002), as contagens de bactérias psicrófilas faz parte dos indicadores microbianos comumente utilizados para certificar a qualidade dos alimentos.

3.3.1. Peixe eviscerado

A tabela 4 mostra o resultado obtido para as bactérias psicrófilas no Peixe-Pedra eviscerado

Tabela 6 – Contagem total de bactérias psicrófilas do *Genyatremus Luteus* Eviscerado

Dia	Feira A		Feira B		Feira C	
	UFC/g 10 ⁻²	UFC /g 10 ⁻³	UFC /g 10 ⁻²	UFC /g 10 ⁻³	UFC /g 10 ⁻²	UFC /g 10 ⁻³
1	1,16x10 ⁵	2,8,88x10 ⁵	1,24x10 ⁵	3,65x10 ⁵	1,042x10 ⁵	2,64x10 ⁵
4	1,85x10 ⁵	8,24x10 ⁵	2,12x10 ⁵	9,46x10 ⁵	1,73x10 ⁵	7,28x10 ⁵
7	*	*	*	*	*	*

Fonte: Autores

* Incontáveis

Os microrganismos psicrófilos em número elevado são responsáveis pela diminuição da vida de prateleira do pescado, por constituírem seus principais deterioradores (Bartolomeu et al., 2011). Neste estudo, a menor quantidade observada foi na Feira A sendo a maior na feira B, respectivamente 1,16x10⁵ e 3,65x10⁵ no primeiro dia, estando dentro do padrão segundo Monteiro 2011 e Barreto et al. 2012. Já no sétimo dia os valores obtidos foram incontáveis para todas as feiras, espelhando o resultado obtido pelo método do índice de qualidade.

3.3.2. Peixe não eviscerado

Os resultados obtidos para o peixe não eviscerado encontram-se na tabela 5 a seguir

Tabela 7 – Contagem total de bactérias psicrófilas para o *Genyatremus Luteus* não eviscerado

Dia	Feira A		Feira B		Feira C	
	UFC/g 10 ⁻²	UFC /g 10 ⁻³	UFC /g 10 ⁻²	UFC /g 10 ⁻³	UFC /g 10 ⁻²	UFC /g 10 ⁻³
1	1,21x10 ⁵	3,78x10 ⁵	1,68x10 ⁵	4,92x10 ⁵	1,450x10 ⁵	3,82x10 ⁵
4	2,15x10 ⁵	1,028x10 ⁵	2,47x10 ⁵	1,488x10 ⁶	2,31x10 ⁵	1,064x10 ⁶
7	*	*	*	*	*	*

Fonte: Autores

* Incontáveis

Por não sofrer processo de lavagem, e conter o intestino que abriga a maior quantidade de microrganismos, este apresentou valores ainda mais elevados que o peixe-pedra eviscerado.

4. Considerações Finais

De acordo com as análises microbiológicas realizadas, o Peixe-Pedra (*Genyatremus Luteus*) eviscerado e não eviscerado apresentaram frescor até o 4º dia de armazenamento em gelo.

As amostras oriundas das feiras A e C apresentaram uma carga microbiológica menos elevada que aquelas da feira B. Ainda assim é possível dizer que a qualidade higiênico-sanitária é satisfatória num contexto geral, devido a análise inicial apresentar em todas as feiras uma quantidade baixa de microrganismos. No entanto é necessário que seja feita análises microbiológicas e físico química no gelo utilizado pelos feirantes e o utilizado na pesquisa.

Foi observado que o gelo possui capacidade de refrigerar e manter a qualidade do *Genyatremus Luteus*. O não eviscerado sofreu deterioração em um menor tempo, devido seu trato intestinal e respiratório possuir um grande grupo de bactérias deteriorante, no entanto a diferença na presença de microrganismos que comprometem a qualidade para consumo não foi tão alta, mas essa pequena diferença ainda comprova a importância da evisceração para que prolongue seu frescor e diminua o risco de contaminação durante o consumo.

Referências

Almeida F.E.S. et al. Características microbiológicas de “pintado” (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre no município de Cuiaba-MT. *Revista Higiene Alimentar*, v.16, n.99, p.84-8, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Portaria n.518, de 25 de março de 2004. *Diário Oficial da União*, de 26 de março de 2004. Seção I, p.266

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Unidade de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar – UVHA. Brasília: Coordenação de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar; 2016. 19p.

Feng, P; Weagent, SD; Grant, MA. *Bacteriological Analytical Manual Online: Enumeration of Escherichia coli and Coliform Bacteria*, 2002. Disponível em: <www.lib.ncsu.edu/pubweb/www/ETDdb/web_root/collection/avaible/etd04102005-213953/unrestricted/etd.pdf>. Acesso em 10/10/2019

Franco, B.D.G.M.; Landgraf, M. *Microbiologia de Alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2003
LOPES, M.L.B.; COSTA, P.A.; SANTOS, J.S.B.; CUNHA, S.J.T.; SANTOS, M.A.S.;

Gonçalves AA, editor. *Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação*. São Paulo: Atheneu; 2011.

Nichols, G.; Gillespie, I.; L, J. The microbiological quality of ice used to cool drinks and ready-to-eat food from retail and catering premises in the United Kingdom. *Journal of Food Protection*, v.63, n.1, p.78-82, 2000.

Oetterer, M; Savay-da-Silva, L; Galvão, JA. Congelamento é o melhor método para a conservação do pescado. *Visão Agrícola*, n.11, jul/dez, p.137-139, 2012.

Oliveira, V. M.; Freitas, M. Q.; São Clemente, S. C.; Márisco, E. T. Método do índice de qualidade (MIQ) desenvolvido para camarão (*Litopenaeus vannamei*) cultivado. *Revista de Ciências da Vida, Seropédica*, v. 29, n. 1, p. 60- 71, jan./jun. 2009.

Pimentel, L.P.S. Características físico-químicas e microbiológicas do gelo utilizado na conservação do pescado comercializado em supermercados da Grande São Paulo, Brasil. 1999. 2001. 72f. Dissertação (Mestrado em Prática de Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

Santos, E. J. R. dos, Galeno, L. S., Bastos, L. da S., Costa, T. F., Carvalho, I. A., & Costa, F. N. Qualidade higiênico-sanitária de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís - MA. *Ciência Animal Brasileira, Goiânia*, v.20, p.1-12, 2019.

Seixas, F.R.F.; Seixas, J.R.F.; Reis, J.A.; Hoffmann, F.L. Checklist para diagnóstico inicial das boas práticas de fabricação (BPF) em estabelecimentos produtores de alimentos da cidade de São José do Rio Preto (SP). *Revista Analytica, São Paulo*, v.33, p.36-41, 2008.

Silva, N.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 1997.

Silva, N; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 2.ed. 229p., São Paulo: Varela, 2001.

Soares KMP, Gonçalves AA. Qualidade e segurança do pescado. *Revista do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo*, v.71(1), p.1-10, 2012

Sousa, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. *Revista APS*, v.9, n.1, p. 83-88, 2006.

Sveinsdottir K, Martinsdottir E, Jorgensen B, Kristbergsson K. Application of quality index method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J Food Sci.* 2002. cap.67: p.1570-1579.

Tavera, J.J.; Acero Pizarro, A.; Cruzagüero, J.; Balart, E.F. 2011 Phylogeny and reclassification of the species of two neotropical grunt genera, *Anisotremus* and *Genyatremus* (Perciformes: Haemulidae), based on morphological evidence. *Journal Zoological Systematics Evolutionary Research*, 49(4): 315-323

Tononi Jr. Indústria Do Pescado. Sebrae-ES. Online. Disponível em: Acesso em: 13 set. 2016
Vieira Rhsf. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática. São Paulo: Varela; 2004.

Nascimento, C.P.F; Freitas, A.K.N; Santos, P.C.M; Silva, L.M.R; Pinheiro, N.M.S; Figueiredo, E.A.T ; Eça, K.F (2020) Microbiological Quality Assesment of Salmon and Tuna Based Sashimi Marketed in Fortaleza-CE. *Research, Society and Development*, v.9 n.4, DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i4.2971>

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Neuzivette Camara Abecassis – 50%

Maria da Gloria Almeida Bandeira – 50%

5 CONCLUSÃO

De acordo com as análises microbiológicas realizadas, o Peixe-Pedra (*Genyatremus Luteus*) eviscerado e não eviscerado apresentaram frescor até o 4º dia de armazenamento em gelo. As amostras oriundas das feiras A e C apresentaram uma carga microbiológica menos elevada que aquelas da feira B. Ainda assim é possível dizer que a qualidade higiênico-sanitária é satisfatória num contexto geral, devido a análise inicial apresentar em todas as feiras uma quantidade baixa de microrganismos. No entanto é necessário que seja feita análises microbiológicas e físico química no gelo utilizado pelos feirantes e o utilizado na pesquisa.

Foi observado que o gelo possui capacidade de refrigerar e manter a qualidade do *Genyatremus Luteus*. O não eviscerado sofreu deterioração em um menor tempo, devido seu trato intestinal e respiratório possuir um grande grupo de bactérias deteriorante, no entanto a diferença na presença de microrganismos que comprometem a qualidade para consumo não foi tão alta, mas essa pequena diferença ainda comprova a importância da evisceração para que prolongue seu frescor e diminua o risco de contaminação durante o consumo.

6 REFERÊNCIAS

ALMEIDA F.E.S. et al. Características microbiológicas de “pintado” (*Pseudoplatystoma fasciatum*) comercializado em supermercados e feira livre no município de Cuiaba-MT. *Revista Higiene Alimentar*, v.16, n.99, p.84-8, 2002.

ALMEIDA, Z.S., CASTRO, A.C.L., PAZ, A.C., RIBEIRO, D., SANTOS, N.B.; DIAS, T.R. Diagnóstico da pesca artesanal no litoral do Maranhão. In: ISAAC, V.J., MARTINS, A.S., HAIMOVICI, M., ANDRIGUETTO-FILHO, J.M.

BEGOSI, A. 2004. *Ecologia de Pescadores da Mata Atlântica e da Amazônia*. São Paulo: Hucitec/Nepam/ UNICAMP: Nupaub/USP: FAPESP, 1: 223-227.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Unidade de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar – UVHA. Brasília: Coordenação de Vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar; 2016. 19p.

CALLISTO, M; GONÇALVES, J. F. Jr; MORENO, P. 2003. Invertebrados Aquáticos como Bioindicadores-Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Geral, Laboratório de Ecologia de Bentos, Belo Horizonte, MG.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, W.F.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.J.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.M.; ROBAINA, G.; RODRIQUEZ, B. 1992 FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. In: FISCHER, W; GARIBALDI, L;

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. 2013. Relatório de qualidade das águas Salinas e Salobras no Estado de São Paulo, 2ª parte - Relatório de Águas superficiais. São Paulo, 140p.

FENG, P; WEAGENT, SD; GRANT, MA. Bacteriological Analytical Manual Online: Enumeration of Escherichia coli and Coliform Bacteria, 2002. Disponível em: <www.lib.ncsu.edu/pubweb/www/ETDdb/web_root/collection/available/etd04102005-213953/unrestricted/etd.pdf>. Acesso em 10/10/2019

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microbiologia de Alimentos. São Paulo: Atheneu, 2003 LOPES, M.L.B.; COSTA, P.A.; SANTOS, J.S.B.; CUNHA, S.J.T.; SANTOS, M.A.S.;

SANTANA A.C. Mercado e dinâmica espacial da cadeia produtiva da pesca e aquicultura na Amazônia, Estudos setoriais 7. Belém: BASA, 2010.

GOMES, P. M. A.; BARBOSA, J. G.; COSTA, E. R.; S. JUNIOR, I. G. Avaliações das condições higiênicas sanitárias das carnes comercializadas na feira livre do município de Catolé do Rocha-PB. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v.7, n.1, p. 225 – 232, 2012. Disponível em: <www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/1185/1128>.

GONÇALVES, A.A. Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. São Paulo: Ateneu, 2011.

GONZALEZ, R. G; TAYLOR. M, L; ALFARO, G. 1982. Estudio bacteriano del agua de consumo en una comunidad Mexicana. Bol Oficina Sanit Panam, v.93, p.127-40.

Hagler NA, Hagler LCS. Indicadores microbiológicos de qualidade sanitária. In: Roitman I, Travassos LR, Azevedo JL, organizadores. Tratado de Microbiologia. São Paulo: Manole; 1988. p. 88-96.

HITCHINS, A.D.; HARTMAN, P.A.; TODD, E.C.D. Compendium of methods for the microbiological examination of foods: Coliforms-Escherichia coli and its toxins. 3.ed. Washington: American Public Health Association, 1996. p.325-369.

Huss, H.H. 1998. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. FAO Doc. Tec. de Pesca. Roma. n. 348, 202p

MASON, C. 1996. Biology of Freshwater Pollution. 3rd edition. Longman, Harlow.

MPA. 2012. Boletim estatístico de pesca e aquicultura - Brasil 2010. Ministério da Pesca e Aquicultura, Brasília, fevereiro de 2012, 128p.

OETTERER, M; SAVAY-DA-SILVA, L; GALVÃO, JA. Congelamento é o melhor método para a conservação do pescado. Visão Agrícola, n.11, jul/dez, p.137-139, 2012.

Santos, E. J. R. dos, Galeno, L. S., Bastos, L. da S., Costa, T. F., Carvalho, I. A., & Costa, F. N. Qualidade higiênico-sanitária de tambaqui (*Colossoma macropomum*) comercializado na cidade de São Luís - MA. Ciência Animal Brasileira, Goiânia, v.20, p.1-12, 2019.

SEIXAS, F.R.F.; SEIXAS, J.R.F.; REIS, J.A.; HOFFMANN, F.L. Checklist para diagnóstico inicial das boas práticas de fabricação (BPF) em estabelecimentos produtores de alimentos da cidade de São José do Rio Preto (SP). Revista Analytica, São Paulo, v.33, p.36-41, 2008.

Silva, N.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo: Varela, 1997.

SILVA, N; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 2.ed. 229p., São Paulo: Varela, 2001.

Soares KMP, Gonçalves AA. Qualidade e segurança do pescado. Revista do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, v.71(1), p.1-10, 2012

SOUSA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. Revista APS, v.9, n.1, p. 83-88, 2006.

TAVERA, J.J.; ACERO PIZARRO, A.; CRUZAGÜERO, J.; BALART, E.F. 2011 Phylogeny and reclassification of the species of two neotropical grunt genera, *Anisotremus* and *Genyatremus* (Perciformes: Haemulidae), based on morphological evidence. Journal Zoological Systematics Evolutionary Research, 49(4): 315-323

TONONI JR. Indústria do pescado. SEBRAE-ES. Online. Disponível em: Acesso em: 13 set. 2016

VIEIRA RHSF. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática. São Paulo: Varela; 2004.