

CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE PENHAROL (*Trachelyopterus lucenai*)

Danielle Leal Delabary^{1*}, Larissa Sá Britto Castro², Denise Oliveira Pachecho², Fatiele Bonow³, Lenon Bauer⁴, Karen Damasceno⁴, Eliezer Avila Gandra⁵

¹ Acadêmica do curso de Nutrição – Universidade Federal de Pelotas

² Mestrandas em Nutrição e Alimentos – Universidade Federal de Pelotas

³ Acadêmicos do curso de Química de Alimentos – Universidade Federal de Pelotas

⁴ Acadêmica do curso de Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Pelotas

⁵ Professor do Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos e do Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos – Universidade Federal de Pelotas

*E-mail: daninutricao@hotmail.com.br

RESUMO – Pescado é uma excelente fonte de nutrientes e se destacam por apresentar elevado conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, os quais possuem duas ou mais duplas ligações, principalmente das séries ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6), proteínas de alto valor biológico, de fácil digestibilidade e outros nutrientes necessários para manutenção das funções do organismo. Entretanto, deve-se ter alguns cuidados no manejo do pescado pois esse é um dos alimentos mais suscetíveis à deterioração por microrganismos devido a sua alta atividade de água, a sua diversificada composição química, ao elevado teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis, e principalmente, o pH próximo da neutralidade. A presença de microrganismos como *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp., evidenciam deficiências e/ou falhas do ponto de vista higiênico-sanitário, que podem comprometer a qualidade e o grau de frescor, e em determinados casos, causar sérios danos à saúde do consumidor, que vão desde uma simples intoxicação até a morte. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do pescado Penharol (*Trachelyopterus lucenai*) adquiridos em uma comunidade de pescadores da região sul do Rio Grande do Sul. As análises microbiológicas seguiram os procedimentos propostos por Downes e Ito, (2001) e Silva et al., (1997). Em relação à *Staphylococcus* coagulase positiva, das 10 amostras analisadas, cinco (5) estavam com concentrações microbianas acima do limite máximo determinado pela legislação brasileira, evidenciando provavelmente contaminação cruzada devido a falhas

durante a manipulação, processamento e/ou estocagem inadequada. Para *Salmonella* spp., todas as amostras estavam dentro dos parâmetros exigidos pela legislação brasileira.

Palavras-chave: Penharol (*Trachelyopterus lucenai*), *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, se observa hábitos alimentares diversificados que mudam conforme a região. A maior parte da população tem como base alimentar o arroz, fubá, farinha de mandioca e açúcar. Estes alimentos são importantes fontes calóricas, mas insuficientes para fornecer os outros macronutrientes e micronutrientes essenciais às funções do organismo humano (GUILHERME e JOKL, 2005). Uma alternativa viável de complementação alimentar é o consumo de pescados. Os peixes se destacam por apresentarem elevado conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados, os quais possuem duas ou mais duplas ligações, principalmente das séries (ou famílias) ômega-3 (n-3) e ômega-6 (n-6). Dentre estes, o ácido alfa linolênico (ALA - 18:3n-3) e o ácido linoléico (LA - 18:2n-6), os quais são precursores dos demais ácidos das séries n-3 e n-6 respectivamente, são ácidos graxos essenciais, ou seja, não são sintetizados pelo organismo humano, sendo necessária sua ingestão na dieta (BADOLATO et al., 1994; STEVANATO, SOUZA E MATSUSHITA, 2007;).

Embora o pescado seja uma ótima fonte alimentar, deve-se ter alguns cuidados com o manejo, armazenamento e comercialização, pois, a carne de peixe é um dos alimentos mais suscetíveis à deterioração devido à alta atividade de água, à sua variada composição química, que varia em função da espécie, às condições em que ocorre o seu consumo e à época do ano em que é capturado. Outros fatores também influenciam para acelerar a multiplicação de micro-organismos nos peixes como elevado teor de gorduras insaturadas facilmente oxidáveis, e principalmente, o pH próximo da neutralidade (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Uma das principais fontes de contaminação microbiológica é a manipulação do pescado, desde o momento da captura, ainda nos barcos pesqueiros até sua destinação final após passar por etapas de processamento e transporte (LEE et al. 2004). Outro fator importante para a ocorrência deste tipo de contaminação é a deficiência no processo de sanitização dos equipamentos de processamento dos pescados (BENETT, 2003).

A presença de micro-organismos como *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* spp., evidenciam deficiências e/ou falhas do ponto de vista higiênico-sanitário em etapas do processamento ou na conservação do produto final, que podem comprometer a qualidade e o grau de frescor, e em determinados casos causar sérios danos à saúde do consumidor, que vão desde uma simples intoxicação até a morte. (REBOUÇAS, 2005). *Staphylococcus* spp. está presente principalmente na pele e nas via aéreas dos humanos, já a *Salmonella* spp. tem por seu habitat natural o trato intestinal do homem e animais. *Salmonella* spp. pode estar presente em vários alimentos de alto consumo como ovos e frangos e já foi várias vezes isolada em pescados. Se mal

preparados, mal cozidos ou manipulados indevidamente por indivíduos que não façam a higiene adequada das mãos, estes alimentos se tornam riscos potenciais à saúde do consumidor podendo causar sintomas como diarreia, vômito, dor de cabeça, indisposição e febre. *Staphylococcus* coagulase positiva é capaz de produzir diversas enterotoxinas que tem como principais sintomas náuseas, vômito e diarreia, (CLEMENTE, VALLE, ABREU, 2003).

Muitas espécies de pescados ainda são desconhecidas quanto à sua caracterização microbiológica e físico-química, um exemplo destas é a espécie *Trachelyopterus lucenai* que foi descrita em 1995, encontrada nas bacias do rio Uruguai e da laguna dos Patos e mais recentemente no sistema do rio Tramandaí, litoral norte do Rio Grande do Sul (MAIA, ARTIOLI E HARTZ, 2012). Esta espécie era desconhecida até pouco tempo, tanto para os pescadores como para os cientistas. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do pescado Penharol (*Trachelyopterus lucenai*) através da pesquisa de *Salmonella* spp. e enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva em amostras adquiridas em uma comunidade de pescadores da região sul do Rio Grande do Sul.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Dez amostras (n=10) do pescado “Penharol” foram adquiridas junto a uma comunidade de pescadores localizada na região sul do Rio Grande do Sul.

Logo após a captura, os pescados foram lavados em água clorada (5ppm), eviscerados e transformados em postas e filés. As amostras foram acondicionadas em embalagens de polietileno flexíveis, congeladas e mantidas a temperatura de -18°C até sua utilização. Antes do início de cada análise, os pescados foram descongelados sob-refrigeração, em temperatura menores que 8°C, sendo em seguida extraídas partes do músculo para homogeneização. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2 MÉTODOS

As análises microbiológicas seguiram os procedimentos propostos por Downes e Ito, (2001) e Silva et al., (1997).

2.2.1 *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP)

Utilizaram-se alíquotas de 25g de cada amostra de peixe, às quais foram adicionados 225mL de solução salina 0,85%. Fez-se a homogeneização e prepararam-se as diluições decimais até 10^{-3} . Foi semeado sobre superfície de placas como ágar Baird-Parker, em duplicata, 0,1mL de cada diluição. Com auxílio de alça de Drigalski, o inóculo foi cuidadosamente espalhado por toda a superfície do meio até a total absorção. Posteriormente, as placas foram incubadas a 37°C por 48 horas. Após a incubação, colônias com morfologia típica (pequenas, pretas, brilhantes, lisas, convexas e com dois halos de degradação um transparente e outro branco) e atípica foram contadas e selecionou-se cinco colônias de cada morfologia para serem submetidas à prova de produção de coagulase livre. Para isso transferiu-se uma alçada das colônias selecionadas para tubos com o caldo Brain Heart Infusion (BHI) que foi incubado a 37°C por 24 horas. Após a incubação transferiu-se 0,3 mL de Caldo BHI para tubos com 0,5 mL de plasma de cavalo e incubou-se a 37°C realizando-se leituras de 30 em 30 minutos por até 6 horas, para verificação da formação de coágulo.

2.2.2 *Salmonella* spp.

Para a realização da etapa de pré-enriquecimento coletou-se de 25g de cada amostra de peixe e adicionou-se 225mL de água peptonada tamponada, procedeu-se à homogeneização e posterior incubação a 35°C por 24 horas. Para o enriquecimento seletivo, 1 mL da solução de pré-enriquecimento foi transferido para tubos de ensaio, contendo 10 mL de caldo Tetracionato que foram incubados a 35°C por 24 horas. Em paralelo foi transferido 0,1mL da solução de pré-enriquecimento para o caldo Rappaport Vassiliadis que foi incubado em banho-maria a 45°C por 24 horas. Para o isolamento diferencial, foram realizadas estrias em ágar Xylose lysine deoxycholate (XLD) e Hektoen enteric (HE) que foram incubados a 35°C por 24 horas. Após a incubação, avaliou-se o desenvolvimento de colônias com morfologia típica, que quando presentes foram submetidas aos testes bioquímicos confirmativos nos meios Triplo Sugar Iron (TSI), Lisine Iron Agar (LIA) e Urease e a testes sorológicos utilizando os soros anti-Salmonella somático e flagelar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 podem ser verificados os resultados das análises microbiológicas. A Agência Nacional da Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão que regulamenta os padrões microbiológicos em alimentos, através da Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, preconiza que o pescado “in natura”, resfriado ou congelado e que não será consumido cru, deve apresentar-se livre de *Salmonella* spp. em 25 g e limita em até 10^3 o número de *Staphylococcus* coagulase positiva/g do pescado (BRASIL, 2001). Em relação à *Salmonella* spp., as amostras estavam em acordo com a legislação, não encontrando esta bactéria em todas as amostras pesquisadas. Já para *Staphylococcus* coagulase positiva, metade das amostras (5) estavam com concentrações microbianas acima do limite máximo estipulado pela legislação brasileira.

Tabela 1. Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* spp. em amostras de Penharol (*Trachelyopterus lucenai*) provenientes da região sul do Rio Grande do Sul.

Amostra	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC. g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> spp.(presença em 25g)
1	9,8x10 ²	Ausência
2	1,1x10 ³	Ausência
3	1,7x10 ³	Ausência
4	6,8x10 ²	Ausência
5	4x10 ²	Ausência
6	3,9x10 ³	Ausência
7	2,3x10 ³	Ausência
8	9,8x10 ²	Ausência
9	1,5x10 ³	Ausência
10	2,5x10 ²	Ausência

O *Staphylococcus aureus* é um indicador das condições de higiene e sanitização, quando presente nos alimentos pode indicar algum tipo de falha durante o processamento e/ou estocagem inadequada e/ou contaminação cruzada decorrente de manipulação inadequada (SIMON; SANJEEV, 2007). Em estudo realizado por Vieira et al. (2000) com pescados recém-capturados, estes apresentaram valores que variaram entre < 10 a 1,06 x 10³ UFC.g⁻¹, resultados semelhantes ao presente estudo, que demonstram a presença constante de SCP em pescados e denotam a importância da aplicação de fundamentos de boas práticas tanto no processamentos como na conservação dos pescados. a fim de minimizar a contaminação dos pescados com este grupo microbiano.

4 CONCLUSÃO

Por este estudo pode-se concluir que cinco das dez amostras de Penharol (*Trachelyopterus lucenai*) estavam com concentrações de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do limite máximo estabelecido pela legislação brasileira.

5 REFERÊNCIAS

BADOLATO, E. S. G.; Carvalho, J.B.; MELO, M.R.P.A.; TAVARES, M.; Campos, N.C.; PIMENTEL, S.A.; MORAI, C. (1994). Composição centesimal, de ácidos graxos e valor calórico de cinco espécies de peixes marinhos nas diferentes estações do ano. **Rev. do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n. 1, p. 27-35.

BENNETT, R.W. *Staphylococcus aureus*. In: VIEIRA, R.H.S.F. *Microbiologia e qualidade do pescado: teoria e prática*. São Paulo: Varela, p. 96, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm >

CLEMENTE, M. das G.; VALLE, R. H. P. do; ABREU, L. R. de. *Staphylococcus* em queijos fabricados com leite cru e pasteurizado. **Revista Higiene Alimentar**. v.17 n.104/105. p. 38-39. jan/fev 2003.

DOWNES, F. P., ITO, H. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676p

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo:Atheneu, 2008. 182p

GUILHERME, F. F. P.; JOKL, L. Emprego de fubá de melhor qualidade protéica em farinhas mistas para produção de biscoitos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n.1, Campinas, jan/ mar. 2005.

MAIA, E.L.; OGAWA, M. Química do pescado. Restraint. In: OGAWA, M., MAIA,E.L. **Manual de Pesca – Ciência e Tecnologia do Pescado**. vol.1. São Paulo: Livraria Varela, 1999. p. 27 – 71

REBOUÇAS, R.H. *Staphylococcus coagulase positiva em camarão marinho sete-barbas (Xiphopenaeus kroyeri) comercializado na feira-livre de pescado do Mucuripe*. Monografia. Universidade Federal do Ceará, 2005.

SIMON, S.S.; SANJEEV, S. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. **Food Control**, v.18, p.1565-1568. 2007.

STEVANATO, F.B., SOUZA, N. E., MATSUSHITA, M., VISENTAINER, J.V. **Pubvet**, v. 1, n 7, Ed. 6, Art. 171, ISSN 1982-1263, 2007.

LEE, W. C.; LEE, M. J.; KIM, J. S.; PARK, S. Y. *Staphylococcus aureus*. In Vieira, R.H.S.F. **Microbiologia, Higiene e qualidade do pescado – teoria e prática**. São Paulo: Varela Editora, p. 380, 2004.

VIEIRA, K. V. M.; MAIA, D. C. C.; JANEIRO, D. I.; VIEIRA, R. H. S. F.; CEBALLOS, B. S. O. Influência das condições higiênico-sanitárias no processo de beneficiamento de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em fiés congelados. **Higiene Alimentar**, 14 (74), 37-40, 2000.