

CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS EM NUGGETS ELABORADOS A PARTIR DE MANDIOCA E DA CARNE MECANICAMENTE SEPARADA DE CARCAÇAS DE TILÁPIA

Larisse C. F. Brito¹; João F. S. Júnior¹; Lucas M. F. Dias²; Artur S. Costa³;

Rafael G. A. Bacelar⁴; Maria Christina Sanches Muratori⁵.

1. Programa de Pós Graduação em Zootecnia Tropical - Universidade Federal do Piauí
2. Programa de Pós Graduação em Saúde Pública - Universidade Federal do Ceará.
3. Residente em tecnologia, inspeção e controle de qualidade de produtos de origem animal - Universidade Federal do Piauí
4. Doutor pelo Programa de Pós Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal do Piauí
5. Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí

Palavras-Chave: Despolpadora, Reaproveitamento, Resíduos.

Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é originária da África e pertence à família *Cichlidae* (LOPERA-BARRERO, et al, 2011). Tem-se destacado nos últimos anos, no Brasil e no mundo, como uma das espécies mais cultivadas, pela facilidade de reprodução, por ter uma boa adaptabilidade, resistência, sobrevivência e altas taxas de crescimento (BARROSO, et al, 2015; BACELAR; MURATORI, 2020).

Entretanto, apesar dos aspectos positivos relacionados ao cultivo da tilápia, tem-se como desvantagem o baixo rendimento (32% a 35%) do filé desta espécie, levando a diminuição da margem de lucro do sistema de produção, assim como gera grandes quantidades de resíduos nas indústrias pesqueiras (BARROSO; PINCINATO; MUNOZ, 2017; FILHO; XAVIER, 2019), representando cerca de 65% da biomassa dos peixes (SOUSA, 2019), sendo muitas vezes descartados sem nenhum tipo de tratamento no meio ambiente (SILVA et al, 2016).

Contudo, tem sido empregada tecnologias que permitem o aproveitamento destes resíduos de pescado, dentre elas, a farinha e óleo de peixe, carne mecanicamente separada (CMS), concentrado proteico de peixe, hidrolisado proteico de pescado, colágeno, gelatina de peixe e o biocombustível (ROSSETO; SIGNOR, 2020).

A CMS de peixe é obtida a partir dos resíduos, pela passagem do pescado por uma máquina separadora de carne e ossos, ou despolpadora. Deste processo, obtém-se partículas de músculos esquelético isentos de escamas, vísceras, pele e ossos, posteriormente utilizada para elaboração de subprodutos do pescado (NEIVA; GONÇALVES, 2011; PIRES, et al, 2014).

O aproveitamento do resíduo de pescado representa uma alternativa sustentável e lucrativa para a indústria de alimentos (MACHADO, et al, 2020), pois além de sanar problemas da eliminação de resíduos orgânicos, o seu aproveitamento agrega valor ao que antes não tinha serventia (AGUIAR, LIMBERGUER, SILVEIRA, 2014; MACHADO, et al, 2020).

A obtenção da CMS vem ganhando espaço no mercado como uma forma de aproveitamento dos resíduos sólidos da filetagem de tilápia. Pois além de ter como vantagem sua alta qualidade nutricional, seu rendimento em carne é superior ao da filetagem, constituída pela fração comestível do pescado separada mecanicamente (BERNADINO FILHO; XAVIER, 2019). A CMS da tilápia é composta principalmente por proteínas (10,8% a 17,7%), lipídeos

(2,2% a 15,7%), umidade (71,0 a 82,5%) e cinzas (0,9% a 1,4%) (BERNADINO FILHO; XAVIER, 2019).

Então a busca por novos produtos tem sido atrelada não apenas a qualidade, mas a produtos que sejam de fácil e rápido preparo e que facilitem o dia a dia dos consumidores. Desta forma, os empanados do tipo *nuggets* tem sido uma opção interessante, pois além de promover o reaproveitamento de CMS de peixe, evita a contaminação ambiental e gera um produto saudável para o consumidor (ROSA, FERRANDIN, SOUSA, 2012).

Entretanto, os alimentos podem ter micro-organismos contaminantes, que podem não apenas reduzir sua vida útil, como também podem ser patogênicos, comprometendo a saúde do consumidor e causar alterações indesejáveis no produto (FRANCO, 2010; SANTOS; WILLY, 2014). Entre os diversos parâmetros que indicam a qualidade de alimentos, aqueles que definem as suas características microbiológicas são os mais importantes. Os alimentos crus, em geral, como carnes, pescados, vegetais e muitos outros, têm micro-organismos naturalmente presentes, chamados autóctones, que fazem parte da microbiota natural destes produtos (FRANCO, 2010; SANTOS; WILLY, 2014). Sendo de fundamental importância a qualidade microbiana dos alimentos para a saúde pública. Havendo a necessidade de se identificar o grau de contaminação dos alimentos, para que se possa estabelecer aplicação de medidas de controle e recomendações para garantir a segurança dos alimentos (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2000; SANTOS; WILLY, 2014).

Dentre os gêneros fúngicos que sintetizam metabólitos secundários, denominadas micotoxinas, estão *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*, quando submetidos a oscilações nutricionais e condições de estresse (DANIAL, et al., 2020; GAMBACORTA, et al., 2018; KRNJAJA, et al., 2020). A contaminação por fungos e a síntese de micotoxinas pode ocorrer não apenas no transporte, como durante o processamento e armazenamento de produtos (FLORES-FLORES, et al., 2015; NOGUEIRA & BUFFON, 2020).

Coprodutos de pescado formulados com alimentos de origem vegetal (macaxeira, farinha de trigo e temperos secos), estão sujeitos a presença de fungos filamentosos e leveduriformes, sendo necessário avaliar os aspectos a deterioração relativos a esses micro-organismos. Neste sentido, com esse trabalho objetivou-se quantificar e isolar fungos filamentosos e leveduriformes em *nuggets* de tilápia estocados em -18 °C.

Material e Métodos

Foram coletadas 10 carcaças de tilápia no Mercado do peixe em Teresina, Piauí, Brasil, que foram imediatamente armazenadas em caixa isotérmica com gelo reciclável e transportadas até o Setor de Tecnologia de Pescado pertencente ao Núcleo de Estudos e Pesquisas e Processamento em Alimentos (NUEPPA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). No Setor de Pescado do NUEPPA procedeu-se o preparo CMS, em que inicialmente, os restos de vísceras aderidas as carcaças foram removidos manualmente, e depois, as carcaças foram lavadas em água corrente e imersas em solução de água hiperclorada com 5,0 ppm de cloro residual livre. Na sequência, foram encaminhadas para a despulpadora para separação da musculatura dos ossos para obtenção de CMS, e as polpas foram armazenadas a -18°C até o momento da elaboração dos *nuggets*.

A partir da CMS de tilápia produzida, foram elaboradas três formulações de *nuggets* com acréscimo de massa de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), variando os teores de CMS em 85,0; 64,5 e 43,0 g/100g do produto (Tabela 1). Após a elaboração dos *nuggets*, foi realizada

a primeira análise no dia da preparação, as outras amostras foram estocadas em *freezer* doméstico (-18°C), com a realização das demais análises após 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias.

Tabela 1: Ingredientes utilizados para elaboração de três formulações de *nuggets*

Ingredientes	Formulações		
	F1	F2	F3
CMS de tilápia	85,0	64,5	43,0
Mandioca	0,0	21,5	43,0
Sal	1,0	1,0	1,0
Cebola	3,0	3,0	3,0
Alho	1,0	1,0	1,0
Farinha de mandioca	4,0	4,0	4,0
Ovo	2,0	2,0	2,0
Farinha de rosca	3,0	3,0	3,0

Fonte: própria

A análise de fungos filamentosos e leveduriformes em unidades formadoras de colônias por grama de alimento (UFC.g⁻¹) foi realizada com diluição decimal seriada em placas, descrita por Pitt e Hocking (2009). A inoculação de cada uma das diluições foi efetuada em duplicata com alíquotas de 0,1 mL por placa de Petri, na superfície do meio de cultivo Agar Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC) com auxílio de alça de Drigalski esterilizada. As placas foram incubadas a 25°C durante sete dias em estufas microbiológicas com controle eletrônico de temperatura, e transcorrido tal período, todas as placas foram observadas, sendo selecionadas para contagem aquelas que continham de 10 a 100 UFC.g⁻¹, e os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias por grama em logaritmos de base 10.

Resultados e Discussão

A análise microbiológica se faz necessária para obter informações sobre as condições de higiene, desde a sua produção até a distribuição para o consumo, sobre o risco que representa à saúde e sobre a vida de prateleira (SANTOS; WILLY, 2014). Neste trabalho foi avaliada a qualidade microbiológica durante o teste de vida de prateleira dos *nuggets* de tilápia produzidos a partir da CMS dos resíduos comestíveis resultantes da filetagem (Tabela 2).

Tabela 2. Contagem de fungos filamentosos e leveduriformes em UFC/g em log₁₀ nas formulações de *nuggets* durante estocagem a -18 °C por 90 dias

Formulação	Tempo (Dias)						
	0	15	30	45	60	75	90
F1	2,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
F2	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
F3	2,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

A presença de fungos filamentosos e leveduriformes indica que as condições higiênicas de preparo dos alimentos foram adequadas, incluindo a manipulação e o processamento (BORDIGNON, et al, 2010). A legislação vigente não estabelece padrões para fungos filamentosos e leveduriformes em *nuggets* de peixes (BRASIL, 2019), no entanto, procura-se evitar a contaminação por esses micro-organismos em alimentos, pois em contagens superiores a 6,0 UFC/g em log₁₀, alguns gêneros de fungos produzem micotoxinas (RIBEIRO, et al, 2015). Porém, a maior contagem observada foi 2,74 UFC/g em log₁₀ (tabela 2), valor considerado baixo, indicando que foram preparados de forma adequada respeitando as BPF.

Apenas amostras do grupo controle das formulações (tempo 0) apresentaram contagens de fungos filamentosos e leveduriformes. Pode-se observar na tabela 2 que durante a estocagem a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 90 dias esses micro-organismos não estavam presentes nas amostras de todas as formulações (tabela 2), indicando que a temperatura baixa provavelmente desfavoreceu a variabilidade desses fungos.

Foi identificado *Penicillium verrucosum* nas amostras das formulações 2 e 3 do tempo zero. Embora não tenha sido testado, esse gênero tem sido indicado como produtor de ocratoxina A (OTA), relacionada a efeitos teratogênicos, nefrotóxicos (TIEMANN, et al., 2009; NOGUEIRA & BUFFON, 2020) e carcinogênicos (Nogueira; Oliveira, 2006; NOGUEIRA & BUFFON, 2020).

A contaminação fúngica encontrada nas amostras pode ter sido inerente a matéria-prima vegetal utilizada para preparar os *nuggets* de tilápia, dentre eles a mandioca (INGENBLEK et al 2019; APEH, et al (2021). Espécies do gênero *Penicillium* têm capacidade de multiplicação em temperatura de refrigeração (SACCOMORI, et al, 2015), porém, a estocagem a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ provavelmente inviabilizou a sobrevivência desses fungos nas amostras de *nuggets* (tabela 2).

Os resultados da vida de prateleira dos *nuggets* produzidos de CMS de tilápia, mostraram que as baixas contagens de fungos e leveduras presentes nas amostras, não foram favorecidas pela temperatura de estocagem (SACCOMORI, et al, 2015), inviabilizando a sua multiplicação e possível deterioração.

Conclusão

Nuggets preparados com aparas de filetagem podem conter baixas contagens de fungos filamentosos dentre eles *Penicillium verrucosum*.

Referências

- Aguiar, G. P. S.; Limberger, G. M.; Silveira, E. L. Alternativas tecnológicas para o aproveitamento de resíduos provenientes da industrialização de pescados. Revista eletrônica interdisciplinar, v. 1, n. 11, 2014.
- Apeh, D. O; Mark, O.; Onoja, V. O.; Awotunde, M.; Ojo, T.; Christopher, P.; Makun, H. A. Cianeto de hidrogênio e micotoxinas: sua incidência e exposição na dieta de produtos de mandioca em Anyigba, Nigéria. **Food Control**, v. 121, p. 107663, 2021.
- Bacelar, R. G. A.; Muratori, M. C. S. Utilização de resíduos de filetagem de tilápia na tecnologia de alimentos: uma revisão. **Revista Científica Rural**, v. 22, n. 2, p. 263-278, 2020.
- Barroso, R. M.; Pincinato, R. B. M.; Munoz, A. E. P. Informativo de Mercado da Tilápia: O mercado da tilápia–2 trimestre de 2017. Embrapa Pesca Aquicultura. Palmas, TO, 2017.
- Barroso, R. M.; Tenório, R. A.; Pedroza Filho, M. X.; Webber, D. C.; Belchior, L. S.; TAHIM, E. F.; Muehlmann, L. D. Gerenciamento genético da tilápia nos cultivos comerciais. **Embrapa Pesca e Aquicultura-Documentos (INFOTECA-E)**, 2015.
- Bernadino Filho, R.; Xavier, L. C. A. Obtenção, rendimento e caracterização de CMS produzida com resíduos da filetagem de Tilápia do Nilo. Revista Brasileira de Agrotecnologia, v. 9, n. 2, p. 01-04, 2019.
- Bordignon, A. C.; De Souza, B. E.; Bohnenberger, L.; Hilbig, C. C.; Boscolo, W. R.; Feiden, A. Elaboração de croquete de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a partir de CMS e aparas do corte em 'V' do filé e sua avaliação físico-química, microbiológica e sensorial. Acta Scientiarum. Animal Sciences, v. 32, n. 1, p. 109-116, 2010.
- Brasil, Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa - IN Nº 161, DE 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **DOU**. 2022.
- Danial, A. M.; Medina, A.; Sulyok, M.; Magan, N. Efficacy of metabolites of a *Streptomyces* strain (AS1) to control growth and mycotoxin production by *Penicillium verrucosum*, *Fusarium verticillioides* and *Aspergillus fumigatus* in culture. Mycotoxin research, p. 1-10, 2020.

- Flores-Flores, M. E.; Lizarraga, E.; De Cerain, A. L.; González-Peñas, E. Presence of mycotoxins in animal milk: A review. *Food Control*, v. 53, p. 163-176, 2015.
- Franco, Mathews. Microbiológica de alimentos: importância do plano de amostragem. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental de Análise. 2010.
- Gambacorta, L.; Magistà, D.; Perrone, G.; Murgolo, S.; Logrieco, A. F.; Solfrizzo, M. Co-occurrence of toxigenic moulds, aflatoxins, ochratoxin A, *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins in fresh sweet peppers (*Capsicum annuum*) and their processed products. *World Mycotoxin Journal*, v. 11, n. 1, p. 159-174, 2018.
- Ingenbleek, L.; Sulyok, M.; Adegboye, A.; Hossou, S. E.; Koné, A. Z.; Oyedele, A. D.; Krska, R. Regional Sub-Saharan Africa total diet study in Benin, Cameroon, Mali and Nigeria reveals the presence of 164 mycotoxins and other secondary metabolites in foods. *Toxins*, v. 11, n. 1, p. 54, 2019.
- Krnjaja, V.; Mandić, V.; Bijelić, Z.; Lukić, M.; Petrović, T.; Stanković, S.; Nikolić, M. Natural toxigenic fungal and mycotoxin occurrence in maize hybrids. *Biotechnology in Animal Husbandry*, v. 36, n. 1, p. 75-85, 2020.
- Lopera-barrero, N. M.; Ribeiro, R. P.; Povh, J. A.; Vargas-mendez, L. D.; Poveda-parra, A. R. Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo. Guaíba: Agrolivros, p. 13-48, 2011.
- Machado, T. M.; De Cássia Catapreta, L.; Furlan, É. F.; Neiva, C. R. P. ECONOMIA CIRCULAR E RESÍDUO DE PESCADO. *Brazilian Journal of Environmental Sciences (Online)*, v. 55, n. 4, p. 525-535, 2020.
- Nascimento, M.; Nascimento, E. Importância da avaliação microbiológica na qualidade e segurança dos alimentos. Embrapa Agrobiologia-Documents (INFOTECA-E), 2000.
- Neiva, C. R. P.; Gonçalves, A. A. Carne mecanicamente separada (CMS) de pescado e surimi. GONÇALVES, AA Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. São Paulo: Atheneu, p. 197-208, 2011.
- Nogueira, W. V.; Buffon, J. G. Micotoxinas em pescado: ocorrência e risco de exposição. *REALIDADES E PERSPECTIVAS*, p. 30, 2020.
- Nogueira, S.; Oliveira, M. B. P. P. Ochratoxin A prevalence in food and consequent food safety problems. *Revista da Sociedade Portuguesa de Ciências da Nutrição e Alimentação*, v. 12, n. 1, p. 69-75, 2006.
- Pires, D. R.; Morais, A. C. N.; Costa, J. F.; Araújo, L. C. D. S.; Oliveira, G. M. Aproveitamento do resíduo comestível do pescado: Aplicação e viabilidade. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 5, p. 34-46, 2014.
- Pitt, J. I.; Hocking, A. D. *Fungi and spoliage*. 2. ed. London: Blackie academic and Professional, 2009.
- Ribeiro, C. L. N.; Barreto, S. L. T.; Hannas, M. I. Micotoxinas encontradas em rações e alimentos utilizados na produção comercial de aves no Brasil. **Nutritime**, v. 12, n. 1, p. 3910-3924, jan/fev, 2015.
- Rosa, C. A. D.; Ferrandin, D. C.; Sousa, M. M. D. Desenvolvimento de *nuggets* de filé e polpa de tilápia com adição de linhaça (*Linum usitatissimum* L.). Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2012.
- Rossetto, J. F.; Signor, A. Inovações tecnológicas empregadas em coprodutos gerados pelo processamento do pescado. **PUBVET**, v. 15, p. In Press, 2020.
- Santos, D. A. D.; Willy, K. A. **Incorporação diferentes concentrações de farinha de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na elaboração de fishburger**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2014.
- Saccomori, F.; Wigmann, É. F.; Bernardi, A. O.; alcano-gonzález, M.; Copetti, M. V. Influence of storage temperature on growth of *Penicillium polonicum* and *Penicillium glabrum* and potential for deterioration of frozen chicken *nuggets*. **International journal of food microbiology**, v. 200, p. 1-4, 2015.
- Silva, C. D. M.; Pires, C. R. F.; Sousa, D. N.; Chicrala, P. C. M. S.; Santos, V. R. V. Evaluation sensory of canned matrinxã (*Brycon amazonicus*) in vegetable oil. *Journal of bioenergy and food science*, v. 3, n. 3, p. 161-169, 2016.
- Sousa, V. F. D. Preparação e caracterização de hidrolisados proteicos de tilápia. Tese de Doutorado. ISA/UL. 2019.
- Tiemann, U.; Tomek, W.; Schneider, F.; Müller, M.; Pöhland, R.; Vanselow, J. The mycotoxins alternariol and alternariol methyl ether negatively affect progesterone synthesis in porcine granulosa cells in vitro. *Toxicology Letters*, v. 186, n. 2, p. 139-145, 2009.