



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

ANA LARISSA BRANDÃO RODRIGUES

**ANÁLISE DA ESTOCAGEM SOB CONGELAMENTO DE CARNE
MECANICAMENTE SEPARADA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) APLICANDO
POLISSACARÍDEOS SULFATADOS DA RODOFÍCEA *Hypnea musciformis* COMO
ADITIVO ALTERNATIVO**

FORTALEZA

2018

ANA LARISSA BRANDÃO RODRIGUES

ANÁLISE DA ESTOCAGEM SOB CONGELAMENTO DE CARNE MECANICAMENTE
SEPARADA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) APLICANDO POLISSACARÍDEOS
SULFATADOS DA RODOFÍCEA *Hypnea musciformis* COMO ADITIVO ALTERNATIVO

Monografia apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro de Pesca.

Orientadora: Profa. Dra. Ianna Wivianne Fernandes de Araújo.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- R611a Rodrigues, Ana Larissa Brandão.
ANÁLISE DA ESTOCAGEM SOB CONGELAMENTO DE CARNE MECANICAMENTE
SEPARADA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) APLICANDO POLISSACARÍDEOS SULFATADOS
DA RODOFÍCEA *Hypnea musciformis* COMO ADITIVO ALTERNATIVO / Ana Larissa Brandão
Rodrigues. – 2018.
47 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências
Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2018.
Orientação: Profa. Dra. Ianna Wivianne Fernandes de Araújo.

1. Antioxidante. 2. Carne Mecanicamente Separada. 3. Armazenamento. I. Título.

CDD 639.2

ANA LARISSA BRANDÃO RODRIGUES

ANÁLISE DA ESTOCAGEM SOB CONGELAMENTO DE CARNE MECANICAMENTE
SEPARADA DE TILÁPIA (*Oreochromis niloticus*) APLICANDO POLISSACARÍDEOS
SULFATADOS DA RODOFÍCEA *Hypnea musciformis* COMO ADITIVO ALTERNATIVO

Monografia apresentada ao Departamento de
Engenharia de Pesca da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial à obtenção do
título de Engenheiro de Pesca.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ianna Wivianne Fernandes de Araújo (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dra. Ana Irene Martins da Silva
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao meu avô, José Rodrigues e Joaquim
Pereira Brandão (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir chegar até aqui e me dar forças e coragem nos momentos difíceis desse caminho.

Aos meus pais, Eliana Mendes Brandão e Antônio Wirton Rodrigues, a minha avó Maria de Fátima Oliveira Rodrigues, aos meus irmãos e toda a minha família pelo apoio, encorajamento, amor e cuidado durante essa longa jornada.

A Profa. Dra. Ianna Wivianne Fernandes de Araújo, pela orientação e ensinamentos durante a graduação. Ao José Ariévilto Gurgel Rodrigues, que me proporcionou muitos momentos de aprendizagem no laboratório. Aos meus companheiros de laboratório, especialmente ao Jefferson Ferreira, Ana Irene, Claudia Cinthia e Jessyca, pois suas contribuições foram de extrema importância.

As professoras participantes da banca examinadora Dra. Ana Irene Martins da Silva e Profa. Dra. Francisca Gleire Rodrigues de Menezes pela disponibilidade do tempo e pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao Prof. Dr. Reynaldo Amorim Marinho, pela oportunidade de fazer parte do Programa de Educação Tutorial (PET), por toda paciência, conselhos e ensinamentos que possibilitaram meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos ao meu namorado, Vitor Praciano, e sua mãe, Marta Praciano, por todo suporte, apoio e carinho. Aos meus amigos de semestre, Andressa, Philippe, Edson e Danilo, que compartilharam momentos de conquistas e aflições desde o início da graduação. A todos os integrantes do PET, em especial a Larissa, Thifany, Jhonatas e Gabriel, que me proporcionaram momentos maravilhosos. E a todos os amigos que fiz durante a graduação, especialmente Bárbara e Gabriele, pelos conselhos, motivação e consolo.

Ao CNPq e FUNCAP pelo apoio financeiro.

E a todos que contribuíram indireta ou diretamente com a minha aprendizagem e formação.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”

(Simone de Beauvoir)

RESUMO

O pescado é um dos alimentos mais perecíveis e por isso a investigação de novas fontes naturais de compostos antioxidantes estão sendo buscadas. Analisou-se a atividade antioxidante de polissacarídeos sulfatados (PSs) da rodofícea *Hynecha musciformis* aplicados na carne mecanicamente separada (CMS) de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Os PSs extraídos com água a 80°C (1,5%; m/v) foram quantificados para açúcares totais, sulfato e proteínas. A polidispersão dos PSs foi avaliada por eletroforese em gel de agarose. A CMS recebeu concentrações diferentes de PSs (0; 0,01; 0,02 ou 0,03g/100g de CMS) ou hidroxitolueno butilado (HTB: 0,01g/100 g de CMS) e foi estocada (-18°C) por 180 dias. A composição química da CMS (inicial e final) foi determinada pelos teores de: umidades, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos. Para avaliar a atividade antioxidante e a qualidade do produto foram realizadas mensalmente análises de pH, bases voláteis totais (BVT), oxidação lipídica e contagem total de bactérias psicotróficas. As amostras foram enviadas a um laboratório especializado para serem analisadas de acordo com as bactérias presentes na legislação. Os PSs liofilizados (20,00±13,25%) exibiram 58,77 e 21,54% de açúcares totais e sulfato, respectivamente, e ausentes de proteínas. A eletroforese revelou no gel polidispersão dos PSs extraídos. Os PSs não afetaram na qualidade nutricional da CMS. Além disso, adição de 0,02g de PSs/100g de CMS reduziu a umidade em 6%. Durante o armazenamento foi observado pequena elevação do pH a partir 30º dia de estocagem para os tratamentos, exceto os controle e o adicionado de 0,02g de PSs/100g de CMS. Ao final da estocagem foi possível observar que os valores de BVT obtidos nos tratamentos adicionados de PSs foram significativamente menores quando comparados aos tratamentos controle e controle positivo (HTB). Da mesma forma, a adição dos PSs na concentração de 0,02g/100g de CMS foi mais eficiente em inibir ou retardar a oxidação lipídica que os outros tratamentos, inclusive quando comparado ao tratamento com antioxidante utilizado na indústria. Os tratamentos adicionados de PSs nas concentrações de 0,01 e 0,02g/100g da CMS apresentaram a menor diferença entre a contagem de bactérias psicotróficas ao início e ao final da estocagem. Todos os tratamentos se mostraram dentro do limite estabelecido pela legislação para *Salmonella* sp., coliformes à 45°C e estafilococos coagulase positiva. Portanto, podemos concluir que a adição dos PSs na CMS de tilápia mostrou comportamento antioxidante, havendo uma concentração ótima de 0,02g/100g de CMS, seguida pela concentração de 0,01g/100g do produto.

Palavras-chave: Antioxidante. Carne Mecanicamente Separada. Armazenamento.

ABSTRACT

Fish is one of the most perishable foods and so research into new natural sources of antioxidant compounds is being sought. The antioxidant activity of sulfated polysaccharides (SPs) of *H. musciformis* applied to the mechanically separated meat (MSM) of tilapia (*Oreochromis niloticus*) was analyzed. SPs extracted with water at 80 °C (1.5%; m/v) were quantified for total sugars, sulfate and proteins. The polydispersity of SPs was evaluated by agarose gel electrophoresis. MSM received different concentrations of SPs (0, 0.01, 0.02 or 0.03g/100g CMS) or butylated hydroxytoluene (BHT: 0.01g/100g CMS) and was stocked (-18 °C) for 180 days. The centesimal composition of MSM (initial and final) was determined by moisture, ash, lipid, protein and carbohydrate contents. To evaluate the antioxidant activity and product quality, pH, total volatile bases (TVB), lipid oxidation and the growth of psychrotrophic bacteria were monthly analyzed. The samples were sent to a laboratory for analysis according to the bacteria present in the legislation. Lyophilized SPs (20.00±13.25%) exhibited 58.77 and 21.54% total sugars and sulfate, respectively, and were absent from proteins. The electrophoresis revealed in the gel polydispersion of the extracted SPs. SPs did not affect the nutritional quality of MSM. Besides that, addition of 0.02g of SPs/100g of MSM reduced the moisture by 6%. During storage, small increases in pH were observed from the 30th day of storage for the treatments, except for the control and the addition of 0.02g of SPs/100g of MSM. At the end of the storage it was possible to observe that the TVB values obtained in the added treatments of SPs were significantly lower when compared to the control and positive control treatments (BHT). Likewise, the addition of SPs in the concentration of 0.02g/100g MSM was more efficient in inhibiting or retarding lipid oxidation than the other treatments, even when compared to the antioxidant treatment used in the industry. The treatments of SPs at concentrations of 0.01 and 0.02g/100g of MSM showed the smallest difference between the count of psychrotrophic bacteria at the beginning and at the end of storage. All treatments were within the limit established by the legislation for *Salmonella* sp., Coliforms at 45°C and coagulase positive staphylococci. Therefore, we can conclude that the addition of SP in tilapia MSM showed an antioxidant behavior, with an optimum concentration of 0.02g/100g MSM, followed by the concentration of 0.01g / 100g of the product.

Keywords: Antioxidant. Mechanically Separated Meat. Storage.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química das três principais formas de carragenana.....	19
Figura 2 – Alga marinha vermelha <i>Hypnea musciformis</i>	20
Figura 3 – Eletroforese em gel de agarose (0,5%) dos polissacarídeos sulfatados totais da alga <i>Hypnea musciformis</i> . O extrato bruto foi revelado com azul de toluidina 0,1%	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Rendimento e composição química dos polissacarídeos sulfatados da alga vermelha <i>Hypnea musciformis</i>	26
Tabela 2	–	Composição química (média ± desvio-padrão, n = 3) de CMS de tilápia, <i>O. niloticus</i> , contendo concentrações diferentes de PSs de <i>H. musciformis</i> vs. HTB	28
Tabela 3	–	Valores de pH de CMS de tilápia, <i>O. niloticus</i> , durante os 180 dias de estocagem sob congelamento	30
Tabela 4	–	Valores de bases nitrogenadas voláteis totais de CMS de tilápia, <i>O. niloticus</i> , durante os 180 dias de estocagem sob congelamento.....	31
Tabela 5	–	Valores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS de CMS de tilápia, <i>O. niloticus</i> , ao longo dos 180 dias de estocagem, sob congelamento	32
Tabela 6	–	Contagem de bactérias psicotróficas de CMS de tilápia, <i>O. niloticus</i> , ao longo dos 180 dias de estocagem	33
Tabela 7	–	Análises microbiológicas das bactérias contempladas na legislação em CMS de tilápia, <i>O. niloticus</i>	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	MATERIAL E MÉTODOS	20
2.1	Obtenção da alga marinha	20
2.2	Extração dos polissacarídeos sulfatados	20
2.3	Análises químicas dos polissacarídeos sulfatados	21
2.3.1	<i>Determinação do conteúdo de carboidratos totais</i>	21
2.3.2	<i>Determinação do conteúdo de proteínas contaminantes</i>	21
2.3.3	<i>Determinação do conteúdo de sulfato livre</i>	21
2.4	Eletroforese em gel de agarose	21
2.5	Adição dos polissacarídeos sulfatados à CMS de tilápia e avaliação dos parâmetros de controle de qualidade durante a estocagem sob congelamento	22
2.5.1	<i>Obtenção da Carne Mecanicamente Separada (CMS)</i>	22
2.5.2	<i>Tratamento da CMS de tilápia com polissacarídeos sulfatados da rodofticea <i>H. musciformis</i></i>	22
2.6	Composição química da CMS de tilápia do Nilo	23
2.6.1	<i>Umidade</i>	23
2.6.2	<i>Proteína bruta</i>	23
2.6.3	<i>Lipídios totais</i>	23
2.6.4	<i>Cinzas</i>	23
2.7	Avaliação dos parâmetros físico-químicos	23
2.7.1	<i>Potencial hidrogeniônico (pH)</i>	23
2.7.2	<i>Bases nitrogenadas voláteis totais (N-BVT)</i>	24
2.7.3	<i>Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i>	24
2.8	Avaliação microbiológica	24
2.9	Análise estatística	25
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
3.1	Rendimento e composição química dos polissacarídeos sulfatados	26
3.2	Eletroforese em gel de agarose	27
3.3	Composição química da CMS de tilápia do Nilo	27
3.4	Avaliação dos parâmetros físico-químicos	29

3.4.1	<i>Potencial hidrogeniônico</i>	29
3.4.2	<i>Bases nitrogenadas voláteis totais (N-BVT)</i>	30
3.4.3	<i>Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)</i>	31
3.5	Análise microbiológica	32
4	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36
	ANEXO A – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO CONTROLE	43
	ANEXO B – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE HTB	44
	ANEXO C – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE 0,01g DE PSs/100g DE CMS	45
	ANEXO D – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE 0,02g DE PSs/100g DE CMS	46
	ANEXO E – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE 0,03g DE PSs/100g DE CMS	47

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui aproximadamente de 12% de toda a água doce do planeta, 8.500 km de costa litorânea e condições ambientais favoráveis para desaprovar como um dos maiores produtores de pescado no mundo (BRASIL, 2014). A tilápia destaca-se com uma das maiores espécies cultivadas no território nacional, responsável por 35,86% da produção total, com mais de 283 mil toneladas no ano de 2017 (IBGE, 2017). O Brasil apresenta relatos de cultivo de tilápias desde a década de 1950 com a *Tilapia rendalli* e o primeiro registro da tilápia do Nilo foi no ano de 1971, em que alguns exemplares vindos da Costa do Marfim foram introduzidos no estado do Ceará (CASTAGNOLLI, 1992).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), dentre as espécies de peixes cultivadas no Brasil, vem se destacando em virtude de suas características zootécnicas e de processamento, por já possuir uma tecnologia de cultivo dominada e, além disso, um grande potencial de expansão em médio/curto prazo (SARY *et al.*, 2009; KIRSCHNIK; MACEDO-VIEGAS, 2009). A produção desta espécie teve um aumento de 223% entre 2005 e 2015, crescimento esse resultante da modernização e da intensificação da produção tanto em tanques-rede, como em viveiros escavados. A regulamentação do uso das águas públicas para criação de peixes de forma intensiva em tanques-rede impulsionou o cultivo, o que tornou a tilápia nilótica responsável por 90% das solicitações de áreas aquícolas no país (BRASIL, 2017).

A grande expansão da produção de tilápia no Brasil se deve as amplas pesquisas que são realizadas em relação à espécie, uma vez que isso oferece maior suporte ao desenvolvimento das diferentes técnicas de manejo e produção. Além do mais, a tilápia nilótica apresenta várias características de interesse comercial, como a rusticidade, alta taxa de crescimento (CASTAGNOLLI, 1992), boa conversão alimentar, fácil reprodução em cativeiro (AYROZA *et al.*, 2006), boa adaptação a produção em tanques-rede, viveiro escavados, *raceways* e tanques circulares (MEURER *et al.*, 2002), aceitação de alimento artificial desde o estágio larval (ZIMMERMANN; FITZSIMMONS, 2004), aceitação do mercado consumidor (EL-SAYED, 2006) e hábito alimentar onívoro, possuindo adaptações morfológicas e fisiológicas que permitem utilizar eficientemente os carboidratos como fonte de energia (TENGGJAROENKUL *et al.*, 2000), promovendo a redução nos custos com a alimentação pela possibilidade de inclusão de ingredientes de origem vegetal (PEZZATO *et al.*, 2002).

O pescado é um dos alimentos mais perecíveis e, devido a isso, precisa de

cuidados adequados que devem ser tomados desde o momento que o pescado é capturado até que chegue ao consumidor final (VIEIRA, 2004). O pescado é um alimento tão susceptível à deterioração devido a sua composição química e o seu pH próximo a neutralidade, o que acaba favorecendo o crescimento bacteriano. A qualidade do pescado envolve sua composição intrínseca, fatores extrínsecos, nível de deterioração e suas características sensoriais (MOURA *et al.*, 2018). Esse produto sofre alterações bioquímicas, físicas, químicas e microbiológicas logo após o momento da captura. Essa série de alterações se inicia pela ação autolítica de enzimas musculares que hidrolisam proteínas e gorduras. Em seguida, a ação dos microrganismos (microbiota do pescado) provocará alterações químicas, devido à produção de bases nitrogenadas voláteis, e físicas, vindo o estágio final a ser sua completa deterioração (HUSS, 1995). Com isso, logo após a captura, o pescado deve ser resfriado imediatamente. O congelamento seria a forma de conservação mais adequada, porém na falta de condições para essa operação, o acondicionamento em gelo é de suma importância (VIEIRA, 2004).

A carne mecanicamente separada (CMS) de pescado é a polpa de peixe separada de pele e ossos em máquina dessossadora (KEAY, 1979; CAC, 2003). O *Codex Alimentarius* define a CMS como um produto obtido a partir de uma única espécie, ou mistura de espécies de peixes com características sensoriais semelhantes, através de processo mecanizado da parte comestível, gerando partículas de músculo esquelético isentas de vísceras, escamas, ossos e pele (FAO/WHO, 1994). A granulometria da CMS é de 2 a 4 milímetros (NEIVA; GONÇALVES, 2011). São utilizados vários termos diferentes para definir a CMS, como *minced fish*, polpa de pescado, cominutado ou cominuído de pescado, carne de pescado dessossado, entre outros. Entretanto, o termo mais adequado seria *minced fish*, para que não haja confusão entre a carne mecanicamente separada e uma carne de pescado que tenha sido apenas moída (NEIVA, 2006).

A principal fonte de tilápia-do-Nilo para o comércio é a aquicultura. Em cativeiro, e a depender do sistema, o crescimento dos animais pode ocorrer de forma heterogênea, de forma que, no momento da despesca, podem-se encontrar organismos abaixo do peso de comercialização. Dessa forma, a produção de CMS utilizando esses animais que não chegaram ao peso de comercialização, variando entre 50 e 200 g, pode representar uma alternativa viável tecnologicamente para esta situação, que pode ser problemática para o produtor. Além disso, é também uma boa opção para indústria, uma vez que a CMS pode ser transformada em outros produtos (KIRSCHNIK e MACEDO-VIEGAS, 2009), com alto valor nutricional, já que os derivados obtidos à base de CMS são considerados alimentos de fácil

digestão, altamente proteicos e de baixo valor calórico, ótima fonte de vitamina e minerais, especialmente cálcio, comparado às demais fontes proteicas disponíveis no mercado (SIMÕES *et al.*, 2004). A exemplo, de outros setores, avícola e bovino, a tendência de aproveitamento integral do pescado faz com que esse possa ser inteiramente explorado, o que gera novos produtos mais acessíveis ao consumidor (SCORVO-FILHO, 2004).

A CMS pode gerar uma variada linha de produtos, como: surimi, *Kamaboko*, fishburguer, salsichas, empanados e enlatados, tirinhas de peixe, *nuggets*, embutidos, etc (FAO/WHO, 1994; MARCHI, 1997; SIDDAIAH *et al.*, 2001), pois é possível controlar e modificar suas características, como suculência, textura, sabor, aroma e estabilidade, dependendo do produto final desejado e da espécie de pescado utilizada (OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2010). No entanto, a CMS é mais vulnerável devido ao processo de separação feito pela máquina gerar maior superfície de contato no produto e o contato da carne com sangue, vísceras, etc. Com isso, a CMS pode sofrer alterações físicas, químicas e microbiológicas em um curto espaço de tempo. O desenvolvimento de novas formulações que visem melhorar a qualidade tecnológica da CMS torna-se necessária e pode ser alcançada por meio do uso de aditivos como conservantes (OETTERER, 2002).

O rendimento do filé da tilápia do Nilo é de aproximadamente 30%, e com isso, gera uma grande quantidade de resíduos que podem ser aproveitados, tanto para a produção de farinha de peixe e afins, como podem ser aproveitados pelo processo de extração de CMS, por meio da utilização de máquinas que separam carne e espinha. Essa extração do resíduo da carne que fica junto aos ossos é realizada com o auxílio de máquinas separadoras de carne e ossos e isso pode aumentar o rendimento de carne entre 10 e 20% no processamento (NEIVA; GONÇALVES, 2011). Geralmente, os resíduos da produção de tilápia são destinados à produção de farinha de peixe, que é utilizada na alimentação animal, ou são descartados na rede pública, o que gera problemas ambientais e perdas econômicas (FERRAZ DE ARRUDA, 2004). Devido à possibilidade de maior recuperação da carne, a produção de CMS pode representar uma alternativa tecnológica, sendo uma boa opção para a indústria de processamento. No entanto, esse processo de separação mecânica gera uma superfície maior de contato com o produto, o que o torna mais vulnerável a contaminantes, podendo sofrer em curto espaço de tempo alterações de natureza física, química e/ou microbiológica (OETTERER, 2002).

Apenas a estocagem sob congelamento não interrompe completamente todas as possíveis alterações na qualidade da CMS. As reações que induzem as alterações oxidativas e a desnaturação proteica continuam a ocorrerem, mesmo em baixas temperaturas (KURADE;

BARRANOWSKI, 1987; KUHN; SOARES, 2002). A incorporação de antioxidantes e de crioprotectores nas CMS de pescado pode melhorar a estabilidade durante o congelamento (ANESE; GORMLEY, 1996; TENUTA-FILHO; JESUS, 2003). A indústria de beneficiamento tem utilizado compostos sintéticos como o hidroxianisol butilado (HAB) e o hidroxitolueno butilado (HTB) como agentes antioxidantes na CMS de pescado. Porém, é conhecido que essas substâncias podem ocasionar alterações enzimáticas e lipídicas em animais e potencialmente efeitos carcinogênicos (ROCHA *et al.*, 2007). Outras substâncias, incluindo o ácido ascórbico, eritorbato de sódio, polifosfatos, ácido cítrico e sorbitol, entre outras, têm sido avaliadas para controlar a oxidação lipídica e aumentar a estabilidade proteica da CMS durante o congelamento (RODRÍGUEZ; BELLO, 1987; CASTRO *et al.*, 1997; ABDEL-AAL, 2001; HERRERA; MACKIE, 2004).

As algas marinhas compõem um grupo diversificado de organismos autotróficos, de significado ecológico e de utilização pelo homem há séculos. São classificadas de acordo, por exemplo, com a sua estrutura física, função e ciclo reprodutivo, cujos organismos dividem-se nos filos Chlorophyta (algas verdes), Phaeophyta (algas pardas) e Rhodophyta (algas vermelhas) (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

As algas, por realizarem fotossíntese, estão sujeitas a uma combinação de fatores como altas concentrações de oxigênio e luz intensa, que levam a formação de radicais livres e outros agentes oxidantes, e por isso, raramente sofrem algum dano oxidativo grave *in vivo* (AHN *et al.*, 2004). Mesmo com o teor de ácidos graxos poli-insaturados, as algas marinhas demonstram estabilidade frente à oxidação durante seu armazenamento (RAYMUNDO; HORTA; FETT, 2004). Por esse motivo, a partir desses seres pode se constituir uma fonte de antioxidantes naturais, tanto para a indústria alimentícia como para a farmacêutica (MATSUKAWA *et al.*, 1997). Dessa forma, os polissacarídeos sulfatados de algas marinhas surgem como uma nova fonte com grande potencial em aditivos naturais (antioxidantes, emulsificantes e gelificantes) a ser investigada.

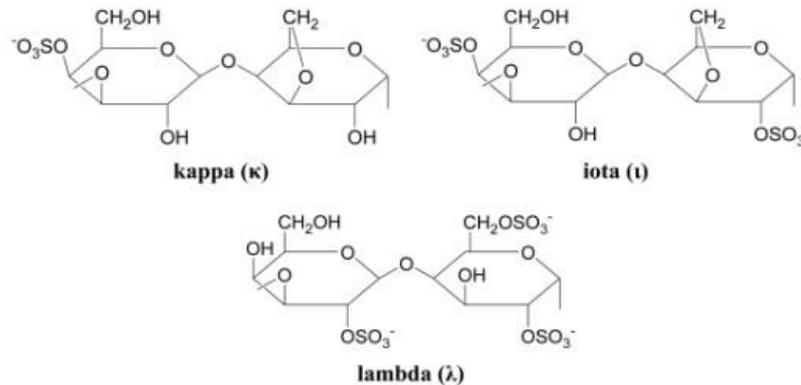
A partir de coletas realizadas em bancos naturais, iniciou-se a utilização das algas marinhas para fins alimentícios e extração de ficocolóides, como carragenanas, agaranas e alginatos, polissacarídeos de importância comercial. Com isso, há um crescente interesse no cultivo de algas para buscar minimizar a dependência de bancos naturais (OLIVEIRA; ALVEAL; ANDERSON, 2000).

Os polissacarídeos sulfatados (PSs) são uma classe de macromoléculas conhecidas por apresentarem caráter polianiônico, estruturalmente complexas e heterogêneas, formadas por unidades repetitivas de açúcares e carregadas negativamente devido à presença

de grupos sulfatados (SO^{3-}) ou da carboxila de ácidos urônicos, sendo encontrados principalmente nas algas marinhas (JIAO *et al.* 2011) e no reino animal (MEDEIROS *et al.* 2000). Os polissacarídeos sulfatados de algas marinhas, em especial, estão localizados em sua parede celular formando uma matriz gelatinosa que parece estar relacionada à proteção contra desidratação em períodos de maré baixa, além de oferecer uma maior flexibilidade à alga, permitindo que esta permaneça estendida e assim capture luz e nutrientes de uma maneira mais eficaz, favorecendo a sobrevivência desses seres no ambiente marinho (PERCIVAL; MCDOWELL, 1967). Tais polímeros, ainda, exercem propriedades diversas, entre elas, a capacidade antioxidante, que foi descrita pela primeira vez por Xue *et al.* (1998). Posteriormente, Li *et al.* (2008) relataram a capacidade desses compostos na prevenção da oxidação lipídica, no sequestro de radicais de espécies reativas e até na quelação de íons metálicos. Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, mesmo presente em baixas concentrações em relação ao substrato oxidante, conseguem atrasar ou inibir as taxas de oxidação (SIES; STHAL, 1995).

As carragenanas representam uma família de polissacarídeos sulfatados (galactanas sulfatadas) de grande aplicação industrial. Sofrem diversas variações originadas de substituições das hidroxilas livres, cuja estrutura é formada por unidades dissacarídicas repetitivas de cadeias alternadas de unidades 1→3 ligada à β -D-galactopiranosose e 1→4 ligada à α -D-galactopiranosose, sendo divididos em seis formas básicas, a saber: Iota (ι -), Kappa (κ -), Lambda (λ -), Mu (μ -) Nu (ν -) e Theta (θ)-carragenanas, cujas três primeiras, que diferem entre si pelo número, localização do radical sulfato na estrutura química e pela presença da ligação 3,6 anidrogactose (FIGURA 1), são consideradas os principais co-polímeros de interesse comercial e para pesquisas científicas. Tal classificação química torna-se relevante comercialmente e para a distinção das fontes das diferentes espécies de rodofíceas produtoras (CAMPO *et al.*, 2009).

Figura 1 – Estrutura química das três principais formas de carragenana.



Fonte: PATEL (2014).

A alga marinha vermelha *Hypnea musciformis* (Wulfen) J.V. Lamouroux, a qual é amplamente encontrada no litoral brasileiro, possui a κ -carragenana como principal polissacarídeo de parede celular, além de utilizado na indústria alimentícia como agente espessante e geleificante (CAMPO *et al.*, 2009). Estudo anterior demonstrou a capacidade desse polissacarídeo de agir como estabilizante em apresuntado elaborado à base de CMS de tilápia, quando adicionado como ingrediente natural (GUIMARÃES, 2017).

Diante do exposto, a investigação de novas fontes naturais que possam gerar compostos que possuam vantagens em relação aos aditivos utilizados pela indústria é de extrema importância. Nesse contexto, surgem os produtos de origem natural, os polissacarídeos sulfatados de algas marinhas, como uma fonte em potencial de novos aditivos (antioxidantes, emulsificantes e gelificantes), visando aumentar a qualidade dos subprodutos da indústria de processamento do pescado. O presente estudo teve como objetivo avaliar o tempo de prateleira sob congelamento de CMS, elaborada a partir de resíduos da filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), adicionada de polissacarídeos sulfatados da rodofícea *H. musciformis* como aditivo alternativo, avaliando-se a composição centesimal e alguns parâmetros de controle de qualidade do produto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção da alga marinha

Exemplares de *H. musciformis* (FIGURA 2) foram obtidos do laboratório de Carboidratos e Lectinas, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (UFC), coordenado pela profa. Dra. Norma Maria Barros Benevides, a partir de um cultivo experimental, localizado na região litorânea da Praia cearense de Flecheiras, município de Trairi, CE (039°16'47" W e 03°13'06" S). Após o transporte em embalagens de polietileno até o Laboratório de Processamento do Pescado (LAPROP), do Departamento de Engenharia de Pesca (UFC), os espécimes foram limpos para a retirada de sal marinho e organismos incrustantes, além de lavados com água destilada, desidratados em temperatura ambiente e armazenados em recipientes fechados, depois de triturados.

Figura 2 – Alga marinha vermelha *Hypnea musciformis*.



Fonte: Botany, University of Hawai'i at Manoa (2001).

2.2 Extração dos polissacarídeos sulfatados

Depois de desidratada e triturada, a alga foi submetida à extração aquosa, na proporção de 1,5% (m:v), em banho-maria a 80°C por 4 h, de acordo com a metodologia descrita por Rodrigues *et al.* (2011b). Logo após filtração em tecido de náilon 60 µm, o resíduo foi descartado, enquanto que os carboidratos presentes no sobrenadante foram

precipitados com adição de álcool de grau comercial (1:3, v:v) por 24 h sob refrigeração. O material precipitado foi reunido e dialisado contra água destilada e, finalmente, liofilizado para a obtenção dos polissacarídeos sulfatados totais.

2.3 Análises químicas dos polissacarídeos sulfatados

2.3.1 Determinação do conteúdo de carboidratos totais

Os carboidratos totais foram determinados pelo método fenol-ácido sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956) e monitorados em espectrofotômetro, ajustado à 490 nm. O açúcar simples D-galactose foi utilizado para a obtenção da curva-padrão.

2.3.2 Determinação do conteúdo de proteínas contaminantes

A possível presença de proteínas foi analisada segundo o método de Bradford (1976), utilizando-se Albumina Sérica Bovina como padrão, em espectrofotômetro ajustado a 525 nm.

2.3.3 Determinação do conteúdo de sulfato livre

O teor de sulfato livre foi determinado após hidrólise ácida (HCl 1 M, 5 horas, 105 °C) pelo método da gelatina-bário (DODGSON; PRICE, 1962) em espectrofotômetro à 360 nm. Como padrão foi empregado o sulfato de sódio.

2.4 Eletroforese em gel de agarose

Os polissacarídeos sulfatados foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 0,5% em tampão 1,3 - acetato diaminopropano 50 mM (pH 9,0). Os polissacarídeos sulfatados foram aplicados no gel e a corrida realizada em voltagem constante (110 V) durante 60 min. Após o procedimento, os polissacarídeos sulfatados presentes no gel foram fixados com uma solução de *N*-cetil-*N,N,N*-brometo de trimetilamônio a 0,1% por 24 horas. Em seguida, o gel foi corado com azul de toluidina a 0,1% e, finalmente, descorado com uma solução contendo etanol absoluto, água destilada e ácido acético concentrado (4,95: 4,95: 0,1; $v^{-1}v^{-1}v^{-1}$), como descrito por Dietrich e Dietrich (1976).

2.5 Adição dos polissacarídeos sulfatados à CMS de tilápia e avaliação dos parâmetros de controle de qualidade durante a estocagem sob congelamento

2.5.1 Obtenção da Carne Mecanicamente Separada (CMS)

Para obtenção da CMS, foram utilizados resíduos da filetagem de tilápia nilótica (carcaças e aparas do toalete do filé), provenientes da indústria de processamento deste peixe. O processo de obtenção foi realizado na planta de processamento de uma indústria, no município de Fortaleza-CE, sob condições higiênicas satisfatórias. Para a recuperação da carne utilizou-se uma máquina despulpadora de pescado. As amostras foram embaladas em porções menores em sacos de polietileno, vedadas e congeladas (-22°C). A CMS foi transportada em caixas isotérmicas para o Laboratório de Processamento do Pescado do Departamento de Engenharia de Pesca (UFC) para a realização desta pesquisa.

2.5.2 Tratamento da CMS de tilápia com polissacarídeos sulfatados da rodofícea *H. musciformis*

As amostras de CMS foram separadas em porções menores e, a seguir, adicionados os polissacarídeos sulfatados, em diferentes concentrações (0,01; 0,02 e 0,03 g de PSs/100g de CMS). Um grupo controle foi preparado nas mesmas condições, sem adição dos polissacarídeos sulfatados da alga. Como grupo controle positivo, adicionado à CMS, foi utilizado o HTB na concentração de 0,01/100g, de acordo com a Portaria da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de N° 1004, de 11 de dezembro de 1998 (BRASIL, 1998), sendo as amostras embaladas em sacos de polietileno, vedadas, congeladas e estocadas a -18°C. As amostras foram divididas em porções para cada análise realizada, em triplicata, e para os respectivos dias de análise, para garantir a qualidade e a manutenção da temperatura da amostra. As análises de composição química foram realizadas no início (0 dias) e no final (180 dias) de armazenamento. Já os parâmetros físico-químicos e a contagem de microrganismos psicrotróficos foram realizadas no dia do processamento (0 dia) e aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de armazenamento. Além disso, no início da estocagem foram enviadas amostras para análise microbiológica em relação as bactérias da legislação, citada na Resolução RDC 12 nº 12 (BRASIL, 2001), *Salmonella* sp., estafilococos coagulase positiva e coliformes à 45°C.

2.6 Composição química da CMS de tilápia do Nilo

2.6.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico, onde as amostras permaneceram em estufa de secagem na temperatura 105 ± 1 °C até peso constante (PREGNOLATO; PREGNOLATO, 1985). Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em g/100g.

2.6.2 Proteína bruta

A proteína bruta foi quantificada mediante a determinação de nitrogênio total pelo método de Microkjeldhal, utilizando o fator 6,25 para conversão do valor de nitrogênio em proteína (JOHNSON; ULRICH, 1974). Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em g/100g.

2.6.3 Lipídios totais

O teor de lipídios foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando acetona P.A como solvente extrator (PREGNOLATO; PREGNOLATO, 1985). Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em g/100g.

2.6.4 Cinzas

A fração cinza foi determinada por incineração da matéria orgânica, em forno mufla a 550 °C, até o peso constante (PREGNOLATO; PREGNOLATO, 1985). Os resultados foram calculados em base úmida e expressos em g/100g.

2.7 Avaliação dos parâmetros físico-químicos

2.7.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

A mensuração do pH foi realizada através do pHmetro digital, sendo utilizada 5g de amostra em 50 mL de água destilada, conforme Pregnolato e Pregnolato (1985).

2.7.2 Bases nitrogenadas voláteis totais (N-BVT)

As análises de bases nitrogenadas voláteis totais (N-BVT) foram efetuadas segundo Malle e Tao (1987) a partir do método de destilação com modificações. Foram homogeneizadas 10 g das amostras com 90 mL de ácido tricloroacético para precipitação do nitrogênio total. O filtrado, contendo o nitrogênio volátil, foi alcalinizado a vapor, sendo recebido em solução de ácido bórico e titulado com solução de ácido sulfúrico 0,05M, padronizado na presença de indicador misto. O cálculo do teor de N-BVT foi realizado através da seguinte fórmula:

$$\text{N-BVT (mg/100g)} = (14 \text{ g/mol} \times a \times b \times 300) / 25 \text{ mL}$$

onde:

a – ml de H₂SO₄ utilizado na titulação;

b – normalidade do ácido sulfúrico.

2.7.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O teor de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, indicador de peroxidação lipídica, foi avaliado pelo método de extração em ácido tricloroacético (TCA), conforme Vyncke (1970), utilizando o Tetrametoxipropano para a obtenção da equação da reta que foi utilizada no cálculo dos valores de TBARS.

Para a extração dos aldeídos preparou-se um extrato ácido aquoso homogeneizado com 10 g das amostras e 50 mL de ácido tricloroacético (TCA) diluído em propil galato (PG) e um agente quelante, o EDTA sódico, com a finalidade de evitar a formação errônea de malonaldeído ou outras substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) durante a mistura e filtração da amostra. Esse extrato filtrado reagiu com a solução de TBA sob aquecimento por 15 min, em banho-maria, para a formação do complexo colorido, o qual foi medido em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 532 nm. Os resultados foram expressos em valor de TBARS, definido como miligramas (mg) de malonaldeído por quilograma (kg) de amostra.

2.8 Análise microbiológica

As análises das bactérias contempladas pela legislação brasileira vigente foi realizada pela pesquisa de *Salmonella* sp/25g., quantificação de *Estafilococos* coagulase

positiva/g e enumeração de coliformes a 45 °C/g de acordo com as recomendações da Resolução RDC/ANVISA nº12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) no tempo inicial de estocagem. Essa análise foi realizada pelo laboratório LABORSAÚDE – Serviços de Análise e Comércio LTDA. Os microrganismos aeróbios psicrotróficos foram quantificados pelo método de plaqueamento, utilizando o meio ágar para contagem padrão, sendo as placas incubadas em estufa BOD por 10 dias (DOWNES; ITO, 2001). e foram avaliados a cada 30 dias durante 180 dias de estocagem. As colônias foram quantificadas e os resultados expressos em UFC/g.

2.9 Análise estatística

Os dados paramétricos foram expressos em médias e comparados por análise de variância univariada (ANOVA) entre três ou mais grupos e teste de t-Student foi utilizado para comparação entre dois grupos, considerando o nível de significância de 5%. Foi utilizado o software OriginPro 2018 para a análise dos dados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento e composição química dos polissacarídeos sulfatados

O rendimento dos polissacarídeos sulfatados totais da alga marinha vermelha *Hypnea musciformis*, obtidos a partir da extração com água, seguida de diálise e liofilização, foi de $20,00 \pm 13,25\%$, baseado na matéria-prima desidratada. Contudo, essa quantidade obtida mostrou-se inferior ao estudo prévio de Rodrigues *et al.* (2011a) que encontraram um rendimento bruto de polissacarídeos sulfatados de 36,80%, empregando-se a mesma condição de extração. Quando os mesmos autores compararam também a extrações refinadas com água e digestão com papaína, observaram-se percentagens de 24,20 e 20,80%, respectivamente. Segundo a literatura, o rendimento dos polissacarídeos sulfatados de algas marinhas varia com o protocolo de obtenção, bem como a espécie utilizada e estação do ano (MARINHO-SORIANO; BOURRET, 2003; AZIZA *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2012).

Na análise da composição química mostrada na Tabela 1, os teores de açúcares totais e sulfato, encontrados nas amostras de polissacarídeos sulfatados totais extraídos da alga marinha *H. musciformis*, perfizeram 58,77 e 21,54%, respectivamente.

Tabela 1- Rendimento e composição química dos polissacarídeos sulfatados da alga vermelha *Hypnea musciformis*.

Rendimento (%)	Açúcares totais (%)	Conteúdo proteico (%)	Sulfato livre (%)
$20,00 \pm 13,25$	58,77	-	21,54

Os valores de açúcares totais e sulfato encontrados nesta pesquisa foram semelhantes aos obtidos de polissacarídeos sulfatados do tipo carragenanas comerciais avaliados por Silva *et al.* (2010), que apresentaram conteúdos variando de 60,26 a 64,50% para açúcares totais e de 17 a 33,38% para sulfato.

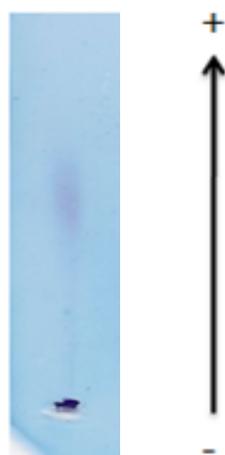
Os polissacarídeos sulfatados mostraram-se, ainda, isentos de proteínas nas amostras do polímero examinadas (TABELA 1). Esse resultado diverge do resultado encontrado no estudo de Rodrigues *et al.* (2011b) utilizando esta mesma espécie e em carragenanas comerciais (SILVA *et al.*, 2010), cujas pesquisas revelaram proteínas nas amostras examinadas. O fato da ausência de proteínas pelo método colorimétrico de Bradford (1976) foi importante, tendo em vista que a parede celular das algas contém proteínas complexadas aos carboidratos de matriz (PERCIVAL; MCDOWELL, 1967), tornando a

aplicação desses polissacarídeos desejável do ponto de vista qualitativo para uso alimentício (CAMPO *et al.*, 2009). O emprego de uma temperatura elevada (80°C) para obtenção em água dos polissacarídeos sulfatados de *H. musciformis* poderia ter ocasionado desnaturação proteica.

3.2 Eletroforese em gel de agarose

A eletroforese em gel de agarose teve como propósito caracterizar físico-quimicamente os polissacarídeos sulfatados obtidos da alga marinha vermelha *H. musciformis*. O procedimento revelou, no gel, banda única polissacarídica polidispersa (FIGURA 2), de intensidade violácea após revelação com azul de toluidina, cuja característica é comum para polissacarídeos sulfatados de algas e corroborando com Rodrigues *et al.* (2011a) quem analisaram o padrão de cargas dos polissacarídeos sulfatados de *H. musciformis*, empregando-se tal técnica analítica.

Figura 3 - Eletroforese em gel de agarose (0,5%) dos polissacarídeos sulfatados totais da alga *Hypnea musciformis*. O extrato bruto foi revelado com azul de toluidina 0,1%.



Fonte: A autora.

3.3 Composição química da CMS de tilápia do Nilo

Os valores referentes à composição química da CMS de tilápia, não lavada, estão mostrados na Tabela 2. Não houve diferença estatisticamente significativa, ao nível de 5%, quanto aos níveis de proteínas e lipídios entre o início e final da estocagem sob congelamento da CMS, exceto em carboidratos na aplicação de 0,02 g de PSs/100 g de CMS. Além disso,

observou-se que a adição de polissacarídeos sulfatados da alga (0,02 g de PSs/100 g de CMS) acresceu cinzas em 1,17 vezes vs. HTB que diminuiu 0,06%, além de uma redução importante ao final a umidade em 6% da estocagem inicial. Ademais, diminuindo os níveis de umidade entre os tempos iniciais e finais nos tratamentos adicionados de 0,02 e 0,03 g de PS/100 g de CMS.

Tabela 2 – Composição química (média \pm desvio-padrão, n = 3) de CMS de tilápia, *O. niloticus*, contendo concentrações diferentes de PSs de *H. musciformis* vs. HTB.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA						
Amostras	T	Pt (%)	Lp (%)	Ca (%)	Cz (%)	Um (%)
Controle	0	13,06 \pm 0,44 _{aA}	13,02 \pm 1,09 _{aA}	0,19 \pm 1,26 _{aA}	0,73 \pm 0,06 _{aA}	73,00 \pm 0,00 _{aAB}
	180	14,90 \pm 0,83 _{aA}	13,20 \pm 0,60 _{aA}	0,58 \pm 0,31 _{aA}	0,65 \pm 0,06 _{aA}	70,67 \pm 0,57 _{aAB}
HTB	0	13,98 \pm 0,50 _{aA}	12,69 \pm 0,18 _{aA}	0,28 \pm 0,36 _{aA}	0,72 \pm 0,02 _{aA}	72,33 \pm 0,58 _{aA}
	180	13,95 \pm 2,77 _{aA}	12,02 \pm 0,32 _{aA}	0,37 \pm 2,00 _{aA}	0,66 \pm 0,06 _{aA}	69,00 \pm 2,00 _{bA}
0,01g/100 g CMS	0	12,47 \pm 0,87 _{aA}	12,50 \pm 0,34 _{aA}	0,66 \pm 0,59 _{aA}	0,70 \pm 0,08 _{aA}	74,67 \pm 1,15 _{aB}
	180	13,75 \pm 2,30 _{aA}	13,55 \pm 0,49 _{aA}	0,27 \pm 0,97 _{aA}	0,76 \pm 0,13 _{bA}	71,67 \pm 1,15 _{bAB}
0,02g/100 g CMS	0	12,99 \pm 0,93 _{aA}	11,59 \pm 0,85 _{aA}	0,40 \pm 1,78 _{aA}	0,69 \pm 0,06 _{aA}	74,33 \pm 0,58 _{aB}
	180	15,65 \pm 3,10 _{aA}	12,33 \pm 0,58 _{aA}	0,88 \pm 2,31 _{bA}	0,81 \pm 0,24 _{bA}	68,32 \pm 0,57 _{bB}
0,03g/100 g CMS	0	12,78 \pm 0,33 _{aA}	11,61 \pm 0,30 _{aA}	0,60 \pm 0,34 _{aA}	0,68 \pm 0,01 _{aA}	74,33 \pm 0,57 _{aB}
	180	14,45 \pm 0,43 _{aA}	12,44 \pm 0,90 _{aA}	0,12 \pm 1,64 _{aA}	0,65 \pm 0,05 _{aA}	72,33 \pm 0,58 _{bAB}

T: Tempo; Pt: Proteínas; Lp: Lipídios; Ca: Carboidratos; Cz: Cinzas; Um: Umidade. *Letras minúsculas indicam diferenças significativas entre os tempos em cada tratamento e maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos, $p < 0,05$.

Os níveis de proteína foram semelhantes aos encontrados por Kirschnik e Macedo-Viegas (2009) para CMS de tilápia do Nilo não lavada e maiores comparadas a CMS lavada. Segundo os mesmos autores, o processo de lavagem propicia a remoção de proteínas hidrossolúveis, o que justifica o menor valor no produto. Os valores de proteínas corroboram com os encontrados por Fogaça *et al.* (2015) para CMS de tilápia. Os níveis de lipídios encontrados foram maiores que os relatados por Fogaça *et al.* (2015) e Kirschnik *et al.* (2013) para CMS de tilápia do Nilo. O alto valor de gordura pode ser devido ao fato de as porções ventrais musculares da carcaça apresentarem mais gordura e parte dessa gordura ser retirada junto com a CMS. O teor de gordura foi semelhante ao encontrado por Hosda, Nandi e Grasseli (2013) para *nuggets* feitos com CMS de tilápia.

O valores de cinza encontrados corroboram com os obtidos por Marengoni *et al.* (2009) e Kirschnik *et al.* (2013). Possivelmente, o fato do acréscimo no conteúdo cinza ($p < 0,05$) observado na Tabela 2, no produto adicionado com polissacarídeos sulfatados

obtidos de *H. musciformis*, ao final de 180 dias de estocagem, seja decorrente dos grupos éster sulfatos presentes nos polissacarídeos e minerais associados a estes na matriz da alga (CAMPO *et al.*, 2009), refletindo assim em cinzas, exceto na maior concentração testada do polissacarídeo (0,03 g de PSs/100 g de CMS) que não elevou o conteúdo de cinzas, especulando-se um comportamento diferente sobre o alimento.

Os teores de umidade foram próximos aos valores encontrados por Marengoni *et al.* (2009) utilizando *fishburguers* de CMS de tilápia do Nilo, menores dos valores encontrados por Kirschnik e Macedo-Viegas (2009) para CMS de tilápia do Nilo e semelhantes aos obtidos por Fogaça *et al.* (2015). Os valores encontrados corroboraram com Ogawa e Maia (1999), que relataram que a composição química das partes comestíveis de peixes e crustáceos variam entre 60 e 85% de umidade.

Por outro lado, a diminuição importante da umidade nos tratamentos adicionados com polissacarídeos sulfatados de *H. musciformis*, especialmente na concentração intermediária ($p < 0,05$), ao final da estocagem, sugere em decorrência da natureza hidrofílica dos polissacarídeos sulfatados da alga, desde que a solubilidade em água depende, por exemplo, dos níveis de grupos sulfatados presentes na molécula (CAMPO *et al.*, 2009). É sabido que o polissacarídeo sulfatado dessa espécie de alga é do tipo k-carragenana, que possui um grupamento sulfato por unidade dissacarídica e ligação 3,6-anidrogactose, cuja sua formação decorre da eliminação do radical no carbono 6 do resíduo de galactose da unidade B, permitindo a formação de um gel forte, quando em água (CAMPO *et al.*, 2009). Essa propriedade poderia vir a contribuir para a retenção de água no produto e, conseqüentemente, da água disponível à ação de microorganismos e seus metabólitos, que estes diminuem a vida útil do produto (MARENGONI, 2009). Portanto, estabilizando o produto como demonstrado previamente em apresuntado à base de CMS de tilápia segundo Guimarães (2017).

3.4 Avaliação dos parâmetros físico-químicos

3.4.1 Potencial hidrogeniônico (pH)

A Tabela 3 demonstra que não ocorreu diferença estatisticamente significativa nos 30 primeiros dias de armazenamento, sendo os valores iniciais de pH de $7,54 \pm 0,04$; $7,45 \pm 0,04$, $7,45 \pm 0,05$; $7,57 \pm 0,02$ e $7,45 \pm 0,05$ para os tratamentos controle, adicionado de HBT e adicionados de polissacarídeos sulfatados nas concentrações de 0,01; 0,02 ou

0,03g/100g de CMS. Durante o armazenamento foi observada uma pequena elevação a partir do trigésimo dia de estocagem para os tratamentos, exceto os tratamentos controle e adicionado de 0,02g de PSs/100g de CMS.

Tabela 3 – Valores de pH de CMS de tilápia, *O. niloticus*, totais durante os 180 dias de estocagem sob congelamento.

Tempo	pH				
	Controle	HBT	0,01g/100g CMS	0,02g/100g CMS	0,03g/100g CMS
0	7,54 ± 0,04 ^a AB	7,45 ± 0,04 ^a A	7,45 ± 0,05 ^a A	7,57 ± 0,02 ^a B	7,45 ± 0,05 ^a A
30	7,53 ± 0,02 ^a AB	7,51 ± 0,02 ^b A	7,59 ± 0,00 ^b cB	7,57 ± 0,03 ^a AB	7,63 ± 0,04 ^b B
60	7,48 ± 0,03 ^a cA	7,48 ± 0,00 ^a bcA	7,50 ± 0,02 ^a cA	7,51 ± 0,00 ^a bcA	7,52 ± 0,02 ^a A
90	7,63 ± 0,02 ^b A	7,60 ± 0,01 ^b cA	7,63 ± 0,02 ^b A	7,51 ± 0,03 ^a bcB	7,50 ± 0,03 ^a B
120	7,49 ± 0,04 ^a cA	7,51 ± 0,00 ^b cB	7,54 ± 0,02 ^c A	7,52 ± 0,04 ^a bcA	7,51 ± 0,04 ^a A
150	7,44 ± 0,02 ^c A	7,50 ± 0,00 ^b cB	7,48 ± 0,02 ^a AB	7,49 ± 0,01 ^b cB	7,47 ± 0,02 ^a AB
180	7,35 ± 0,02 ^d A	7,37 ± 0,01 ^d AC	7,49 ± 0,01 ^a cB	7,44 ± 0,04 ^c C	7,48 ± 0,02 ^a C

*Letras minúsculas indicam diferenças significativas entres os tempos em cada tratamento e maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos, $p < 0,05$.

Segundo Contreras-Guzmán (2002), o aumento do pH em pescado e/ou produtos de pescado pode indicar degradação proteica, com produção de substâncias como amônia e aminas. Jesus *et al.* (2001) observaram apenas pequenas variações nos valores de pH durante a estocagem sob congelamento de CMS de peixes amazônicos. Segundo Gryscek *et al.* (2003), o comportamento do pH durante a estocagem, sob congelamento, é dependente da temperatura de estocagem, composição de sais, estado fisiológico e ação enzimática. Kirschnik *et al.* (2013) encontrou comportamento do pH parecido com o obtido no presente estudo. A legislação em vigor estabelece uma faixa de valores de pH, que deve ser menor que 7, para a carne do pescado fresco. No entanto, nada é citado sobre esse parâmetro para subprodutos de pescado, como exemplo a CMS (BRASIL, 2017). Durante todo o período de estocagem, os valores de pH apresentaram índices mais elevados que a legislação vigente para pescado fresco. Isso pode ser causado pelo processamento que a CMS sofre na indústria, não se tratando mais, dessa forma, de um produto considerado fresco.

3.4.2 Bases nitrogenadas voláteis totais (N-BVT)

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) para os valores de bases nitrogenadas voláteis totais nos trinta primeiros dias de estocagem para todos os tratamentos, sendo os valores iniciais de bases nitrogenadas voláteis totais (N-BVT) variando entre 1,68 e 1,90 mg/100g de CMS. Esses valores podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 – Valores de bases nitrogenadas voláteis totais de CMS de tilápia, *O. niloticus*, durante os 180 dias de estocagem sob congelamento.

Tempo	N-BVT (mg/100 g de CMS)				
	Controle	HBT	0,01g/100g CMS	0,02g/100g CMS	0,03g/100g CMS
0	1,90 ± 0,19 ^{aA}	1,68 ± 0,17 ^{aA}	1,90 ± 0,19 ^{aA}	1,85 ± 0,24 ^{aA}	1,90 ± 0,19 ^{aA}
30	1,96 ± 0,10 ^{aA}	2,13 ± 0,19 ^{aA}	1,93 ± 0,12 ^{aA}	1,85 ± 0,17 ^{aA}	2,13 ± 0,10 ^{aA}
60	5,29 ± 0,36 ^{bA}	5,04 ± 0,71 ^{bA}	4,70 ± 0,29 ^{bA}	4,20 ± 0,29 ^{bA}	4,37 ± 0,29 ^{bcA}
90	5,37 ± 0,00 ^{bA}	5,04 ± 0,34 ^{bA}	4,82 ± 0,19 ^{bA}	4,48 ± 0,39 ^{bA}	4,48 ± 0,39 ^{bA}
120	5,38 ± 0,00 ^{bA}	5,15 ± 0,19 ^{bAB}	4,93 ± 0,19 ^{bABC}	4,82 ± 0,19 ^{bBC}	4,59 ± 0,19 ^{bC}
150	5,42 ± 0,30 ^{bA}	4,87 ± 0,29 ^{bA}	3,53 ± 0,24 ^{cB}	4,48 ± 0,48 ^{bAB}	3,58 ± 0,39 ^{cB}
180	5,46 ± 0,59 ^{bA}	5,04 ± 0,00 ^{aAB}	3,53 ± 0,24 ^{cB}	4,48 ± 0,48 ^{bAB}	3,92 ± 0,48 ^{bcB}

*Letras minúsculas indicam diferenças significativas entres os tempos em cada tratamento e maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos, $p < 0,05$.

A partir do trigésimo dia de estocagem, os valores para bases nitrogenadas voláteis toais (N-BVT) aumentaram significativamente até o sexagésimo dia e, a partir desse período, não houve diferenças significativas, com exceção dos tratamentos adicionados de polissacarídeos sulfatados nas concentrações de 0,01 e 0,03g/100g de CMS. Ao final da estocagem, foi possível observar que os valores de N-BVT obtidos nos tratamentos adicionados de PSs foram significativamente menores quando comparados aos tratamentos controle e controle positivo (adicionado de HBT), sendo o tratamento adicionado de 0,01 g de PSs/100 g de CMS o menor valor encontrado, de $3,53 \pm 0,24$ mg de BVT/100 g de CMS, seguido pelo tratamento adicionado de 0,03 e 0,02 g de PSs/100 g de CMS, os quais foram encontrados valores de $3,92 \pm 0,48$ e $4,48 \pm 0,48$ mg de BVT/100 g de CMS, respectivamente. Segundo Kirschnik *et al.* (2013) a produção de N-BVT durante o armazenamento do pescado é resultante da ação de enzimas produzidas pela atividade microbiana. Desta forma, sugere-se que a adição de polissacarídeos sulfatados da rodófitca *Hypnea musciformis* pode reduzir e/ou atrasar a ação desses compostos, podendo melhorar e/ou aumentar o tempo de armazenamento da CMS. É importante ressaltar que os níveis detectados para N-BVT em todos os tratamentos e períodos avaliados estão bem abaixo do limite de aceitabilidade recomendado para pescado fresco no Brasil, que é de 30 mg de BVT/100 g do produto (BRASIL, 2017).

3.4.3 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A oxidação lipídica é um dos problemas de qualidade que mais afeta a CMS de pescado (TENUTA FILHO; JESUS, 2003). O teste de TBARS quantifica o malonaldeído, um dos principais produtos de decomposição dos hidroperóxidos de ácidos graxos poli-

insaturados, formados durante o processo oxidativo (KIRSCHNIK *et al.*, 2013). Os dados obtidos nesse estudo estão expostos na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS de CMS de tilápia, *O. niloticus*, ao longo dos 180 dias de estocagem, sob congelamento.

Oxidação lipídica (mg de malonaldeído/kg)					
Tempo	Controle	HBT	0,01g/100g CMS	0,02g/100g CMS	0,03g/100g CMS
0	0,17 ± 0,01 ^{aA}	0,16 ± 0,02 ^{aA}	0,11 ± 0,02 ^{aB}	0,09 ± 0,00 ^{aB}	0,10 ± 0,01 ^{aB}
30	0,22 ± 0,00 ^{abA}	0,23 ± 0,00 ^{aA}	0,21 ± 0,00 ^{bA}	0,23 ± 0,02 ^{bA}	0,26 ± 0,14 ^{bA}
60	0,31 ± 0,05 ^{bA}	0,37 ± 0,09 ^{bA}	0,36 ± 0,02 ^{cA}	0,34 ± 0,02 ^{cA}	0,40 ± 0,02 ^{bcA}
90	0,43 ± 0,02 ^{cAC}	0,63 ± 0,02 ^{cB}	0,49 ± 0,02 ^{dA}	0,38 ± 0,03 ^{dC}	0,47 ± 0,04 ^{cA}
120	1,15 ± 0,02 ^{dA}	0,63 ± 0,00 ^{cB}	0,56 ± 0,01 ^{eC}	0,77 ± 0,01 ^{eD}	1,08 ± 0,01 ^{dE}
150	1,32 ± 0,03 ^{eA}	0,89 ± 0,02 ^{dB}	0,87 ± 0,00 ^{fB}	0,93 ± 0,01 ^{fB}	1,13 ± 0,00 ^{dC}
180	1,50 ± 0,08 ^{fA}	1,16 ± 0,01 ^{eB}	1,18 ± 0,00 ^{gB}	1,09 ± 0,00 ^{gB}	1,19 ± 0,01 ^{dB}

*Letras minúsculas indicam diferenças significativas entres os tempos em cada tratamento e maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos, $p < 0,05$.

Os valores obtidos aumentaram de forma significativa durante os 180 dias de estocagem, sendo o maior valor encontrado, de $1,50 \pm 0,08$ mg de malonaldeído/kg da CMS, no tratamento controle. Esse valor foi significativamente maior que os outros quatro tratamentos, que não diferiram estatisticamente entre si. O menor valor encontrado ao final da estocagem, de $1,09 \pm 0,00$ mg de malonaldeído/kg da CMS, foi da amostra adicionada de 0,02g de PSs/100g de CMS. Essa concentração foi menor que a encontrada no tratamento em que foi adicionado o antioxidante utilizado atualmente na indústria (HTB), sugerindo que os polissacarídeos sulfatados de *H. musciformis* teriam a mesma eficiência em retardar a oxidação lipídica. Segundo Al-Kahtani *et al.* (1996), o pescado pode ser considerado em bom estado de consumo se os valores de estiverem abaixo de 3 mg de malonaldeído/kg do produto. Nenhum dos tratamentos utilizados ultrapassou esse valor durante os 180 dias de estocagem. Esses valores foram maiores que os encontrados por Kirschnik *et al.* (2013) utilizando CMS de tilápia lavada e não-lavada e com a adição ou não de conservantes. Isso pode ser explicado devido ao teor de lipídios encontrados no presente estudo serem maior do que o obtido por estes autores, visto que a composição pode variar segundo a origem da matéria-prima.

3.5 Análise microbiológica

Em relação à contagem total de bactérias psicrotóxicas foi observado um aumento significativo durante os 180 dias de estocagem da CMS de tilápia do Nilo. No entanto, como podemos observar na Tabela 6, a amostra adicionada de 0,01g de PSs/100g de CMS foi

significativamente diferente do tratamento controle, sendo o menor valor encontrado entre todos os tratamentos, seguido pelo tratamento adicionado de 0,02g de PSs/100g de CMS. Além disso, estes dois tratamentos apresentaram uma menor diferença entre a contagem no início da estocagem e ao final dos 180 dias de estocagem. Embora não haja limites estabelecidos para bactérias psicotróficas (BRASIL, 2001), níveis elevados podem reduzir a qualidade da CMS do pescado (KIRSCHNIK *et al.*, 2013). Dessa forma, a adição de polissacarídeos sulfatados de *H. musciformis* sugere inibir o crescimento desses microrganismos de forma tão eficiente quanto o HTB, antioxidante utilizado na indústria. Isto reforçou o papel desses polianiônicos como retentores de água do produto (TABELA 2), sendo a concentração de 0,02g de PSs/100g de CMS capaz de reduzir a umidade em 6% ao final do período de estocagem.

Tabela 6 – Contagem de bactérias psicotróficas de CMS de tilápia, *O. niloticus*, ao longo dos 180 dias de estocagem.

Contagem de bactérias psicotróficas (10^5 UFC/g)					
Tempo	Controle	HBT	0,01g/100g CMS	0,02g/100g CMS	0,03g/100g CMS
0	25 ± 3,3 acA	31,6 ± 2,8 abcAB	37,6 ± 1,3 abcAB	27,4 ± 0,4 aAB	38,8 ± 5,3 aB
30	50 ± 19 bcA	21 ± 0,6 abcB	4,6 ± 1,1 acB	7 ± 0,8 aB	15,4 ± 0,3 aB
60	65 ± 6,4 bcA	54,5 ± 0,7 aAB	44 ± 9,2 acA	56 ± 1,4 aA	223 ± 51 bB
90	21 ± 4,9 aA	36 ± 14 abcA	15,6 ± 0,8 bcA	10,2 ± 6,8 aA	620 ± 49 cB
120	18 ± 2,9 aA	16,7 ± 1,3 bcA	12,8 ± 0,8 bA	64 ± 25 aB	34,5 ± 2,1 aAB
150	19,4 ± 3,2 aA	26 ± 1,4 abcA	36,5 ± 0,7 cB	93,5 ± 2,1 aC	24 ± 2,8 aA
180	61,5 ± 12 cA	49,5 ± 4,9 cAB	35,5 ± 0,7 acB	46 ± 1,4 aAB	54,5 ± 0,7 aAB

*Letras minúsculas indicam diferenças significativas entres os tempos em cada tratamento e maiúsculas indicam diferenças significativas entre os tratamentos, $p < 0,05$.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), a legislação estabelece para pescado congelado ou resfriado e produtos à base de pescado a contagem máxima de estafilococos coagulase positiva de 10^3 UFC/g. Na análise das bactérias contempladas na legislação vigente verificou-se que todos os tratamentos apresentaram níveis bem abaixo do estabelecido (TABELA 7). Em relação aos coliformes à 45 °C, a legislação estabelece limites de 10^3 UFC/g e em todos os tratamentos foram observados valores menores que o permitido. A legislação diz que deve haver a ausência de *Salmonella* em 25 g da amostra. Isso foi verificado em todos os tratamentos analisados. Com

isso, todos os tratamentos estavam dentro do padrão de qualidade microbiológico exigido pela legislação ao início do estudo. Os laudos de todas as análises feitas estão disponíveis nos anexos.

Tabela 7 – Análises microbiológicas das bactérias contempladas na legislação em CMS de tilápia, *O. niloticus*.

Análises	Coliformes à 45°C (UFC/g)	Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	<i>Salmonella</i> sp (UFC/25 g)
Resolução RDC nº 12 (BRASIL, 2001)	10 ³	10 ³	Ausência
Controle	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	Ausência
HTB	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	Ausência
0,01g/100g de CMS	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	Ausência
0,02g/100g de CMS	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	Ausência
0,03g/100g de CMS	< 1,0 x 10	< 1,0 x 10	Ausência

Diante das análises de composição química e de parâmetros de qualidade, a adição de polissacarídeos sulfatados de *H. musciformis* à CMS não lavada de tilápia sugere como um ingrediente alternativo, de baixo custo e de maior segurança alimentar vs. aos aditivos sintéticos que causam prejuízos à saúde humana. Além disso, esta pesquisa traz perspectivas quanto ao uso de espécies de algas cultivadas no litoral cearense como opção sustentável para a produção de hidrocolóides no desenvolvimento de subprodutos de pescado.

4 CONCLUSÕES

Foi observado que o congelamento prolongado da CMS de tilápia do Nilo, juntamente com a adição de polissacarídeos sulfatados da alga vermelha *Hypnea musciformis* não afeta a qualidade nutricional do produto.

Diante dos resultados obtidos, sugere-se que a adição de polissacarídeos sulfatados retarda a oxidação lipídica e pode inibir o crescimento de bactérias psicotróficas.

Portanto, pode-se concluir que a adição dos polissacarídeos sulfatados na CMS de tilápia mostrou comportamento antioxidante, havendo uma concentração ótima de 0,02g de PSs/100g de CMS, podendo ser utilizado como aditivo alternativo seguro.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AAL, H. Using antioxidants for extending the shelf life of frozen Nile karmout (*Clariés lazera*) fish mince. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 10, n. 4, p. 87-99, 2001.
- AHN, C.B. *et al.* Free radical scavenging activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Scytosiphon lomentaria* by electron spin resonance spectrometry. **Food Research International**, Essex, v.37, p. 253-258, 2004.
- AL-KAHTANI, H. A.; ABU-TARBOUSH, H. M.; BAJABER, A. S. Chemical changes after irradiation and post-irradiation storage in Tilapia and Spanish mackerel. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 4, p. 729-733, 1996.
- ANESE, M.; GORMLEY, R. Effects of dairy ingredients on some chemical, physico-chemical and functional properties of minced fish during freezing and frozen storage. **Lebensmittel-Wissenschaft und. Techologie**, v. 29, p. 151-157, 1996.
- AZIZA, M. *et al.* Seasonal variation of the growth, chemical composition and carrageenan extracted from *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux harvested along the Atlantic coast of Morocco. **Scientific Research And Essay**, [s.l], v. 2, n. 10, p.509-514, out. 2008.
- AYROZA, L.M.S. *et al.* Efeito da densidade de estocagem e do nível protéico da ração sobre o peso médio, produção e sobrevivência de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus* criadas em tanques-rede. In: AQUACIÊNCIA, 2006, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Aquaciência, 2006.
- BOTANY, University of Hawai'i at Manoa, 2001. Disponível em: <http://www.hawaii.edu/reefalgae/invasive_algae/pdf%20files/hypnea_musciformis.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2018.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. GOVERNO DO BRASIL. **Produção de tilápia cresce mais de 200% em dez anos no Brasil**: Modernização e produção intensiva contribuíram para o resultado. 2017. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/04/producao-de-tilapia-cresce-200-em-dez-anos-no-brasil>>. Acesso em: 24 set. 2018.
- BRASIL. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA - **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Brasília/DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **A pesca no Brasil**. Brasília, DF, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, **Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Brasília, Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, 67 p.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, **Regulamento técnico sobre atribuição de função de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para categoria 8 – carne e produtos cárneos**. Brasília, Portaria – nº 1004, de 11 de dezembro de 1998, 18 p.

BRASIL. Instrução Normativa no 20 de 21 de julho de 1999. Anexo - **Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes - sal e salmoura**. Ministério da Agricultura, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Brasília, 1997.

CAC – Codex Alimentarius Commission – Code of practice for fish and fishery products. CAC/RCP 52 (2003).

CAMPO, V. *et al.* Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, n. 2, p. 167-180, 2009.

CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189p.

CASTRO, M. A. M.; GBMEZ-GUILLIH, M. C.; MONTERO, P. Influence of frozen storage on textural properties of sardine (*Sardina pilchardus*) mince gels. **Food Chemistry**, v. 60, n. 1, p. 85-93, 1997.

CONTRERAS-GUZMAN, E. S. **Bioquímica de pescados e invertebrados**. Santiago: CECTA-USACH, 2002, 309 p.

DODGSON, K.S.; PRICE, R.G. A note on the determination of the ester sulfate content of sulphated polysaccharides. **Biochemistry Journal**, v.84, p.106-110, 1962.

DOWNES, F. P.; ITO K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington – DC: APHA, 4 ed, 676 p, 2001.

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, p.350–356, 1956.

EL-SAYED, A. F. M. **Tilapia Culture**. CABI publishing, CAB International, Wallingford, Oxfordshire, United Kingdom, 2006. 277p.

FAO/WHO. Draft revised standard for quick frozen blocks of fish fillets, “Minced” fish flesh and mixtures of fillets and “minced” fish flesh (Appendix IV). In: CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Report of the 21 st Session the Codex Committee on Fish and Fishery Products. Roma, 1994, p.47-57.

FERRAZ DE ARRUDA, L. **Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos**. 200f. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- USP, Piracicaba, 2004.

FOGAÇA, F. H. S. *et al.* Caracterização de surimi obtido a partir da carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo e elaboração de fishburger. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.765-776, 22 abr. 2015.

GRYSCHKEK, S. F. B.; OETTERER, M.; GALLO, C. R. Characterization and frozen storage stability of minced Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red tilapia (*Oreochromis spp.*). **Journal os Aquatic Food Product Techology**, v. 12, n. 3, p. 57-69, 2003.

GUIMARÃES, C. P. **Polissacarídeos sulfatados de rodófitas *Hypnea musciformis* como aditivos de apresentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e análise de estocagem sob refrigeração**. 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Pesca, Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

HERRERA, J. R., MACKIE, I. M. Cryoprotection of frozen-stored actomyosin of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by some sugars and polyols. **Food Chemistry**. v. 84, p. 91-97, 2004.

HOSDA, C. S.; NANDI, F.; GRASSELLI, S. L. S.. **Elaboração de nuggets de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com diferentes concentrações de cms adicionado de sálvia e alecrim e sua avaliação físico-química, microbiológica e sensorial**. 2013. 61 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curso Superior de Tecnologia em Alimentos.

HUSS, H. H. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper nº 348. Rome: FAO/UN; 1995. 126 p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da Pecuária Municipal**. Tabela 3940 – Produção da aquicultura, por tipo de produto. Rio de Janeiro, 2017. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3940>>. Acesso em: 22 nov. 2018.

JESUS, R.S. de; LESSI, E.; TENUTA-FILHO, A. Estabilidade química e microbiológica de “minced fish” de peixes amazônicos durante o congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, p.144-148, 2001. DOI: 10.1590/S0101-20612001000200004.

JIAO, G. *et al.* Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. **Marine drugs**, v.9, p.196-223, 2011.

JOHNSON, C. M.; ULRICH, A. Analytical Methods. *In*: SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. Análises químicas em plantas. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Química, 1974, p. 4-10.

KEAY, J. N. Minced fish. Aberdeen: Torry Research Station. 6p. (Torry Advisory note, 79); 1979.

KIRSCHNIK, P. G. *et al.* Estabilidade em armazenamento da carne de tilápia-do-nilo mecanicamente separada, lavada, adicionada de conservantes e congelada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [s.l.], v. 48, n. 8, p.935-942, ago. 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-204x2013000800018>.

- KIRSCHNIK, P. G.; MACEDO-VIEGAS, E. M. Efeito da lavagem e da adição de aditivos sobre a estabilidade de carne mecanicamente separada de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante estocagem a -18 °C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 29, n. 1, p.200-206, 2009.
- KUHN, C. R.; SOARES, G. J. D. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 1, p. 5-11, 2002.
- KURADE, S. A., BARANOWSKI, J. D. Prediction of shelf-life of frozen minced fish in terms of oxidative rancidity as measured by TBARS number. **Journal of Food Science**, v. 52, n. 2, p. 300, 1987.
- LI, B. *et al.* Fucoidan: Structure and Bioactivity. **Molecules**. [S.l.], v. 13, p. 1671-1695, 2008.
- MALLE, P.; TAO, S. H. Rapid quantitative-determination of trimethylamine using steam distillation. **Journal of Food Protection**, v. 50, n. 9, p. 756-760, 1987.
- MARCHI, J. F. **Desenvolvimento e avaliação de produtos à base de polpa e surimi produzidos a partir de tilápia Nilótica, *Oreochromis niloticus***. 85f. Dissertação (Mestrado) – UFV, Viçosa, 1997.
- MARENGONI, N. G. *et al.* Caracterização microbiológica, sensorial e centesimal de fishburgers de carne de tilápia mecanicamente separada. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, [s.l.], v. 1, n. 10, p.168-176, 2009.
- MARINHO-SORIANO, E.; BOURRET, E. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta). **Bioresource Technology**, n.90, n.3, p.329-333, 2003.
- MATSUKAWA, R. *et al.* A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. **Journal of Applied Phycology**. Dordrecht, v. 9, n.1, p. 29-35, 1997.
- MEDEIROS, G.F. *et al.* Distribution of sulfated glycosaminoglycans in the animal kingdom: Widespread occurrence of heparin-like compounds in invertebrates. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1475, p.287–294, 2000.
- MEURER, F. *et al.* Lipídeos na Alimentação de Alevinos Revertidos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, [S.l.], v. 31, n. 2, p.566-573, 2002.
- MOURA, C. M. C. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de filés de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e do gelo e a interação dos fatores após armazenagem. **Medicina Veterinária (ufrpe)**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.10-16, 3 out. 2018.
- NEIVA, C.R.P. Aplicação da tecnologia de carne mecanicamente separada - CMS na indústria de pescado. *In: SIMPÓSIO DE CONTROLE DO PESCADO*, 2., 2006, São Vicente. **Anais...** São Vicente: Instituto de Pesca, 2006.

- NEIVA, C. R. P.; GONÇALVES, A. A. Carne Mecanicamente Separada (CMS) de Pescado e Surimi. In: GONÇALVES, Alex Augusto *et al* (Ed.). **Tecnologia do Pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação**. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. Cap. 2. p. 197-208.
- OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 200p.
- OGAWA, M.; MAIA, E.L. Manual de pesca. São Paulo: Varela, 1999. 430p.
- OLIVEIRA, E. C; ALVEAL, K.; ANDERSON, R. Mariculture of the Agar-Producing Gracilarioid Red Algae. **Reviews in Fisheries Science**, v.8, p. 345-377, 2000.
- OLIVEIRA FILHO, P. R. C. *et al*. Elaboration of sausage using minced fish of Nile tilapia filleting waste. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n.6, p. 1383-1391, nov./dec. 2010.
- PATEL, A. **The Five Different Forms of Carrageenan and its Significance in Industrial Applications**. 2014. Disponível em: <<https://www.altrafine.com/blog/category/kappa-carrageenan-gum-powder/>>. Acesso em: 22 nov. 2018.
- PERCIVAL, E.; MCDOWELL, R. H. Chemistry and enzymology of marine algal polysaccharides. 1967.
- PEZZATO, L.E. *et al*. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1595-1604, 2002.
- PREGNOLATO, W.; PREGNOLATO, N. P. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985, 553p.
- RAYMUNDO, M. S.; HORTA, P.; FELT, R. Atividade antioxidante *in vitro* de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n.4 p. 495-503, 2004.
- ROCHA, H.A.O. *et al*. A fucan from the brown seaweed *Spatoglossum schröderi* inhibits Chinese hamster ovary cell adhesion to several extracellular matrix proteins. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 621-626, 2007.
- RODRIGUES, J.A.G. *et al*. Isolamento, fracionamento e avaliação toxicológica *in vivo* de polissacarídeos sulfatados de *Hypnea musciformis*. **Ciência Rural**, v.41, n.7, 2011a.
- RODRIGUES, J. A. G. *et al*. Carragenana da epífita *Hypnea musciformis* obtida do cultivo experimental de *Solieria filiformis* em Flecheiras, Estado do Ceará, Brasil. **Acta Scientiarum. Technology**, [s.l.], v. 33, n. 2, p.137-144, 20 abr. 2011b.
- RODRIGUES, J. A. G. *et al*. Extração e atividade anticoagulante dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Halymenia pseudofloresia*. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 40, n. 2, p.224-231, 2009.

RODRÍGUEZ, L. G. e BELLO, R. A. Elaboración de bloques congelados de pulpa de pescado y su evaluación durante el almacenamiento. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 37, n. 2, p. 351-363, 1987.

SARY, C. *et al.* Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.423-432, 15 out. 2009.

SAVAY DA SILVA, L. K. *et al.* Otimização e padronização do uso de metodologia para determinação de bases nitrogenadas voláteis totais (N-BVT) em camarões *Xyphopenaeus kroyeri*. **Brazilian Journal of Food and Technology**. Campinas, v.20, p. 138-144, 2008.

SCORVO-FILHO, J. D. **O agronegócio da aquicultura**: perspectiva e tendência. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/agronegocio_aquicultura.pdf>. Acesso em: 25 out. 2018.

SIDDAIAH, D. *et al.* Changes in lipids, protein and kamaboko forming ability of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) minced during frozen storage. **Food Research International**, v. 34, n. 1, p. 47-53, 2001.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β - carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**. Bethesda, v. 62, n. 6, p. 1315-1321, 1995.

SILVA, F. R. F. *et al.* Anticoagulant activity, paw edema and pleurisy induced carrageenan: action of major types of commercial carrageenans. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, n. 1, p. 26-33, 2010.

SIMÕES, D.R.S. *et al.* Desodorización de la base proteica de pescado (BPP) con ácido fosfórico. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.24, n.1, p.23-26, 2004.

SOUZA, B.W.S. *et al.* Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. **Food Hydrocolloids**, v.27, p.287-292, 2012.

TENGJAROENKUL, B.*et al.* Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, v.182, p.317-327, 2000.

TENUTA-FILHO, A.; JESUS, R. S. Aspectos da utilização de carne mecanicamente separada de pescado como matéria prima industrial. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 37, n. 2, p. 59-64, 2003.

VIDOTTI, E.C.; ROLLEMBERG, M.C. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **Química nova**, São Paulo, v.27, n.1, p.139-145, 2004.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**. Varela (SP); 2004.

VYNCKE, W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette Seifen Anstrichm**, 72, 1084–1087, 1970.

XUE, C. *et al.* Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in a phosphatidylcholine-liposomal suspension and organic solvents. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**. [S.l.], v. 62, p. 206-209, 1998.

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P. et al. (Orgs.) **Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva**. São Paulo: Aquabio, p.239-266, 2004.

ANEXO A – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO CONTROLE



LABOR SAÚDE – SERVIÇOS DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Rua Antônio Pompeu, 115 | Fortaleza - CE | CEP: 66.040-005 | Centro/Joaquim Bonifácio
 +55 85 3472.1326 | +55 85 3472.1921 | +55 85 3099.9455
 www.laborasude.com | facebook.com/laborasude | contato@laborasude.com

Laudo Nº: 11559.2017.B- V.0

01. Dados Contratação:						
Solicitante:						
Razão Social: Ianna Wivianne Fernandes de Araújo Endereço: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900 Proposta Comercial: 4036.2017.V Contato: Ianna Wivianne F. de Araújo email: iwfaraujo@gmail.com Fone: (85) 3366-9730						
2. Dados da Amostragem:						
Descrição da Amostra: carne mecanicamente separada de tilápia						
Endereço Coleta: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN, Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900						
Data de Coleta: 04/09/2017			Data Recebimento: 04/09/2017 14:13:12			
Informações Adicionais: RESPONSÁVEL: IANNA WIVIANE F. DE ARAÚJO; TEMPO: 0 DIAS; D. INÍCIO: 02.09.17; APRESENTAÇÃO: EMBALAGEM PLÁSTICA; LARISSA TC (CONTROLE)						
Matriz e Origem Amostra: Alimento-Alimento			Data Conferência: 16/09/2017 10:20:08			
Data Início Amostra: 04/09/2017 15:56:04			Data Conclusão Amostra: 16/09/2017 09:28:56			
Característica da Amostra: Simples						
Resultados						
Parâmetros	Resultados	Un	Resolução RDC nº 12	Início Ensaio	L.Q.	Metodologia
COLIFORMES À 45°C	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
SALMONELLA SP	Ausência	UFC/25g	Ausência	04/09/2017	-	CMMEF

Opiniões e Interpretações: Produto de acordo com os padrões legais vigentes.

Legislação: Valores de referência estabelecidos conforme Resolução RDC Nº12, de 2 de janeiro de 2001/ANVISA.

Referência(s) Normativa(s): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4 Ed,

Legenda:

UFC/g - Unidade Formadora de Colônia por Grama, UFC/25g - Unidade Formadora de Colônia por 25 gramas,

L.Q. - Limite de Quantificação, VMP - Valor Máximo Permitido, N.A. - Não Aplicável

Relatório de Ensaio tipo B

3. Informações importantes

< 1,0 x 10 UFC/g ou mL, equivale na metodologia utilizada "Ausência" de crescimento do parâmetro analisado.

O presente resultado restringe-se a amostra analisada.

Código de Verificação: 0005057682244400201700000

LABOR SAÚDE SERVIÇOS DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA EPP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04

 Glauberia Temoteo Bento
 Responsável Técnica
 CPF: 058.190.883-00 / CRQ: 10700210-Técnic/a

LABOR SAÚDE SERV. DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA EPP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04

 Francisco Alton Abrantes de Lima
 Sócio
 CPF: 036.390.883-00 / CRQ: 10700210-Técnic/a

ANEXO B – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE HTB



LABOR SAÚDE – SERVIÇOS DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Rua Antônio Pompeu, 115 | Fortaleza - CE | CEP: 60.040-005 | Centro/João Bonfácio
 +55 85 3472.1326 | +55 85 3472.1921 | +55 85 3099.9455
 www.laborsaude.com | facebook.com/laborsaude | contato@laborsaude.com

Laudo Nº: 11560.2017.B- V.0

01. Dados Contratação:

Solicitante:

Razão Social: Ianna Wivianne Fernandes de Araújo

Endereço: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Proposta Comercial: 4036.2017.V

Contato: Ianna Wivianne F. de Araújo email: iwfaraujo@gmail.com Fone: (85) 3366-9730

2. Dados da Amostragem:

Descrição da Amostra: carne mecanicamente separada de tilápia

Endereço Coleta: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN, Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Data de Coleta: 04/09/2017

Data Recebimento: 04/09/2017 14:13:47

Informações Adicionais: RESPONSÁVEL: IANNA WIVIANE F. DE ARAÚJO; TEMPO: 0 DIAS; D. INÍCIO: 02.09.17; APRESENTAÇÃO: EMBALAGEM PLÁSTICA; LARISSA TC (CONTROLE BHT - 0,01g/100g)

Matriz e Origem Amostra: Alimento-Alimento

Data Conferência: 16/09/2017 10:20:33

Data Início Amostra: 04/09/2017 15:56:04

Data Conclusão Amostra: 16/09/2017 09:28:56

Característica da Amostra: Simples

Resultados

Parâmetros	Resultados	Un	Resolução RDC nº 12	Início Ensaio	L.Q.	Metodologia
COLIFORMES À 45°C	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
SALMONELLA SP	Ausência	UFC/25g	Ausência	04/09/2017	-	CMMEF

Opiniões e Interpretações: Produto de acordo com os padrões legais vigentes.

Legislação: Valores de referência estabelecidos conforme Resolução RDC N°12, de 2 de janeiro de 2001/ANVISA.

Referência(s) Normativa(s): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4 Ed,

Legenda:

UFC/g - Unidade Formadora de Colônia por Grama, UFC/25g - Unidade Formadora de Colônia por 25 gramas,

L.Q. - Limite de Quantificação, VMP - Valor Máximo Permitido, N.A. - Não Aplicável

Relatório de Ensaio tipo B

3. Informações Importantes

< 1,0 x 10 UFC/g ou mL equivale na metodologia utilizada "Ausência" de crescimento do parâmetro analisado.

O presente resultado restringe-se a amostra analisada.

Código de Verificação: 00050576822244410201700000


 LABORA SAÚDE SERV. DE ANÁLISE E COM. LTDA-EP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Glaubéria Temoteo Bento
 Responsável Técnica
 CPF: 915.213.013-34 / RG: 10300287
 Glaubéria Temoteo Bento


 LABOR SAÚDE SERV. DE ANÁLISE E COM. LTDA-EP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Francisco Airton Abrantes de Lima
 Sócio
 CPF: 036.393.983-06 / RG: 10700250-Técnico
 Francisco Airton Abrantes de Lima

ANEXO C – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE 0,01g DE PSs/100g DE CMS



LABOR SAÚDE – SERVIÇOS DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA
CNPJ: 11.048.968/0001-04
Rua Antônio Pompeu, 115 | Fortaleza - CE | CEP: 60.040-005 | Centro/Tozé Benefício
+55 85 3472.1326 | +55 85 3472.1921 | +55 85 3099.9455
www.laborsauade.com | facebook.com/laborsauade | contato@laborsauade.com

Laudo Nº: 11561.2017.B- V.0

01. Dados Contratação:

Solicitante:

Razão Social: Ianna Wivianne Fernandes de Araújo

Endereço: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Proposta Comercial: 4036.2017.V

Contato: Ianna Wivianne F. de Araújo email: iwfaraujo@gmail.com Fone: (85) 3366-9730

2. Dados da Amostragem:

Descrição da Amostra: carne mecanicamente separada de tilápia

Endereço Coleta: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN, Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Data de Coleta: 04/09/2017

Data Recebimento: 04/09/2017 14:14:31

Informações Adicionais: RESPONSÁVEL: IANNA WIVIANE F. DE ARAÚJO; TEMPO: O DIAS; D. INÍCIO: 02.09.17; APRESENTAÇÃO: EMBALAGEM PLÁSTICA; LARISSA T 1 (HYPNEA MUSAFORMIS - 0,01g/100g)

Matriz e Origem Amostra: Alimento-Alimento

Data Conferência: 16/09/2017 10:20:59

Data Início Amostra: 04/09/2017 15:56:04

Data Conclusão Amostra: 16/09/2017 09:28:56

Característica da Amostra: Simples

Resultados

Parâmetros	Resultados	Un	Resolução RDC nº 12	Início Ensaio	L.Q.	Metodologia
COLIFORMES À 45°C	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
SALMONELLA SP	Ausência	UFC/25g	Ausência	04/09/2017	-	CMMEF

Opiniões e Interpretações: Produto de acordo com os padrões legais vigentes.

Legislação: Valores de referência estabelecidos conforme Resolução RDC Nº12, de 2 de janeiro de 2001/ANVISA.

Referência(s) Normativa(s): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4 Ed,

Legenda:

UFC/g - Unidade Formadora de Colônia por Grama, UFC/25g - Unidade Formadora de Colônia por 25 gramas,

L.Q. - Limite de Quantificação, VMP - Valor Máximo Permitido, N.A. - Não Aplicável

Relatório de Ensaio tipo B

3. Informações Importantes

< 1,0 x 10 UFC/g ou mL equivale na metodologia utilizada "Ausência" de crescimento do parâmetro analisado.

O presente resultado restringe-se a amostra analisada.

Código de Verificação: 00050576822244420201700000

LABOR SAÚDE SERV. DE ANÁLISE E COMÉRCIO LTDA
CNPJ: 11.048.968/0001-04

Glauberia Temoteo Bento
Responsável Técnica
CPF: 918.243.003-34 / RG: 30300281

LABOR SAÚDE SERV. DE ANÁLISE E COMÉRCIO LTDA-IPP
CNPJ: 11.048.968/0001-04

Francisco Airton Abrantes de Lima
Sócio
CPF: 036.393.983-04 / RG: 10700350-Técnico

ANEXO D – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE 0,02g DE PSs/100g DE CMS



LABOR SAÚDE – SERVIÇOS DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA
CNPJ: 11.048.968/0001-04
Rua Antônio Pompeu, 115 | Fortaleza - CE | CEP: 06.040-005 | Centro/José Bonifácio
+55 85 3472.1326 | +55 85 3472.1921 | +55 85 3099.9455
www.laborsaude.com | facebook.com/laborsaude | contato@laborsaude.com

Laudo Nº: 11562.2017.B- V.0

01. Dados Contratação:

Solicitante:

Razão Social: Ianna Wivianne Fernandes de Araújo

Endereço: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Proposta Comercial: 4036.2017.V

Contato: Ianna Wivianne F. de Araújo email: iwfaraujo@gmail.com Fone: (85) 3366-9730

2. Dados da Amostragem:

Descrição da Amostra: carne mecanicamente separada de tilápia

Endereço Coleta: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN, Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Data de Coleta: 04/09/2017

Data Recebimento: 04/09/2017 14:15:14

Informações Adicionais: RESPONSÁVEL: IANNA WIVIANE F. DE ARAÚJO; TEMPO: O DIAS; D. INÍCIO: 02.09.17; APRESENTAÇÃO: EMBALAGEM PLÁSTICA; LARISSA T-2 (HYPNEA MUSAFORMIS - 0,02g/100g)

Matriz e Origem Amostra: Alimento-Alimento

Data Conferência: 16/09/2017 10:21:23

Data Início Amostra: 04/09/2017 15:56:04

Data Conclusão Amostra: 16/09/2017 09:28:56

Característica da Amostra: Simples

Resultados

Parâmetros	Resultados	Un	Resolução RDC nº 12	Início Ensaio	L.Q.	Metodologia
COLIFORMES À 45°C	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
SALMONELLA SP	Ausência	UFC/25g	Ausência	04/09/2017	-	CMMEF

Opiniões e Interpretações: Produto de acordo com os padrões legais vigentes.

Legislação: Valores de referência estabelecidos conforme Resolução RDC Nº12, de 2 de janeiro de 2001/ANVISA.

Referência(s) Normativa(s): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4 Ed,

Legenda:

UFC/g - Unidade Formadora de Colônia por Grama, UFC/25g - Unidade Formadora de Colônia por 25 gramas,

L.Q. - Limite de Quantificação, VMP - Valor Máximo Permitido, N.A. - Não Aplicável

Relatório de Ensaio tipo B

3. Informações importantes

< 1,0 x 10 UFC/g ou mL, equivale na metodologia utilizada "Ausência" de crescimento do parâmetro analisado.

O presente resultado restringe-se a amostra analisada.

Código de Verificação: 0005057682244430201700000


 LABOR SAÚDE SERVIÇOS DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA-EP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Glaubéria Temoteo Bento
 Responsável Técnica
 CPF: 916.243.013-34 / CRQ: 20080287


 LABOR SAÚDE SERV. DE ANÁLISES E COM. LTDA-EP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Francisco Airton Abrantes de Lima
 Sócio
 CPF: 036.393.883-04 / CRQ: 10700250-Técnicos
 Francisco Airton Abrantes de Lima

ANEXO E – LAUDO LABORATORIAL PARA O TRATAMENTO ADICIONADO DE 0,03g DE PSs/100g DE CMS



LABOR SAÚDE – SERVIÇOS DE ANÁLISES E COMÉRCIO LTDA
CNPJ: 11.048.968/0001-04
Rua Antônio Pompeu, 113 | Fortaleza - CE | CEP: 06.040-003 | Centro/Toá Bonfácio
+55 85 3472.1326 | +55 85 3472.1921 | +55 85 3099.9455
www.laborsaude.com | facebook.com/laborsaude | contato@laborsaude.com

Laudo Nº: 11558.2017.B- V.0

01. Dados Contratação:

Solicitante:

Razão Social: Ianna Wivianne Fernandes de Araújo

Endereço: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Proposta Comercial: 4036.2017.V

Contato: Ianna Wivianne F. de Araújo email: iwfaraujo@gmail.com Fone: (85) 3366-9730

2. Dados da Amostragem:

Descrição da Amostra: carne mecanicamente separada de tilápia

Endereço Coleta: Rua Campus do Pici, Laboratório de Bioquímica Marinha, SN, Bloco 872 - Pici - Fortaleza/CE CEP: 60440900

Data de Coleta: 04/09/2017

Data Recebimento: 04/09/2017 14:12:00

Informações Adicionais: RESPONSÁVEL: IANNA WIVIANE F. DE ARAÚJO; TEMPO: 0 DIAS; D.INÍCIO: 02.09.17; APRESENTAÇÃO: EMBALAGEM PLÁSTICA; LARISSA T-3 (HYPNEA MUSAFORMIS - 0,03g/100g)

Matriz e Origem Amostra: Alimento-Alimento

Data Conferência: 16/09/2017 10:19:44

Data Início Amostra: 04/09/2017 15:56:04

Data Conclusão Amostra: 16/09/2017 09:28:56

Característica da Amostra: Simples

Resultados

Parâmetros	Resultados	Un	Resolução RDC nº 12	Início Ensaio	L.Q.	Metodologia
COLIFORMES À 45°C	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA	< 1,0 x 10	UFC/g	10 ³	04/09/2017	-	CMMEF
SALMONELLA SP	Ausência	UFC/25g	Ausência	04/09/2017	-	CMMEF

Opiniões e Interpretações: Produto de acordo com os padrões legais vigentes.

Legislação: Valores de referência estabelecidos conforme Resolução RDC Nº12, de 2 de janeiro de 2001/ANVISA.

Referência(s) Normativa(s): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods 4 Ed,

Legenda:

UFC/g - Unidade Formadora de Colônia por Grama, UFC/25g - Unidade Formadora de Colônia por 25 gramas,

L.Q. - Limite de Quantificação, VMP - Valor Máximo Permitido, N.A. - Não Aplicável

Relatório de Ensaio tipo B

3. Informações Importantes

< 1,0 x 10 UFC/g ou mL equivale na metodologia utilizada "Ausência" de crescimento do parâmetro analisado.

O presente resultado restringe-se a amostra analisada.

Código de Verificação: 0005057682244390201700000


 LABOR SAÚDE SERVIÇOS DE ANÁLISE E COMÉRCIO LTDA EPP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Glauberia Temoteo Bento
 Responsável Técnico
 CPF: 910.243.003-34 / RG: 33002897


 LABOR SAÚDE SERV. DE ANÁLISE E COM. LTDA EPP
 CNPJ: 11.048.968/0001-04
 Francisco Ailton Abrantes de Lima
 Sócio
 CPF: 036.393.863-06 / RG: 10700350-Técnico